

Analyse der Darmbarriere und therapeutischer Strategien beim
akuten hämorrhagischen Durchfallsyndrom des Hundes mit
Fokus auf den Einsatz der Kottransplantation

von Andrea Gabriele Reisinger

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

Analyse der Darmbarriere und therapeutischer Strategien beim akuten
hämorrhagischen Durchfallsyndrom des Hundes mit Fokus auf den Einsatz der
Kottransplantation

von Andrea Gabriele Reisinger
aus Regensburg
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

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
Korreferenten: Univ.-Prof. Dr. Cornelia A. Deeg
Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.
Univ.-Prof. Dr. Sophia Johler
Univ.-Prof. Dr. Holm Zerbe

Tag der Promotion: 08.02.2025

Für meine Familie

INHALTSVERZEICHNIS

I. EINLEITUNG	1
II. PUBLIKATION 1: ÜBERSICHTSARTIKEL	4
III. PUBLIKATION 2: ORIGINAL-PUBLIKATION ZUR STUDIE 1	25
IV. PUBLIKATION 3: ORIGINAL-PUBLIKATION ZUR STUDIE 2	40
V. DISKUSSION	53
VI. ZUSAMMENFASSUNG	61
VII. SUMMARY	63
VIII. LITERATURVERZEICHNIS	65
IX. DANKSAGUNG	72

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

%	Prozent
≥	Größer-Gleich-Zeichen
⁵¹ Cr-EDTA	⁵¹ Chromium Ethylendiamintetraessigsäure
AHDS	Akutes hämorrhagisches Durchfallsyndrom
AT	Antibiotika Therapie
<i>C. difficile</i>	<i>Clostridioides difficile</i>
<i>C. perfringens</i>	<i>Clostridium perfringens</i>
DI	Dysbiose Index
ELISA	Enzymimmunoassay
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
FMT	Kottransplantation
IL	Interleukin
IP	Intestinale Permeabilität
NSAIDs	Nichtsteroidale Antiphlogistika
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
<i>P. hiranonis</i>	<i>Peptacetobacter hiranonis</i>
SIK	Serum-Iohexol-Konzentration
SIRS	Systemic inflammatory response syndrome
ST	Symptomatische Therapie

I. EINLEITUNG

Das akute hämorrhagische Durchfallsyndrom (AHDS) des Hundes ist gekennzeichnet durch das plötzliche Auftreten von akut blutigem Durchfall, häufig begleitet von Erbrechen, Hyporexie und Lethargie (MORTIER et al., 2015; UNTERER et al., 2015; DUPONT et al., 2021). Die Diagnose erfolgt in der Regel durch den Ausschluss bekannter Ursachen, die blutigen Durchfall auslösen können, wie zum Beispiel Pankreatitis, Endoparasitenbefall, oder die Gabe von nichtsteroidalen Antiphlogistika (NSAIDs) (UNTERER et al., 2014; SINDERN et al., 2019). Die Symptome reichen von mild bis schwerwiegend, wobei sich die meisten Hunde mit symptomatischer Therapie innerhalb kurzer Zeit erholen (MORTIER et al., 2015; UNTERER et al., 2015; DUPONT et al., 2021). In einigen Fällen treten jedoch Komplikationen wie Sepsis, Hypalbuminämie oder in seltenen Fällen der Tod des Tieres infolge eines hypovolämischen oder septischen Schocks auf (WILL et al., 2005; UNTERER et al., 2015; DUPONT et al., 2021).

Histologische Untersuchungen von Darmbiopsien von Hunden mit AHDS, die in der akuten Phase der Erkrankung endoskopisch entnommen wurden, zeigten eine nekrotisierende Enteritis sowie Clostridien-Stämme, die an der nekrotischen Darmschleimhaut anhafteten (UNTERER et al., 2014). Eine weitere Studie ergibt, dass bei Hunden mit AHDS im Vergleich mit gesunden Hunden und Hunden mit Parvovirose vermehrt *Clostridium perfringens* (*C. perfringens*) vorkommen, welche für das NetF-Toxin kodieren (SINDERN et al., 2019). Diese Befunde legen nahe, dass das übermäßige Wachstum von *Clostridium perfringens* Typ A-Stämmen, verbunden mit der Freisetzung von NetF-Toxinen und möglicherweise anderen Toxinen, eine zentrale Rolle bei der Entwicklung der nekrotisierenden Enterokolitis im Rahmen von AHDS spielen (MEHDIZADEH GOHARI et al., 2015; LEIPIG-RUDOLPH et al., 2018; SINDERN et al., 2019).

Neben der Nährstoff- und Wasseraufnahme erfüllt der Magen-Darm-Trakt auch eine wichtige Funktion als Schutzbarriere gegen Krankheitserreger und schädliche Substanzen (KONIG et al., 2016). Bei einer Störung dieser Barriere kommt es zu einer erhöhten Permeabilität der Darmwand. Dies führt zu einem Verlust von Proteinen, Elektrolyten, Vitaminen und Flüssigkeit in das Darmlumen und erleichtert den Übertritt schädlicher Substanzen und Krankheitserreger in die Blutbahn (DEITCH, 1993; KONIG et al., 2016). Bei Hunden mit AHDS wird aufgrund

des typischerweise auftretenden Eiweißverlustes über den Darm und des Vorliegens einer nekrotisierenden Enteritis eine gestörte Darmbarriere vermutet (WILL et al., 2005; MEHDIZADEH GOHARI et al., 2015; MORTIER et al., 2015; UNTERER et al., 2015). Zudem kann die intestinale Ischämie, welche aus einer Hypovolämie und Hypoperfusion der Darmschleimhaut resultiert, auch zu einer erhöhten Darmpermeabilität beitragen (GONZALEZ et al., 2015). Trotz der zahlreichen möglichen Gründe für eine erhöhte intestinale Permeabilität bei Hunden mit AHDS werden nur sehr selten Komplikationen durch eine Translokation von Bakterien beobachtet (DUPONT et al., 2021). Daher besteht die Standardbehandlung primär aus Flüssigkeitstherapie, Analgesie und Antiemesis (MORTIER et al., 2015). In den meisten Fällen zeigt sich eine rasche klinische Verbesserung, ohne dass der Einsatz von Antibiotika erforderlich ist (MORTIER et al., 2015; UNTERER et al., 2015). Langzeitbeobachtungen von Hunden, die im Laufe ihres Lebens eine Episode von AHDS durchgemacht haben, zeigen, dass etwa 30 % dieser Hunde eine chronische Darmerkrankung entwickeln (SKOTNITZKI et al., 2022). Es wird vermutet, dass es in der Phase einer akuten Enteritis infolge einer Darmbarrierestörung zu einem vermehrten Übertritt von Futtermittelallergenen kommt und dies in der Folge zu einer Sensibilisierung des Immunsystems führt (SKOTNITZKI et al., 2022). Zudem ist bekannt, dass eine intestinale Dysbiose einen weiteren Risikofaktor für die Entstehung einer immunvermittelten chronischen Erkrankung darstellt (PILLA und SUCHODOLSKI, 2019; ZIESE und SUCHODOLSKI, 2021; SUCHODOLSKI, 2022). Um die Zusammenhänge zwischen einer Störung der Darmbarriere, intestinaler Dysbiose und dem Entstehen einer chronischen Enteropathie zu verstehen, sind Studien zur Barrierefunktion und zur Evaluierung der intestinalen Mikrobiota bei Hunden mit AHDS essenziell. Die daraus gewonnenen Ergebnisse sind nicht nur für die Optimierung von Therapiestrategien, wie beispielsweise der Kottransplantation bei Hunden mit akuter schwergradiger Enteritis, von Bedeutung, sondern auch für die translationale Medizin, um Fortschritte in der Behandlung und Prävention von vergleichbaren Erkrankungen beim Menschen zu ermöglichen.

Das Ziel der ersten Publikation ist es, einen umfassenden Überblick über die vorhandene Literatur zu den möglichen Indikationen für eine Kottransplantation sowie deren Anwendung bei Hunden und Katzen zu bieten. Dabei werden nicht nur gastrointestinale Einsatzgebiete beschrieben, sondern auch andere Erkrankungen, bei denen eine Kottransplantation potenziell hilfreich sein könnte. Außerdem gibt die Publikation praxisorientierte Empfehlungen für die Durchführung von Kottransplantationen in der Kleintiermedizin.

Ziel der zweiten Publikation ist es, bei Hunden mit AHDS das Vorliegen einer Darmbarrierestörung zu bestätigen und eine Korrelation mit dem Auftreten klinischer Symptome herzustellen. Die intestinale Permeabilität wird dabei mithilfe von Iohexol gemessen, einem nicht radioaktiven, jodhaltigen Kontrastmedium (KLENNER et al., 2009; FRIAS et al., 2012). Iohexol folgt einem ähnlichen Permeabilitätspfad wie ⁵¹Chromium Ethylendiamintetraessigsäure (⁵¹Cr-EDTA), welche als Goldstandard zur Beurteilung der intestinalen Permeabilität gilt (FRIAS et al., 2012). Da ⁵¹Cr-EDTA jedoch radioaktiv ist, erweist sich Iohexol als deutlich einfacher in der Anwendung (KLENNER et al., 2009). Darüber hinaus kann die Iohexol-Konzentration im Serum leicht mit einem handelsüblichen Enzymimmunoassay (ELISA) gemessen werden (ORTÍN-PIQUERAS V, 2018). Diese Studie wird im Folgenden auch als Studie 1 bezeichnet.

In der dritten Publikation wird untersucht, ob eine Kottransplantation im Vergleich zur Standardbehandlung bei Hunden mit AHDS zu einer schnelleren klinischen Verbesserung und Normalisierung des Darmmikrobioms führt. Die Hunde erhalten hierbei im Abstand von 48 Stunden zweimal rektal Kot von einem gesunden Spender. Der klinische Verlauf wird mittels des AHDS-Indexes (BUSCH et al., 2015; MORTIER et al., 2015) und die Veränderungen im Mikrobiom mittels des Dysbiose Indexes (ALSHAWAQFEH et al., 2017; SUCHODOLSKI, 2022; SUNG et al., 2023) bewertet. Aufgrund der klinischen Entscheidung des behandelnden Tierarztes ergab sich eine dritte Gruppe, in der die Hunde unabhängig von der zugrundeliegenden Therapie ein Antibiotikum erhielten. Diese Studie wird im Folgenden als Studie 2 bezeichnet.

II. PUBLIKATION 1: ÜBERSICHTSARTIKEL

Kottransplantation – Wirkungsmechanismen, Indikationen, Durchführung – eine Übersicht für die Kleintierpraxis

Andrea Reisinger

Medizinische Kleintierklinik, Zentrum für Klinische Tiermedizin, Ludwig-Maximilians-Universität München, München, Deutschland

Helene Stübing

Medizinische Kleintierklinik, Zentrum für Klinische Tiermedizin, Ludwig-Maximilians-Universität München, München, Deutschland

Jan S. Suchodolski

Gastrointestinal Laboratory, Department of Small Animal Clinical Sciences, Texas A&M University, TAMU, College Station, Texas, United States of America

Stefan Unterer

Klinik für Kleintiermedizin, Vetsuisse-Fakultät, Universität Zürich, Zürich, Schweiz

Kathrin Busch

Medizinische Kleintierklinik, Zentrum für Klinische Tiermedizin, Ludwig-Maximilians-Universität München, München, Deutschland

Kleintierpraxis: veröffentlicht

Kleintierpraxis; Schlütersche Fachmedien GmbH

Fortbildung



DOI 10.2377/0023-2076-70-76

¹Medizinische Kleintierklinik, Zentrum für Klinische Tiermedizin, Ludwig-Maximilians-Universität München, München, Deutschland;

²Gastrointestinal Laboratory, Department of Small Animal Clinical Sciences, Texas A&M University, TAMU, College Station, Texas, United States of America; ³Klinik für Kleintiermedizin, Vetsuisse-Fakultät, Universität Zürich, Zürich, Schweiz

Peer-reviewed | Eingegangen: 21.09.2024 | Angenommen: 02.12.2024

Kottransplantation: Wirkungsmechanismen, Indikationen, Durchführung – eine Übersicht für die Kleintierpraxis

Andrea Reisinger¹, Helene Stübing¹, Jan S. Suchodolski², Stefan Unterer³, Kathrin Busch¹

Korrespondenzadresse: andrea.reisinger@gmx.de

Zusammenfassung Kottransplantation (FMT) ist die Übertragung von Kot eines gesunden Spenders auf einen kranken Empfänger. Ziel ist es, das Mikrobiom und Metabolom des Empfängers positiv zu beeinflussen und auf ein gesundes Gleichgewicht zurückzuführen. Das Mikrobiom umfasst die Gesamtheit der Mikroorganismen im Magen-Darm-Trakt. Diese spielen eine wichtige Rolle in vielen physiologischen Prozessen und stehen in symbiotischer Beziehung mit dem Wirt. Ein Ungleichgewicht im Mikrobiom (Dysbiose) wird mit einer Vielzahl von Erkrankungen in Verbindung gebracht, darunter akute und chronische Darmerkrankungen. Der genaue Wirkmechanismus der FMT ist bisher nicht vollständig geklärt. Es wird davon ausgegangen, dass mehrere Faktoren eine Rolle spielen. So kann beispielsweise eine FMT das Auftreten sekundärer Gallensäuren steigern, was wiederum eine antiinflammatorische Wirkung zur Folge hat. Ein geeigneter Kotspender muss bestimmte Kriterien erfüllen: Dessen Alter sollte zwischen einem Jahr und 75 % der erwarteten Lebensspanne liegen und es dürfen keine chronischen gastrointestinalen Symptome, Verhaltensauffälligkeiten, Allergien, Autoimmunerkrankungen oder neoplastischen Erkrankungen vorliegen. Eine ausführliche Anamnese und Überprüfung des Gesundheitszustandes des Spenders sind entscheidend, um die Sicherheit und Effektivität der FMT zu gewährleisten. Während die FMT in der Humanmedizin bereits bei verschiedenen Erkrankungen erfolgreich eingesetzt wird, steht die Forschung zu dessen Anwendung bei Tieren noch am Anfang. Aufgrund der Ähnlichkeit zwischen dem caninen und humanen Mikrobiom ist die Evaluation von FMT bei Tieren jedoch ein wichtiger Bestandteil der translationalen Forschung. Dieser Artikel beleuchtet den aktuellen Wissensstand über Wirkungsweisen, Indikationen und Durchführung der FMT.

Schlüsselwörter Mikrobiom, Mikrobiota, Dysbiose, Hund, Katze

Fecal microbiota transplantation: mechanisms, indications, implementation – an over-view for small animal practice

Summary Fecal microbiota transplantation (FMT) involves transferring fecal material from healthy donors to diseased recipients in order to positively influence the microbiome and metabolome and restore its balance. The microbiome comprises the entirety of microorganisms in the gastrointestinal tract. These play an important role in physiological processes and form a symbiotic relationship with the host. An imbalance in the microbiome (dysbiosis) is associated with various diseases, including acute and chronic gastrointestinal disorders. The exact mechanism of action of FMT is not fully elucidated. It is assumed that several effects play a role. For example, FMT can increase the occurrence of secondary bile acids, which in turn results in an antiinflammatory effect. The fecal donor must fulfill certain criteria: it must be older than one year and < than 75 % of its expected life span and it must not show any signs of chronic gastrointestinal disease, behavioral changes, allergies, autoimmune or neoplastic diseases. A detailed medical history and confirmation of the donor's health status are of importance to ensure the safety and effectiveness of FMT. While FMT is already being used successfully in human medicine for various diseases, research into its use in animals is still in its infancy. However, due to the similarity between the canine and human microbiome, the evaluation of FMT in animals is an important part of translational research. This article presents the current knowledge about mechanisms, indications, and implementation of FMT in veterinary medicine.

Keywords microbiome, microbiota, dysbiosis, dog, cat

Einleitung

Kottransplantation, auch fäkale Mikrobiota-Transplantation (FMT) genannt, bezeichnet die Übertragung von Kot eines gesunden Spen-

ders auf einen kranken Empfänger. Dabei wird das Ziel verfolgt, das Mikrobiom des Empfängers positiv zu beeinflussen (Cammarota et al. 2017, Chaitman und Gaschen 2021). Mit dieser Therapieoption



sollen Erkrankungen behandelt werden, die mit einem Ungleichgewicht der Mikrobiota einhergehen. Dieser Artikel bietet einen Überblick über bisherige Forschungsergebnisse und Einsatzgebiete im Bereich der FMT in der Kleintierpraxis. Außerdem werden Leitlinien zur Anwendung der FMT vorgestellt, die kürzlich von einem Konsortium internationaler Experten erstellt wurden (Winston et al. 2024). Diese Leitlinien beschreiben die Grundlage für die im Folgenden aufgeführten Empfehlungen im Bereich FMT.

Begriffsdefinitionen

Im Magen-Darm-Trakt von Hunden und Katzen befindet sich ein komplexes Ökosystem von Mikroorganismen. Diese lebenden Organismen werden in ihrer Gesamtheit als Mikrobiota bezeichnet und bestehen vor allem aus Bakterien, Viren, Pilzen und Protozoen (Ritchie et al. 2008, Swanson et al. 2010, Barry et al. 2012, Honneffer et al. 2017, Marsilio et al. 2019, Pilla und Suchodolski 2019, Ziese und Suchodolski 2021, Suchodolski 2022). Bakterien bilden dabei mit über 98 % den größten Anteil. Es finden sich vorwiegend Vertreter der Bakterienphyla: Firmicutes, Fusobacteria, Bacteroidetes, Proteobacteria und Actinobacteria (Ritchie et al. 2008, Swanson et al. 2010, Barry et al. 2012, Honneffer et al. 2017, Marsilio et al. 2019, Pilla und Suchodolski 2019, Ziese und Suchodolski 2021, Suchodolski 2022). Der Wirt bildet mit diesen Mikroorganismen eine symbiotische Lebensweise (Honneffer et al. 2017, Ziese und Suchodolski 2021, Suchodolski 2022). Während Mikrobiota die Gesamtheit der Mikroorganismen umfasst, bezeichnet Mikrobiom das gesamte Genom der Mikrobiota. Zusätzlich zu dem Genom der Mikroben wird der Begriff Mikrobiom oft verwendet, um das gesamte ökologische System zu beschreiben, das diese Mikroorganismen umfasst. Dies schließt die Mikroorganismen, deren Gene und Stoffwechselprodukte sowie die Interaktionen der Mikroorganismen mit ihrer Umgebung ein (Ziese und Suchodolski 2021, Suchodolski 2022). Das intestinale Metabolom bezeichnet die von den Mikrobiota und dem Wirt produzierten Stoffwechselprodukte. Eine verminderte Diversität des Mikrobioms und eine Veränderung der physiologischen Zusammensetzung sowie eine daraus resultierende Veränderung der Produktion von Metaboliten werden als Dysbiose bezeichnet (Suchodolski 2022). Es ist bekannt, dass eine Dysbiose sowohl bei akuten als auch bei chronischen Darmerkrankungen und infolge des Einsatzes von Antibiotika entstehen kann (Pilla und Suchodolski 2019, Suchodolski 2022). Um das Ausmaß der Verschiebung der intestinalen Mikrobiota zu beurteilen, können verschiedene Indizes berechnet werden. Beim sogenannten Dysbiose-Index (DI) handelt es sich um einen für Hunde und Katzen validierten Test, der auf der Quantifizierung von sieben Bakterientaxa und der Gesamtheit aller vorkommenden Bakterien aus Kotproben mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR)-Tests basiert (AlShawaqfeh et al. 2017). Es wurden Referenzintervalle für Hunde und Katzen festgelegt, die eine Bewertung der Dysbiose ermöglichen (AlShawaqfeh et al. 2017, Pilla et al. 2020, Suchodolski 2022, Sung et al. 2023). Ein DI von über 2 wird als signifikante Dysbiose eingestuft, während ein DI zwischen 0 und 2 als mittelgradige Veränderung klassifiziert wird. Ein DI unter 0 spricht für eine Normobiose. Jedoch befindet sich bei manchen Hunden, die einen DI von unter 0 aufweisen, die Anzahl einzelner Bakterienstämme außerhalb des Referenzbereichs, weshalb diese Veränderungen im Mikrobiom auch als geringgra-

dige Dysbiose klassifiziert werden. Zur Verbesserung einer Dysbiose kommen häufig Produkte wie Prä-, Pro-, Syn- und Postbiotika zum Einsatz. Neben diesen hat eine FMT die stärkste Wirkung, um das intestinale Mikrobiom zu beeinflussen (Niina et al. 2019, Chaitman und Gaschen 2021, Pilla und Suchodolski 2021, Schmitz 2021). Der unten stehende ► Kasten bietet einen kurzen Überblick über die zuvor erläuterten Begriffsdefinitionen.

Fäkale Mikrobiota-Transplantation

Geschichte

Auch wenn FMT erst in den letzten Jahren vermehrten Einsatz in der Tiermedizin gefunden hat, ist diese Methode nicht neu. Es finden sich bereits Aufzeichnungen aus dem vierten Jahrhundert zur fäkalen Transplantation bei Menschen in China (Zhang et al. 2018). Zudem gilt die FMT bereits seit Längerem als beste Therapiemöglichkeit bei Menschen mit einer *Clostridioides (C.) difficile*-Infektion (Zuo et al. 2018, Borody et al. 2019, Sugita et al. 2019). Die erste dokumentierte Behandlung von *C. difficile* mittels FMT fand beim Menschen im Jahr 1958 statt (Eiseman et al. 1958). Diese Behandlung wurde von Dr. Ben Eiseman und seinen Kollegen am Denver Veterans Affairs Hospital durchgeführt. Sie berichteten über vier Patienten mit schwerer pseudomembranöser Kolitis, die erfolgreich mit der Übertragung von Kot gesunder Spender behandelt wurden (Eiseman et al. 1958). Im Jahr 2013 wurde in der Tiermedizin der erste Fallbericht über FMT veröffentlicht. Hierbei wurde einem dreijährigen Hund mit eosinophiler Inflammatory Bowel Disease (IBD) (> 2 Jahre Krankheitsdauer) eine einmalige FMT mittels eines rektalen Einlaufs verabreicht. Dessen Symptome besserten sich innerhalb 24 Stunden und die Besserung hielt bis zu drei Monate an (Weese et al. 2013). Nach diesem Fallbericht folgten weitere Einsätze von FMT bei Hunden und in den letzten fünf Jahren wurden vermehrt Studien zu ►

Begriffsdefinitionen

- **Fäkale Mikrobiota-Transplantation (FMT):** Übertragung von Kot eines gesunden Spenders auf einen (kranken) Empfänger
- **Intestinale Mikrobiota:** Gesamtheit, der im Darm lebenden Mikroorganismen
- **Intestinales Mikrobiom:** gesamtes Genom (= Gene, Stoffwechselprodukte und Umweltbedingungen) der Mikrobiota im Darm
- **Metabolom:** Gesamtheit der Stoffwechselprodukte, die von Mikrobiota und Wirt produziert werden
- **Intestinale Diversität:** Vielfalt an Mikroorganismen im Darm
- **Dysbiose:** Abweichung von physiologischer Zusammensetzung und Diversität der intestinalen Mikrobiota und daraus resultierende funktionelle/metabolische Veränderungen
- **Dysbiose-Index (DI):** validierter Test, basierend auf quantitativen PCR-Tests von sieben Bakterientaxa und Gesamtheit der Mikrobiota zur Bewertung des Grades einer Dysbiose



Fortbildung

FMT bei Hunden und Katzen veröffentlicht. Ein Fallbericht aus dem Jahr 2017 berichtet über den positiven Einsatz einer FMT bei einer Abessinier-Katze (Furmanski und Mor 2017). Im Moment wird FMT bei Katzen und Hunden vor allem in der Behandlung gastrointestinaler Erkrankungen eingesetzt. Allerdings bekommt diese Therapieform zunehmend Zuspruch bezüglich des Einsatzes bei anderen Erkrankungen (wie z. B. caniner atopischer Dermatitis) (Sugita et al. 2023). In diesem Jahr wurden die ersten klinischen Leitlinien zu FMT bei Katzen und Hunden von gastrointestinalen Experten veröffentlicht (Winston et al. 2024).

Wirkungsmechanismen

Ziel der FMT ist es, eine Dysbiose und die damit verbundenen metabolischen Störungen zu korrigieren sowie Erkrankungen zu behandeln, die auf ein verändertes Mikrobiom zurückzuführen sind. Es liegen bereits einige Studien vor, in denen durch eine FMT die Verbesserung gastrointestinaler Symptome von Hunden und Katzen erzielt werden konnte. Die genauen Wirkungsmechanismen einer FMT sind aktuell noch nicht gänzlich geklärt, es wird aber eine Kombination aus mehreren Faktoren vermutet (Kelly et al. 2015, Khoruts und Sadowsky 2016, Chaitman und Gaschen 2021, Takáčová et al. 2022). Das Mikrobiom übt eine wesentliche Rolle auf verschiedene wichtige physiologische Funktionen des Wirts aus, weshalb es als bedeutendes Stoffwechsel- und Immunorgan betrachtet wird (Suchodolski 2022). Die intestinale Mikrobiota steht mit dem Wirt in einer wechselseitigen Beziehung. So beeinflusst der Wirt das Mikrobiom (z. B. durch Nahrungsaufnahme) und entsprechend andersherum. Die Mikrobiota dient unter anderem dem Schutz vor Krankheitserregern und trägt zur Entwicklung des Immunsystems bei (Pilla und Suchodolski 2019). Diese Wirkung wird sowohl durch direkte Zell-zu-Zell-Interaktionen als auch über Metaboliten vermittelt (Agus et al. 2018). Diese Metaboliten werden entweder von den Mikroben selbst produziert oder entstehen durch die Umwandlung von Molekülen (Zhang und Davies 2016). Störungen in der Interaktion zwischen Wirt und Mikrobiota können die Entstehung von Krankheiten begünstigen oder Symptome verstärken (Agus et al. 2018). So wird beispielsweise bei Menschen ein reduziertes Vorkommen luminaler kurzkettiger Fettsäuren mit Colitis ulcerosa oder mit einem erhöhten intestinalen Entzündungsgrad in Verbindung gebracht (Zhang und Davies 2016). Die derzeit am besten erforschten Metabolite, welche mit dem Mikrobiom assoziiert sind und mit dem Wirt interagieren, sind fäkale Gallensäuren, Tryptophan-Metabolite sowie kurzkettige Fettsäuren.

Gallensäuren werden in der Leber synthetisiert und von *Peptacetobacter (P.) hiranonis* (früher *Clostridium hiranonis*) im Darm in sekundäre Gallensäuren umgewandelt. Diese üben vielfältige metabolische Feedbackmechanismen auf den Organismus aus (Blacher et al. 2017, Agus et al. 2018). Sekundäre Gallensäuren wirken antiinflammatorisch und hemmen das Wachstum von Bakterien wie *Clostridium perfringens (C. perfringens)*, *C. difficile* und *Escherichia coli* (Duboc et al. 2012, 2013, Shin et al. 2013). Wenn jedoch vermehrt primäre Gallensäuren ausgeschieden werden, etwa durch einen Mangel an *P. hiranonis*, kann dies zu Durchfall führen (Duboc et al. 2012, 2013, Shin et al. 2013, Chaitman und Gaschen 2021). In der Humanmedizin werden primären Gallensäuren außerdem tumorfördernde Eigenschaften zugeschrieben (Duboc et al.

2012, 2013, Shin et al. 2013, Chaitman und Gaschen 2021). Durch eine FMT wird eine Steigerung sowohl der Produktion als auch des Transfers sekundärer Gallensäuren induziert (Chaitman und Gaschen 2021).

Tryptophan ist eine essenzielle aromatische Aminosäure, die von tierischen Zellen nicht selbst produziert wird, weshalb eine Zufuhr über die Nahrung notwendig ist. Es ist jedoch bekannt, dass manche Bakterien, wie beispielsweise *Escherichia (E.) coli*, in der Lage sind, diese Aminosäure herzustellen und in andere Moleküle (z. B. Indol und Serotonin) umzuwandeln (Agus et al. 2018). Diese Stoffwechselprodukte üben einen Einfluss auf den Wirt aus, da sie eine wichtige Rolle im Rahmen von Entzündungsmechanismen, bei Immunreaktionen, neurobiologischen Funktionen sowie der Darmmotilität spielen (Bansal et al. 2010, Agus et al. 2018, Alexeev et al. 2018). So können neuroaktive Metabolite von Tryptophan (z. B. Serotonin, Kynurenin) den extrazellulären Glutamatspiegel senken bzw. erhöhen, was nachweislich bei Angst oder stressbedingten Störungen von Bedeutung ist (Agus et al. 2018). Die Studie von Bansal et al. (2010) zeigt, dass eine erhöhte Indolexposition der Darmepithelzellen zu einer Stärkung der Schleimhautbarriere und einer erhöhten Muzinproduktion führt. Des Weiteren reduziert Indol mehrere proinflammatorische Faktoren (z. B. Interleukin [IL] 8), erhöht antiinflammatorische Faktoren (z. B. IL-10) und wirkt sich negativ auf die Anheftung, Chemotaxis und Motilität pathogener *E. coli* aus (Bansal et al. 2010).

Kurzkettige Fettsäuren (KF) (z. B. Acetat, Butyrat, Propionat) gehören zu den am häufigsten vorkommenden mikrobiellen Metaboliten (Zhang und Davies 2016). Diese entstehen durch die Fermentierung von Ballaststoffen aus der Nahrung durch anaerobe Bakterien und haben ebenfalls zahlreiche Stoffwechselfunktionen (den Besten et al. 2013). So beeinflussen sie beispielsweise den Lipid-, Glukose- und Cholesterinstoffwechsel (den Besten et al. 2013). Durch eine FMT kann eine Erhöhung der Butyrat-produzierenden Bakterienspezies bewirkt werden (Chaitman und Gaschen 2021). KF induzieren die Bildung regulatorischer T-Zellen und fördern somit die Produktion von IL-10, das seinerseits zu einer Modulation der mukosalen Immunantwort und einer verringerten Entzündungsreaktion führt (Arpaia et al. 2013, Khoruts und Sadowsky 2016, Quraishi et al. 2020).

Zusätzlich kann eine FMT die Besiedelung von pathogenen Keimen (z. B. *C. difficile*) erschweren. So wird beispielsweise deren Wachstum durch eine vermehrte Umwandlung von primären in sekundäre Gallensäuren und erhöhte Produktion von Bakteriozinen erschwert (Kelly et al. 2015, Khoruts und Sadowsky 2016, Zuo et al. 2018). Bei Bakteriozinen handelt es sich um Peptide oder bakterielle Proteine, die von Bakterienstämmen produziert werden, das Wachstum anderer Bakterien beeinflussen und meistens inhibieren (Zheng et al. 2015)

Als weiterer Effekt kann die transplantierte Mikrobiota die Integrität der Darmbarriere verbessern, denn kommensale Mikroorganismen steigern die Rekrutierung von Neutrophilen, indem sie die IL-1-Produktion über eine positive Rückkopplungsschleife steigern. IL-1 reguliert die Sekretion von IL-22. Dieses Interleukin spielt eine zentrale Rolle bei der Aufrechterhaltung der intestinalen Barriere, bei epithelialer Proliferation, Wundheilung sowie der Produktion von antimikrobiellen Peptiden und Muzinen. Die erhöhte



Sekretion von Muzin erhöht die Integrität der Darmbarriere, da die Schleimschicht, die die Darmepithelzellen vom Darmlumen trennt, aufgebaut wird (Bansal et al. 2010, Khoruts und Sadowsky 2016). Die zuvor beschriebenen Wirkungsweisen der FMT sind im nebenstehenden ► Kasten als Übersicht dargestellt.

Trotz der zahlreichen positiven Effekte einer FMT führt diese nicht bei jedem Patienten mit akuten oder chronischen gastrointestinalen Symptomen zur Besserung der klinischen Anzeichen. Es ist wichtig, sorgfältig abzuwägen, ob die FMT eine angemessene Therapieoption für den jeweiligen Patienten darstellt.

Einsatzgebiete

In der Humanmedizin wird FMT bei verschiedenen Erkrankungen eingesetzt. Sie gilt beispielsweise als bevorzugte Therapie bei *C. difficile*-Infektionen (Kelly et al. 2015, Kao et al. 2017, Borody et al. 2019). Zudem wird sie mit Erfolg bei Menschen mit extragastrointestinalen Erkrankungen wie beispielsweise hepatischer Enzephalopathie, Psoriasis, metabolischem Syndrom und bei bestimmten Tumorerkrankungen eingesetzt (Turnbaugh et al. 2006, Codling et al. 2010, Machiels et al. 2014, Zou et al. 2018, D'Haens und Jobin 2019, Miyake und Yamamura 2019). Bei Menschen mit metabolischem Syndrom konnte nach der FMT eine höhere Insulinsensi-

tivität festgestellt werden (Zhang et al. 2019) und bei Patienten mit Autismus-Spektrum-Störungen verbesserte die FMT sowohl die gastrointestinalen (Bauchschmerzen, Konstipation, Durchfall, Blähungsgefühl) als auch bestimmte Verhaltensmuster wie z. B. ►

Wirkungsweisen FMT

- Kombination aus **mehreren Effekten** (direkte **Zell-zu Zell-Interaktion**, als auch **Metaboliten**)
- **Erhöhte** Produktion von **Tryptophan** und dessen Metaboliten durch *E. coli* – positive Wirkung auf Entzündungsmechanismen, Immunreaktionen, neurobiologische Funktionen, Darmmotilität und Stärkung der Schleimhautbarriere
- **Erhöhte** Produktion **kurzkettiger Fettsäuren** – positive Wirkung auf Lipid-, Glukose- und Cholesterinstoffwechsel
- **Verringerung** der Ansiedelung **pathogener Bakterien** durch erhöhte Produktion von Bakteriozinen, sekundären Gallensäuren
- **Erhöhung** der **Integrität der Darmbarriere** durch gesteigerte Sekretion von Muzin



Fortbildung

Tab. 1a: In der Literatur und in Kongressberichten berichtete Fälle von fäkaler Mikrobiota-Transplantation bei Hunden – akute Krankheitsbilder

Jahr, Autor	Indikation	Format	Patientenzahl & FMT-Häufigkeit	Verabreichungsmethode	Klinischer Effekt	Effekt auf das Mikrobiom	Kommentare
2014 (Murphy et al. 2014)	Infektionen mit <i>C. perfringens</i> , welche auf Metronidazol oder Amoxicillin-Clavulansäure nicht ansprechen	Fallserie	Acht Hunde; 1–3 FMTs	Einlauf	Sofortiges Verschwinden des Durchfalls nach FMT bei allen Hunden	6/8 Hunde hatten nach der FMT eine negative Kot-PCR für <i>C. perfringens</i> -Toxin	
2016 (Burton et al. 2016)	Welpen im Absetzalter, Durchfall nach der Entwöhnung	Randomisierte klinische Studie	Elf Welpen; 1 x tgl. FMT über fünf Tage, verglichen mit zwölf Hunden mit Placebo	Oral	Kein Unterschied in der Kotkonsistenz	Starke Variabilität des Mikrobioms, keine Anpassung an das Spendermikrobiom	10 ml Kotsuspension (100 g Kot des Muttertiers, gemischt mit 200 ml Kuhmilch mit 2% Fettanteil nach Filtration)
2018 (Pereira et al. 2018)	Parvovirus-Infektion	Nicht randomisierte klinische Studie	33 Welpen mit Standardtherapie und 33 Welpen mit zusätzlicher FMT; innerhalb 6–12 h nach Vorstellung erste FMT + im Abstand von 48 h zweite FMT	Einlauf	Kein Unterschied hinsichtlich Mortalitätsrate, schnellere Verbesserung des Durchfalls und kürzere Klinikaufenthaltsdauer in FMT-Gruppe bei überlebenden Welpen	Nicht untersucht	10 g Kot pro Welpen; 1:1-Verdünnung mit NaCl; mögliche Limitation: FMT-Gruppe statistisch älter als Kontrollgruppe
2019 (Burchell et al. 2019)	AHDS	Randomisierte klinische Studie	Vier Hunde mit FMT, verglichen mit vier Hunden, welchen NaCl verabreicht wurde	Einlauf	Kein Unterschied hinsichtlich der klinischen Entwicklung zwischen den beiden Gruppen	Diversitäts-Index in der FMT-Gruppe verbesserte sich bei Entlassung, aber nicht mehr 30 Tage später	
2019 (Dwyer EL 2019)	16 gesunde Hunde, welche Tylosin erhielten	Randomisierte klinische Studie	Sechs Hunde erhielten 1 FMT mittels Einlauf, sechs Hunde erhielten orale FMTs über 14 Tage und vier Hunde erhielten Placebo-Kapseln	Einlauf und oral	Kein Unterschied in der Kotkonsistenz zwischen den Kontrollhunden und Hunden, welche FMT erhielten – unabhängig, in welcher Verabreichungsform	Normalisierung der quantitativen PCR für <i>P. hiranonis</i> und Faecalibakterien dauerte in Kontrollgruppe länger als bei Hunden mit FMT	
2020 (Chaitman et al. 2020)	Unkomplizierter, akuter Durchfall (< 14 Tage Dauer)	Nicht randomisierte klinische Studie	Elf Hunde erhielten 1 FMT; sieben Hunde erhielten Metronidazol 15 mg/kg alle zwölf Stunden für sieben Tage; vierzehn gesunde Kontrollhunde	Einlauf	Besserer Kot-Score an Tag 7 und Tag 28 in beiden Behandlungsgruppen; besserer Kot-Score in FMT-Gruppe, verglichen mit Metronidazol-Gruppe an Tag 28	Dysbiose-Index besser in FMT-Gruppe als in Metronidazol-Gruppe an Tag 7 und Tag 28; Mikrobiom der FMT-Gruppe gleich dem der gesunden Hunde an Tag 28, Metronidazol-Gruppe nicht	
2021 (Gal et al. 2021)	AHDS	Randomisierte klinische Studie	Acht Hunde	Kolonoskopie	Kein signifikanter Unterschied im AHDS-Index zwischen Hunden mit FMT und Hunden mit Placebo-Therapie	Erhöhte Diversität im Mikrobiom	Der Stuhl wurde bei Raumtemperatur in einem sterilen Mixer in einem Verhältnis von 1 Teil Stuhl/4 Teilen Kochsalzlösung homogenisiert



Jahr, Autor	Indikation	Format	Patientenzahl & FMT-Häufigkeit	Verabreichungsmethode	Klinischer Effekt	Effekt auf das Mikrobiom	Kommentare
2023 (Jugan et al. 2023)	AHDS	Randомisierte klinische Studie	18 Hunde – neun Hunde einmalige FMT + Placebo-Kapseln über 14 Tage, verglichen mit neun Hunden, welche täglich Probiotikum-Kapseln über 14 Tage und einen einmaligen Placebo-Einlauf erhielten	Einlauf	Kein Unterschied im klinischen Schweregrad	Nicht untersucht	10 ml/kg (50 g Kot mit 250 ml NaCl + Glycerol [10%])
2024 (Reisinger et al. 2024)	AHDS	Randомisierte klinische Studie	32 Hunde mit AHDS; 12 Symptomatische Therapie (ST), 12 ST + FMT, 8 ST ± FMT + Antibiotikum (AT)	Einlauf	Kein signifikanter Unterschied im AHDS-Index zwischen den Gruppen, mit Ausnahme von Tag 2 (AHDS-Index > in Antibiotikum-Gruppe, verglichen mit FMT-Gruppe)	Kein signifikanter Unterschied in den Behandlungsgruppen, aber Dysbiose-Index war in der Antibiotikum-Gruppe permanent erhöht und 4/8 Hunde in der AT-Gruppe zeigten reduzierte <i>P. hiranonis</i> am Tag 42	10 g Kot + 6 ml NaCl + 2,5 ml Glycerol; 6 g Rohkot/kg KG

Reizbarkeit, Hyperaktivität, Lethargie, Stereotypie und abweichende Sprache (Vendrik et al. 2020). Auch in der Tiermedizin hat das Interesse an FMT in den letzten Jahren deutlich zugenommen. Trotzdem wurde dieses Gebiet bisher noch wenig erforscht und es stehen nur eine begrenzte Anzahl von Studien zur Verfügung. Die ► Tabellen 1a–c bieten einen Überblick über die vorhandenen Studien zur FMT in der Tiermedizin und unterscheiden dabei zwischen akuten und chronischen gastrointestinalen Erkrankungen sowie extragastrointestinalen Anwendungsgebieten.

Einsatz von FMT bei akuten Krankheitsbildern

Die Studie von Pereira et al. (2018) untersuchte den Einsatz von FMT bei Welpen mit caniner Parvovirose: 66 erkrankte Welpen wurden in die Studie aufgenommen, 33 davon erhielten eine Standardtherapie, bestehend aus intravenöser Infusionstherapie, Antiemetis, Ranitidin und intravenöser Antibiotikatherapie. Die anderen 33 erhielten zusätzlich zur Standardtherapie eine FMT. Diese wurde sechs bis zwölf Stunden nach Beginn der Standardtherapie und dann erneut im Abstand von 48 Stunden durchgeführt. Die überlebenden Welpen in der FMT-Gruppe zeigten eine signifikant schnellere Verbesserung der Kotkonsistenz und zudem konnte die Hospitalisierungszeit von durchschnittlich sechs auf drei Tage verkürzt werden. Die Studie ergab keinen signifikanten Unterschied hinsichtlich der Überlebensrate zwischen den verschiedenen Behandlungsgruppen mit Ausnahme der Welpen, bei denen der Durchfall innerhalb 48 Stunden nachließ. Bei diesen weist die FMT-Gruppe eine signifikant höhere Überlebensrate auf (61,5 % Überlebensrate bei FMT und Standardtherapie, 4,5 % Überlebensrate bei Standardtherapie allein). Eine Limitation der Studie ist allerdings, dass die Welpen, die eine FMT erhalten haben, deutlich älter waren (vier Monate) als die Vergleichsgruppe (drei Monate) (Pereira et al. 2018).

Eine andere Studie untersuchte den Einsatz einer FMT bei Hunden mit akutem hämorrhagischem Durchfallsyndrom (AHDS) (Reisinger et al. 2024). Dieses Krankheitsbild weist sowohl bezüglich der klinischen Anzeichen als auch der histologischen Befunde deutliche Ähnlichkeiten zur Parvovirose auf (Unterer et al. 2014, Pereira et al. 2018, Sindern et al. 2019). In dieser Untersuchung wurden die klinische Verbesserung mithilfe des AHDS-Indexes und die Veränderungen im Mikrobiom anhand des DI evaluiert. Es wurden drei Vergleichsgruppen gebildet: 1. Hunde, die nur eine symptomatische Therapie erhielten, 2. Hunde, die zusätzlich eine FMT bekamen, und 3. Hunde, die zusätzlich Antibiotika (AT-Gruppe) erhielten. Die FMT wurde zweimal im Abstand von 48 Stunden durchgeführt. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen hinsichtlich der klinischen Verbesserung, mit Ausnahme am Tag 2, an dem die AT-Gruppe einen höheren AHDS-Index im Vergleich zur FMT-Gruppe aufwies. Der DI war bei einigen Hunden am Tag 1 erhöht und die Häufigkeit von *P. hiranonis* war verringert. Diese Veränderungen waren jedoch in der symptomatischen Therapie- und der FMT-Gruppe nur vorübergehend. In der AT-Gruppe blieb der DI dauerhaft erhöht und bei vier von acht Hunden war die Häufigkeit von *P. hiranonis* auch am Tag 42 noch verringert (Reisinger et al. 2024). Schlussfolgernd führte bei Hunden mit AHDS weder die FMT noch die Antibiotikabehandlung zu einer schnelleren klinischen Verbesserung.

Eine weitere Studie vergleicht bei Hunden mit akuter, nicht-infektiöser Gastroenteritis zwei Therapiemöglichkeiten (Chaitman et al. 2020). Die Hunde bekamen entweder eine einmalige FMT mittels rektalen Einlaufs oder sieben Tage lang Metronidazol verabreicht. Am Tag 7 besserte sich die Kotkonsistenz bei beiden Gruppen, unterschied sich aber nicht signifikant. Am Tag 28 lag bei der FMT-Gruppe eine deutlich bessere Konsistenz vor. Zudem normalisierte sich der DI bei der FMT-Gruppe ►



Fortbildung

Tab. 1b: In der Literatur und in Kongressberichten berichtete Fälle von fäkaler Mikrobiota-Transplantation bei Hunden – chronische Krankheitsbilder

Jahr, Autor	Indikation	Format	Patientenzahl & FMT-Häufigkeit	Verabreichungsmethode	Klinischer Effekt	Effekt auf das Mikrobiom	Kommentare
2013 (Weese et al. 2013)	Eosinophile IBD, Dauer von 2 Jahren, unzureichend kontrollierbar mit konventioneller Behandlung	Fallbericht	Drei Jahre alter Hund; einmalige FMT	Einlauf	Kotkonsistenz verbesserte sich innerhalb 24 Stunden, klinisch normal für drei Monate mit Ausnahme einer Antibiotika-responsiven Durchfallepisode	Erhöhte Diversität, Mikrobiom glich dem Spendermikrobiom 24 Stunden nach FMT	10 ml/kg KG; unbekannte Konzentration der Kotsuspension; 45 Minuten Verweildauer
2016 (Gerbec 2016)	Verschiedene chronische gastrointestinale Probleme, assoziiert mit Durchfall und Erbrechen	Fallserie	Drei Hunde; einmalige FMT	Mittels Endoskopie (Duodenum)	Klinische Verbesserung für 1–2 Monate, Rezidiv in zwei Hunden, ein Hund stabil	2/3 Hunden Verbesserung des Dysbiose-Indexes	10 ml/kg KG, 1,45 g Rohkot/10 kg KG
2017 (Chaitman et al. 2017)	Chronischer Durchfall, therapieresistent hinsichtlich Diätwechsel oder Antibiotikum; therapieresistente Giardieninfektion	Fallserie	Acht Hunde jünger als acht Monate mit therapieresistenter Giardieninfektion und acht Hunde mit chronischer Enteropathie, welche nicht auf eine Diätumstellung auf eine neuartige Proteinquelle oder Antibiotikum ansprach	Einlauf	Nicht untersucht	Dysbiose-Index hat sich 7 Tage nach FMT normalisiert; erhöhtes Vorkommen von <i>P. hiranonis</i> , Faecalibakterien und verbesserte Konzentration fäkaler primärer Gallensäuren	5 g Kot/kg KG
2017 (Bottero et al. 2017)	IBD, therapieresistent auf konventionelle Therapie	Nicht randomisierte klinische Studie	Sechzehn erwachsene Hunde; schwerwiegende IBD < 1 Jahr Dauer; FMT im Abstand von 48–72 h	Neun Hunde einmalige endoskopische FMT, fünf davon erhielten danach orale FMT, verglichen mit sieben Hunden, welche nur orale FMT erhielten	CCECAI (canine chronic enteropathy clinical activity index) verbesserte sich bei den meisten Hunden nach der FMT, unabhängig der Verabreichungsmethode; Hunde bekamen zusätzlich unterschiedliche Therapie, deshalb erschwerte heterogene klinische Erscheinungsbilder	Nicht untersucht	Hunde < 20 kg erhielten 60–80 g Kot; Hunde > 20 kg: 100–150 g; 1:1-Verdünnung mit NaCl, gefiltert und gemixt mit fettreduziertem Joghurt
2019 (Niina et al. 2019)	IBD, therapieresistent auf Antibiotikum und Immunsuppressiva über längere Zeit	Fallbericht	Zehn Jahre alter Toypudel; neun FMTs innerhalb sechs Monaten	Einlauf	Verbesserter CIBDAI (canine IBD activity index) und bessere Kot-Scores innerhalb der Behandlungsintervalle	Erhöhtes Vorkommen von Fusobakterien, Firmicutes und Bacteroides; erniedrigtes Vorkommen in Proteobakterien; Mikrobiom ähnelte dem des Spenders	3 g Kot/kg KG; 1 Volumen Kot mit 3 Volumen RiLac gemischt
2019 (Sugita et al. 2019)	Intermittierender Dickdarmdurchfall, 4 Monate Dauer, Kot positiv für <i>C. difficile</i> (PCR, Toxin A und B)	Fallbericht	Acht Monate alte französische Bulldogge	Oral	Normalisierung der Kotkonsistenz und der Kotabsatzfrequenz innerhalb 2–3 Tagen	Kein Zurückkommen von <i>C. difficile</i> über 190 Tage	2,5–3 g Kot/kg KG; 30 ml Kotsuspension (60 g Kot in 50 ml Leitungswasser)



Fortbildung

Jahr, Autor	Indikation	Format	Patientenzahl & FMT-Häufigkeit	Verabreichungsmethode	Klinischer Effekt	Effekt auf das Mikrobiom	Kommentare
2021 (Diniz et al. 2021)	Chronischer Dickdarmdurchfall, > 2 Monate; Kot positiv für <i>C. difficile</i>	Fallbericht	Vier Jahre alter Golden Retriever	Kolonoskopie	Kein Durchfall mehr bis sechs Monate nach FMT	<i>C. difficile</i> nicht mehr nachweisbar	65 g Kot in 250 ml Phosphat gepufferte Kochsalzlösung
2021 (Berlanda et al. 2021)	Chronische Enteropathie mit hauptsächlich Dickdarmsymptomen, > 3 Jahre Dauer	Fallbericht	Neun Jahr alter Mischlingshund, zwei FMTs im Abstand von acht Monaten	Oral	Symptomfreiheit bis zu sechs Monate nach zweiter FMT; CCECAI besserte sich von 6 auf 0	Zusammensetzung des Mikrobioms ähnelte den gesunden Hunden	1 Kapsel/Tag für 30 Tage (Animal-Biome Inc.)
2021 (Niina et al. 2021)	IBD	Nicht randomisierte klinische Studie	Neun Hunde; ein FMT	Einlauf	CIBDAI signifikant verbessert in allen Hunden innerhalb drei Tagen	Diversität verbesserte sich, Fusobakterien waren signifikant höher	10 ml/kg Kotsuspension
2021 (Sugita et al. 2021)	Chronische, therapieresistente Enteropathie	Fallbericht	7,5 Jahre alter, männlicher Shiba Inu; ein FMT	Kolonoskopie	Verbesserter CCECAI	Mikrobiom ähnelte dem Spender	FMT in Kombination mit Chlorambucil
2022 (Cerquetella et al. 2022)	Rezidivierende Enteropathie	Fallbericht	Sechs Jahre alter, männlicher Labrador Retriever	Oral	Verbesserter CIBDAI, verminderte Blähungen und Schmerzen beim Kotabsatz, Rückfälle deutlich milder als vor FMT; 18 Monate weiter verfolgt	Nicht untersucht	5 Kapseln/10 kg KG über fünf Tage; jede Kapsel enthielt 650 µl der Kotsuspension + Glycerol; FMT in Kombination mit Prednisolon
2022 (Collier et al. 2022)	IBD	Randomisierte klinische Studie	Dreizehn Hunde (sieben Hunde mit FMT, sechs Hunde Placebo); einmalige FMT	Einlauf	CCECAI signifikant verringert in beiden Gruppen, aber kein Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen	Kein Unterschied in der Alpha-Diversität	FMT in Kombination mit hypoallergener Diät und Prednisolon
2023 (Vecchiato C. 2023)	Hunde mit chronischer Enteropathie, 14 Tage therapieresistent auf Diätumstellung	Fallstudie	Zwanzig Hunde; 1-2 FMTs	Einlauf	Gewichtszunahme, CIBDAI von 5 auf 1 gesunken und Kot-Score von 4 auf 2 gesunken	Medianer Dysbiose-Index von -0,1 auf -2,1 gesunken	
2023 (Torsion et al. 2023)	Hunde mit chronischer Enteropathie unterschiedliche Therapie	Retrospektive Studie	Einundvierzig Hunde; 1-5 (median: 3) FMTs	Einlauf	CIBDAI von 6 auf 2 nach der letzten FMT gesunken, 31/41 Hunden verbesserte sich die Kotqualität; 24/41 Hunden zeigten ein gesteigertes Aktivitätsniveau	Bei Hunden, welche gut auf die FMT ansprachen, war der Dysbiose-Index zu Beginn signifikant niedriger	5-7 g Kot/kg KG
2023 (Alves et al. 2023)	Chronischer Dickdarmdurchfall in Arbeitshunden	Klinische Studie	Dreißig Hunde (15 Hunde Flohsamenschalen mit 16 g/Tag für 30 Tage, 15 Hunde FMT); einmalige FMT	Oral	CIBDAI verbesserte sich in beiden Gruppen, kein Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen	Nicht untersucht	60 g Kot + 250 ml NaCl (60 ml/Hund)
2024 (Rojas et al. 2024)	Hunde mit chronischen gastrointestinalen Symptomen (Durchfall, Erbrechen, Konstipation)	Fallbericht	Vierundfünfzig Hunde	Oral	Nicht untersucht	Kurzkettige Fettsäuren sowie <i>Butyricoccus</i> , <i>Faecalibakterien</i> , <i>Fusobakterien</i> , <i>Megamonas</i> , <i>Sutterella</i> erhöht nach FMT	2 Kapseln/Tag für 25 Tage



Fortbildung

Tab. 1c: In der Literatur und in Kongressberichten berichtete Fälle von fäkaler Mikrobiota-Transplantation bei Hunden – andere Einsatzgebiete

Jahr, Autor	Indikation	Format	Patientenzahl & FMT-Häufigkeit	Verbreichungsmethode	Klinischer Effekt	Effekt auf das Mikrobiom	Kommentare
2023 (Sugita et al. 2023)	Canine atopische Dermatitis (caD)	Pilotprojekt	Zwölf Hunde mit caD verglichen mit 20 gesunden Hunden; einmalige FMT	Oral	Verbesserung in Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index (CADESI) und Pruritus Visual Analog Scale (PVAS)	Fusobakterien und Actinobakterien stiegen nach FMT bei Hunden mit caD an. Alpha-Diversität stieg signifikant 28 Tage nach FMT	4 g Kot/kg KG; Kot mit Leitungswasser gemischt; mittels Spritze oral verabreicht
2023 (Lin et al. 2024)	Kunming Polizeihunde – Auswirkung auf Polizeiarbeit und Transportstress	Randomisierte klinische Studie	20 Hunde – fünf Kontrollhunde, fünf Hunde mit niedrig dosierter FMT, fünf Hunde mit mittlerer FMT-Dosierung, fünf Hunde mit hoher FMT-Dosierung; 14 Tage	Oral	Gesteigerte Wachstumsleistung, Verbesserung der polizeilichen Leistung, geringere Serumstressindikatoren nach Straßentransporten bei Hunden mit FMT; geringere Durchfallrate (größte Wirkung bei niedriger Dosis)	Erhöhte bakterielle Vielfalt und veränderte bakterielle Zusammensetzung (höhere Abundanzen potenziell nützlicher Bakterientaxa) nach FMT	
2023 (Rojas et al. 2023)	Katzen mit chronischen gastrointestinalen Symptomen (Verstopfung, Durchfall, Erbrechen)	Fallserie	46 Katzen; 1–2 Kapseln für 25 Tage	Oral		Das fäkale Mikrobiom reagierte sehr individuell auf die FMT (abhängig von klinischen Symptomen, Trockenfutter, vorheriger Antibiotikaeinnahme); nach der FMT wurden Veränderungen in den relativen Häufigkeiten von Clostridien, Collinsella, Megamonas, Desulfovibrio und Escherichia beobachtet	Kapseln mit lyophilisiertem Kot + Glycerol
2024 (Lee et al. 2024)	Sicherheit und Auswirkungen der FMT auf die periphere Immunantwort bei klinisch gesunden Hunden	Nicht randomisierte klinische Studie	Zehn gesunde Hunde; einmalige FMT	Einlauf	Keine Veränderungen in Blutbild, Serumbiochemie, C-reaktivem Protein, Zytokinen, TNF- α , Leukozyten; leichtes Erbrechen (n = 3), Durchfall (n = 4), verminderte Aktivität (n = 2), Inappetenz (n = 1)	Keine Veränderung im Dysbiose-Index	5 g Kot/kg KG; Kot + Glycerol; gelagert bei -80 °C bis zu sechs Monate

bereits am Tag 7 und am 28. Tag glich das fäkale Mikrobiom nahezu dem von gesunden Hunden. Außerdem konnten eine deutlich größere bakterielle Vielfalt und insbesondere ein erhöhter Gehalt an wünschenswerten Bakterien wie beispielsweise *P. hiranonis* und Faecalibakterien bei der FMT-Gruppe festgestellt werden. Im Gegensatz dazu lag bei der Metronidazol-Gruppe sowohl am Tag 7 als auch am Tag 28 eine Dysbiose vor (Chaitman et al. 2020) (► Tab. 1a).

Einsatz von FMT bei chronischen Krankheitsbildern

Chronische Magen-Darm-Erkrankungen umfassen eine Vielzahl von Krankheiten, die häufig mit Veränderungen im Mikrobiom einhergehen (Ziese und Suchodolski 2021, Suchodolski 2022). Besonders intensiv erforscht wird dabei die entzündliche Darmerkrankung (Inflammatory Bowel Disease, IBD). Bei IBD zeigt sich beispielsweise eine Zunahme von Proteobakterien (wie *E. coli*) und Actinobakterien, während Fusobakterien, Bacteroidaceae, Prevotellaceae



und Clostridiales abnehmen (Ziese und Suchodolski 2021). Darüber hinaus weisen Hunde mit IBD eine deutlich reduzierte Vielfalt und Reichhaltigkeit der fäkalen Mikrobiota auf (Ziese und Suchodolski 2021). Für die Behandlung von IBD werden häufig Mikrobiom-modulierende Therapien wie Probiotika und FMT eingesetzt. Eine Studie zeigt, dass die Verabreichung eines probiotischen Präparats mit mehreren Stämmen über einen Zeitraum von acht Wochen zu einer klinischen Remission und einer Reduktion der histopathologischen Entzündung bei Hunden mit IBD führte (Rossi et al. 2014). Im weiteren Verlauf wird der Einsatz von FMT bei chronischen Erkrankungen näher betrachtet, mit besonderem Fokus auf deren Effekte auf die klinische Verbesserung und die Auswirkungen auf das Mikrobiom.

Die Studie von Niina et al. (2021) untersuchte den Einsatz von FMT bei Hunden mit chronischer Enteropathie. Insgesamt wurden neun Hunde mit lymphoplasmazellulärer Enteritis in die Studie aufgenommen. Vor der Durchführung der FMT wurde die vorherige Therapie bei allen Hunden über einen Zeitraum von einer Woche abgesetzt. Bei allen Hunden verbesserten sich zwei Wochen nach der FMT die klinischen Anzeichen signifikant. Bei drei der neun Hunde wurde das Mikrobiom analysiert und es ergab sich nach erfolgter FMT ein signifikanter Anstieg von wünschenswerten Fusobakterien (Niina et al. 2021).

Eine weitere Studie untersuchte bei 16 Hunden mit chronischem Durchfall die Veränderungen im Mikrobiom nach einer FMT (Chaitman et al. 2017). Von den 16 Hunden hatten acht eine therapieresistente Giardieninfektion und die anderen acht wiesen eine chronische Enteropathie auf, bei der weder durch eine Diätumstellung auf eine neuartige Proteinquelle noch durch die Gabe von Antibiotika eine Besserung erzielt werden konnte. Nach einmaliger rektaler FMT normalisierte sich bei allen 16 Hunden eine Woche später der DI. Zudem stieg die Anzahl von Faecalibakterien und *P. hiranonis* an (Chaitman et al. 2017).

Bei einer weiteren Fallserie wurden bei 16 Hunden mit behandlungsresistenter chronischer Enteropathie die Auswirkungen einer FMT auf die klinischen Symptome evaluiert (Bottero und Ruggiero 2017). Die Transplantation erfolgte in einer Gruppe (n = 9) via Endoskopie ins Duodenum, gefolgt von einer einmaligen oralen FMT oder in einer anderen Gruppe (n = 7) mit mehrmaliger ausschließlich oraler FMT (für einen Monat alle 48 Stunden, anschließend alle 72 Stunden für zwei weitere Monate). Die klinische Verbesserung wurde mit dem Canine IBD Activity Index (CIBDAI) beurteilt und zeigte sowohl nach einem als auch nach drei Monaten der ersten FMT unabhängig von der Gruppe bei den meisten Hunden eine positive Entwicklung. Limitationen sind jedoch, dass die Studiengruppen sehr unter- ▶



Fortbildung

schiedliche klinische Symptome zeigten und während der Studie unterschiedliche Therapien erhielten (Bottero und Ruggiero 2017).

Die Studie von Toresson et al. (2023) analysierte den Einsatz einer FMT bei 41 Hunden mit chronischer Enteropathie. Jeder Hund erhielt zusätzlich zur bestehenden Diät und Therapie zwischen ein und fünf FMTs über einen rektalen Einlauf. Bei 31 von 41 Hunden zeigte sich ein Ansprechen auf die FMT. Dies äußerte sich in einer verbesserten Kotkonsistenz und einer erhöhten Aktivität. Hunde, bei denen die FMT keine Verbesserung der klinischen Symptome bewirkte, wiesen im Vergleich zu Hunden, die positiv auf die Therapie ansprachen, einen signifikant höheren DI auf (Toresson et al. 2023) (► Tab. 1b).

Einsatz von FMT bei Katzen

Die Studienlage zu FMT bei Katzen ist noch unzureichend. Eine Studie von Rojas et al. (2023) untersucht den Einsatz von FMT bei 46 Hauskatzen mit chronischen Verdauungsproblemen. Dabei wurden Katzen mit chronischem Durchfall, Erbrechen und Konstipation in die Studie aufgenommen. Diese Katzen erhielten über einen durchschnittlichen Zeitraum von 25 Tagen eine orale Therapie mit ein bis zwei Kapseln lyophilisierten Kots. Der Kot wurde vor der Behandlung und zwei Wochen nach dem Ende der FMT-Therapie untersucht und mit dem einer gesunden Kontrollgruppe sowie dem der Kotpender mittels 16S rRNA verglichen. Bei allen Katzen wurden Veränderungen in der Zusammensetzung des fäkalen Mikrobioms beobachtet. Die Reaktionen des fäkalen Mikrobioms korrelierten mit den klinischen Symptomen. Nach der FMT wurden Veränderungen in den relativen Häufigkeiten von Clostridien, Collinsella, Megamonas, Desulfovibrio und Escherichia beobachtet.

Furmanski und Mor (2017) beschrieben eine FMT als therapeutische Maßnahme bei einer Abyssinier-Katze mit Kolitis. Diese zeigte eine schnelle Besserung der Kotbeschaffenheit und blieb bis elf Monate nach einer zweiten FMT symptomfrei (Furmanski und Mor 2017).

Die erwähnte Studie und der Fallbericht deuten darauf hin, dass FMT eine vielversprechende Therapieoption auch für Katzen mit verschiedenen Verdauungsproblemen sein könnte. Dennoch sind weitere Studien notwendig, um die optimalen Anwendungsbedingungen und Langzeiteffekte besser zu verstehen.

Einsatz von FMT bei Erkrankungen außerhalb des Magen-Darm-Traktes

Die Anzahl der Studien zu FMT bei Hunden und Katzen mit Krankheiten, die nicht im Gastrointestinaltrakt lokalisiert sind, ist sehr gering. In einer Studie wurden zwölf Hunde mit caniner atopischer Dermatitis (cAD) evaluiert, die zu Beginn der Studie eine reduzierte Diversität im Mikrobiom im Vergleich zu gesunden Hunden aufwiesen (Sugita et al. 2023). Durch die einmalige Gabe einer oralen FMT verbesserten sich der „Canine Atopic Dermatitis Extent and Severity Index“ und „Pruritus Visual Analog“ zwischen den Tagen 0 und 56 signifikant. Darüber erhöhte sich die Diversität des fäkalen Mikrobioms der Empfänger (Sugita et al. 2023) (► Tab. 1c).

Unerwünschte Wirkungen von FMT

In einer Metaanalyse aus dem Jahr 2021 wurden Daten in der Humanmedizin von 756 FMTs bei 388 Patienten mit *Clostridioi-*

des difficile-Infektionen ausgewertet. Die gepoolte Gesamtrate der unerwünschten Wirkungen lag bei 39,3 %, wobei die meisten davon sehr mild und selbstlimitierend waren (Winston et al. 2024). Es handelte sich um Symptome wie Blähungen, Übelkeit, Verstopfung, Kopfschmerzen, Schwindel oder Fieber (Michailidis et al. 2021). Hochgradige Folgeerscheinungen zeigten sich bei 5,3 % der Patienten. Die davon am häufigsten gemeldete war eine Infektion mit *C. difficile* (Michailidis et al. 2021). Geringgradige unerwünschte Symptome wie Fieber, Durchfall, Erbrechen, Inappetenz und abdominale Dolenz wurden bei einer Gruppe von Koloniekatzen und Katzen mit chronischer Enteropathie beschrieben (Winston et al. 2024). In einer anderen Studie mit Hunden, bei denen ein Überwachungssystem zur Erkennung von Nebenwirkungen vorhanden war, wurden derartige Anzeichen nicht beobachtet (Lee et al. 2024). Viele weitere Studien zu FMTs bei Hunden und Katzen (Niina et al. 2019, Chaitman et al. 2020, Niina et al. 2021, Rojas et al. 2023, Toresson et al. 2023) berichten ebenfalls nur in sehr wenigen Fällen über unerwünschte Wirkungen, jedoch bleibt unklar, ob diese Studien das Auftreten von diesen wirklich überprüften. Daher sind weitere Studien zur Untersuchung von unerwünschten Folgeerscheinungen nach FMT in der Tiermedizin notwendig. Basierend auf den Guidelines (Winston et al. 2024) lässt sich aufzeigen, dass mehrere Faktoren bei der Entwicklung von FMT-bedingten Nebenwirkungen eine Rolle spielen können. Dazu gehören die Methode der FMT-Verabreichung, das Vorhandensein von Komorbiditäten, die Immunkompetenz des Empfängers, die gleichzeitige Einnahme von Medikamenten, die Integrität der Darmschleimhautbarriere und die Strenge des Kotpender-Screenings. Bei immunsupprimierten Empfängern (z. B. Hunde mit Parvovirose oder gleichzeitige Therapie mit Glukokortikoiden) scheint FMT eine sichere Therapieoption zu sein, wie in verschiedenen Studien aufgezeigt werden konnte (Green et al. 2020, Sugita et al. 2021, Cerquetella et al. 2022, Collier et al. 2022).

Indikationen

Schlussfolgernd ist festzustellen, dass FMT eine vielversprechende Therapieoption bei verschiedenen Erkrankungen darstellt. Dennoch besteht noch erheblicher Forschungsbedarf. Die vorliegenden Daten legen nahe, dass Hunde mit akuten Krankheitsbildern in der Regel positiv auf eine FMT reagieren können (Pereira et al. 2018, Chaitman et al. 2020, Chaitman und Gaschen 2021, Gal et al. 2021). Insbesondere bei Hunden mit akutem unkompliziertem Durchfall kann eine einzelne FMT helfen, eine Normbiose schneller herzustellen und potenziell enteropathogene Keime zu verdrängen (Chaitman et al. 2020, Chaitman und Gaschen 2021). Dies hat zudem den Vorteil, den Gesamtverbrauch von Antibiotika bei der Behandlung akuter Gastroenteritiden zu reduzieren und die Entwicklung von Antibiotikaresistenzen einzudämmen. Bei Hunden mit Giardieninfektionen kann eine FMT ebenfalls dazu beitragen, die klinischen Symptome zu verbessern (Chaitman et al. 2017, Chaitman und Gaschen 2021). Bei Hunden mit Parvovirose können die Hospitalisierungszeit sowie die Dauer bis zur Verbesserung der Kotkonsistenz durch den Einsatz einer FMT signifikant verkürzt werden. Daher gilt es, eine FMT als zusätzliche Standardtherapie bei Hunden mit Parvovirose in Betracht zu ziehen (Pereira et al. 2018). Bei Hunden mit AHDS zeigen sich hingegen keine signifikant



positiven klinischen Effekte einer FMT (Gal et al. 2021, Reisinger et al. 2024). Zusammenfassend lässt sich sagen, dass eine FMT bei akutem, unkompliziertem Durchfall und therapieresistenter Giardieninfektion dazu beitragen kann, die klinischen Symptome zu verbessern. Bei Hunden mit Parvovirose ist eine FMT zudem als zusätzliche Therapieoption in Betracht zu ziehen.

Studien zeigen ebenfalls vielversprechende Ergebnisse für die Anwendung von FMTs als Therapieoption bei Hunden mit chronischen Darmerkrankungen (Bottero und Ruggiero 2017, Chaitman et al. 2017, Niina et al. 2019, 2021, Toresson et al. 2023). Es ist jedoch wichtig, zu beachten, dass die Verbesserung nach einer FMT bei Hunden mit chronischem Durchfall oft nur vorübergehend ist, insbesondere wenn die zugrunde liegende Darmerkrankung bestehen bleibt (Chaitman und Gaschen 2021). Eine andere Studie untersuchte den Einsatz eines Probiotikums bei Yorkshire-Terriern mit IBD. Hier wurde festgestellt, dass Hunde, die sich klinisch besserten und als in Remission eingestuft wurden, weiterhin eine Dysbiose aufwiesen (Doulidis et al. 2023). Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass bei chronischen Darmerkrankungen trotz klinischer Besserung nicht zwangsläufig eine Normalisierung des Mikrobioms eintritt und Mikrobiom-modulierende Therapien (inklusive FMT) möglicherweise keine langfristigen Effekte haben. Aus diesem Grund sind

in den meisten Fällen mehrere FMTs erforderlich. Zudem ist die FMT bei chronischen Darmerkrankungen nicht die Behandlungsmethode erster Wahl. Sie kann aber als zusätzliche Komponente im Rahmen einer multifaktoriellen Behandlungsstrategie oder bei unzureichendem Ansprechen auf die gängigsten Therapien hilfreich sein. Die Häufigkeit der Transplantationen kann stark variieren und muss individuell angepasst werden (Chaitman und Gaschen 2021). Es ist in jedem Fall entscheidend, die zugrunde liegende Ursache des chronischen Durchfalls zu identifizieren und angemessen zu behandeln. Bei chronischen Beschwerden sollten daher parasitäre Infektionen, (atypische) Addison-Krankheit, exokrine Pankreasinsuffizienz und Futtermittel-responsive Enteropathie ausgeschlossen werden, bevor eine FMT durchgeführt wird (Chaitman und Gaschen 2021). Darüber hinaus kann die Bestimmung des DI vor der FMT helfen, den Schweregrad der Verschiebung der intestinalen Mikrobiota in Richtung Dysbiose einzuschätzen (Suchodolski et al. 2012, Chaitman und Gaschen 2021). Allerdings fehlen derzeit verlässliche Parameter, um das Ansprechen auf eine FMT vorherzusagen. Bei Hunden mit einer sehr deutlichen Dysbiose ist möglicherweise keine oder nur eine kurze klinische Verbesserung mittels der FMT zu erreichen, sodass Wiederholungen des Verfahrens erforderlich sein können (Toresson et al. 2023). Die Autoren des vorliegen- ▶



Fortbildung

den Artikels machten die Erfahrung, dass bei einigen Hunden und Katzen mittels FMT positive Effekte hinsichtlich ihres klinischen Verlaufs erzielt werden konnten, die allgemein bzw. insbesondere im Welpenalter Antibiotika erhielten. Bei diesen Tieren bestand die Vermutung, dass sich durch die antibiotische Behandlung eine langfristige Veränderung des intestinalen Mikrobioms entwickelt hatte. Die Tiere zeigten chronischen Durchfall und mangelnde Gewichtszunahme, was auf die intestinale Dysbiose zurückgeführt werden könnte. Die klinischen Symptome besserten sich deutlich infolge der Durchführung von FMTs (nicht publizierte Daten).

Die Häufigkeit und entsprechende Wiederholungen der FMTs variieren zwischen den einzelnen Patienten. Bei Hunden mit akuten Erkrankungen sind, aus den vorliegenden Studien zu entnehmen, weniger FMTs pro Patienten erforderlich als bei chronischen Erkrankungen (Pereira et al. 2018, Chaitman et al. 2020). In der bereits genannten Studie bei Hunden mit Parvovirose waren durchschnittlich 1,8 FMTs pro Patient notwendig (Pereira et al. 2018). Eine Umfrage unter Tierärzten zeigte, dass etwa zwei Drittel der Teilnehmer FMTs bei Hunden mit chronischen Darmerkrankungen mehr als einmal durchführten, wobei die Intervalle zwischen den Behandlungen von täglich bis alle zwei Wochen reichten (Salavati Schmitz 2022).

In einer retrospektiven Studie, die die Wirkung von FMT bei 41 Hunden mit chronischer Enteropathie untersuchte, erhielt jeder Hund durchschnittlich drei FMTs über einen rektalen Einlauf, zumeist im Abstand von zehn bis 20 Tagen (Toresson et al. 2023). Dabei zeigte sich bei 74 % der Hunde nach der zweiten FMT ein besseres klinisches Ansprechen im Vergleich zur ersten FMT (Toresson et al. 2023). Die Häufigkeit der FMTs ist – ungeachtet des Krankheitsbildes – von mehreren Faktoren abhängig. Hierzu gehören das klinische Ansprechen, mögliche Nebenwirkungen sowie die Bereitschaft der Besitzer und Patienten, die Behandlung fortzusetzen (Winston et al. 2024).

Im Bereich der Veterinärmedizin besteht noch erheblicher Forschungsbedarf bezüglich des Einsatzes von FMTs bei Krankheitsbildern, die außerhalb des Magen-Darm-Trakts liegen. Bei Hunden mit caniner atopischer Dermatitis kann eine FMT als zusätzliche Therapieoption in Betracht gezogen werden. In der Humanmedizin liegen vielversprechende Studien zum Einsatz von FMTs bei neurologischen Erkrankungen, Diabetes und Adipositas vor. Daher könnte zukünftig untersucht werden, ob bei diesen Krankheitsbildern in der Veterinärmedizin ebenfalls eine klinische Verbesserung infolge einer FMT zu erwarten ist.

Praktische Durchführung

Der geeignete Spender (Chaitman und Gaschen 2021, Winston et al. 2024)

Ein geeigneter Spender ist älter als ein Jahr und jünger als 75 % seiner erwarteten Lebensspanne. Er ist nicht über- und nicht untergewichtig (BCS 4–6/9), sinnvoll ist eine Größe von > 15 kg (Hund), > 4 kg (Katze), damit genügend Kot produziert wird. Es gibt keine Anhaltspunkte, dass sich bestimmte Hunde-/Katzenrassen besonders als Spender oder im Gegenteil nicht als Kotspender eignen (Winston et al. 2024). Spendertiere sollen grundsätzlich gesund sein und insbesondere keine chronischen gastrointestinalen Anzei-

chen innerhalb der letzten vier Monate, Verhaltensauffälligkeiten, bekannte Allergien, Autoimmunerkrankungen oder neoplastische Erkrankungen aufweisen (Winston et al. 2024). Bei akuten gastrointestinalen Symptomen (< zwei Wochen) wird das Tier über einen Zeitraum von drei Monaten nicht als Spender herangezogen und vor dem nächsten Einsatz muss ein erneutes Spenderscreening durchgeführt werden. Aufgrund geografischer Unterschiede im Vorkommen spezifischer Infektionserreger (z. B. Lungenwürmer) und des Vorberichts über Aufenthalt in einem Tierheim/-pension und Auslandsreisen empfiehlt es sich, individuell zugeschnittene Untersuchungen durchzuführen, um potenzielle subklinische Infektionen und Reisekrankheiten auszuschließen. Katzenspender sollten als Wohnungskatze in Ein-/Zwei- oder Dreikatzenhaushalten ohne Wechsel und Neuzugänge gehalten werden, um das Risiko der Übertragung von Infektionserregern zu minimieren. Idealerweise darf keine antibiotische Therapie innerhalb der letzten zwölf Monate bei einem potenziellen Spender durchgeführt worden sein. Zusätzlich soll ein Spendertier keine Medikamente erhalten, welche das intestinale Mikrobiom verändern können (z. B. Säureblocker). Im Allgemeinen führt die Ernährung zu keiner starken Veränderung des intestinalen Mikrobioms. Allerdings zeigt eine Studie, dass hochverdauliche, ballaststoffreiche Diäten mit moderatem Proteingehalt das Mikrobiom positiv beeinflussen können. Dies geschieht hierbei vor allem durch die erhöhte Bildung von Butyrat (Pilla und Suchodolski 2021, Takáčová et al. 2022). Eine entsprechende Ernährung könnte somit das Spendermikrobiom positiv beeinflussen. Es erscheint hinsichtlich Ernährung sinnvoll, auf Rohfleischfütterung bei einem Spender zu verzichten. Dies liegt daran, dass Hunde, die BARF-Diäten erhalten, häufiger Träger potenziell enteropathogener Keime sind und der oft hohe Gehalt an Fett und Protein zu einer entsprechenden Verschiebung der Bakterienkomposition führen kann (Pilla und Suchodolski 2021). Vor der Spende muss ein Screening, welches sowohl Kot- als auch Blutuntersuchungen beinhaltet, durchgeführt werden. Es muss eine Kotuntersuchung erfolgen, die eine Flotation, einen Test auf *Giardia duodenalis*, DI sowie bei Katzen eine *Tritrichomonas foetus*-PCR umfasst. Ein Screening auf enteropathogene Keime (*C. difficile*, Kryptosporidien, *Salmonella* spp., *Campylobacter jejuni*) ist nicht zwingend erforderlich, aber empfehlenswert. In Einzelfällen kann ein Larvenauswanderungsverfahren sinnvoll sein, um einen Befall von Endoparasiten auszuschließen. Katzen sollten FIV und FeLV negativ sein und keine Coronaviren ausscheiden. Der DI, gemessen im Kot eines Spenders, sollte möglichst deutlich im negativen Bereich, aber zumindest kleiner als null sein. Bakterielle Kulturen von Kotproben eignen sich nicht zur Beurteilung einer Normo- versus Dysbiose. Ein Blutbild sowie eine Serumchemie, eventuell inklusive Vitamin B₁₂ und Folsäure, sollen sicherstellen, dass es sich bei einem Spender um ein gesundes Tier handelt. Generell wird empfohlen, den Spender mindestens alle sechs Monate zu testen. Der nebenstehende ► Kasten fasst das oben Genannte erneut zusammen und gibt einen Überblick über die Anforderungen an die Spendertiere.

Verarbeitung des Kots (Chaitman und Gaschen 2021, Takáčová et al. 2022, Winston et al. 2024)

Der Kot des geeigneten Spenders soll bei der Verarbeitung bzw. Verabreichung möglichst frisch sein (maximal zwei bis sechs Stun-



Fortbildung

den). Ist es nicht möglich, eine Kotprobe sofort zu verarbeiten und verabreichen, dann sollte diese in der Zwischenzeit in einem Kühlschrank (4 °C) gelagert werden. Bei direkter Verabreichung, ohne Asservierung, empfiehlt es sich, den Kot mit physiologischer Kochsalzlösung (0,9 % NaCl) zu mischen. Für eine Asservierung wird zusätzlich Glycerol zu einer Endkonzentration von 10 % hinzugefügt und die Probe anschließend sofort eingefroren. Das Glycerol verlängert die Haltbarkeit des Kots, sodass er gefroren bei mindestens -20 °C (bevorzugt -80 °C) bis zu sechs Monate gelagert werden kann.

Der zubereitete Kot weist am besten eine apfelmusartige Konsistenz auf, um diesen leicht durch eine Sonde befördern zu können. Eine zu flüssige Konsistenz ist nicht von Vorteil, da so das Volumen erhöht wird und ein rascher Kotabsatz oder ein unerwünschtes Auslaufen nach der FMT begünstigt werden könnte. Je nach Konsistenz des Spenderkots haben sich auf 10 g Kot etwa 10–12 ml 0,9 % NaCl bewährt.

Zuerst wird der Kot abgewogen und von groben Verunreinigungen (z. B. Blätter) befreit. Der Kot wird mit 0,9 % NaCl mittels Pürerstab, Standmixer oder in einem Stomacherbag vermengt. Die Suspension sollte anschließend durch ein handelsübliches Sieb gestrichen werden, um gröbere Bestandteile zu entfernen. Anschließend kann der Kot mit Spritzen (z. B. 100-ml-Spritze ▶

Profil eines geeigneten Spendertieres für eine FMT

1 Anamnese

- > 1 Jahr, < 75 % erwartete Lebensspanne
- BCS 4–6/9
- > 15 kg (Hund), > 4 kg (Katze) für ausreichend große Kotspenden
- Keine chronischen gastrointestinalen Anzeichen, Verhaltensauffälligkeiten, Allergien, autoimmunmedierte Erkrankungen, Neoplasien
- Keine antibiotische Therapie innerhalb der letzten zwölf Monate
- Keine bestimmte Diät nötig, im besten Fall Fütterung von hochverdaulicher, moderater protein- und ballaststoffreicher Nahrung, Verzicht auf Rohfleischgabe

2 Kotuntersuchung

- Notwendig:
 - Flotation, *Giardia* spp., *Trichostrongylus axei* (Katze)
 - ggf. Larvenauswanderungsverfahren
 - Dysbiose-Index < 0
- Empfehlenswert:
 - pathogene Erreger (*C. difficile*, Kryptosporidien, *Salmonella* spp., *Campylobacter jejuni*, Coronavirus [Katze])

3 Blutuntersuchung

- Blutbild
- Serumprofil
- Ggf. Folsäure, Vitamin B₁₂
- Katzen: FeLV/FIV



Fortbildung

mit einem großen Konus) aufgezogen werden. Die nachfolgenden
 ► Abbildungen 1–7 wurden in der medizinischen Kleintierklinik der LMU München aufgenommen und zeigen die Verarbeitung des Kots.

Verabreichung des Kots

Vor der FMT mittels rektalen Einlaufs ist es ratsam, dass der Empfänger kurz vor dem Eingriff erneut Kot absetzt. Zusätzlich emp-

fehlt es sich, den Patienten an diesem Tag nüchtern zu lassen. Eine vorherige Abführung des Empfängers ist aber nicht dringend notwendig. Eingefrorener Kot sollte im Wasserbad mit 37 °C schonend aufgetaut und zeitnah verwendet werden. Einmal aufgetauter Kot sollte nicht wieder eingefroren werden. Der Katheter muss entsprechend der Größe des Empfängers angepasst werden und kann von einer großen Ernährungs- sonde (> 4 mm Durchmesser) (Katzen, kleine Hunde) bis zu einem Rektalkatheter aus der Human-

Fotos: Medizinische Kleintierklinik der LMU München



Abb. 1: Kot abwägen und von etwaigen größeren Verschmutzungen (z. B. Ästen oder Blättern) befreien. Anschließend Kot in ein zum Mixen geeignetes Gefäß geben.



Abb. 2: Wenn der Kot sofort verabreicht werden soll: Zugabe von 10–12 ml 0,9% NaCl per 10 g Kot . Wenn der Kot gefroren werden soll: Zugabe einer 85% Glycerol-Lösung (Menge 10% der hergestellten Suspension).



Abb. 3 und 4: Kot und NaCl/ NaCl-Glycerol-Mischung mittels Pürierstab/Standmixer vermengen. Als Alternative eignet sich auch ein Stomacherbag.



Fortbildung

medizin (ca. 1 cm Durchmesser) (mittelgroße bis große Hunde) reichen. Der Katheter wird vor dem Einführen mit Kot befüllt, um ein unnötiges Applizieren von Luft zu verhindern. Gleitgel auf der Rektalsonde erleichtert das Einführen. Die meisten Studien verwenden 2,5–5 g Rohkot pro kg Körpergewicht (Chaitman und Gaschen 2021, Toresson et al. 2023). Grundsätzlich hat sich bei Hunden bis 30 kg Körpergewicht die Verabreichung von 5 g Rohkot pro kg bewährt, während bei Katzen und Hunden über 30 kg eine Menge von 2,5–3 g pro kg ausreichend ist. Nach der FMT sollte der Kot nach Möglichkeit wenige Stunden im Colon verbleiben. Hunde sollten aus diesem Grund nicht sofort ausgeführt und Katzen noch eine Weile in der Box gehalten werden. Eine Sedierung ist zur Durchführung einer FMT in der Regel nicht nötig, kann aber in manchen Fällen (sehr gestresste Patienten) sinnvoll sein, um ein frühzeitiges Ausscheiden des Transplantats zu vermeiden. Allerdings gibt es keine Studien bezüglich der Auswirkung einer Sedierung auf die Verweildauer oder Wirksamkeit der FMT (Winston et al. 2024). Es gibt keine Empfehlung bezüglich der Lageposition der Tiere, allerdings hat sich bei wachen Patienten eine Verabreichung im Stehen immer bewährt.

Weitere Verabreichungsarten sind, den Kot endoskopisch in den proximalen Teil des Dünndarms oder in den Dickdarm der Patienten zu transplantieren (Gal et al. 2021). Auch eine Verabreichung per Sonde in den Magen ist möglich. In der Humanmedizin lieferten diese Verabreichungsmethoden ebenfalls zufriedenstellende Ergebnisse, allerdings zeigten viele Patienten nach Verabreichung in den Magen Blähungen und Übelkeit (Cammarota et al. 2017, Dailey et al. 2019). Eine weitere und neuere Möglichkeit ist, den Kot zu lyophilisieren, was eine Form des Gefriertrocknens darstellt. Der Kot wird dadurch zu einem Pulver, welches wiederum in Kapseln oral oder aufbereitet mit NaCl rektal den Patienten verabreicht werden kann (Carapeto et al. 2023). In der Studie von Carapeto et al. (2023) wurden fünf Hunden über vier Monate Kapseln mit

gefriergetrocknetem Kot verabreicht. 3/5 Hunde zeigten vor der Behandlung chronischen Durchfall; die anderen zwei Hunde dienten als gesunde Vergleichsgruppe. Die Kotkonsistenz verbesserte sich und blieb bei 2/3 Hunden mit Durchfall auch nach Beendigung der FMT stabil. Zudem verschob sich die Zusammensetzung der Mikrobiota in Richtung des Spenders.

Auf die Wiederholungsintervalle und Häufigkeiten der FMT wurde bereits im oberen Abschnitt eingegangen. Der folgende ▶



Fotos: Medizinische Kleintierklinik der LMU München

Abb. 5: Kotsuspension durch ein Haushaltssieb streichen



Abb. 6 und 7: Anschließend Kotsuspension in Spritze mit großem Konus aufziehen und sofort verabreichen oder bei mind. –20 bis –80 °C asservieren



Fortbildung

► Kasten gibt erneut einen kurzen Überblick über die einzelnen Schritte und die dabei zu beachtenden Anforderungen bei der Durchführung einer FMT. Zudem zeigen die ► Abbildungen 8 und 9 die Durchführung der FMT an zwei unterschiedlichen Hunden.

Durchführung der FMT

- 1** Empfängervorbereitung
 - Nüchtern und am besten kurz vor der FMT erneuter Kotabsatz
 - Abführen nicht zwingend erforderlich
- 2** Benötigtes Material
 - Katheter passend zur Größe des Empfängers (Rektalkatheter oder Ernährungssonden)
 - Gefrorene Kotsuspensionen zwei bis drei Stunden vor der Verabreichung im Wasserbad schonend erwärmen
 - Katheter mit Kot befüllen, um Luftapplikation zu vermeiden
 - Katheter mit Gleitgel bestreichen
- 3** Durchführung
 - Katheter vorsichtig in das Rektum des Empfängers einführen und Kot langsam applizieren
 - Empfohlene Menge 2,5–5 g Rohkot/kg KG
 - Nach der Applikation Zurücksetzen der Patienten in die Box/Ruhhaltung, um ein vorzeitiges Ausscheiden zu vermeiden
- 4** Wiederholungen
 - Individuell unterschiedlich
 - Abhängig von klinischem Ansprechen, Auftreten von Nebenwirkungen, Compliance von Besitzer und Patient
 - Bei akuten Erkrankungen: häufig nur ein bis zwei Transplantationen über kürzeren Zeitraum notwendig
 - Bei chronischen Erkrankungen: häufig mehrere \pm 3 Transplantationen über alle zwei bis vier Wochen notwendig

Schlussfolgerung

In der Veterinärmedizin bedarf es weiterer Studien, um das Thema FMT zu untersuchen. Nicht nur hinsichtlich des therapeutischen Effekts bei gastrointestinalen Problemen, sondern auch bei Erkrankungen anderer Organsysteme sollte die Rolle von FMTs bewertet werden. Neben dem therapeutischen Nutzen ist auch weitere Forschung im Bereich Lagerung und Verabreichung erforderlich. Aktuell ist die FMT noch zeitaufwendig, aber in absehbarer Zukunft wird sich auch in der Tiermedizin die Verabreichung vereinfachen, sodass wiederholte Behandlungen nicht mehr so anspruchsvoll zu planen sind und der Einsatz auch in der Praxis realisierbar wird. Die Entwicklung von sogenannten Kotbanken mit geeigneten Spendern, das Potenzial von gefriergetrockneten Produkten und anderen Verabreichungswegen bilden hierbei den Grundstock. Abschließend lässt sich sagen, dass eine FMT ein sicheres, gut verträgliches und wenig invasives Verfahren ist, das grundsätzlich in jeder Tierarztpraxis durchgeführt werden kann. Nach derzeitigem Wissensstand erscheint eine FMT vor allem als ergänzende Mikrobiom-modulierende Therapie bei Hunden mit Parvovirus-Enteritis, Antibiotika-induzierten Dysbiosen und chronischen Enteropathien bei Hunden und Katzen sinnvoll. ■

Conflict of interest

Die Autoren versichern, dass keine geschützten, beruflichen oder anderweitigen persönlichen Interessen an einem Produkt oder einer Firma bestehen, welche die in dieser Veröffentlichung genannten Inhalte oder Meinungen beeinflussen können.

Literatur

- Agus A, Planchais J, Sokol H (2018): Gut Microbiota Regulation of Tryptophan Metabolism in Health and Disease. *Cell Host Microbe* 23(6): 716–724.
- Alexeev EE, Lanis JM, Kao DJ, Campbell EL, Kelly CJ, Battista KD, Gerich ME, Jenkins BR, Walk ST, Kominsky DJ, Colgan SP (2018): Microbiota-Derived Indole Metabolites Promote Human and Murine Intestinal Homeostasis through Regulation of Interleukin-10 Receptor. *Am J Pathol* 188(5): 1183–1194.
- Agus A, Planchais J, Sokol H (2018): Gut Microbiota Regulation of Tryptophan Metabolism in Health and Disease. *Cell Host Microbe* 23(6): 716–724.

Fotos: Medizinische Kleintierklinik der LMU München



Abb. 8: Vorsichtiges Einführen des Katheters in das Kolon des Patienten. Katheter vorher mit Kot fluten, um ein unnötiges Applizieren von Luft zu verhindern.



Abb. 9: Vollständige Verabreichung der Kotsuspension. Empfohlen werden 2–5 g Rohkot/kg Körpergewicht.

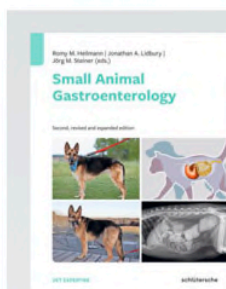


- Alexeev EE, Lanis JM, Kao DJ, Campbell EL, Kelly CJ, Battista KD, Gerich ME, Jenkins BR, Walk ST, Kominsky DJ, Colgan SP (2018): Microbiota-Derived Indole Metabolites Promote Human and Murine Intestinal Homeostasis through Regulation of Interleukin-10 Receptor. *Am J Pathol* 188(5): 1183–1194.
- AlShawaqfeh MK, Wajid B, Minamoto Y, Markel M, Lidbury JA, Steiner JM, Serpedin E, Suchodolski JS (2017): A dysbiosis index to assess microbial changes in fecal samples of dogs with chronic inflammatory enteropathy. *FEMS Microbiol Ecol* 93(11).
- Arpaia N, Campbell C, Fan X, Dikiy S, van der Veen J, deRoos P, Liu H, Cross JR, Pfeffer K, Coffey PJ, Rudenski AY (2013): Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T-cell generation. *Nature* 504(7480): 451–455.
- Bansal T, Alaniz RC, Wood TK, Jayaraman A (2010): The bacterial signal indole increases epithelial-cell tight-junction resistance and attenuates indicators of inflammation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107(1): 228–233.
- Barry KA, Middelbos IS, Vester Boler BM, Dowd SE, Suchodolski JS, Henrisat B, Coutinho PM, White BA, Fahey GC Jr, Swanson KS (2012): Effects of Dietary Fiber on the Feline Gastrointestinal Metagenome. *J Proteome Res* 11(12): 5924–5933.
- Blacher E, Levy M, Tatrovsky E, Elinav E (2017): Microbiome-Modulated Metabolites at the Interface of Host Immunity. *J Immunol* 198(2): 572–580.
- Borody TJ, Eslick GD, Clancy RL (2019): Fecal microbiota transplantation as a new therapy: from Clostridioides difficile infection to inflammatory bowel disease, irritable bowel syndrome, and colon cancer. *Curr Opin Pharmacol* 49: 43–51.
- Bottero E BE, Ruggiero P (2017): Fecal microbiota transplantation (FMT) in 16 dogs with idiopathic IBD. *Veterinaria* 31(1): 31–45.
- Cammarota G, Ianaro G, Tilg H, Rajlic-Stojanovic M, Kump P, Satokari R, Sokol H, Arkkila P, Pintus C, Hart A, Segal J, Aloï M, Masucci L, Molinaro A, Scaldaferrì F, Gasbarrini G, Lopez-Sanroman A, Link A, de Groot P, de Vos WM, Hogenauer C, Malfertheiner P, Mattila E, Milosavljević T, Nieuwdorp M, Sanguinetti M, Simren M, Gasbarrini A, European FMTWG (2017): European consensus conference on faecal microbiota transplantation in clinical practice. *Gut* 66(4): 569–580.
- Carapeto S, Cunha E, Serrano I, Pascoal P, Pereira M, Abreu R, Neto S, Antunes B, Dias R, Tavares L, Oliveira M (2023): Effect of the Administration of a Lyophilised Faecal Capsules on the Intestinal Microbiome of Dogs: A Pilot Study. *Genes (Basel)* 14(9).
- Cerquetella M, Marchegiani A, Rossi G, Trabalza-Marinucci M, Passamonti F, Isidori M, Rueca F (2022): Case Report: Oral Fecal Microbiota Transplantation in a Dog Suffering From Relapsing Chronic Diarrhea-Clinical Outcome and Follow-Up. *Front Vet Sci* 9: 893342.
- Chaitman J, Gaschen F (2021): Fecal Microbiota Transplantation in Dogs. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 51(1): 219–233.
- Chaitman J, Guard B, Sarwar F, Lidbury J, Steiner J, Suchodolski J (2017): Fecal microbial transplantation decreases the dysbiosis index in dogs presenting with chronic diarrhea. *J Vet Intern Med* 31: 1287.
- Chaitman J, Ziese AL, Pilla R, Minamoto Y, Blake AB, Guard BC, Isaiah A, Lidbury JA, Steiner JM, Unterer S, Suchodolski JS (2020): Fecal Microbial and Metabolic Profiles in Dogs With Acute Diarrhea Receiving Either Fecal Microbiota Transplantation or Oral Metronidazole. *Front Vet Sci* 7: 192.
- Codling C, O'Mahony L, Shanahan F, Quigley EM, Marchesi JR (2010): A molecular analysis of fecal and mucosal bacterial communities in irritable bowel syndrome. *Dig Dis Sci* 55(2): 392–397.
- Collier AJ, Gomez DE, Monteith G, Plattner BL, Verbrugghe A, Webb J, Weese JS, Blois SL (2022): Investigating fecal microbial transplant as a novel therapy in dogs with inflammatory bowel disease: A preliminary study. *PLoS One* 17(10): e0276295.
- D'Haens GR, Jobin C (2019): Fecal Microbial Transplantation for Diseases Beyond Recurrent Clostridium Difficile Infection. *Gastroenterology* 157(3): 624–636.
- Dailey FE, Turse EP, Daglilar E, Tahan V (2019): The dirty aspects of fecal microbiota transplantation: a review of its adverse effects and complications. *Curr Opin Pharmacol* 49: 29–33.
- den Besten G, van Eunen K, Groen AK, Venema K, Reijngoud DJ, Bakker BM (2013): The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *J Lipid Res* 54(9): 2325–2340.
- Doulidis PG, Galler AI, Hausmann B, Berry D, Rodríguez-Rojas A, Burgener IA (2023): Gut microbiome signatures of Yorkshire Terrier enteropathy during disease and remission. *Sci Rep* 13(1): 4337.
- Duboc H, Rainteau D, Rajca S, Humbert L, Farabos D, Maubert M, Grondin V, Jouet P, Bouhassira D, Seksik P, Sokol H, Coffin B, Sabate JM (2012): Increase in fecal primary bile acids and dysbiosis in patients with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterol Motil* 24(6): 513–520, e246–517.
- Duboc H, Rajca S, Rainteau D, Benarous D, Maubert MA, Quervain E, Thomas G, Barbu V, Humbert L, Despras G, Bridonneau C, Dumetz F, Grill JP, Masliah J, Beaugerie L, Cosnes J, Chazouilleres O, Poupon R, Wolf C, Mallet JM, Langella P, Trugnan G, Sokol H, Seksik P (2013): Connecting dysbiosis, bile-acid dysmetabolism and gut inflammation in inflammatory bowel diseases. *Gut* 62(4): 531–539.
- Eiseman B, Silen W, Bascom GS, Kauvar AJ (1958): Fecal enema as an adjunct in the treatment of pseudomembranous enterocolitis. *Surgery* 44(5): 854–859.
- Furmanski S, Mor T (2017): First Case Report of Fecal Microbiota Transplantation in a Cat in Israel. *Israel Journal of Veterinary Medicine* 72(3): 35–41.
- Gal A, Barko PC, Biggs PJ, Gedye KR, Midwinter AC, Williams DA, Burchell RK, Pazzi P (2021): One dog's waste is another dog's wealth: A pilot study of fecal microbiota transplantation in dogs with acute hemorrhagic diarrhea syndrome. *PLoS One* 16(4): e0250344.
- Green JE, Davis JA, Berk M, Hair C, Loughman A, Castle D, Athan E, Nierenberg AA, Cryan JF, Jacka F, Marx W (2020): Efficacy and safety of fecal microbiota transplantation for the treatment of diseases other than Clostridium difficile infection: a systematic review and meta-analysis. *Gut Microbes* 12(1): 1–25.
- Honneffer JB, Steiner JM, Lidbury JA, Suchodolski JS (2017): Variation of the microbiota and metabolome along the canine gastrointestinal tract. *Metabolomics* 13(3).
- Kao D, Roach B, Silva M, Beck P, Rioux K, Kaplan GG, Chang HJ, Coward S, Goodman KJ, Xu H, Madsen K, Mason A, Wong GK, Jovel J, Patterson J, Louie T (2017): Effect of Oral Capsule- vs Colonoscopy-Delivered Fecal Microbiota Transplantation on Recurrent Clostridium difficile Infection: A Randomized Clinical Trial. *JAMA* 318(20): 1985–1993.
- Kelly CR, Kahn S, Kashyap P, Laine L, Rubin D, Atreja A, Moore T, Wu G (2015): Update on Fecal Microbiota Transplantation 2015: Indications, Methodologies, Mechanisms, and Outlook. *Gastroenterology* 149(1): 223–237.
- Khoruts A, Sadowsky MJ (2016): Understanding the mechanisms of faecal microbiota transplantation. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 13(9): 508–516.
- Lee MA, Questa M, Wanakumjorn P, Kol A, McLaughlin B, Weimer BC, Buono A, Suchodolski JS, Marsilio S (2024): Safety profile and effects on the peripheral immune response of fecal microbiota transplantation in clinically healthy dogs. *J Vet Intern Med* 38(3): 1425–1436.
- Machiels K, Joossens M, Sabino J, De Preter V, Arijs I, Eeckhout V, Ballet V, Claes K, Van Immerseel F, Verbeke K, Ferrante M, Verhaegen J, Rutgeerts P, Vermeire S (2014): A decrease of the butyrate-producing species Roseburia hominis and Faecalibacterium prausnitzii defines dysbiosis in patients with ulcerative colitis. *Gut* 63(8): 1275–1283.



Fortbildung

- Marsilio S, Pilla R, Sarawichitr B, Chow B, Hill SL, Ackermann MR, Estep JS, Lidbury JA, Steiner JM, Suchodolski JS (2019): Characterization of the fecal microbiome in cats with inflammatory bowel disease or alimentary small cell lymphoma. *Sci Rep* 9(1): 19208.
- Michailidis L, Currier AC, Le M, Flomenhoft DR (2021): Adverse events of fecal microbiota transplantation: a meta-analysis of high-quality studies. *Ann Gastroenterol* 34(6): 802–814.
- Miyake S, Yamamura T (2019): Gut environmental factors and multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 329: 20–23.
- Niina A, Kibe R, Suzuki R, Yuchi Y, Teshima T, Matsumoto H, Kataoka Y, Koyama H (2019): Improvement in Clinical Symptoms and Fecal Microbiome After Fecal Microbiota Transplantation in a Dog with Inflammatory Bowel Disease. *Vet Med (Auckl)* 10: 197–201.
- Niina A, Kibe R, Suzuki R, Yuchi Y, Teshima T, Matsumoto H, Kataoka Y, Koyama H (2021): Fecal microbiota transplantation as a new treatment for canine inflammatory bowel disease. *Biosci Microbiota Food Health* 40(2): 98–104.
- Pereira GQ, Gomes LA, Santos IS, Alfieri AF, Weese JS, Costa MC (2018): Fecal microbiota transplantation in puppies with canine parvovirus infection. *J Vet Intern Med* 32(2): 707–711.
- Pilla R, Suchodolski JS (2019): The Role of the Canine Gut Microbiome and Metabolome in Health and Gastrointestinal Disease. *Front Vet Sci* 6: 498.
- Pilla R, Suchodolski JS (2021): The Gut Microbiome of Dogs and Cats, and the Influence of Diet. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 51(3): 605–621.
- 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.
- Quraishi MN, Shaheen W, Oo YH, Iqbal TH (2020): Immunological mechanisms underpinning faecal microbiota transplantation for the treatment of inflammatory bowel disease. *Clin Exp Immunol* 199(1): 24–38.
- Reisinger A, Stübing H, Suchodolski JS, Pilla R, Unterer S, Busch K (2024): Comparing treatment effects on dogs with acute hemorrhagic diarrhea syndrome: fecal microbiota transplantation, symptomatic therapy, or antibiotic treatment. *J Am Vet Med Assoc*: 1–9.
- Ritchie LE, Steiner JM, Suchodolski JS (2008): Assessment of microbial diversity along the feline intestinal tract using 16S rRNA gene analysis. *FEMS Microbiol Ecol* 66(3): 590–598.
- Rojas CA, Entrolezo Z, Jarett JK, Jospin G, Kingsbury DD, Martin A, Eisen JA, Ganz HH (2023): Microbiome Responses to Fecal Microbiota Transplantation in Cats with Chronic Digestive Issues. *Vet Sci* 10(9).
- 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.
- Salavati Schmitz S (2022): Observational Study of Small Animal Practitioners' Awareness, Clinical Practice and Experience With Fecal Microbiota Transplantation in Dogs. *Top Companion Anim Med* 47: 100630.
- Schmitz SS (2021): Value of Probiotics in Canine and Feline Gastroenterology. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 51(1): 171–217.
- Shin A, Camilleri M, Vijayvargiya P, Busciglio I, Burton D, Ryks M, Rhoten D, Lueke A, Saenger A, Girtman A, Zinsmeister AR (2013): Bowel functions, fecal unconjugated primary and secondary bile acids, and colonic transit in patients with irritable bowel syndrome. *Clin Gastroenterol Hepatol* 11(10): 1270–1275 e1271.
- 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.
- Suchodolski JS (2022): Analysis of the gut microbiome in dogs and cats. *Vet Clin Pathol* 50 Suppl 1(Suppl 1): 6–17.
- Suchodolski JS, Markel ME, Garcia-Mazcorro JF, Unterer S, Heilmann RM, Dowd SE, Kachroo P, Ivanov I, Minamoto Y, Dillman EM, Steiner JM, Cook AK, Toresson L (2012): The fecal microbiome in dogs with acute diarrhea and idiopathic inflammatory bowel disease. *PLoS One* 7(12): e51907.
- Sugita K, Yanuma N, Ohno H, Takahashi K, Kawano K, Morita H, Ohmori K (2019): Oral faecal microbiota transplantation for the treatment of Clostridium difficile-associated diarrhoea in a dog: a case report. *BMC Vet Res* 15(1): 11.
- Sugita K, Shima A, Takahashi K, Matsuda Y, Miyajima M, Hirokawa M, Kondo H, Kimura J, Ishihara G, Ohmori K (2021): Successful outcome after a single endoscopic fecal microbiota transplantation in a Shiba dog with non-responsive enteropathy during the treatment with chlorambucil. *J Vet Med Sci* 83(6): 984–989.
- Sugita K, Shima A, Takahashi K, Ishihara G, Kawano K, Ohmori K (2023): Pilot evaluation of a single oral fecal microbiota transplantation for canine atopic dermatitis. *Sci Rep* 13(1): 8824.
- Sung CH, Pilla R, Chen CC, Ishii PE, Toresson L, Allenspach-Jorn K, Jergens AE, Summers S, Swanson KS, Volk H, Schmidt T, Stuebing H, Rieder J, Busch K, Werner M, Lisjak A, Gaschen FP, Belchik SE, Tolbert MK, Lidbury JA, Steiner JM, Suchodolski JS (2023): Correlation between Targeted qPCR Assays and Untargeted DNA Shotgun Metagenomic Sequencing for Assessing the Fecal Microbiota in Dogs. *Animals (Basel)* 13(16).
- Swanson KS, Dowd SE, Suchodolski JS, Middelbos IS, Vester BM, Barry KA, Nelson KE, Torralba M, Henrissat B, Coutinho PM, Cann IKO, White BA, Fahey GC, Jr (2010): Phylogenetic and gene-centric metagenomics of the canine intestinal microbiome reveals similarities with humans and mice. *The ISME Journal* 5(4): 639–649.
- Takáčová M, Bomba A, Tóthová C, Micháľová A, Turňa H (2022): Any Future for Faecal Microbiota Transplantation as a Novel Strategy for Gut Microbiota Modulation in Human and Veterinary Medicine? *Life (Basel)* 12(5).



Buchtipp: Expertenwissen aus 1. Hand!

Akute und chronische Erkrankungen des Magen-Darm-Trakts gehören zu den häufigsten Erkrankungen, mit denen Hunde und Katzen beim Tierarzt vorgestellt werden. Diese

Neuaufgabe wurde von international tätigen Autoren komplett überarbeitet und bietet Ihnen einen umfassenden Überblick über das weite Feld der Gastroenterologie der Kleintiere.

Romy M. Heilmann, Jonathan A. Lidbury, Jörg M. Steiner (eds.): Small Animal Gastroenterology. 2nd ed. Schlütersche 2024, 648 Seiten, 536 Abb., 72 Tab., Hardcover, 159 Euro, ISBN 978-3-89993-984-2

Leseprobe und versandkostenfreie Bestellung unter: svg.to/gastroenterology



- Toresson L, Spillmann T, Pilla R, Ludvigsson U, Hellgren J, Olmedal G, Suchodolski JS (2023): Clinical Effects of Faecal Microbiota Transplantation as Adjunctive Therapy in Dogs with Chronic Enteropathies-A Retrospective Case Series of 41 Dogs. *Vet Sci* 10(4).
- Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI (2006): An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 444(7122): 1027–1031.
- Unterer S, Busch K, Leipig M, Hermanns W, Wolf G, Straubinger RK, Mueller RS, Hartmann K (2014): Endoscopically visualized lesions, histologic findings, and bacterial invasion in the gastrointestinal mucosa of dogs with acute hemorrhagic diarrhea syndrome. *J Vet Intern Med* 28(1): 52–58.
- Vendrik KEW, Ooijevaar RE, de Jong PRC, Laman JD, van Oosten BW, van Hilten JJ, Ducarmon QR, Keller JJ, Kuijper EJ, Contarino MF (2020): Fecal Microbiota Transplantation in Neurological Disorders. *Front Cell Infect Microbiol* 10: 98.
- Weese J, Costa M, Webb J (2013): Preliminary clinical and microbiome assessment of stool transplantation in the dog and cat. *Vet Intern Med* 27: 604.
- Winston JA, Suchodolski SJ, Gaschen F, Busch K, Marsilio S, Costa MC, Chaitman J, Coffey EL, Dandrieux JRS, Gal A, Hill T, Pilla R, Salavati Schmitz S, Tolbert K, Toresson L, Unterer S, Valverde-Altamirano É, Verocai G, Weese JS, Werner M, Ziese AL (2024): Clinical Guidelines for Fecal Microbiota Transplantation in Companion Animals. *Advances in small animal care* 5(1):79–107.
- Zhang F, Cui B, He X, Nie Y, Wu K, Fan D, Group FM-sS (2018): Microbiota transplantation: concept, methodology and strategy for its modernization. *Protein Cell* 9(5): 462–473.
- Zhang LS, Davies SS (2016): Microbial metabolism of dietary components to bioactive metabolites: opportunities for new therapeutic interventions. *Genome Med* 8(1): 46.
- Zhang Z, Mocanu V, Cai C, Dang J, Slater L, Deehan EC, Walter J, Madsen KL (2019): Impact of Fecal Microbiota Transplantation on Obesity and Metabolic Syndrome-A Systematic Review. *Nutrients* 11(10).
- Zheng J, Gänzle MG, Lin XB, Ruan L, Sun M (2015): Diversity and dynamics of bacteriocins from human microbiome. *Environ Microbiol* 17(6): 2133–2143.
- Ziese AL, Suchodolski JS (2021): Impact of Changes in Gastrointestinal Microbiota in Canine and Feline Digestive Diseases. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 51(1): 155–169.
- Zou S, Fang L, Lee MH (2018): Dysbiosis of gut microbiota in promoting the development of colorectal cancer. *Gastroenterol Rep (Oxf)* 6(1): 1–12.
- Zuo T, Wong SH, Lam K, Lui R, Cheung K, Tang W, Ching JYL, Chan PKS, Chan MCW, Wu JCY, Chan FKL, Yu J, Sung JYJ, Ng SC (2018): Bacteriophage transfer during faecal microbiota transplantation in *Clostridium difficile* infection is associated with treatment outcome. *Gut* 67(4): 634–643.

III. PUBLIKATION 2: ORIGINAL-PUBLIKATION ZUR STUDIE

1

Evaluation of Intestinal Barrier Dysfunction with Serum Iohexol Concentration in Dogs with Acute Hemorrhagic Diarrhea Syndrome

Andrea Reisinger

Medizinische Kleintierklinik, Zentrum für Klinische Tiermedizin, Ludwig-Maximilians-Universität München, München, Deutschland

Helene Stübing

Medizinische Kleintierklinik, Zentrum für Klinische Tiermedizin, Ludwig-Maximilians-Universität München, München, Deutschland

Patricia E. Ishii

Gastrointestinal Laboratory, Department of Small Animal Clinical Sciences, Texas A&M University, TAMU, College Station, Texas, United States of America

Jan S. Suchodolski

Gastrointestinal Laboratory, Department of Small Animal Clinical Sciences, Texas A&M University, TAMU, College Station, Texas, United States of America

Jonathan A. Lidbury

Gastrointestinal Laboratory, Department of Small Animal Clinical Sciences, Texas A&M University, TAMU, College Station, Texas, United States of America

Kathrin Busch

Medizinische Kleintierklinik, Zentrum für Klinische Tiermedizin, Ludwig-Maximilians-Universität München, München, Deutschland

Stefan Unterer

Klinik für Kleintiermedizin, Vetsuisse-Fakultät, Universität Zürich, Zürich, Schweiz

Animals: veröffentlicht

Animals 2024, 14, 963. <https://doi.org/10.3390/ani14060963>



Article

Evaluation of Intestinal Barrier Dysfunction with Serum Iohexol Concentration in Dogs with Acute Hemorrhagic Diarrhea Syndrome

Andrea Reisinger ^{1,*} , Helene Stübing ¹, Patricia E. Ishii ² , Jan S. Suchodolski ², Jonathan A. Lidbury ² , Kathrin Busch ¹ and Stefan Unterer ³

¹ Clinic of Small Animal Internal Medicine, Centre for Clinical Veterinary Medicine, Ludwig-Maximilians-University, 80539 Munich, Germany

² Gastrointestinal Laboratory, Department of Small Animal Clinical Sciences, Texas A&M University, College Station, TX 77843, USA

³ Clinic for Small Animal Internal Medicine, Vetsuisse Faculty, 8057 Zurich, Switzerland

* Correspondence: reisinger.andrea@gmx.de

Simple Summary: Acute hemorrhagic diarrhea syndrome (AHDS) is characterized by severe gastrointestinal fluid loss and necrotizing enteritis. This indicates an intestinal barrier dysfunction, altered intestinal permeability may indicate disease severity and might represent a risk factor for the development of chronic disorders. Serum iohexol measurement is utilized to assess intestinal permeability in dogs. Our study aimed to correlate intestinal permeability (measured by serum iohexol concentration (SIC)) with clinical severity in dogs with AHDS. We hypothesized increased intestinal permeability in dogs with AHDS, correlating with clinical severity. Fifty-three client-owned dogs, including those with AHDS and healthy controls, were enrolled. Clinical severity was assessed using the AHDS index and criteria for systemic inflammatory response syndrome (SIRS). Simultaneously, dogs were orally administered iohexol, and serum samples were collected for SIC measurement. The findings revealed significantly elevated SIC among dogs with AHDS compared to healthy controls, with a positive correlation between SIC and disease severity indices. These results highlight that dogs with a severe form of AHDS have an especially significant dysfunction of the intestinal barrier. Future studies are necessary to evaluate a potential association between an altered intestinal barrier at the phase of acute enteritis and the development of chronic intestinal disease later in life.

Abstract: Histopathologic examination of intestinal biopsies from dogs with acute hemorrhagic diarrhea syndrome (AHDS) reveals necrotizing enteritis and epithelial integrity loss. Serum iohexol measurement has been utilized to assess intestinal permeability. Our hypothesis is that dogs with AHDS have increased intestinal permeability, which is associated with the severity of clinical signs. In this prospective case–control study, 53 client-owned dogs (28 AHDS, 25 healthy controls) were evaluated. Clinical severity was assessed using the AHDS index and systemic inflammatory response syndrome (SIRS) criteria. Simultaneously, dogs received oral iohexol, and serum iohexol concentrations (SICs) were measured two hours later. Results indicated significantly higher ($p = 0.002$) SIC in AHDS dogs (median: 51 $\mu\text{g}/\text{mL}$; min–max: 9–246) than in healthy controls (30 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 11–57). There was a significant positive correlation between AHDS index and SIC ($r_s = 0.4$; $p = 0.03$) and a significant negative between SIC and serum albumin concentrations (Pearson $r = -0.55$; $p = 0.01$). Dogs with severe AHDS (mean 106 $\mu\text{g}/\text{mL}$; range: 17–246) demonstrated significantly higher ($p = 0.002$) SIC than those with mild to moderate disease (29 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 9–54). These findings underscore the association between intestinal permeability and clinical severity in dogs with AHDS assessed by iohexol.

Keywords: iohexol; AHDS; intestinal permeability; necrotizing enteritis; SIRS; NetF toxin



Citation: Reisinger, A.; Stübing, H.; Ishii, P.E.; Suchodolski, J.S.; Lidbury, J.A.; Busch, K.; Unterer, S. Evaluation of Intestinal Barrier Dysfunction with Serum Iohexol Concentration in Dogs with Acute Hemorrhagic Diarrhea Syndrome. *Animals* **2024**, *14*, 963. <https://doi.org/10.3390/ani14060963>

Academic Editor: Edward J. Hall

Received: 2 March 2024

Revised: 11 March 2024

Accepted: 14 March 2024

Published: 20 March 2024



Copyright: © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

In addition to its role in absorbing water and nutrients, the gastrointestinal tract also functions as a protective barrier against pathogens and harmful substances [1]. The disruption of this barrier results in increased intestinal permeability, leading to increased loss of proteins, electrolytes, vitamins, and fluid into the intestinal lumen and facilitating the translocation of potentially harmful substances and pathogens into the bloodstream [1,2]. As discussed below, there is a suspicion of intestinal barrier dysfunction in dogs with acute hemorrhagic diarrhea syndrome (AHDS).

AHDS is characterized by the sudden onset of hemorrhagic diarrhea [3]. Intestinal biopsies demonstrate the presence of necrotizing enterocolitis, suggesting a likely dysfunction of the mucosal–blood barrier [4]. The loss of albumin through the intestine further supports the hypothesis of intestinal barrier dysfunction in dogs with AHDS [5]. During the acute phase of the disease, intestinal biopsies have revealed the presence of clostridial strains adhering to the surface of necrotic lesions [4]. Recently, a *Clostridium perfringens* type A strain carrying pore-forming toxins (NetE and NetF) was isolated from a dog with AHDS, and the cytotoxic effect of NetF has been confirmed in vitro [6]. Based on these findings and other studies demonstrating a significantly higher occurrence of NetF-toxin-encoding *C. perfringens* in dogs with AHDS compared to healthy dogs or dogs with parvovirus infection [7–9], it is suspected that *C. perfringens* and NetF play a major role in the pathogenesis of AHDS. In addition to the toxic effect of NetF, intestinal ischemia, resulting from hypovolemia and hypoperfusion of the intestinal mucosa caused by extensive fluid loss as well as reperfusion damage, may contribute to increased permeability in these dogs [10,11].

Dogs with AHDS often show hypoalbuminemia [5,12]. This not only allows the hypothesis that dogs with AHDS have increased intestinal permeability (IP) but also confirms this with a high degree of probability. However, intestinal permeability (IP) has never really been measured in dogs with AHDS. Various markers are available for assessing IP, but they differ in size, location, degradation mechanism, and analysis method [13]. In addition to endogenous markers for IP measurement (e.g., albumin), there are also numerous exogenous markers. Endogenous markers are often influenced by many factors, such as the degree of dehydration, so these parameters are very variable in individual dogs [12]. Therefore, we focused on exogenous markers for the determination of IP in the study. ⁵¹Chromium-labeled ethylenediaminetetraacetic acid (⁵¹Cr-EDTA) is considered the gold standard, but its use is limited due to radioactivity [14,15]. Other IP tests employ sugars like lactulose, sucrose, and rhamnose [16,17]. However, these sugars are metabolized differently and often degraded in the stomach or small intestine in dogs, failing to represent permeability across the entire gastrointestinal tract [18]. In a recent study, iohexol, a non-radioactive iodinated contrast medium, was examined for its potential in assessing intestinal permeability [14,15]. Iohexol has a similar permeability pathway to ⁵¹Cr-EDTA [14,15] but offers the advantage of not being radioactive. In addition, the serum iohexol concentration can easily be measured using a commercially available enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) rather than complex assays such as liquid chromatography–mass spectrometry [19].

Therefore, we tried to find a measurable way to identify severe barrier dysfunction by evaluating iohexol. That is why the objectives of this study were to evaluate IP by measuring serum iohexol concentrations (SICs) in dogs with AHDS, comparing them with healthy dogs, and establishing correlations between serum iohexol levels, clinical severity (e.g., AHDS index), and SIRS criteria.

2. Materials and Methods

2.1. Study Design

The prospective case–control study was approved by the Ethics Committee of Veterinary Medicine, Ludwig-Maximilians-University, Munich, Germany (approval number 128-10-06-2018). All dogs included in the study were client-owned and presented to the Clinic for Small Animal Medicine, LMU Munich, Germany between October 2020 and March 2022. The owners were fully informed about the objectives of the study.

2.2. Study Population

2.2.1. Dogs with AHDS

Dogs of all breeds, sexes, and ages presenting with acute hemorrhagic diarrhea (<3 days) were eligible for inclusion in the study. Dogs were excluded if they had received medications known to cause mucosal erosions, which could lead to similar symptoms as AHDS (e.g., NSAIDs, corticosteroids, doxycycline), the week before presentation or if they had underlying diseases that could have contributed to hemorrhagic diarrhea. Underlying diseases were suspected if there was evidence of extra-gastrointestinal disorders such as pancreatitis, exocrine pancreatic insufficiency, acute kidney injury, or acute liver failure. Complete blood counts (CBCs) and serum biochemistry were performed on all dogs to assess their overall health status. Dogs with hypoadrenocorticism disease were also excluded. None of the included dogs exhibited hyponatremia, hyperkalemia, or both. Additionally, no dogs displayed an absent stress leukogram. Abdominal ultrasound was conducted on all dogs to screen for focal intestinal disorders (e.g., neoplasia), mechanical obstructions (e.g., foreign body, intussusception), and other visceral diseases. Dogs suspected of having pancreatitis (based on typical ultrasound findings and high-grade abdominal pain) were also excluded. Furthermore, dogs with positive fecal examinations for nematodes (flotation) or protozoan parasites (flotation and IDEXX SNAP Giardia test kit, IDEXX GmbH, Kornwestheim, Germany) were not included. Standardized treatment was administered to all dogs, consisting of fluid therapy (crystalloids, with fluid volume adjusted according to dehydration grade, maintenance requirements, and ongoing losses), analgesics (buprenorphine 0.01 mg/kg i.v. every 6–8 h or metamizole 50 mg/kg i.v. every 8 h), and antiemetics (maropitant 1 mg/kg i.v. every 24 h, with metoclopramide 60 µg/kg/h i.v. as needed). Antibiotic treatment was given to seven out of the twenty-eight dogs. One dog received marbofloxacin at a dosage of 4 mg/kg i.v. for 1 day, followed by 2 mg/kg i.v. every 24 h, while five dogs were treated with amoxicillin-clavulanic acid at a dosage of 20 mg/kg i.v. every 8 h. In all of these cases, antibiotic treatment was initiated due to suspected sepsis, as determined by the attending veterinarian. An additional dog received amoxicillin-clavulanic acid at a dosage of 12.5 mg/kg i.v. every 8 h due to a urinary infection and a nephrolith. Antibiotic treatment in all seven dogs began after sampling for iohexol measurement. After the intervention, a subset of dogs (n = 14) was included in another study evaluating microbiota modulation and therefore was not included in the statistical correlation analysis between SIC and length of hospitalization time. Dogs were eligible for discharge from the hospital when they exhibited a good general condition and when their diarrhea was no longer bloody, with a frequency of ≤3 times per day, indicating that fluid losses no longer required intravenous fluid administration.

2.2.2. Healthy Control Group

The control group comprised 25 client-owned dogs that were clinically healthy. Fecal testing (Giardia antigen test; fecal flotation) was conducted on all dogs to exclude Giardia and other endoparasites. Furthermore, comprehensive assessments including CBC, serum biochemistry, vitamin B12, folic acid, basal cortisol, canine trypsin-like immunoreactivity (cTLi), and canine pancreatic lipase immunoreactivity (cPLi) were performed on all dogs. Dogs were included in the study if all the above tests were negative or within the reference interval.

2.3. Iohexol Measurement

Following rehydration, a mixture of 2 mL/kg body weight of iohexol (Omnipaque™ 350 mg/mL, GE Healthcare, Munich, Germany) and food (gastrointestinal liquid diet, Royal Canin, Cologne, Germany) was administered orally to the dogs using a syringe. Serum samples were collected 2 h after iohexol administration [14]. It is important to note that if any of the dogs had vomited at the time of the SIC measurement, they would have been excluded from the study. These samples were then frozen and stored at −80 °C until the measurement of SIC, which was performed using a previously validated ELISA

(Functional immunoassay technology (FIT)-GFRTM Iohexol kit, BioPAL, Worcester, MA, USA) [19]. The same procedure was carried out for the healthy dogs.

2.4. Evaluation of Disease Severity and Clinical Outcome

Disease severity was assessed using the AHDS index (Table 1) [12,20] on the day of presentation and concurrently with the iohexol measurement. Based on the AHDS index, dogs were categorized into two groups: dogs with mild–moderate (AHDS index < 9) and dogs with severe disease activity (AHDS index \geq 9). This allowed for the correlation between IP and clinical severity. Fecal consistency was assessed using the Purina Fecal Scoring System for Dogs (PFS), which can be accessed at <https://www.purina.de/artikel/hunde/gesundheit/verdauung/hundekot> (accessed on 8 August 2022). Signs of systemic disease were evaluated based on criteria for systemic inflammatory response syndrome (SIRS) (Table 2). These criteria were adapted from previous veterinary publications [21–23]. Hypoglycemia and the presence of an inflammatory leukogram were additional factors considered for SIRS categorization. CBCs were not performed in eight out of twenty-eight dogs, and glucose measurements were not performed in seven out of twenty-eight dogs at the time of SIRS criteria determination. The severity of the disease according to the SIRS criteria was determined at the time of iohexol measurement, when the dogs had already been rehydrated to minimize any potential interference of hypovolemia with clinical signs of SIRS [22]. In addition, the serum iohexol concentration was measured during the determination of the SICs. A serum albumin concentration of <30 g/L was classified as hypoalbuminemia.

Table 1. Criteria to evaluate the Canine Acute Hemorrhagic Diarrhea Severity (AHDS) Index. Each parameter has a score of 0–3, and the sum of scores gave a total cumulative score. AHDS total index 0 to 3: insignificant disease; 4 to 5: mild disease; 6 to 8: moderate disease; \geq 9: severe disease [12,20]. The Purina Fecal Scoring System for Dogs (PFS) was used for fecal consistency.

	0	1	2	3
Activity	Normal	Mildly decreased	Moderately decreased	Severely decreased
Appetite	Normal	Mildly decreased	Moderately decreased	Severely decreased
Fecal consistency	PFS 1–2	PFS 3–4	PFS 5–6	PFS 7
Fecal frequency (times/day)	1	2–3	4–5	>5
Vomiting (times/day)	0	1	2–3	>3
Dehydration (%)	0	<5	5–10	>10

Table 2. Inflammatory response syndrome (SIRS) criteria for assessing disease severity in dogs, adjusted from Chu et al. [21] Hauptman et al. [23], and Dupont et al. [22].

Clinical SIRS Criteria	
Hypo- or hyperthermia	<37.5 °C or >39.3 °C <99.5 °F or >102.74 °F
Tachycardia	>140 beats/min
Tachypnea	>40 breaths/min
Laboratory SIRS criteria	
Leukopenia or leukocytosis	<6 G/L or >25 G/L
Band neutrophils	>3%
Hypoglycemia	<70.2 mg/dL or <3.9 mmol/L

2.5. Statistical Analysis

Statistical analyses were performed using Microsoft Office Excel version 16.63.1 and GraphPad Prism version 9.4.1 (San Diego, CA, USA). Normal distribution was tested using the Shapiro–Wilk normality test. The Mann–Whitney U-test and unpaired *t*-test were employed to compare SIC between healthy dogs and dogs with AHDS, as well as to assess the relationship between SIC and clinical severity indicators (AHDS index, SIRS

criteria, hypoalbuminemia). Therefore, the SICs are expressed below as mean or median according to the normal distribution. Spearman's rank correlation (r_s) and Pearson's correlation coefficient (r_p) were used to examine the correlation between SIC and albumin concentration, hospitalization time, and AHDS index. A p -value of <0.05 was considered statistically significant.

3. Results

3.1. Signalment

A total of 28 dogs with AHDS met the inclusion criteria. The mean age of dogs with AHDS was 7.0 years (range: 1.2–14.1 years). The most represented breeds were mixed-breed dogs (10), Cavalier King Charles Spaniel (2), Shih Tzu (2), Cocker Spaniel (2), and Dachshund (2). Fifteen dogs were female (six spayed), and thirteen dogs were male (six neutered). The mean body weight was 11.2 kg (range: 1.8–46). In the control group, there were 25 healthy dogs with a mean age of 4.7 years (range: 1–10 years). The most common breeds were mixed-breed dogs (7). Seventeen dogs were male, and eight dogs were female. The mean body weight was 16.4 kg (range: 2.6–43.3). There was a significant difference between the two groups in age ($p = 0.02$). The weight did not differ significantly between the two groups ($p = 0.96$). With regard to age, there was no significant difference between dogs with AHDS that had SIC $> 30 \mu\text{g/mL}$ and dogs with AHDS that had SIC $< 30 \mu\text{g/mL}$ ($p = 0.26$). A SIC of $30 \mu\text{g/mL}$ was chosen as the cut-off because this was the median value of SIC in the healthy control group (see below).

3.2. Comparison of SIC between the Healthy Control Group and Dogs with AHDS

Dogs with AHDS had significantly higher SIC than those in the healthy control group ($p = 0.002$). The dogs with AHDS had a median SIC value of $51 \mu\text{g/mL}$ (min–max: 9–246), whereas the healthy control group had a median SIC value of $30 \mu\text{g/mL}$ (min–max: 11–57) (Figure 1).

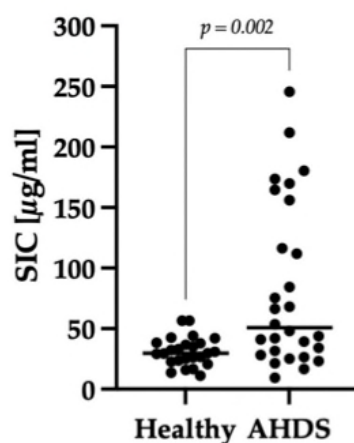


Figure 1. Comparison of SIC of healthy dogs and dogs with AHDS. The y-axis shows the level of SIC in $\mu\text{g/mL}$. The horizontal lines represent the median SIC. Dogs with AHDS showed significantly higher SIC compared to healthy dogs ($p = 0.002$).

3.3. Correlation between Clinical Severity and Serum Iohexol Concentration

Nine of twenty-eight dogs were classified into the group with mild–moderate (AHDS index < 9) and nineteen of twenty-eight with severe disease activity (AHDS index ≥ 9). Seven out of the twenty-eight dogs exhibited significant hemoconcentration, with a hematocrit level greater than 60% at the time of presentation. There was no significant difference in SIC between dogs with a hematocrit $\leq 60\%$ and $>60\%$ ($p = 0.5$). A significant positive correlation was observed between the AHDS index and SIC ($r_s = 0.4$; $p = 0.03$), as shown in Figure 2.

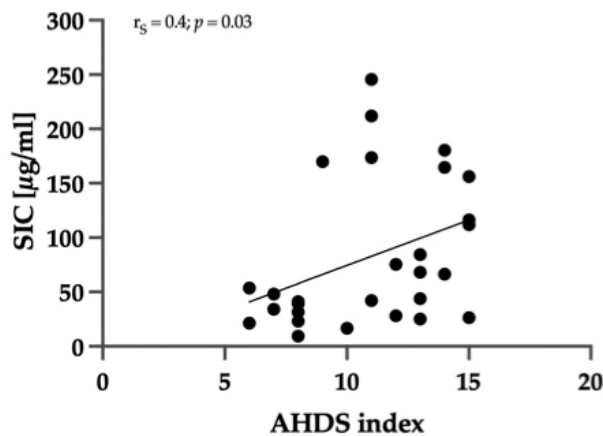


Figure 2. Correlation between AHDS index and SIC. The AHDS index includes the parameters activity, appetite, vomiting, fecal consistency, fecal frequency, and dehydration grade. Each parameter has a score of 0–3, and the sum of scores gave a total cumulative score. The AHDS index was determined similarly to the SIC. There was a significant positive correlation between the AHDS index and SIC ($r_s = 0.4$; $p = 0.03$).

Healthy dogs exhibited a mean SIC of 31 µg/mL (range: 11–57), dogs with a mild–moderate disease activity of 29 µg/mL (range: 9–54) and dogs with a severe disease activity of 106 µg/mL (range: 17–246). There was no significant difference in SIC between healthy dogs and dogs with a mild–moderate disease activity ($p > 0.99$). However, dogs classified with severe clinical activity displayed significantly higher SIC levels compared to healthy dogs ($p < 0.001$) and dogs classified with low to moderate clinical activity ($p = 0.002$), as depicted in Figure 3.

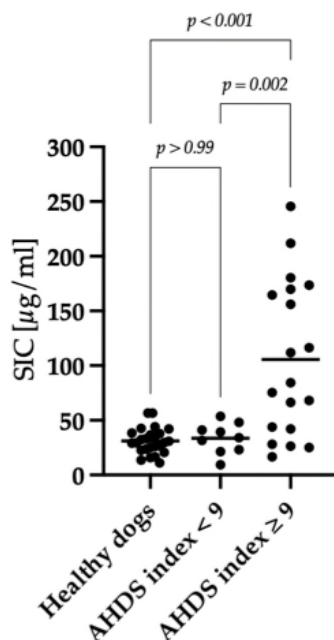


Figure 3. Comparison of SIC between healthy dogs, dogs with a mild–moderate clinical course, and dogs with a severe clinical course. Dogs with an AHDS index ≥ 9 ($n = 19$) showed significantly higher SIC compared to dogs clinically classified as mild–moderate (AHDS index < 9 ; $n = 9$) ($p = 0.002$) and healthy dogs ($n = 25$) ($p < 0.001$). There was no difference in SIC between healthy dogs and the dogs with a mild–moderate disease activity ($p > 0.99$). The horizontal lines show the mean SIC in each group.

It is important to note that while all 28 dogs survived, the correlation between SIC and hospitalization time only included 14 out of 28 dogs, as the remaining dogs were part of a separate study focused on evaluating microbiota modulation. The median hospitalization

time for dogs with AHDS was 3 days. A significant positive correlation was found between hospitalization time and SIC ($r_s = 0.69$; $p = 0.007$). There was no significant correlation ($r_p = 0.29$ $p = 0.3$) between hospitalization time and AHDS index.

Dogs that met two or more SIRS criteria after rehydration and pain management were classified as having a systemic inflammatory response. A significant difference in SIC ($p = 0.02$) was observed between dogs with two or more SIRS criteria ($n = 7$; median: 165; min–max: 26–246) and dogs with less than two SIRS criteria ($n = 13$; median: 48; min–max: 9–174), as shown in Figure 4.

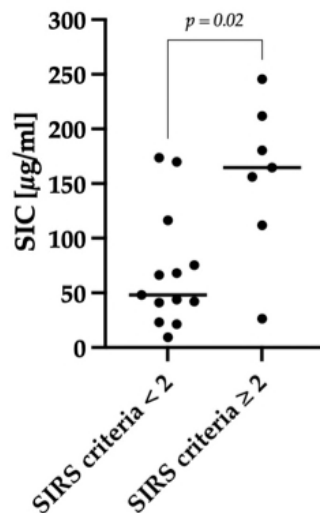


Figure 4. Comparison of SIC between dogs classified as positive for the occurrence of SIRS and dogs classified as negative. SIRS criteria were assessed after rehydration at the time of SIC measurement. The criteria included clinical criteria (hypo- or hyperthermia, tachycardia, and tachypnea) and laboratory changes (leukopenia or leukocytosis, left shift, hypoglycemia). If a dog had ≥ 2 criteria, it was classified as positive for the occurrence of SIRS. These dogs ($n = 7$) showed significantly ($p = 0.02$) higher SIC compared with dogs classified as negative for the occurrence of SIRS ($n = 13$). The horizontal lines show the median SIC of the different groups.

Serum albumin concentration was determined after rehydration in 21 out of 28 dogs, and it exhibited a significant negative correlation with SIC ($r_p = -0.55$; $p = 0.01$); see Figure 5.

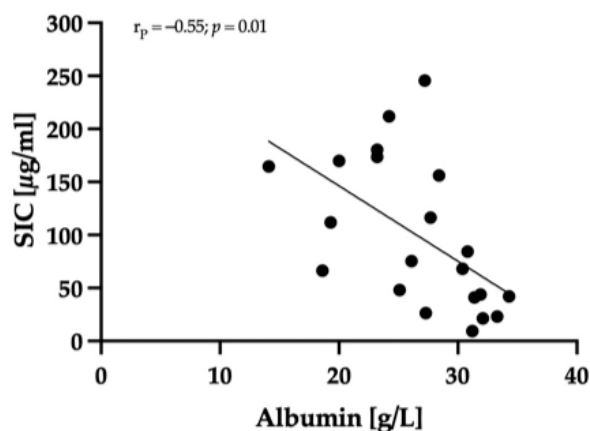


Figure 5. Correlation of serum albumin concentration and SIC. The serum albumin concentration was determined in 21/28 dogs after rehydration. The serum albumin concentration correlated significantly negatively ($r_p = -0.55$; $p = 0.01$) with SIC.

Hypoalbuminemia was defined as a serum albumin concentration < 30 g/L. Dogs with AHDS and hypoalbuminemia ($n = 13$; mean: 134; range: 26–246) had significantly higher SIC levels ($p = 0.02$) compared to dogs with albumin concentrations within the reference range ($n = 8$; mean: 42; range: 9–84) (Figure 6).

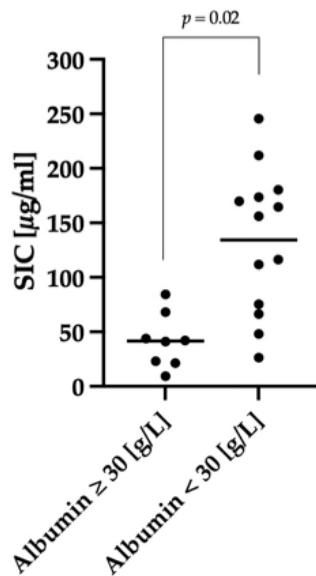


Figure 6. Comparison of SIC between dogs that were hypoalbuminemic and dogs that were not. We defined a serum albumin concentration < 30 g/L as hypoalbuminemia. Dogs with hypoalbuminemia (n = 13) showed significantly ($p = 0.02$) higher SIC compared with dogs with a normal albumin concentration ≥ 30 g/L (n = 8). The horizontal lines show the mean SIC of the different groups.

3.4. Antibiotic Group

Out of the twenty-eight dogs, seven received antibiotic treatment. Among these, six dogs were treated because the attending veterinarian classified them as septic. One dog received antibiotics due to an incidental finding of a urinary infection and a nephrolith, and this particular dog was excluded from the subsequent analysis as the antibiotic use was unrelated to the severity of AHDS. In all dogs, antibiotic treatment was initiated after sampling for iohexol measurement. Dogs in which a sepsis was suspected, and which received antibiotics, exhibited significantly higher SIC levels ($p = 0.01$) compared to the other dogs with AHDS, as shown in Figure 7. Dogs suspected as septic (n = 6) had a median SIC value of 173 µg/mL (min–max: 44–246), while the other dogs with AHDS (n = 21) had a median SIC value of 42 µg/mL (min–max: 17–174). All six dogs had an AHDS index ≥ 9 , indicating severe disease. Moreover, four out of six dogs were classified as positive for the presence of SIRS, and five out of six dogs were hypoalbuminemic. Follow-up was possible for 14 out of 28 dogs, revealing a significant difference ($p = 0.01$) in hospitalization time between dogs that were treated with antibiotics due to suspicion of sepsis (n = 3) and other dogs with AHDS (n = 11).

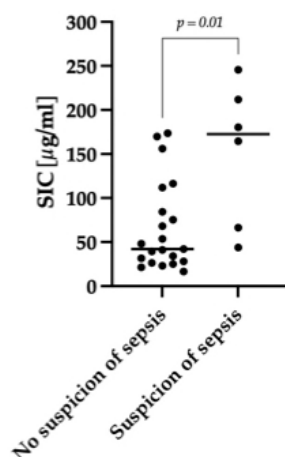


Figure 7. Comparison of SIC between dogs with AHDS with and without antibiotic treatment due to the suspicion of sepsis. Dogs in which sepsis was suspected (n = 6) showed significantly higher SIC compared to other dogs with AHDS (n = 21) ($p = 0.01$). The horizontal lines show the median SIC of the two different groups.

4. Discussion

This study assessed IP in dogs with AHDS by measuring SICs. Our findings revealed an elevated IP when compared to a healthy control group. Additionally, we observed a correlation between the severity of clinical signs in dogs with AHDS and the extent of IP.

IP refers to the ability of substances to traverse the intestinal wall and enter the bloodstream. Various factors can disrupt the integrity of the intestinal barrier, resulting in increased IP [1,2,24,25]. These factors encompass infiltration of neoplastic or inflammatory cells into the mucosa and exposure to toxins [1,2,24,25]. In humans, infections caused by toxin-producing bacteria (e.g., *Vibrio cholerae*'s cholera toxin, *Escherichia coli* O157:H7's Shiga toxin) can inflict substantial damage to the intestinal epithelium [26,27]. Given the occurrence of necrotizing enteritis observed in histopathologic studies, we postulated that dogs with AHDS might exhibit increased IP, likely due to a breakdown of the mucosa–blood barrier [4]. This breakdown is thought to be attributable to the presence of toxins, particularly NetF, produced by *C. perfringens*, leading to epithelial destruction [4,6,7,9,28]. Additionally, severe dehydration resulting from prolonged diarrhea could contribute to heightened permeability [10,12,22]. The resultant reduced perfusion of splanchnic organs may further exacerbate increased IP. Assessing IP in dogs with AHDS could be beneficial for gauging disease severity. Specifically, it may provide insights into nutrient malabsorption, the absorption of orally administered drugs, and the identification of an elevated risk of bacterial and antigen translocation, potentially culminating in sepsis and immune system sensitization.

Multiple techniques are available for measuring IP. In our study, we employed iohexol to determine IP. Iohexol follows a similar pathway to the gold standard marker, $^{51}\text{Cr-EDTA}$, but offers the advantage of being non-radioactive, making it suitable for routine clinical use [14,17,29,30]. Its efficacy has been demonstrated in previous research, further supporting its utilization [14,15]. Unlike sugars such as rhamnose, sucrose, and lactose, which are commonly employed permeability markers, iohexol remains unaffected by bacterial degradation or metabolism, enabling permeability assessment across the entire gastrointestinal tract [15,17]. Additionally, iohexol exhibits low osmolarity, binds minimally to plasma proteins, and demonstrates low toxicity and enhanced tolerability [31–34]. Its hydrophilic nature restricts easy traversal across lipophilic cell membranes [31]. Studies have consistently affirmed iohexol as a reliable and accurate marker for evaluating IP [14,15,29,34,35]. In human medicine, elevated SIC has been observed in patients with Crohn's disease compared to healthy individuals, with a notable positive correlation between clinical severity and SIC [36]. In dogs, iohexol has been utilized to determine glomerular filtration rate in previous investigations [37–39]. Two specific studies have assessed IP using iohexol: one conducted by Frias et al., which demonstrated a strong linear association between iohexol and $^{51}\text{Cr-EDTA}$ in healthy beagle dogs [15], and another conducted by Klenner et al., which examined different dosages and the timing of serum iohexol determination in healthy dogs [14]. Following the findings of Klenner et al., we administered an oral dose of 2 mL/kg of iohexol and measured SIC after a 2 h interval, as this yielded the highest SIC in healthy dogs [14].

In our study, dogs with AHDS exhibited significantly higher SIC than dogs in the healthy control group. However, it was surprising that only a subset of AHDS patients displayed increased SIC compared to the healthy dogs. One possible explanation could be variations in the severity of mucosal barrier destruction among patients, leading to varying degrees of IP. The clinical progression of AHDS is highly dynamic, with most dogs experiencing clinical improvement within a few days, while a smaller proportion may develop complications such as significant hypoalbuminemia and signs of systemic inflammation. Additionally, the severity and extent of histologic lesions can vary significantly among dogs with AHDS [40]. These factors, along with variations in disease severity and different stages of presentation, might account for the differences observed in SIC or for the fact that SIC may not have optimal sensitivity for IP.

We evaluated clinical severity using the AHDS index and SIRS criteria and found a significant correlation between SIC and the AHDS index. This implies that dogs with more pronounced clinical signs exhibited a greater increase in IP. While it can be presumed that all dogs with hemorrhagic diarrhea have some level of mucosal damage, elevated SIC may specifically indicate dogs with severe mucosal destruction. Considering iohexol's larger molecular size (821 Dalton) compared to ^{51}Cr -EDTA (359 Dalton), iohexol may still be too large to detect mild forms of IP changes. Further studies employing ^{51}Cr -EDTA, a more sensitive marker of IP, could be beneficial in identifying even minor functional changes in this group of dogs.

Furthermore, dogs with hypoalbuminemia (<30 g/L) exhibited significantly higher SIC than dogs with normal serum albumin levels. However, it is worth noting that there was one dog with hypoalbuminemia that demonstrated a SIC of 26 $\mu\text{g}/\text{mL}$, which is lower than the median SIC of healthy dogs. This finding was unexpected since albumin, with a molecular weight of 66,470 Daltons, is considerably larger than iohexol (821 Daltons), which, due to its smaller size, should more easily pass the intestinal barrier. One possible explanation is that SIC measurements offer only a transient snapshot, and it is plausible that serum iohexol concentrations in these dogs could have been higher at a different time point of measurement. We tried to standardize the SIC measurement, but we cannot rule out the possibility that some individual dogs had a delayed gastric emptying due to disease-associated hypomotility and thus less iohexol arrived in the small intestine, the region where it is absorbed in case of barrier dysfunction.

There are inherent risks of sepsis development in dogs with AHDS [10]. Alongside the presence of a damaged mucosal surface, numerous bacteria can be found adhering to the necrotic surface [4], potentially representing an additional risk factor for bacterial translocation. Furthermore, dogs with AHDS commonly experience severe dehydration, which further contributes to the likelihood of sepsis development [10]. In our study, SIRS assessment was conducted after rehydrating dogs with AHDS to prevent misclassification due to hypovolemia. Dogs that met two or more SIRS criteria demonstrated significantly higher SIC compared to dogs without evidence of SIRS. This result indicates that the severity of clinical signs is associated with the degree of IP. Despite the general risk of bacterial translocation, most dogs with AHDS exhibit rapid improvement with symptomatic treatment alone. The administration of antibiotics did not result in a significantly faster resolution of clinical signs in a group of dogs with aseptic AHDS [22]. In our study, six dogs received antibiotic treatment due to suspected sepsis, and these dogs displayed significantly higher SIC than the other dogs. Additionally, these dogs were classified as clinically severe (AHDS index ≥ 9). Furthermore, three of these dogs exhibited the highest SIC (180 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 212 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 246 $\mu\text{g}/\text{mL}$), indicating the highest degree of IP. These findings might support the hypothesis that severe intestinal barrier dysfunction could lead to an increased translocation of intestinal bacteria, leading to SIRS symptoms. To confirm this with greater certainty, blood cultures or the measurement of lipopolysaccharides would have been necessary, as it is conceivable that these dogs did not exhibit sepsis, but only severe SIRS, and therefore, antibiotic therapy would not have been indispensable in these patients. Further studies would be necessary to evaluate whether iohexol can serve as a useful marker in identifying dogs with severe barrier dysfunction that might benefit from antibiotic treatment at presentation prior to fluid therapy.

In a retrospective longitudinal study, dogs with a prior episode of AHDS exhibited a higher prevalence of chronic gastrointestinal signs later in life than control dogs [25]. Many of these dogs responded well to dietary trials, suggesting that allergens crossing the epithelial barrier during the acute disease phase may contribute to the development of food allergies [25]. One possible explanation is that increased IP leads to a heightened transfer of dietary components into the bloodstream. This overwhelms the immune system, resulting in a loss of oral tolerance and subsequent sensitization to food components [25,41]. Further research is required to determine whether this particular subgroup of dogs, characterized by signs of intestinal barrier dysfunction indicated by elevated SIC, faces an elevated risk of

developing chronic gastrointestinal disorders. Additionally, investigating whether iohexol can serve as a long-term prognostic marker in dogs with severe hemorrhagic enteritis would be valuable. Alternatively, it is plausible that intestinal damage persists in these patients, leading to changes consistent with chronic inflammatory enteropathy.

One limitation of the study is the variation in treatment among patients. However, it is important to note that none of the dogs received any drugs (such as NSAIDs, corticosteroids, or doxycycline) known to potentially harm the intestinal barrier. Another limitation of the study is that the healthy dogs differed significantly in age from the dogs with AHDS. This limitation was not considered critical by the authors as all dogs were adults, and there was no statistically significant difference in age between dogs with AHDS that had SICs > 30 µg/mL (which was the median value of the healthy control group) and those that had SICs < 30 µg/mL. It can therefore be concluded that age has no significant influence on intestinal permeability.

Our findings support the hypothesis that some dogs with AHDS exhibit heightened IP, as measured by iohexol. However, it is important to note that not all dogs demonstrated increased IP using this marker, which could be attributed to variations in the extent of intestinal mucosal damage. Moreover, we observed a correlation between the degree of IP and clinical severity, with dogs classified as SIRS patients displaying the highest SIC. Follow-up studies are necessary to monitor these patients and determine whether dogs with elevated SIC are at risk of developing chronic gastrointestinal disorders. This investigation will help assess the potential of iohexol as a long-term prognostic marker in dogs with AHDS.

5. Conclusions

In conclusion, our study has shown that there is a correlation between increased intestinal permeability, as measured by serum iohexol concentration, and clinical severity in dogs with AHDS. It has also been shown that in general, dogs with AHDS have increased intestinal permeability assessed by SIC. However, further research is needed to evaluate the potential long-term effects of altered intestinal barrier function on the development of chronic intestinal disease in affected dogs.

Author Contributions: Conceptualization, A.R., H.S., P.E.I., J.S.S., J.A.L., K.B. and S.U.; methodology, A.R., H.S., P.E.I., J.S.S., J.A.L., K.B. and S.U.; validation, A.R., J.S.S., K.B. and S.U.; formal analysis, A.R., J.S.S., K.B. and S.U.; investigation, A.R. and H.S.; resources, J.S.S. and S.U.; data curation, A.R. and H.S.; results analyzing, A.R., S.U., K.B., J.S.S., H.S., J.A.L. and P.E.I.; writing—original draft preparation, A.R., J.S.S., K.B. and S.U.; writing—review and editing, H.S., P.E.I., J.S.S., J.A.L., K.B. and S.U.; visualization, A.R., H.S., J.S.S., K.B. and S.U.; supervision, J.S.S., K.B. and S.U.; project administration, A.R., K.B. and S.U.; funding acquisition, J.S.S., K.B. and S.U. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: The study was approved by the Ethics Committee of Veterinary Medicine, Ludwig-Maximilians-University, Munich, Germany (approval number 128-10-06-2018). All dogs included in the study were client-owned and presented to the Clinic for Small Animal Medicine, LMU Munich, Germany, between October 2020 and March 2022.

Informed Consent Statement: The owners were fully informed about the objectives of the study and signed a written declaration of consent.

Data Availability Statement: Data available on request due to restrictions (e.g., privacy, legal or ethical reasons).

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Konig, J.; Wells, J.; Cani, P.D.; García-Ródenas, C.L.; MacDonald, T.; Mercenier, A.; Whyte, J.; Troost, F.; Brummer, R.J. Human Intestinal Barrier Function in Health and Disease. *Clin. Transl. Gastroenterol.* **2016**, *7*, e196. [CrossRef]
2. Deitch, E.A. Nutrition and the gut mucosal barrier. *Curr. Opin. Gen. Surg.* **1993**, 85–91. Available online: <https://europepmc.org/article/med/7584019> (accessed on 1 March 2024).
3. Unterer, S.H.K. Akuter blutiger Durchfall beim Hund—Ursachen und diagnostische Aufarbeitung. *Tierarztl. Prax. Ausg. K. Kleintiere Heimtiere* **2009**, *37*, 261–268.
4. Unterer, S.; Busch, K.; Leipzig, M.; Hermanns, W.; Wolf, G.; Straubinger, R.K.; Mueller, R.S.; Hartmann, K. Endoscopically visualized lesions, histologic findings, and bacterial invasion in the gastrointestinal mucosa of dogs with acute hemorrhagic diarrhea syndrome. *J. Vet. Intern. Med.* **2014**, *28*, 52–58. [CrossRef]
5. Will, K.; Nolte, I.; Zentek, J. Early enteral nutrition in young dogs suffering from haemorrhagic gastroenteritis. *J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med.* **2005**, *52*, 371–376. [CrossRef]
6. Mehdizadeh Gohari, I.; Parreira, V.R.; Nowell, V.J.; Nicholson, V.M.; Oliphant, K.; Prescott, J.F. A novel pore-forming toxin in type A *Clostridium perfringens* is associated with both fatal canine hemorrhagic gastroenteritis and fatal foal necrotizing enterocolitis. *PLoS ONE* **2015**, *10*, e0122684. [CrossRef]
7. 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. [CrossRef]
8. Zhang, Z.; Mocanu, V.; Cai, C.; Dang, J.; Slater, L.; Deehan, E.C.; Walter, J.; Madsen, K.L. Impact of Fecal Microbiota Transplantation on Obesity and Metabolic Syndrome—A Systematic Review. *Nutrients* **2019**, *11*, 2291. [CrossRef]
9. 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. [CrossRef]
10. Unterer, S.; Lechner, E.; Mueller, R.S.; Wolf, G.; Straubinger, R.K.; Schulz, B.S.; Hartmann, K. Prospective study of bacteraemia in acute haemorrhagic diarrhoea syndrome in dogs. *Vet. Rec.* **2015**, *176*, 309. [CrossRef]
11. Gonzalez, L.M.; Moeser, A.J.; Blikslager, A.T. Animal models of ischemia-reperfusion-induced intestinal injury: Progress and promise for translational research. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* **2015**, *308*, G63–G75. [CrossRef]
12. Mortier, F.; Strohmeyer, K.; Hartmann, K.; Unterer, S. Acute haemorrhagic diarrhoea syndrome in dogs: 108 cases. *Vet. Rec.* **2015**, *176*, 627. [CrossRef] [PubMed]
13. Travis, S.; Menzies, I. Intestinal permeability: Functional assessment and significance. *Clin. Sci.* **1992**, *82*, 471–488. [CrossRef] [PubMed]
14. Klenner, S.; Coenen, M.; Failing, K.; Hewicker-Trautwein, M.; Ternes, W.; Verspohl, J.; Spillmann, T. Estimation of intestinal permeability in healthy dogs using the contrast medium iohexol. *Vet. Clin. Pathol.* **2009**, *38*, 353–360. [CrossRef] [PubMed]
15. Frias, R.; Strube, K.; Ternes, W.; Collado, M.C.; Spillmann, T.; Sankari, S.; Westermarck, E. Comparison of 51chromium-labeled ethylenediamine tetra-acetic acid and iohexol as blood markers for intestinal permeability testing in Beagle dogs. *Vet. J.* **2012**, *192*, 123–125. [CrossRef] [PubMed]
16. Davis, M.S.; Willard, M.D.; Williamson, K.K.; Steiner, J.M.; Williams, D.A. Sustained strenuous exercise increases intestinal permeability in racing Alaskan sled dogs. *J. Vet. Intern. Med.* **2005**, *19*, 34–39. [CrossRef] [PubMed]
17. Steiner, J.M.; Williams, D.A.; Moeller, E.M. Kinetics of urinary recovery of five sugars after orogastric administration in healthy dogs. *Am. J. Vet. Res.* **2002**, *63*, 845–848. [CrossRef] [PubMed]
18. Meddings, J.B.; Sutherland, L.R.; Byles, N.I.; Wallace, J.L. Sucrose: A novel permeability marker for gastroduodenal disease. *Gastroenterology* **1993**, *104*, 1619–1626. [CrossRef] [PubMed]
19. Ortín-Piqueras, V.S.T.; Pöytäkangas, M.; Vaccaro, D.E.; Sankari, S.; Frías, R. Determination of iohexol in canine plasma—Strong correlation between enzyme-linked immunosorbent assay, high-performance liquid chromatography, and neutron activation analysis. *Scand. J. Lab. Anim. Sci.* **2018**, *44*, 1–7.
20. Busch, K.; Suchodolski, J.S.; Kuhner, K.A.; Minamoto, Y.; Steiner, J.M.; Mueller, R.S.; Hartmann, K.; Unterer, S. *Clostridium perfringens* enterotoxin and *Clostridium difficile* toxin A/B do not play a role in acute haemorrhagic diarrhoea syndrome in dogs. *Vet. Rec.* **2015**, *176*, 253. [CrossRef]
21. Chu, V.; Goggs, R.; Bichoupan, A.; Radhakrishnan, S.; Menard, J. Hypophosphatemia in Dogs With Presumptive Sepsis: A Retrospective Study (2008–2018). *Front. Vet. Sci.* **2021**, *8*, 636732. [CrossRef]
22. Dupont, N.; Jessen, L.R.; Moberg, F.; Zyskind, N.; Lorentzen, C.; Bjørnvad, C.R. A retrospective study of 237 dogs hospitalized with suspected acute hemorrhagic diarrhea syndrome: Disease severity, treatment, and outcome. *J. Vet. Intern. Med.* **2021**, *35*, 867–877. [CrossRef] [PubMed]
23. Hauptman, J.G.; Walshaw, R.; Olivier, N.B. Evaluation of the sensitivity and specificity of diagnostic criteria for sepsis in dogs. *Vet. Surg.* **1997**, *26*, 393–397. [CrossRef] [PubMed]
24. Sun, Z.; Wang, X.; Andersson, R. Role of intestinal permeability in monitoring mucosal barrier function. History, methodology, and significance of pathophysiology. *Dig. Surg.* **1998**, *15*, 386–397. [CrossRef] [PubMed]

25. Skotnitzki, E.; Suchodolski, J.S.; Busch, K.; Werner, M.; Zablotzki, Y.; Ballhausen, B.D.; Neuerer, F.; Unterer, S. Frequency of signs of chronic gastrointestinal disease in dogs after an episode of acute hemorrhagic diarrhea. *J. Vet. Intern. Med.* **2022**, *36*, 59–65. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Melton-Celsa, A.; Mohawk, K.; Teel, L.; O'Brien, A. Pathogenesis of Shiga-toxin producing escherichia coli. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* **2012**, *357*, 67–103. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Crisan, C.V.; Hammer, B.K. The *Vibrio cholerae* type VI secretion system: Toxins, regulators and consequences. *Environ. Microbiol.* **2020**, *22*, 4112–4122. [[CrossRef](#)]
28. Mehdizadeh Gohari, I.; Unterer, S.; Whitehead, A.E.; Prescott, J.F. NetF-producing *Clostridium perfringens* and its associated diseases in dogs and foals. *J. Vet. Diagn. Investig.* **2020**, *32*, 230–238. [[CrossRef](#)]
29. Rummell, L.M.; Steele, M.A.; Templeman, J.R.; Yohe, T.T.; Akhtar, N.; Lambie, J.G.; Singh, P.; Asquith, T.; Verbrugge, A.; Pearson, W.; et al. A proof of principle study investigating the effects of supplemental concentrated brewer's yeast on markers of gut permeability, inflammation, and fecal metabolites in healthy non-challenged adult sled dogs. *J. Anim. Sci.* **2022**, *100*, skac281. [[CrossRef](#)]
30. Forsgard, R.A.; Korpela, R.; Holma, R.; Lindén, J.; Frias, R.; Spillmann, T.; Österlund, P. Intestinal permeability to iohexol as an in vivo marker of chemotherapy-induced gastrointestinal toxicity in Sprague-Dawley rats. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2016**, *78*, 863–874. [[CrossRef](#)]
31. Mutzel, W.; Speck, U. Pharmacokinetics and biotransformation of iohexol in the rat and the dog. *Acta Radiol. Suppl.* **1980**, *362*, 87–92. [[CrossRef](#)]
32. Lasser, E.C.; Farr, R.S.; Fujimagari, T.; Tripp, W.N. The significance of protein binding of contrast media in roentgen diagnosis. *Am. J. Roentgenol. Radium Ther. Nucl. Med.* **1962**, *87*, 338–360. [[PubMed](#)]
33. Bettmann, M.A.; Morris, T.W. Recent advances in contrast agents. *Radiol. Clin. N. Am.* **1986**, *24*, 347–357. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Strube, K. Vergleichende Iohexol- und Iodbestimmung in Caninen und Equinen Serum- und Rattenurinproben Nach Oraler Verabreichung von Iohexol—Ein Beitrag zum Möglichen Einsatz von Iohexol als Marker Für Die Intestinale Permeabilität. Ph.D. Thesis, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, Hannover, Germany, 2007.
35. Ortin-Piqueras, V.; Freitag, T.L.; Andersson, L.C.; Lehtonen, S.H.; Meri, S.K.; Spillmann, T.; Frias, R. Urinary Excretion of Iohexol as a Permeability Marker in a Mouse Model of Intestinal Inflammation: Time Course, Performance and Welfare Considerations. *Animals* **2021**, *11*, 79. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Gerova, V.A.; Stoyanov, S.G.; Katsarov, D.S.; Svinarov, D.A. Increased intestinal permeability in inflammatory bowel diseases assessed by iohexol test. *World J. Gastroenterol.* **2011**, *17*, 2211–2215. [[CrossRef](#)]
37. Finco, D.R.; Braselton, W.E.; Cooper, T.A. Relationship between plasma iohexol clearance and urinary exogenous creatinine clearance in dogs. *J. Vet. Intern. Med.* **2001**, *15*, 368–373. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. Laroute, V.; Lefebvre, H.P.; Costes, G.; Toutain, P.L. Measurement of glomerular filtration rate and effective renal plasma flow in the conscious beagle dog by single intravenous bolus of iohexol and p-aminohippuric acid. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* **1999**, *41*, 17–25. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
39. Baklouti, S.; Concordet, D.; Borromeo, V.; Pocar, P.; Scarpa, P.; Cagnardi, P. Population Pharmacokinetic Model of Iohexol in Dogs to Estimate Glomerular Filtration Rate and Optimize Sampling Time. *Front. Pharmacol.* **2021**, *12*, 634404. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
40. Leipzig-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. [[CrossRef](#)]
41. Mueller, R.S.; Unterer, S. Adverse food reactions: Pathogenesis, clinical signs, diagnosis and alternatives to elimination diets. *Vet. J.* **2018**, *236*, 89–95. [[CrossRef](#)]

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.

IV. PUBLIKATION 3: ORIGINAL-PUBLIKATION ZUR STUDIE

2

Comparing treatment effects on dogs with acute hemorrhagic diarrhea syndrome: fecal microbiota transplantation, symptomatic therapy, or antibiotic treatment

Andrea Reisinger

Medizinische Kleintierklinik, Zentrum für Klinische Tiermedizin, Ludwig-Maximilians-Universität München, München, Deutschland

Helene Stübing

Medizinische Kleintierklinik, Zentrum für Klinische Tiermedizin, Ludwig-Maximilians-Universität München, München, Deutschland

Jan S. Suchodolski

Gastrointestinal Laboratory, Department of Small Animal Clinical Sciences, Texas A&M University, TAMU, College Station, Texas, United States of America

Rachel Pilla

Gastrointestinal Laboratory, Department of Small Animal Clinical Sciences, Texas A&M University, TAMU, College Station, Texas, United States of America

Stefan Unterer

Klinik für Kleintiermedizin, Vetsuisse-Fakultät, Universität Zürich, Zürich, Schweiz

Kathrin Busch

Medizinische Kleintierklinik, Zentrum für Klinische Tiermedizin, Ludwig-Maximilians-Universität München, München, Deutschland

JAVMA: veröffentlicht

J Am Vet Med Assoc. 2024 Aug 2;1-9. doi: 10.2460/javma.24.03.0153. PMID: 39094622.

Comparing treatment effects on dogs with acute hemorrhagic diarrhea syndrome: fecal microbiota transplantation, symptomatic therapy, or antibiotic treatment

Andrea Reisinger, med vet^{1*}; Helene Stübing, med vet¹; Jan S. Suchodolski, Dr med vet, PhD, DACVM²; Rachel Pilla, DVM, PhD²; Stefan Unterer, Dr med vet, DECVIM³; Kathrin Busch, Dr med vet, DECVIM¹

¹Clinic of Small Animal Internal Medicine, Center for Clinical Veterinary Medicine, Ludwig Maximilian University, Munich, Germany

²Gastrointestinal Laboratory, Department of Small Animal Clinical Sciences, School of Veterinary Medicine and Biomedical Sciences, Texas A&M University, College Station, TX

³Clinic for Small Animal Internal Medicine, Vetsuisse Faculty, University of Zurich, Zurich, Switzerland

*Corresponding author: Andrea Reisinger (reisinger.andrea@gmx.de)

OBJECTIVE

Dogs with acute hemorrhagic diarrhea syndrome (AHDS) present with similar clinical signs and histopathological findings as dogs with parvovirus, in which fecal microbiota transplantation (FMT) has led to a significantly faster resolution of diarrhea and shorter hospitalization times. We investigated whether FMT results in faster clinical improvement and normalization of the intestinal microbiome compared to standard treatment.

ANIMALS

32 client-owned dogs with AHDS.

METHODS

A prospective, double-anonymized clinical trial included 3 groups: symptomatic treatment (n = 12), FMT treatment (FMTT; 12), and antibiotic treatment (AT; 8). Clinical improvement was determined on the basis of AHDS index, changes in the microbiome based on the dysbiosis index, and PCR results for clostridial strains.

RESULTS

Overall, no significant differences in clinical scores between the treatment groups over time were detected except on day 2 (higher AHDS index in the AT group compared to FMTT group; $P = .046$). The dysbiosis index increased and *P hiranonis* decreased on day 1 in some dogs, but these changes were transient in the symptomatic treatment and FMTT groups. In the AT group, the dysbiosis index was persistently elevated and 4 of 8 dogs showed a reduced abundance of *P hiranonis* on day 42. In 67% of the dogs on day 1, NetF-encoding *Clostridium perfringens* was detected and enterotoxin-encoding strains increased, but these changes were transient in all dogs, regardless of therapy.

CLINICAL RELEVANCE

Overall, in dogs with AHDS, neither FMT nor AT resulted in faster clinical improvement. In addition, *C perfringens* strains are self-limiting and do not require antibiotic therapy.

Keywords: FMT, dysbiosis index, AHDS, *Clostridium perfringens*, NetF toxin

Acute hemorrhagic diarrhea syndrome (AHDS) in dogs presents with sudden onset of hemorrhagic, watery diarrhea, often accompanied by vomiting, anorexia, and lethargy.¹⁻³ Treatment primarily involves fluid therapy, analgesics, and antiemetics.^{1,3,4} Rapid clinical improvement is observed in most cases without

the need for antibiotics.^{1,3} Histopathological examinations have revealed necrotizing enterocolitis and layers of *Clostridium perfringens* strains adherent to the necrotic surface,⁵ and fecal real-time PCR (qPCR) analysis has been found to show an increase in the abundances of *C perfringens* in dogs with AHDS compared to healthy dogs.⁶ Based on a summary of all current information, it seems very likely that overgrowth by *C perfringens* type A strains associated with the release of NetF toxins, possibly in combination with other toxins, is responsible for the necrotic enterocolitis in dogs with AHDS.⁶⁻⁸ Clostridial strains, such as *C perfringens* and *Clostridioides difficile*, have also been associated

Received March 6, 2024

Accepted July 3, 2024

Published online August 2, 2024

doi.org/10.2460/javma.24.03.0153

©The authors

with some gastrointestinal diseases in human medicine.^{9,10} For example, *C. difficile* infections can lead to severe colitis in humans. In contrast, many bacteria of the Clostridia class, including *C. perfringens*, are considered as components of the normal microbiota of humans and animals.^{11–13} The clinical role of different *C. perfringens* (eg, enterotoxin-producing strains) and *C. difficile* strains, such as enteropathogens, is highly controversial in dogs, and a recent study¹⁴ has shown that the presence of *C. difficile* is strongly associated with an increased dysbiosis index (DI) and a decreased abundance of bile-acid-converting *Peptacetobacter* (*Clostridium*) *hiranonis* (*P. hiranonis*). *P. hiranonis* is an important commensal of the microbiome due to its role in bile acid conversion, and a decrease in *P. hiranonis* abundance has been associated with overgrowth of *C. difficile* and other clostridial organisms.^{14,15} A previous study¹⁶ reported a low prevalence of *C. difficile* in dogs with AHDS.

Currently, fecal microbiota transplantation (FMT), which involves the transfer of fecal material from a healthy donor to a recipient with an imbalanced gut microbiota, is being explored as a potential treatment option for various gastrointestinal disorders in dogs and cats.¹⁷ Dogs with AHDS show similar histopathological findings as humans with *C. difficile*-induced colitis and dogs with parvovirus. Necrotizing enteritis is present in these diseases and is associated with intestinal dysbiosis.⁵ Fecal microbiota transplantation has shown remarkable success rates in treating recurrent *C. difficile* infections.^{17–19} In a study²⁰ of dogs with parvovirus, FMT resulted in a significantly faster resolution of diarrhea and significantly shorter hospitalization time. So far, it's unclear whether FMT could effectively lead to a faster resolution of clinical signs in dogs with AHDS by reducing toxigenic *C. perfringens* strains and preventing harmful bacterial colonization. Additionally, FMT may aid in restoring intestinal barrier integrity via a mechanism like mucin secretion, potentially hastening clinical recovery by improving metabolic function and mucosal immune response.^{17,21} The changes in the microbiome and the effects of FMT are often determined by use of the dysbiosis index (DI). This index is based on a mathematical algorithm and has been shown to accurately correlate with general microbiome shifts as assessed by metagenomic sequencing.^{22–24} The goals of this study were to compare the clinical course, changes of potentially enteropathogenic bacterial strains, and DI between dogs with AHDS that were treated with FMT and symptomatic treatment (ST) versus ST alone. It was hypothesized that the use of FMT in dogs with AHDS would result in a faster improvement of clinical signs and intestinal dysbiosis.

Methods

Study design

This prospective, double-anonymized, randomized case-control study was approved by the Ethics Committee of the Center for Clinical Veterinary Medicine at Ludwig Maximilian University in Munich, Germany

(approval No. 128-10-06-2018). Owners were informed of the purpose of the study and signed a written informed consent form prior to study enrollment. All dogs were client-owned and presented between October 2020 and March 2022. The dogs were randomized into 2 groups, generated by an online randomizer in September 2020 (Research Randomizer; Randomizer.org). Dogs receiving antimicrobials were retrospectively grouped into a separate category, especially to assess the (long-term) influence on the intestinal microbiome in comparison to dogs with standard therapy or standard therapy plus FMT.

Dogs with AHDS

Dogs of any breed, both sexes, and over 1 year of age were included in the study if the hemorrhagic diarrhea lasted < 3 days. Dogs receiving mucosal irritants (such as NSAIDs, doxycycline, and/or corticosteroids) within 1 week prior to diagnosis or dogs with an underlying disease that could also cause acute hemorrhagic diarrhea (such as acute pancreatitis, exocrine pancreatic insufficiency, acute renal and/or liver failure, mechanical obstruction, focal intestinal disorder, or hypoadrenocorticism) were excluded. Therefore, a CBC, serum biochemistry profile, abdominal ultrasound, and fecal examination (flotation and SNAP *Giardia* Test; Idexx Laboratories Inc) were consequently performed in all dogs and basal cortisol in 13 dogs. All dogs received ST during hospitalization consisting of a high-fiber gastrointestinal diet (Gastrointestinal Biome; Hill's Pet Nutrition GmbH), fluid therapy (crystalloids, fluid volume depending on dehydration grade, ongoing losses, and maintenance requirements), antiemetics (maropitant, 1 mg/kg, IV, q 24 h; and, when needed, metoclopramide, 60 µg/kg/h, IV), and analgesics (buprenorphine, 0.01 mg/kg, IV, q 6 to 8 h; or metamizole, 50 mg/kg, IV, q 8 h). To the best of our knowledge, no medication or diet (eg, raw food) with significant impact on the intestinal microbiota was given. However, before entry in the study, 2 dogs received omeprazole (ST and antibiotic treatment [AT] groups) and 3 dogs may have received a single dose of probiotics administered by clinicians from the emergency service (2 dogs from the ST group and 1 dog from the FMT treatment [FMTT] group).

Fecal microbiota transplantation

A single donor was used for the FMTT group: an 11-year-old 18-kg neutered male mixed-breed dog, assessed as healthy based on history, normal physical examination, CBC, serum biochemistry parameters, and T4, vitamin B12, and folic acid levels. The dog was fed exclusively 1 diet (Gastrointestinal Biome; Hill's Pet Nutrition GmbH) during the study period and did not receive any supplements or probiotics. Fecal testing revealed a normal dysbiosis index (–3.5) and negative results for endoparasites (flotation and SNAP *Giardia* Test; Idexx Laboratories Inc) and enteropathogens (*Salmonella* spp, canine parvovirus, *Campylobacter* spp, NetF-toxin-producing *C. perfringens*). Donor feces were processed for a maximum of 4 hours after collection. To 10 g of feces, 6 mL of 0.9%

sodium chloride solution and 2.5 mL of 85% glycerol were added, mixed with a blender, and then filled into 100-mL syringes. These syringes were then stored at -80°C and kept for a maximum of 3 months. The FMT procedure was conducted with a rectal enema on the day of presentation and again after 48 hours. Dogs of the FMTT group received 6 g of feces per kg of body weight as a rectal enema without anesthesia.^{17,25} The prepared syringes were then carefully defrosted in a warm water bath 1 hour before FMT. Each FMT was performed by the same clinician who was not involved in the clinical care for the dog. After the FMT, the dogs were kept in their kennels and were not allowed to walk for at least 3 hours.

Antibiotic treatment

The dogs with AHDS were randomized into 2 groups (FMTT and ST). Based on the decision of the primary responsible clinician, a subpopulation of dogs from both the ST and FMTT groups received antibiotics. These dogs were retrospectively classified as a third study group. The decision as to whether or not dogs received antibiotics was made by clinicians based on the systemic inflammatory response syndrome criteria (**Table 1**).^{1,26,27} All dogs that received antibiotics showed at least 2 of these criteria.

Table 1—Criteria for inflammatory response syndrome (SIRS) for evaluating disease severity in dogs as based on studies by Chu et al,²⁶ Hauptman et al,²⁷ and Dupont et al.¹

Clinical SIRS criteria

Hypo- or hyperthermia	< 37.5 or > 39.3 °C < 99.5 or > 102.74 °F
Tachycardia	> 140 beats/min
Tachypnea	> 40 breaths/min
Lethargy	

Laboratory SIRS criteria

Leukopenia or leukocytosis	< 6 or > 25 G/L
Band neutrophils	> 3%
Hypoglycemia	< 70.2 mg/dL (< 3.9 mmol/L)

Evaluation of disease severity

The AHDS index was used to determine clinical severity.^{2,16,28} For better visualization, this index is shown as a table in the supplementary material (**Supplementary Table S1**). This score was evaluated daily by a veterinarian during the hospitalization period. The AHDS index of the individual dogs was determined by the same veterinarian every day, with the exception of weekends, when the index was determined by the veterinarian on duty. A posthospitalization diary was completed by the owner to determine the AHDS index 2 times per week over a period of 2 weeks. Both the primary veterinarian and the owner were masked regarding the treatment group. For better objectivity, the Purina fecal scoring system for dogs was used to determine fecal consistency.²⁸ At some time points, the AHDS index could not be determined in all dogs. The AHDS index was available for the following numbers of dogs: day 1, 12 of 12 (ST group), 12 of 12 (FMTT group), and 8 of 8 (AT group); day 2, 12 of 12 (ST group), 12 of 12 (FMTT group), and 8 of 8 (AT group); day 3, 10

of 12 (ST group), 11 of 12 (FMTT group), and 8 of 8 (AT group); week 1, 10 of 12 (ST group), 11 of 12 (FMTT group), and 7 of 8 (AT group); and week 2, 10 of 12 (ST group), 11 of 12 (FMTT group), and 7 of 8 (AT group). For better understanding, this is also shown in a table in the supplementary material (**Supplementary Table S2**). Dogs were discharged when they presented a good general condition and when the diarrhea was nonhemorrhagic and the frequency was < 3 times per day, so that fluid losses did not have to be compensated by IV fluid therapy.

Assessment of the intestinal microbiome and clostridial organisms

Fecal samples were collected on day 1 of the study and by owners at home on days 7, 21, and 42. Fecal samples were frozen immediately after collection during hospitalization or by the owners at home. All dog owners brought the frozen samples for long-term storage at -80°C on days 42 to 104. The fecal samples were stored at -80°C for a period between 5 and 550 days. Fecal samples could not be analyzed from every dog on every day (Supplementary Table S2). The analysis was possible in the following numbers of dogs: day 1, 8 of 12 (ST group), 8 of 12 (FMTT group), and 8 of 8 (AT group); day 7, 10 of 12 (ST group), 10 of 12 (FMTT group), and 7 of 8 (AT group); day 21, 11 of 12 (ST group), 10 of 12 (FMTT group), and 7 of 8 (AT group); and day 42, 11 of 12 (ST group), 10 of 12 (FMTT group), and 8 of 8 (AT group).

For analysis, fecal samples were sent on dry ice to the Gastrointestinal Laboratory at Texas A&M University. Samples were assessed for the DI, the *C perfringens* 16S rRNA gene, enterotoxin- and NetF-encoding *C perfringens*, and *C difficile*. The DI is based on qPCR results of the abundance of 7 bacterial taxa (namely, *Faecalibacterium*, *Turicibacter*, *Streptococcus*, *Escherichia coli*, *Blautia*, *Fusobacterium*, and *P hiranonis*) and total bacterial abundance. For assessment of the severity of dysbiosis, a classification of the DI, which has been shown to correlate with metagenomic analysis, was used²²⁻²⁴: DI > 2 was considered significant dysbiosis, and DI between 0 and 2 was considered mild-moderate dysbiosis. Samples that had a DI < 0 but some bacteria outside the reference interval were characterized as minor changes.

For the *C perfringens* 16S rRNA, validated primers were used.²⁹⁻³² The PCR was performed in a single 30-cycle step by use of the HotStarTaq Plus Master Mix Kit (Qiagen NV). This step was followed by incubation at 94°C for 3 minutes and then 28 cycles at 94°C for 30 seconds, at 53°C for 40 seconds, at 72°C for 1 minute, and finally an elongation step at 72°C for 5 minutes.³³

The *C perfringens* enterotoxin gene and netF gene were analyzed for each sample with qPCR. Total fecal DNA was extracted and isolated by use of a validated protocol based on a bead-beating procedure with a PowerSoil DNA Isolation Kit (Mo Bio Laboratories Inc).²⁴ Validated primers were used for quantification of NetF coding and enterotoxin genes.⁷ The PCR was performed with specific conditions: (1) 20 seconds at 95°C , (2) 5 seconds of 40 cycles at 95°C ,

and (3) 10 seconds at the optimized annealing temperature. The master mix of the assays consisted of 10 μ L of TaqMan reaction mixes. This mixture contains 5 μ L of TaqMan Fast Universal PCR Master Mix no AmpErase UNG (2X) (Applied Biosystems), 1 μ L water, 1 μ L of 1% bovine serum albumin, 0.4 μ L of each primer, 0.2 μ L of probe, and 2 μ L of DNA (1:10 or 1:100 dilution). The PCR protocol for SYBR-based assays was performed at 95 °C for 2 minutes, 40 cycles at 95 °C for 5 seconds, and 10 seconds at the optimized annealing temperature. The PCR was performed by use of 10 μ L of SYBR-based reaction mix, which contains 1.6 μ L of water, 5 μ L of SsoFast EvaGreen Supermix (Bio-Rad Laboratories Inc), 2 μ L of DNA (1:10 or 1:100 dilution), 0.4 μ L of each primer (final concentration, 400 nM), and 1 μ L of 1% bovine serum albumin (final concentration, 0.1%).⁷

Clostridioides difficile was also measured with a qPCR assay.³⁴ A master mix consisting of 2 μ L of DNA, 5 μ L of SsoFast Probes Supermix, 2.35 μ L of water, 0.15 μ L of probe, and 0.25 μ L of each primer was used. Cycling conditions included incubation for 2 minutes at 95 °C, 40 cycles for 5 seconds at 95 °C, and 10 seconds at the optimized annealing temperature. A commercial qPCR thermal cycler (CFX96 Real-Time PCR Detection System; Bio-Rad Laboratories Inc) was used for the reactions.³⁴

Statistical analysis

Excel version 16.71 (Microsoft Corp) and Prism version 9.5.1 (GraphPad Software Inc) were used for the statistical analyses. Normal distribution was tested with the Shapiro-Wilk normality test. For data over time, a mixed-effects model adjusted for multiple comparisons with the Geisser-Greenhouse correction was used. Correlations were performed with the Spearman rank correlation test or Pearson correlation coefficient depending on the distribution. A P value < .05 was considered significant. In order to see a difference of 1 to 3 points between the 2 groups (the group with FMT and the group without FMT), 15 patients per group were required, with $\sigma = 1.5$, power > 80%, and $P < .05$. The power analysis was performed to compare the ST and FMTT groups. Due to the decision of the treating veterinarian, some dogs received antibiotics. For this reason, a third group was formed retrospectively. Within the AT group, no distinction was made between FMT

plus AT and ST plus AT, as it was assumed that the antibiotics had the most significant influence on the microbiome. Therefore, all dogs that received antibiotics were combined as 1 group, regardless of the underlying randomized therapy.

Results

Study population

Thirty-two dogs were included in the study. Initially, 16 dogs were randomized to the ST group and 16 dogs to the FMTT group. After enrollment and during hospitalization, 8 of the 32 dogs received antibiotics. One dog from the FMTT group received 12.5 mg/kg of amoxicillin-clavulanic acid every 8 hours on day 3 because of a nephrolith, and a urinary infection was found incidentally. The other 7 dogs received antibiotics based on the decision of the treating veterinarian, who classified the dogs as septic (all showed at least one of the criteria listed in Table 1). Of the 7 dogs in which sepsis was suspected, 4 were in the ST group and the other 3 were in the FMTT group. Of these 7 dogs, 6 received amoxicillin-clavulanic acid at a dosage of 20 mg/kg, IV, every 8 hours, and 1 dog received marbofloxacin at a dosage of 4 mg/kg, IV, for 1 day, and then 2 mg/kg, IV, every 24 hours. This dog was given marbofloxacin because of previous allergic signs to amoxicillin-clavulanic acid. Dogs that were in the FMTT group and received antibiotics still received FMT. Antibiotic therapy was started on day 2 in 6 of 7 dogs and on day 3 in 1 of 7 dogs.

Signalment

The signalment of the different treatment groups is shown in **Table 2**. The groups did not show a significant difference in age or weight ($P > .05$).

Clinical severity

Overall, dogs were hospitalized for a mean of 3 days (range, 1 to 5 days). No significant differences in clinical severity based on the AHDS index between the treatment groups at any time point except day 2 were detected. On day 2, the AT group showed a significantly higher ($P = .046$) AHDS index (mean, 9; range, 4 to 11) compared to the FMTT group, in which the dogs showed a mean AHDS index of 5.7 (range, 2 to 10), as shown in **Figure 1**.

Table 2—Signalment of the different treatment groups for dogs with acute hemorrhagic diarrhea syndrome.

	ST group	FMTT group	AT group	P value
Age (y)	8.1 (1.2–14.1)	5.5 (1.3–10.9)	7.2 (1.5–12.5)	$P = .14^{\text{SF}}$ $P = .65^{\text{SA}}$ $P = .34^{\text{FA}}$
Weight (kg)	11.3 (1.8–19.2)	15.8 (4.5–46)	12.1 (4.4–32)	$P = .24^{\text{SF}}$ $P = .79^{\text{SA}}$ $P = .47^{\text{FA}}$
Sex	8 females (3 spayed) 4 males (2 neutered)	5 females (1 spayed) 7 males (2 neutered)	5 females (3 spayed) 3 neutered males	

Age and weight for each treatment group are presented as the median and range. A P value < .05 is considered significant. AT = Antibiotic treatment. FMTT = Fecal microbiota transplantation. ST = Symptomatic treatment. The superscript letters indicate the corresponding treatment groups. ^AAT group. ^FFMTT group. ^SST group.

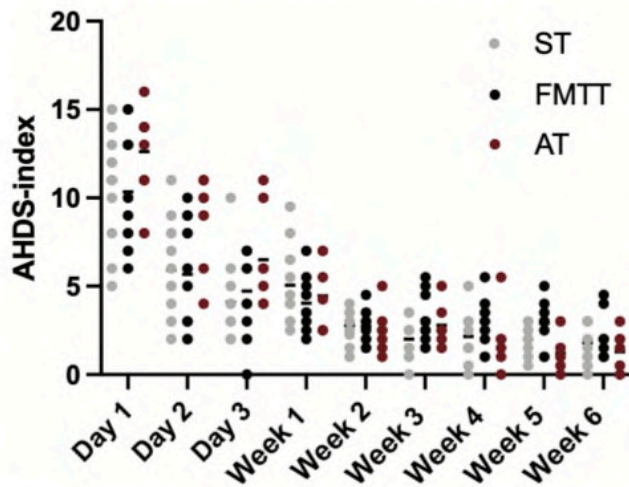


Figure 1—Comparison of the acute hemorrhagic diarrhea syndrome (AHDS) index between the different treatment groups. The AHDS index of each dog is shown as an individual dot. The horizontal lines show the mean values. The gray dots represent the symptomatic treatment (ST) group. The black dots represent the fecal microbiota transplantation treatment (FMTT) group. The red dots represent the antibiotic treatment (AT) group. No significant differences between the treatment groups at any time point were found except on day 2; on this day, the AHDS index was significantly higher in the AT group than in the FMTT group ($P = .046$).

It has to be highlighted that all dogs in the antibiotic group except the one with the nephrolith and the urinary infection were classified as clinically severe and potentially septic on day 1 (AHDS index ≥ 9). Moreover, the mean hospitalization time for dogs in the AT group was 4 days (range, 3 to 5 days), which was significantly longer compared to the dogs in the ST group (mean, 2 days; range, 1 to 4 days; $P < .01$) and the dogs in the FMTT group (mean, 3 days; range, 1 to 5 days; $P = .04$).

Assessment of the microbiome and clostridial organisms

Some dogs independent of the treatment groups showed an increased DI (DI > 0) on day 1 of the study. Significant dysbiosis (DI > 2) was found in 5/24 dogs (3/8 from the ST group and 2/8 from the AT group). The increase in DI was transient in the FMT and ST groups as the majority of dogs had a DI < 0 at day 42. In the AT group, in contrast to the ST and FMTT groups, several dogs had a persistently increased DI until day 42, with as many as 3 of 8 dogs showing significant dysbiosis on day 42. No significant difference between the different therapy groups in terms of DI was found with the exception of day 42; on this day, the DI was significantly higher in the AT group (median, 0.75; minimum to maximum, -5.2 to 2.8) compared with the ST group ($P = .01$; median, -4.5 ; minimum to maximum, -6.1 to 2.8) and the FMTT group ($P = .03$; median, -3.9 ; minimum to maximum, -6.3 to 1.2), as shown in **Figure 2**.

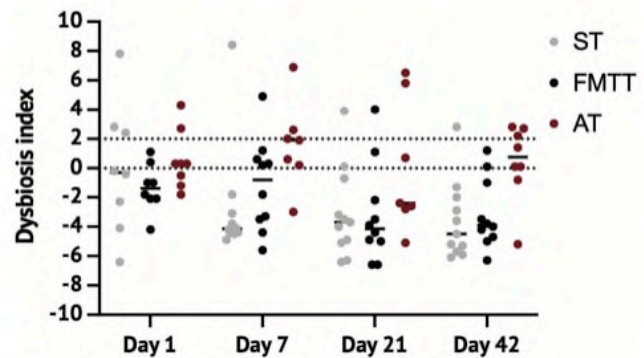


Figure 2—Assessment of microbiome changes. The graph shows the direct comparison between the treatment groups and accordingly shows the changes in the dysbiosis index over time. The horizontal lines show the median values.

In 75% (5/8 from the ST group, 7/8 from the FMTT group, and 6/8 from the AT group) of the dogs, *C perfringens* as assessed by the 16S rRNA gene, indicating total *C perfringens* organisms, increased above the reference interval on day 1. In all but 2 dogs (1 each from the ST and AT groups), *C perfringens* abundance returned to within the reference interval. Regarding the different treatment groups, there was only a significant difference on day 7 between the ST and AT groups ($P < .01$). On this day, the dogs in the AT group showed a lower *C perfringens* log DNA than the ST group. Otherwise, no significant differences were detected between the different treatment groups at any other time point.

A total of 67% (5/8 from the ST group, 6/8 from the FMTT group, and 5/8 from the AT group) of the dogs showed *C perfringens* encoding for enterotoxin above the reference interval on day 1. In all groups, independent of therapy, the increase was transient, and in all but 3 dogs (1 from each treatment group), the abundance returned to within the reference interval on day 42. No significant correlation was observed between clinical severity (AHDS index) and the presence of enterotoxin-encoding *C perfringens* at any day. No significant difference in the abundance of the *C perfringens* enterotoxin gene could be determined between the different treatments with the exception of day 7, in which dogs in the ST group had a significantly higher abundance of *C perfringens* encoding for enterotoxin compared with the AT group ($P = .01$).

On day 1, 67% of all dogs were positive for NetF-toxin-producing *C perfringens*. A rapid decrease in the prevalence of these organisms in all groups independent of treatment then occurred. By day 7, 22% of all dogs (and by day 21, only 1/28 of the dogs) from the ST group were still positive (**Figure 3**). No significant differences in NetF-encoding *C perfringens* between the different groups on any day were found.

In our study, 29% of all dogs showed a reduced abundance of *P hiranonis* on day 1. This decrease was transient in the ST and FMTT groups, as *P hiranonis* normalized in all dogs except in the AT group.

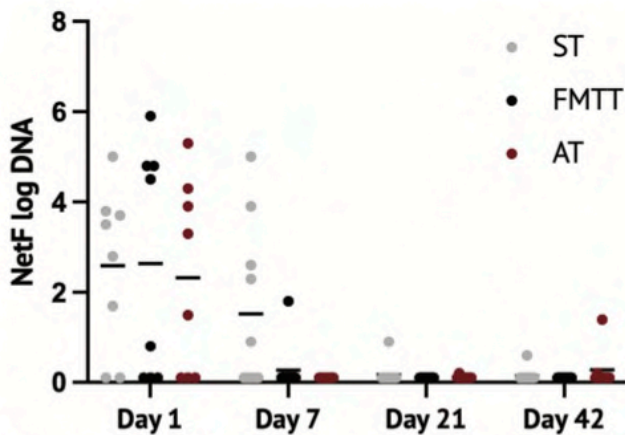


Figure 3—Comparison of NetF-encoding *Clostridium perfringens* between different treatment groups. The graph shows the log DNA of NetF-encoding *C perfringens* as individual dots. The horizontal lines show the mean values of each treatment group.

In the AT group, 4 of 8 dogs still showed reduced *P hiranonis* on day 42. No significant differences between the treatment groups were detected except on day 7 (**Figure 4**). On this day, the AT group (median, 3.3; minimum to maximum, 0.1 to 6.0) showed a significantly ($P = .03$) lower *P hiranonis* log DNA compared to the FMTT group (median, 6.4; minimum to maximum, 5.3 to 7.1).

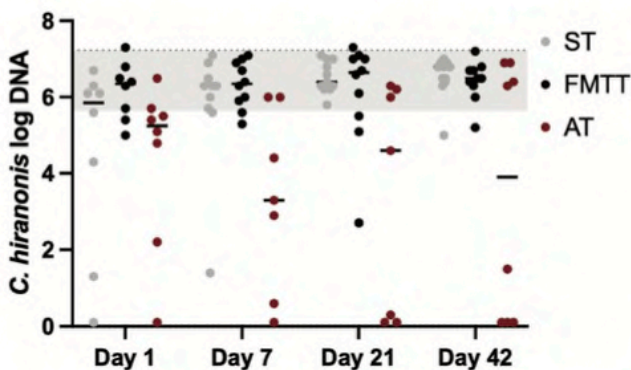


Figure 4—The changes in *Clostridium hiranonis* abundances in the different treatment groups over time. The gray area indicates the reference interval for *C hiranonis*. The gray dots show the abundance of the ST, the black dots of the FMTT, and the red dots of the AT group. The horizontal lines show the median values of the log DNA.

Clostridioides difficile was detected in a total of 8 of 32 dogs at different time points (3/24 on day 1, 4/28 on day 7, 3/28 on day 21, and 4/29 on day 42). Five of the 8 dogs also showed a reduction in *P hiranonis*. No significant differences in the abundance of *C difficile* between the different treatment groups at any time point were found. To better visualize the development of *C difficile* between the different treatment groups, a figure was included in the supplementary material (**Supplementary Figure S1**).

Discussion

In this study, symptomatic therapy was compared with the use of FMT in dogs with AHDS regarding the clinical course, changes in potentially enteropathogenic bacterial strains, and DI. From both groups, a third group was established during the clinical trial that consisted of the dogs that received antibiotics in addition to their respective therapy. The study showed that neither FMT nor antibiotic therapy was associated with a faster clinical improvement. In addition, no AT regime was superior to standard treatment with or without FMT alone in reducing the number of *C perfringens* strains.

Fecal microbiota transplantation aims to modulate the recipient's microbiome to become more similar to that of the donor.^{17,21,35} Fecal microbiota transplantation is used more frequently in clinical practice in an attempt to modulate intestinal dysbiosis and improve gastrointestinal signs. In a study³⁶ of dogs with lymphoplasmacytic enteritis, a significant improvement in clinical signs at 2 weeks after FMT was detected and a significant increase in *Fusobacterium* spp was also noted. In a case series³⁷ of 16 dogs with chronic diarrhea, the DI normalized 1 week after FMT and the concentrations of *Faecalibacterium* spp and *P hiranonis* increased. In a recently published study,²⁵ FMT was found to be useful as an adjunct to standard treatment for dogs with chronic enteropathy. In that study, 75% of the dogs showed less diarrhea and were more active. In addition, FMT has resulted in faster improvement of diarrhea and shorter hospitalization times in dogs with parvovirus.²⁰ Based on the similar clinical appearance and histopathologic findings,⁵ we hypothesized that the use of FMT in dogs with AHDS would be associated with faster clinical improvement and normalization of the microbiome. In our study, all dogs showed a very rapid clinical improvement and none of the dogs died during the observation time due to AHDS, independent of the treatment modality. Dogs in the AT group, which had been retrospectively allocated into this group due to the suspicion of sepsis, presented a tendency toward a higher AHDS index on the first 2 days compared to the other treatment groups. This finding could be explained by the bias of administering antibiotics to more severely affected dogs. Overall, no significant differences in the short-term recovery and clinical course between treatment groups were found. These findings agree with the results from other studies on FMT in dogs with AHDS. In the study by Jugan et al,³⁸ FMT was compared to probiotics and no significant difference in terms of clinical improvement could be determined between the 2 treatment modalities. Similarly, in a study by Gal et al,³⁹ no faster clinical improvement in clinical signs could be obtained with the use of FMT. The modality of FMT could possibly affect the clinical outcome. In this study, FMT was administered to the dogs through a rectal enema. Given that dogs with AHDS exhibit increased fecal defecation frequency and potentially tenesmus, some dogs expelled the FMT shortly after administration. This fact was a limitation of the study, and it is possible that employing an alternative FMT

method, such as delivering feces into the duodenum via gastroduodenoscopy or using lyophilized capsules for oral therapy, would have yielded different results. However, in general, demonstrating any positive treatment impact is challenging due to the self-limiting nature of AHDS, both in terms of clinical signs and inherent intestinal dysbiosis. Subtle variances in clinical improvement and the restoration of the intestinal microbiota might become apparent with a larger number of dogs per study group. Another limitation of the study was that dogs in which an FMT was not performed did not receive a placebo procedure. A placebo FMT could have significantly influenced the fecal consistency and could have provided different results. However, there was no significant difference in fecal consistency between the groups, which is why this was also not considered a primary limitation.

The AT group was included retrospectively, as some dogs required antibiotic administration. This was also a limitation, as this group lacked standardization. Nevertheless, we considered it useful to include the antibiotic group and analyze the comparisons between the 3 groups, as antibiotics have the strongest effect on the microbiome and, in contrast, FMT has a normalizing effect on the microbiome. Furthermore, our results are consistent with other studies¹⁻³ that have shown that, in terms of clinical improvement in dogs with AHDS, in most cases (uncomplicated forms of AHDS), antibiotics are not beneficial/necessary and can cause major disruptions in the microbiome that can be long-lasting.

The DI allows a reliable evaluation of global shifts in the intestinal microbiome.²²⁻²⁴ In general, dogs with acute diarrhea have mild-moderate changes in the microbiome, which quickly return to normal; significant and persistent increases in the DI, especially with a decrease in *P hiranonis*, are usually seen only after antibiotic therapy or in chronic enteropathies.^{12,40,41} In our study, some dogs showed an increased DI at baseline. This increase was transient in the ST and FMT groups. Compared to the ST and FMT groups, the AT group continued to show an increased DI on day 42. A long-term effect of antibiotic therapy on the microbiome could conceivably be the reason for the consistently significant intestinal dysbiosis in those dogs. Thus, it can be concluded that the use of FMT did not produce a significantly more rapid improvement in the changes in the microbiome but that antibiotics have a negative influence on the intestinal microbiome.

A single dog in the ST group must be highlighted, as this dog showed significant dysbiosis from days 1 to 42. During the examinations, a diaphragmatic hernia was found incidentally. As mentioned previously, significant dysbiosis usually results from antibiotic therapy or chronic enteropathy.^{12,40,41} Since this dog showed no evidence of chronic enteropathy and had not received any recent AT, the diaphragmatic hernia and its potential influence on the intestinal motility could have been a possible cause of the significant dysbiosis.

In our study, 29% showed a reduction in the abundance of *P hiranonis* on day 1. This decrease was transient except in the AT group. Within the AT group, 4 out of the 8 dogs exhibited a decrease in *P hiranonis* levels, which extended through day 42. Notably, *C difficile* was

identified in all 4 of these dogs. The correlation between these 2 bacterial species has been established in various studies.^{12,42,43} Similar to the occurrence of significant dysbiosis, a reduction in *P hiranonis* is usually found only in dogs with chronic enteropathy or after the use of antibiotics.^{12,40,44} Thus, in the 4 dogs, the reason for the decreased *P hiranonis* on day 42 is most likely a consequence of the antibiotic therapy. However, these dogs showed a reduction in *P hiranonis* already on day 1, so it is also conceivable that the dogs had subclinical persistent dysbiosis and were more susceptible to antibiotic-induced dysbiosis.

In our study, *C difficile* was detected in 3 dogs on the day of presentation. The limited occurrence implies that *C difficile* is unlikely the causative agent of AHDS. This finding is consistent with the results of the study by Busch et al¹⁶ in which no significant association between clinical severity and the presence of the *C difficile* toxin A/B in dogs with AHDS could be seen. On day 42, 4 dogs were positive for *C difficile*, whereas the log DNA level was significantly lower than at baseline. All dogs were asymptomatic. This finding suggests that *C difficile* is detectable in some dogs, but its presence has no clinical relevance and, accordingly, does not require specific therapy. What should be mentioned, however, is that 3 of the 4 dogs (all from the AT group) that were positive for *C difficile* on day 42 showed a reduction in the presence of *P hiranonis* on both days 1 and 42. A reduction in the abundance of *P hiranonis* (and therefore, abnormal bile acid conversion) is associated with the presence of *C difficile*, as a normal bile acid metabolism suppresses the proliferation of *C difficile*.^{12,14,42,43} Thus, it is possible that the dogs had subclinical dysbiosis that favored the presence of *C difficile*.

Nevertheless, it is remarkable that across the treatment groups, all but 2 dogs still showed minor changes in the microbiome on day 42. One recent study⁴⁵ showed that dogs have an increase in the risk of developing chronic gastrointestinal signs after an AHDS episode. As one highly possible cause of this increased risk, an intestinal barrier dysfunction present during the acute phase of AHDS resulting in sensitization of the immune system to feed components was discussed.⁴⁵ It is also conceivable that mild changes in the microbiome could persist for an extended period of time and thus be associated with chronic gastrointestinal signs in some dogs.^{12,17,23,40} Therefore, longer follow-up periods of these veterinary patients are necessary to assess the development of chronic enteropathies and the impact of AHDS on the intestinal microbiome. It would also be interesting to see whether microbiome changes persist longer in dogs that have received antibiotics and whether that group of dogs has an increased risk of developing chronic gastrointestinal signs later in life.

Regarding NetF-encoding *C perfringens*, nearly 70% of the dogs were positive at presentation, but this finding was transient in all the groups, and on day 42, NetF-encoding *C perfringens* could be detected in only 1 dog. These results are in agreement with results of other studies^{6,46} in which > 50% of dogs with AHDS were positive for NetF-encoding *C perfringens* on the day of presentation, and these specific clostridial strains disappeared very quickly even without specific therapy. In our study, no significant differences between the different

treatment groups at any time point were found. This finding supports the conclusion that NetF-toxin-producing *C perfringens* disappears even in the absence of any specific therapy (FMT or antibiotics). Although 1 dog from the AT group was suddenly positive for NetF-encoding *C perfringens* again on day 42, the dog had no other changes in the microbiome and was classified as normal. One dog from the AT group was suddenly positive for NetF-encoding *C perfringens* again on day 42. The dog was asymptomatic, showed no other changes in the microbiome and was categorized as normal based on the DI. This is not completely surprising, as NetF toxin-producing *C perfringens* has also been detected in some healthy and asymptomatic dogs, although it has been clearly linked to the pathogenesis of AHDS.⁶ This occurrence resembles necrotizing enteritis in chickens, which is caused by NetB-gene-encoding *C perfringens*.^{10,47,48} However, research^{47–49} indicates that an infection solely associated with NetB-gene-carrying *C perfringens* in chickens does not trigger a disease outbreak; instead, a coinfection, such as with coccidia, is necessary. A comparable mechanism might also be applicable to dogs with AHDS, suggesting that additional risk factors may be required for the development of hemorrhagic diarrhea in some dogs. Consequently, the identification of NetF in this dog could be coincidental. In summary, while NetF significantly contributes to the pathogenesis of AHDS, it resolves swiftly and does not necessitate specific treatment.

Clostridium perfringens enterotoxin and *C perfringens* 16S rRNA increased in a majority of AHDS dogs on the day of presentation. While NetF is likely a major virulence factor responsible for AHDS, other extracellular enzymes and minor toxins produced by overgrowing *C perfringens* strains may play a role in the pathogenesis of this syndrome. Nevertheless, the increase in *C perfringens* enterotoxin-encoding strains and total *C perfringens* was transient in all 3 groups and returned in nearly every dog to the reference range regardless of the type of therapy.

In conclusion, affected dogs showed a rapid clinical improvement with symptomatic therapy, and antibiotic interventions were not beneficial in most cases. In addition, Clostridia strains suspected to be associated with AHDS rapidly disappeared irrespective of therapy. While FMT is unlikely to have a significant beneficial impact on the recovery of the intestinal microbiome and the improvement of clinical signs in the acute phase of AHDS, further research is needed to assess its potential on producing a reduction in the frequency of long-term consequences.

Acknowledgments

None reported.

Disclosures

Dr. Suchodolski and Dr. Pilla are employees of the Gastrointestinal Laboratory at Texas A&M University, which offers microbiome testing on a fee-for-service basis. All other authors have nothing to disclose.

No AI-assisted technologies were used in the generation of this manuscript.

Funding

The authors have nothing to disclose.

References

- Dupont N, Jessen LR, Moberg F, Zyskind N, Lorentzen C, Bjørnvad CR. A retrospective study of 237 dogs hospitalized with suspected acute hemorrhagic diarrhea syndrome: disease severity, treatment, and outcome. *J Vet Intern Med*. 2021;35(2):867–877. doi:10.1111/jvim.16084
- Mortier F, Strohmeier K, Hartmann K, Unterer S. Acute haemorrhagic diarrhoea syndrome in dogs: 108 cases. *Vet Rec*. 2015;176(24):627. doi:10.1136/vr.103090
- Unterer S, Lechner E, Mueller RS, et al. Prospective study of bacteraemia in acute haemorrhagic diarrhoea syndrome in dogs. *Vet Rec*. 2015;176(12):309. doi:10.1136/vr.102521
- Unterer S, Hartmann K. Akuter blutiger Durchfall beim Hund—Ursachen und diagnostische Aufarbeitung. *Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere*. 2009;37(4):261–268. doi:10.1055/s-0038-1622796
- Unterer S, Busch K, Leipzig M, et al. Endoscopically visualized lesions, histologic findings, and bacterial invasion in the gastrointestinal mucosa of dogs with acute hemorrhagic diarrhea syndrome. *J Vet Intern Med*. 2014;28(1):52–58. doi:10.1111/jvim.12236
- Sindern N, Suchodolski JS, Leutenegger CM, 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):100–105. doi:10.1111/jvim.15361
- Mehdizadeh Gohari I, Parreira VR, Nowell VJ, Nicholson VM, Oliphant K, Prescott JF. A novel pore-forming toxin in type A *Clostridium perfringens* is associated with both fatal canine hemorrhagic gastroenteritis and fatal foal necrotizing enterocolitis. *PLoS One*. 2015;10(4):e0122684. doi:10.1371/journal.pone.0122684
- Leipzig-Rudolph M, Busch K, Prescott JF, 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):495–503. doi:10.1177/1040638718766983
- Venhorst J, van der Vossen JMBM, Agamennone V. Battling enteropathogenic Clostridia: phage therapy for *Clostridioides difficile* and *Clostridium perfringens*. *Front Microbiol*. 2022;13:891790. doi:10.3389/fmicb.2022.891790
- Kiu R, Hall LJ. An update on the human and animal enteric pathogen *Clostridium perfringens*. *Emerg Microbes Infect*. 2018;7(1):141. doi:10.1038/s41426-018-0144-8
- Guo P, Zhang K, Ma X, He P. *Clostridium* species as probiotics: potentials and challenges. *J Anim Sci Biotechnol*. 2020;11:24. doi:10.1186/s40104-019-0402-1
- Ziese AL, Suchodolski JS. Impact of changes in gastrointestinal microbiota in canine and feline digestive diseases. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 2021;51(1):155–169. doi:10.1016/j.cvsm.2020.09.004
- Redfern A, Suchodolski J, Jergens A. Role of the gastrointestinal microbiota in small animal health and disease. *Vet Rec*. 2017;181(14):370. doi:10.1136/vr.103826
- Werner M, Ishii PE, Pilla R, et al. Prevalence of *Clostridioides difficile* in canine feces and its association with intestinal dysbiosis. *Animals (Basel)*. 2023;13(15):2441. doi:10.3390/ani13152441
- Wang S, Martins R, Sullivan MC, et al. Diet-induced remission in chronic enteropathy is associated with altered microbial community structure and synthesis of secondary bile acids. *Microbiome*. 2019;7(1):126. doi:10.1186/s40168-019-0740-4
- Busch K, Suchodolski JS, Kühner KA, et al. *Clostridium perfringens* enterotoxin and *Clostridium difficile* toxin A/B do not play a role in acute haemorrhagic diarrhoea syndrome in dogs. *Vet Rec*. 2015;176(10):253. doi:10.1136/vr.102738

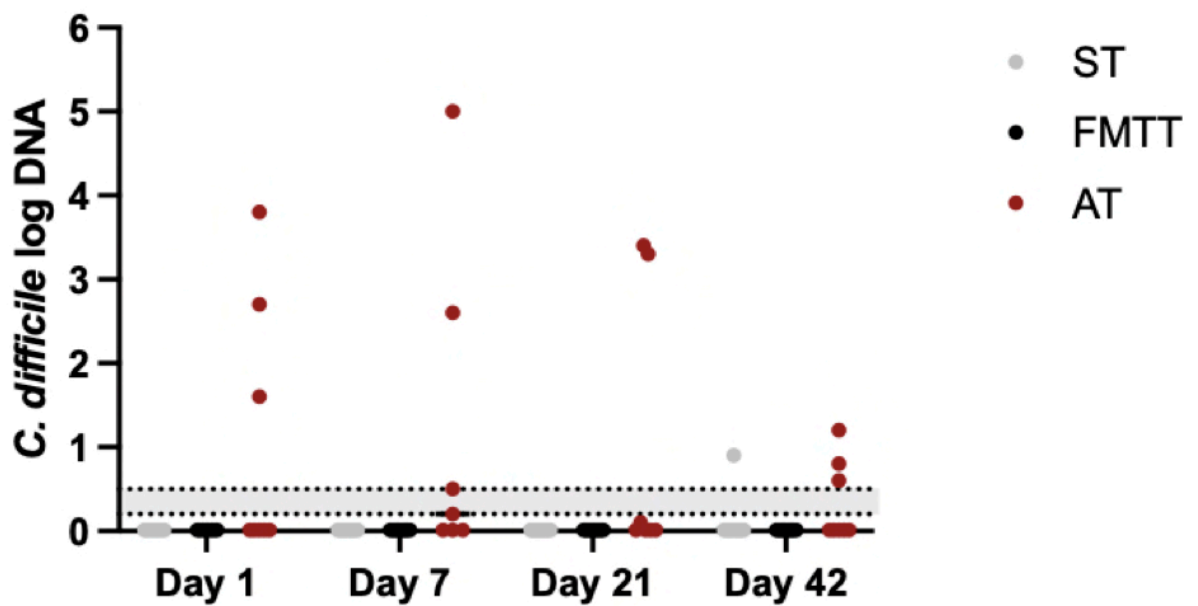
17. Chaitman J, Gaschen F. Fecal microbiota transplantation in dogs. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2021;51(1):219–233. doi:10.1016/j.cvsm.2020.09.012
18. Borody TJ, Eslick GD, Clancy RL. Fecal microbiota transplantation as a new therapy: from *Clostridioides difficile* infection to inflammatory bowel disease, irritable bowel syndrome, and colon cancer. *Curr Opin Pharmacol.* 2019;49:43–51. doi:10.1016/j.coph.2019.04.017
19. McCune VL, Quraishi MN, Manzoor S, et al. Results from the first English stool bank using faecal microbiota transplant as a medicinal product for the treatment of *Clostridioides difficile* infection. *EClinicalMedicine.* 2020;20:100301. doi:10.1016/j.eclinm.2020.100301
20. Pereira GQ, Gomes LA, Santos IS, Alfieri AF, Weese JS, Costa MC. Fecal microbiota transplantation in puppies with canine parvovirus infection. *J Vet Intern Med.* 2018;32(2):707–711. doi:10.1111/jvim.15072
21. Khoruts A, Sadowsky MJ. Understanding the mechanisms of faecal microbiota transplantation. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2016;13(9):508–516. doi:10.1038/nrgastro.2016.98
22. Sung CH, Pilla R, Chen CC, 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):2597. doi:10.3390/ani13162597
23. Suchodolski JS. Analysis of the gut microbiome in dogs and cats. *Vet Clin Pathol.* 2022;50(suppl 1):6–17. doi:10.1111/vcp.13031
24. AlShawaqfeh MK, Wajid B, Minamoto Y, et al. A dysbiosis index to assess microbial changes in fecal samples of dogs with chronic inflammatory enteropathy. *FEMS Microbiol Ecol.* 2017;93(11):fix136. doi:10.1093/femsec/fix136
25. Toresson L, Spillmann T, Pilla R, et al. Clinical effects of faecal microbiota transplantation as adjunctive therapy in dogs with chronic enteropathies—a retrospective case series of 41 dogs. *Vet Sci.* 2023;10(4):271. doi:10.3390/vetsci10040271
26. Chu V, Goggs R, Bichoupan A, Radhakrishnan S, Menard J. Hypophosphatemia in dogs with presumptive sepsis: a retrospective study (2008–2018). *Front Vet Sci.* 2021;8:636732. doi:10.3389/fvets.2021.636732
27. Hauptman JG, Walshaw R, Olivier NB. Evaluation of the sensitivity and specificity of diagnostic criteria for sepsis in dogs. *Vet Surg.* 1997;26(5):393–397. doi:10.1111/j.1532-950X.1997.tb01699.x
28. Purina Institute. Purina fecal scoring chart. Purina. Accessed August 2, 2020. <https://www.purinainstitute.com/sites/default/files/2021-04/fecal-chart.pdf>
29. Isaiah A, Parambeth JC, Steiner JM, Lidbury JA, Suchodolski JS. The fecal microbiome of dogs with exocrine pancreatic insufficiency. *Anaerobe.* 2017;45:50–58. doi:10.1016/j.anaerobe.2017.02.010
30. Kasiraj AC, Harmoinen J, Isaiah A, et al. The effects of feeding and withholding food on the canine small intestinal microbiota. *FEMS Microbiol Ecol.* 2016;92(6):fiw085. doi:10.1093/femsec/fiw085
31. Honneffer JB, Steiner JM, Lidbury JA, Suchodolski JS. Variation of the microbiota and metabolome along the canine gastrointestinal tract. *Metabolomics.* 2017;13(3):26. doi:10.1007/s11306-017-1165-3
32. Minamoto Y, Otoni CC, Steelman SM, et al. Alteration of the fecal microbiota and serum metabolite profiles in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *Gut Microbes.* 2015;6(1):33–47. doi:10.1080/19490976.2014.997612
33. Pilla R, Gaschen FP, Barr JW, et al. Effects of metronidazole on the fecal microbiome and metabolome in healthy dogs. *J Vet Intern Med.* 2020;34(5):1853–1866. doi:10.1111/jvim.15871
34. Houser BA, Hattel AL, Jayarao BM. Real-time multiplex polymerase chain reaction assay for rapid detection of *Clostridium difficile* toxin-encoding strains. *Foodborne Pathog Dis.* 2010;7(6):719–726. doi:10.1089/fpd.2009.0483
35. Berlanda M, Innocente G, Simionati B, et al. Faecal microbiome transplantation as a solution to chronic enteropathies in dogs: a case study of beneficial microbial evolution. *Animals (Basel).* 2021;11(5):1433. doi:10.3390/ani11051433
36. Niina A, Kibe R, Suzuki R, et al. Fecal microbiota transplantation as a new treatment for canine inflammatory bowel disease. *Biosci Microbiota Food Health.* 2021;40(2):98–104. doi:10.12938/bmfh.2020-049
37. Chaitman J, Guard B, Sarwar F, Lidbury J, Steiner J, Suchodolski J. Fecal microbial transplantation decreases the dysbiosis index in dogs presenting with chronic diarrhea. Poster presented at: ACVIM Forum; June 8–9, 2017; National Harbor, MD.
38. Jugan MC, KuKanich K, Freilich L. Clinical response in dogs with acute hemorrhagic diarrhea syndrome following randomized probiotic treatment or fecal microbiota transplant. *Front Vet Sci.* 2023;10:1050538. doi:10.3389/fvets.2023.1050538
39. Gal A, Barko PC, Biggs PJ, et al. One dog's waste is another dog's wealth: a pilot study of fecal microbiota transplantation in dogs with acute hemorrhagic diarrhea syndrome. *PLoS One.* 2021;16(4):e0250344. doi:10.1371/journal.pone.0250344
40. Pilla R, Suchodolski JS. The role of the canine gut microbiome and metabolome in health and gastrointestinal disease. *Front Vet Sci.* 2020;6:498. doi:10.3389/fvets.2019.00498
41. Chaitman J, Ziese AL, Pilla R, 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. doi:10.3389/fvets.2020.00192
42. Hromada S, Qian Y, Jacobson TB, et al. Negative interactions determine *Clostridioides difficile* growth in synthetic human gut communities. *Mol Syst Biol.* 2021;17(10):e10355. doi:10.15252/msb.202110355
43. Thanissery R, McLaren MR, Rivera A, et al. *Clostridioides difficile* carriage in animals and the associated changes in the host fecal microbiota. *Anaerobe.* 2020;66:102279. doi:10.1016/j.anaerobe.2020.102279
44. Honneffer JB, Minamoto Y, Suchodolski JS. Microbiota alterations in acute and chronic gastrointestinal inflammation of cats and dogs. *World J Gastroenterol.* 2014;20(44):16489–16497. doi:10.3748/wjg.v20.i44.16489
45. Skotnitzki E, Suchodolski JS, Busch K, et al. Frequency of signs of chronic gastrointestinal disease in dogs after an episode of acute hemorrhagic diarrhea. *J Vet Intern Med.* 2022;36(1):59–65. doi:10.1111/jvim.16312
46. Ziese AL, Suchodolski JS, Hartmann K, 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):e0204691. doi:10.1371/journal.pone.0204691. Published correction appears in *PLoS One.* 2023;18(1):e0280539. doi:10.1371/journal.pone.0280539
47. Mwangi S, Timmons J, Fitz-Coy S, Parveen S. Characterization of *Clostridium perfringens* recovered from broiler chicken affected by necrotic enteritis. *Poult Sci.* 2019;98(1):128–135. doi:10.3382/ps/pey332
48. Van Damme L, Cox N, Callens C, et al. *C. perfringens* challenge reduces matrix metalloproteinase activity in the jejunal mucosa of *Eimeria*-infected broiler chickens. *Vet Res.* 2020;51(1):100. doi:10.1186/s13567-020-00825-6
49. Navarro MA, McClane BA, Uzal FA. Mechanisms of action and cell death associated with *Clostridium perfringens* toxins. *Toxins (Basel).* 2018;10(5):212. doi:10.3390/toxins10050212

Supplementary Materials

Supplementary materials are posted online at the journal website: avmajournals.avma.org.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Supplementary Figure S1—Assessment of changes in *C. difficile*: The figure shows the changes *C. difficile* abundances in the different treatment groups over time. The grey area indicates the reference interval for *C. difficile*. And the grey dots show the abundance of the ST, the black of the FMTT, and the red ones of the AT group.



Supplementary Table S1—Criteria for evaluating acute canine hemorrhagic diarrhea severity (AHDS) based on the ADHS index; AHDS total index: (1) 0–3: insignificant disease; (2) 4–5: mild disease; (3) 6–8: moderate disease; or (4) ≥ 9 : severe disease. For rating fecal consistency, the Purina Fecal Scoring System for Dogs (PFS) was used.

	0	1	2	3
Activity	Normal	Mildly decreased	Moderately decreased	Severely decreased
Appetite	Normal	Mildly decreased	Moderately decreased	Severely decreased
Fecal consistency	PFS 1–2	PFS 3–4	PFS 5–6	PFS 7
Fecal frequency (times/day)	1	2–3	4–5	> 5
Vomiting (times/day)	0	1	2–3	> 3
Dehydration (%)	0	< 5	5–10	> 10

Supplementary Table S2—Overview of the evaluation of the AHDS index and the fecal analysis; the graph shows the number of dogs for which the AHDS index and fecal analysis results were available at the specific time points.

	Day 1	Day 2	Day 3	Week 1/ Day 7	Week 2	Day 21	Day 42
AHDS index							
ST	12/12	12/12	10/12	10/12	10/12		
FMTT	12/12	12/12	11/12	11/12	11/12		
AT	8/8	8/8	8/8	7/8	7/8		
Total	32	32	29	28	28		
Fecal analysis							
ST	8/12			10/12		11/12	11/12
FMTT	8/12			10/12		10/12	10/12
AT	8/8			7/8		7/8	8/8
Total	24			27		28	29

ST: symptomatic treatment group; FMTT: fecal microbiota transplantation treatment group; AT: antibiotic treatment group

V. DISKUSSION

In dieser Arbeit wird das akute hämorrhagische Durchfallsyndrom (AHDS) des Hundes umfassend untersucht, mit besonderem Fokus auf das Vorliegen einer Darmbarrierestörung sowie auf mögliche therapeutische Ansätze, wobei die Kottransplantation (FMT) im Mittelpunkt steht.

In der ersten Studie wird überprüft, ob Hunde mit AHDS eine gestörte Darmbarriere aufweisen und inwiefern diese mit dem klinischen Schweregrad der Erkrankung korreliert. Die Ergebnisse zeigen, dass Hunde mit AHDS eine signifikant erhöhte intestinale Permeabilität (IP) haben, die in engem Zusammenhang mit der Schwere der klinischen Symptome steht. Dies legt nahe, dass eine beeinträchtigte Darmbarriere einen wichtigen Einfluss auf den Verlauf der Erkrankung hat.

Die zweite Studie vergleicht verschiedene Behandlungsmöglichkeiten für Hunde mit AHDS. Die Therapieansätze umfassen eine symptomatische Behandlung (ST), bestehend aus Infusionstherapie, Antiemetika und Analgesie, sowie in der zweiten Gruppe die zusätzliche Verabreichung einer Kottransplantation (FMT). In der FMT-Gruppe erhielten die Hunde zweimal im Abstand von 48 Stunden eine FMT mittels rektalen Einlaufs. Eine dritte Gruppe wurde retrospektiv gebildet, in der die Hunde unabhängig von der Therapie (ST oder FMT) zusätzlich mit Antibiotika (AT) behandelt wurden. Die Ergebnisse zeigen, dass weder FMT noch Antibiotikatherapie zu einer schnelleren klinischen Besserung führten. Zudem wurde kein Vorteil der Antibiotikabehandlung gegenüber der Standardtherapie oder der FMT in Bezug auf die Reduktion von NetF-kodierenden *C. perfringens* festgestellt.

Die klinische Bewertung der Hunde in beiden Studien erfolgt mittels des AHDS-Indexes, eines validierten Parameters zur Bestimmung des Schweregrads der klinischen Symptome (BUSCH et al., 2015; MORTIER et al., 2015). Der Index umfasst verschiedene Faktoren wie Allgemeinbefinden, Appetit, Kotkonsistenz, Erbrechen und Dehydrationsgrad (BUSCH et al., 2015; MORTIER et al., 2015). Diese systematische Erfassung des Krankheitsverlaufs ermöglicht eine fundierte Bewertung des Behandlungserfolgs in beiden Studien. Dieser Index wurde während des klinischen Aufenthalts täglich erhoben und anschließend von den Besitzern in einem Tagebuch dokumentiert. Zudem wurden Kriterien des “systemic inflammatory response syndrome“ (SIRS) erhoben, um Hinweise auf eine systemische Entzündungsreaktion

zu gewinnen (HAUPTMAN et al., 1997; CHU et al., 2021; DUPONT et al., 2021). Diese Kriterien beinhalten folgende Parameter: Hypo- oder Hyperthermie, Tachykardie, Tachypnoe, Leukopenie oder Leukozytose, Linksverschiebung und Hypoglykämie (HAUPTMAN et al., 1997; CHU et al., 2021; DUPONT et al., 2021). Wenn Hunde mindestens zwei der Parameter erfüllten, wurden sie positiv für das Vorhandensein einer systemischen Entzündungsreaktion klassifiziert.

Eine gestörte Darmbarriere ist gleichzusetzen mit einer erhöhten intestinalen Permeabilität (IP). Eine erhöhte IP führt dazu, dass neben erwünschten Substanzen auch schädliche Stoffe die Darmwand durchdringen und in den Blutkreislauf gelangen können (DEITCH, 1993; KONIG et al., 2016). Dies erhöht das Risiko schwerwiegender Komplikationen, wie die Entwicklung einer Sepsis (MORTIER et al., 2015; UNTERER et al., 2015). In der ersten Studie wird aufgezeigt, dass die Bestimmung der IP einen wichtigen Hinweis auf den Schweregrad der Erkrankung liefert. Insbesondere kann sie Aufschluss geben über die Nährstoff-Malabsorption, die Absorption oral verabreichter Medikamente sowie über das erhöhte Risiko einer Bakterien- oder Antigen-Translokation, die möglicherweise zu einer Sepsis oder einer Sensibilisierung des Immunsystems führen kann (UNTERER et al., 2015; SKOTNITZKI et al., 2022).

Verschiedene Faktoren können die Integrität der Darmbarriere stören und somit eine erhöhte intestinale Permeabilität auslösen, wie etwa toxinproduzierende Bakterien (DEITCH, 1993; SUN et al., 1998; KONIG et al., 2016; SKOTNITZKI et al., 2022). Beim Menschen beispielsweise können Infektionen durch toxinproduzierende Bakterien (z. B. das Cholera-toxin von *Vibrio cholerae* oder das Shiga-Toxin von *Escherichia coli* O157:H7) das Darmepithel erheblich schädigen (MELTON-CELSA et al., 2012; CRISAN und HAMMER, 2020). Neben der Exposition gegenüber Toxinen kann auch eine Infiltration neoplastischer oder entzündlicher Zellen in die Schleimhaut zu einer erhöhten IP führen (DEITCH, 1993; SUN et al., 1998; KONIG et al., 2016; SKOTNITZKI et al., 2022). Hunde mit AHDS haben aufgrund des Vorliegens einer nekrotisierenden Enteritis (UNTERER et al., 2014; LEIPIG-RUDOLPH et al., 2018) und des Nachweises von NetF-Toxin-produzierenden *C. perfringens*-Stämmen eine hohe Wahrscheinlichkeit für eine gestörte Darmbarriere (MEHDIZADEH GOHARI et al., 2015; LEIPIG-RUDOLPH et al., 2018; ZIESE et al., 2018; SINDERN et al., 2019; MEHDIZADEH GOHARI et al., 2020). Diese Toxine zerstören das Darmepithel und tragen so maßgeblich zur Erhöhung der IP bei (MEHDIZADEH GOHARI et al., 2015). Zusätzlich kann der massive Flüssigkeitsverlust bei AHDS zu Dehydrierung und verminderter Durchblutung der Darmwand

führen, was die Barrierefunktion weiter beeinträchtigt (MORTIER et al., 2015; UNTERER et al., 2015; DUPONT et al., 2021).

In der durchgeführten Studie wurde zur Bestimmung der IP Iohexol verwendet, ein jodhaltiges Kontrastmittel, das sich zum einen aufgrund seiner nicht-radioaktiven Eigenschaften eignet und zum anderen weder durch bakteriellen Abbau noch durch Metabolismus beeinträchtigt wird, sodass die Bewertung der Permeabilität im gesamten Gastrointestinaltrakt möglich ist (STEINER et al., 2002; KLENNER et al., 2009; FRIAS et al., 2012). Außerdem weist es eine niedrige Osmolarität auf und bindet somit nur minimal an Plasmaproteine. Iohexol zeichnet sich zudem durch eine geringe Toxizität und eine gute Verträglichkeit aus (LASSER et al., 1962; MUTZEL und SPECK, 1980; BETTMANN und MORRIS, 1986; STRUBE, 2007). Seine hydrophile Beschaffenheit erschwert die Passage durch lipophile Zellmembranen (MUTZEL und SPECK, 1980). Die Hunde mit AHDS zeigen signifikant höhere Serum-Iohexol-Konzentrationen (SIK) als die gesunden Kontrollhunde, was die Hypothese einer gestörten Darmbarriere bestätigt. Interessanterweise haben jedoch nicht alle Hunde mit AHDS einen erhöhten SIK, was möglicherweise auf unterschiedliche Schweregrade der Schleimhautschädigung zurückzuführen ist. Außerdem ist der klinische Verlauf von AHDS sehr dynamisch (LEIPIG-RUDOLPH et al., 2018). Bei den meisten Hunden tritt innerhalb weniger Tage eine klinische Besserung ein und nur ein kleiner Teil entwickelt Komplikationen wie eine signifikante Hypalbuminämie oder Anzeichen systemischer Entzündungsreaktionen (MORTIER et al., 2015; UNTERER et al., 2015; DUPONT et al., 2021).

Ein weiterer erwähnenswerter Befund ist die signifikant negative Korrelation zwischen Hypalbuminämie und der Serum-Iohexol-Konzentration (SIK). Hunde mit niedrigen Serumalbuminwerten weisen signifikant höhere SIK auf als Hunde mit normalen Serumalbuminkonzentrationen. Unerwartet zeigt jedoch ein Hund eine Hypalbuminämie bei gleichzeitig niedrigem SIK. Dieser Befund ist überraschend, da Albumin mit einem Molekulargewicht von 66.470 Dalton (RAOUFINIA et al., 2016) wesentlich größer ist als Iohexol (821 Dalton) (FRIAS et al., 2012), das aufgrund seiner geringeren Größe die Darmbarriere leichter passieren müsste. Mögliche Erklärungen für diesen Befund könnten eine verzögerte Magenentleerung aufgrund krankheitsbedingter Hypomotilität oder individuelle Unterschiede im Krankheitsverlauf sein.

Die Studie zeigt eine signifikante Korrelation zwischen der Serum-Iohexol-Konzentration (SIK) und dem AHDS-Index. Dies stützt die Annahme, dass Hunde mit schwereren klinischen Symptomen einen stärkeren Anstieg der intestinalen Permeabilität (IP) aufweisen. Während anzunehmen ist, dass alle Hunde mit blutigem Durchfall eine gewisse Schleimhautschädigung aufweisen, deutet ein erhöhter SIK speziell auf Hunde mit einer ausgeprägteren Schleimhautschädigung hin.

Hunde, die zwei oder mehr SIRS-Kriterien erfüllten, wurden positiv für eine systemische Entzündungsreaktion klassifiziert. Diese Hunde weisen signifikant höhere SIK-Werte auf als Hunde ohne Anzeichen von SIRS. Dies untermauert ebenfalls den Zusammenhang zwischen der Schwere der klinischen Symptome und dem Grad der IP. Trotz des Risikos einer bakteriellen Translokation zeigt sich bei den meisten Hunden mit AHDS eine rasche Besserung allein durch symptomatische Behandlung (UNTERER et al., 2015). In der ersten Studie wurden sechs Hunde aufgrund des Verdachts auf eine Sepsis mit Antibiotika behandelt. Diese Hunde haben signifikant höhere SIK-Werte als andere Patienten und wurden als klinisch schwerer krank eingestuft (AHDS-Index ≥ 9). Drei dieser Hunde weisen die höchsten SIK-Werte auf (180 $\mu\text{g/ml}$, 212 $\mu\text{g/ml}$, 246 $\mu\text{g/ml}$), was auf den höchsten Grad an IP hindeutet. Diese Befunde stützen die Hypothese, dass eine schwere Schädigung der Darmbarriere die Translokation von Darmbakterien begünstigt, was wiederum Sepsis Symptome verursacht (UNTERER et al., 2015). Um dies zweifelsfrei zu bestätigen, wären Blutkulturen oder die Messung von Lipopolysacchariden erforderlich gewesen. Möglicherweise lag bei diesen Hunden keine Sepsis vor, sondern lediglich eine schwere systemische Entzündungsreaktion, sodass eine antibiotische Behandlung nicht zwingend erforderlich gewesen wäre. Bereits die Studie von Unterer et al. zeigt, dass der Einsatz von Antibiotika bei Hunden mit aseptischem AHDS zu keiner signifikant schnelleren klinischen Besserung führt (UNTERER et al., 2015). Ähnliche Ergebnisse erzielt die zweite Studie. Weder der Einsatz von Antibiotika noch die FMT zeigen eine signifikante Beschleunigung der klinischen Genesung.

Die Kottransplantation bezeichnet die Übertragung von Kot eines gesunden Spenders auf einen kranken Empfänger (KHORUTS und SADOWSKY, 2016; BERLANDA et al., 2021; CHAITMAN und GASCHEN, 2021). Dabei wird angestrebt, das Mikrobiom und Metabolom des Empfängers positiv zu beeinflussen und in ein gesundes Gleichgewicht zurückzuführen (KHORUTS und SADOWSKY, 2016; BERLANDA et al., 2021; CHAITMAN und GASCHEN, 2021). Der Effekt beruht auf einem Zusammenspiel mehrerer Faktoren (KELLY

et al., 2015; KHORUTS und SADOWSKY, 2016; CHAITMAN und GASCHEN, 2021; TAKÁČOVÁ et al., 2022). Die Wirkung entsteht durch direkte Zell-zu-Zell-Interaktionen oder durch Metabolite, die entweder von den Mikroben selbst produziert werden, oder durch die Umwandlung von Molekülen entstehen (AGUS et al., 2018). Durch die Kottransplantation steigt der Gehalt an sekundären Gallensäuren, die einen antiinflammatorischen Effekt haben und das Wachstum von *C. perfringens*, *Clostridioides difficile* (*C. difficile*) und *Escherichia coli* (*E. coli*) hemmen (DUBOC et al., 2012; DUBOC et al., 2013; SHIN et al., 2013; AGUS et al., 2018; CHAITMAN und GASCHEN, 2021; BLACHER E., January 2017). Zudem erhöht die FMT den Gehalt an Tryptophan und dessen Metaboliten (z. B. Indol und Serotonin), die positive Effekte auf Entzündungsmechanismen, Immunreaktionen, neurobiologische Funktionen, Darmmotilität und Muzin-Produktion haben (BANSAL et al., 2010; AGUS et al., 2018; ALEXEEV et al., 2018). Auch der Gehalt an kurzkettigen Fettsäuren (z. B. Acetat, Butyrat, Propionat) steigt durch die Kottransplantation an, was den Glukose-, Cholesterin- und Lipidstoffwechsel positiv beeinflusst und Entzündungsreaktionen verringert (ARPAIA et al., 2013; DEN BESTEN et al., 2013; KHORUTS und SADOWSKY, 2016; ZHANG und DAVIES, 2016; QURAIISHI et al., 2020). Zudem wird durch die FMT vermehrt Interleukin (IL)-22 sekretiert, was zur Aufrechterhaltung der Darmbarriere, zur epithelialen Proliferation, zur Wundheilung sowie zur Produktion antimikrobieller Peptide und Muzin beiträgt (BANSAL et al., 2010; KHORUTS und SADOWSKY, 2016).

Bei Hunden mit Parvovirose zeigt eine Studie, dass die Kottransplantation zu einer signifikant schnelleren Verbesserung der Kotkonsistenz bei den überlebenden Welpen sowie zu einer verkürzten Hospitalisierungszeit führt (PEREIRA et al., 2018). Da das klinische und histologische Bild der Parvovirose dem des AHDS sehr ähnlich ist (UNTERER et al., 2015; GAL et al., 2021), wurde auch bei Hunden mit AHDS ein positiver Effekt der FMT erwartet. Diese These konnte in der vorliegenden Studie jedoch nicht bestätigt werden.

Eine mögliche Erklärung kann die Verabreichungsmethode sein, da einige Hunde den transplantierten Kot aufgrund der erhöhten Kotabsatzfrequenz und des Tenesmus schnell wieder ausgeschieden haben. Eine alternative Verabreichungsmethode, wie die Applikation mittels Gastroduodenoskopie ins Duodenum oder in Form von lyophilisierten Kapseln, könnte zu anderen Ergebnissen führen. Da AHDS in den meisten Fällen selbstlimitierend verläuft, ist es zudem schwierig, den positiven Effekt einer FMT in akuten Phasen nachzuweisen. Hierfür wäre eine größere Probandengruppe sowie der Einsatz einer Placebo-FMT erforderlich.

Ziel der zweiten Studie ist es, die Veränderungen des Darmmikrobioms bei Hunden mit AHDS zu bestimmen und zu untersuchen, ob der Einsatz einer Kottransplantation zu einer schnelleren Normalisierung des Mikrobioms führt.

Der Dysbiose Index (DI) ist ein validierter Test zur Beurteilung von Verschiebungen im Mikrobiom (ALSHAWAQFEH et al., 2017; PILLA et al., 2020; SUCHODOLSKI, 2022; SUNG et al., 2023). Dieser Test basiert auf der Analyse von Kotproben und quantifiziert sieben Bakterientaxa sowie die Gesamtzahl der vorhandenen Bakterien mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) (ALSHAWAQFEH et al., 2017). Der DI ermöglicht eine Bewertung der Dysbiose bei Hunden und Katzen. Hunde mit akutem Durchfall zeigen in der Regel leichte bis mäßige Veränderungen im Mikrobiom, die vorübergehend sind und sich schnell normalisieren (PILLA und SUCHODOLSKI, 2019; CHAITMAN et al., 2020; ZIESE und SUCHODOLSKI, 2021). Signifikante und anhaltende Dysbiosen treten häufiger nach einer Antibiotikatherapie oder bei chronischen Enteropathien auf (PILLA und SUCHODOLSKI, 2019; ZIESE und SUCHODOLSKI, 2021; SUCHODOLSKI, 2022).

Zu Beginn der Studie zeigen einige Hunde eine Dysbiose, die sich in der ST-Gruppe und in der FMT-Gruppe schnell normalisiert. Hunde, die Antibiotika erhielten, zeigen jedoch auch nach 42 Tagen eine anhaltende Dysbiose, was auf die negativen Langzeiteffekte von Antibiotika auf das Darmmikrobiom hindeutet.

Als weiterer relevanter Befund ist die Rolle von *Peptacetobacter hiranonis* (*P. hiranonis*; ehemals *Clostridium hiranonis*) zu nennen, welches für die Umwandlung von primären in sekundäre Gallensäuren verantwortlich ist (WANG et al., 2019; WERNER et al., 2023). Ein Mangel an *P. hiranonis* führt zu einem erhöhten Vorkommen von primären Gallensäuren, die krebserregend wirken und zudem Durchfall verursachen können (DUBOC et al., 2012; DUBOC et al., 2013; SHIN et al., 2013; CHAITMAN und GASCHEN, 2021; REŽEN et al., 2022). Zu Beginn der Studie wird bei 29 % der Hunde eine reduzierte *P. hiranonis*-Konzentration festgestellt, die jedoch nur in der Antibiotikagruppe (4 von 8 Hunden) anhaltend ist. Dies könnte auf eine subklinische, persistierende Dysbiose hindeuten, da alle betroffenen Hunde bereits zu Studienbeginn niedrige *P. hiranonis*-Werte aufwiesen. Diese Ausgangslage kann eine antibiotikainduzierte Dysbiose verstärken. Zudem sind alle vier Hunde positiv für *C. difficile*. Dies war zu erwarten, da der Zusammenhang zwischen beiden Bakteriengruppen in

mehreren Studien nachgewiesen wurde (THANISSERY et al., 2020; HROMADA et al., 2021; ZIESE und SUCHODOLSKI, 2021; WERNER et al., 2023).

Zu Beginn der Studie sind 70 % der Hunde für NetF-kodierenden *C. perfringens* positiv. Dies deckt sich mit den Ergebnissen anderer Studien (ZIESE et al., 2018; SINDERN et al., 2019) und bestätigt, dass diese Clostridien-Stämme mit der Pathogenese von AHDS assoziiert sind. Die Studie zeigt, dass NetF-kodierende *C. perfringens* selbstlimitierend sind und keine spezifische Therapie erfordern, da es keinen signifikanten Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen gibt und am Tag 42 nur noch ein Hund positiv getestet wurde. Da dieser Hund keine klinischen Anzeichen von AHDS zeigte und die Studie von Sinder et al. ergibt (SINDERN et al., 2019), dass NetF bei gesunden Hunden vorkommen kann, sind vermutlich weitere Risikofaktoren notwendig, um AHDS auszulösen. Dies ist vergleichbar mit der nekrotisierenden Enteritis bei Hühnern, bei der eine Infektion mit NetB-Gen-kodierenden *C. perfringens* allein keine Erkrankung auslöst, eine Koinfektion, z. B. mit Kokzidien, jedoch zu einer Erkrankung führt (KIU und HALL, 2018; NAVARRO et al., 2018; MWANGI et al., 2019; VAN DAMME et al., 2020).

Bei einigen Hunden können am Tag 42 noch leichte Veränderungen im Mikrobiom nachgewiesen werden. Dies ist unerwartet, da Hunde mit akuten gastrointestinalen Symptomen in der Regel schnell in ihren Normalzustand zurückkehren (PILLA und SUCHODOLSKI, 2019; CHAITMAN et al., 2020; ZIESE und SUCHODOLSKI, 2021). Manche Hunde entwickeln nach einer AHDS-Episode chronische gastrointestinale Symptome (SKOTNITZKI et al., 2022). Eine mögliche Ursache könnte sein, dass geringfügige Veränderungen im Mikrobiom über einen längeren Zeitraum bestehen bleiben und bei einigen Hunden chronische Symptome auslösen (PILLA und SUCHODOLSKI, 2019; CHAITMAN und GASCHEN, 2021; ZIESE und SUCHODOLSKI, 2021; SUCHODOLSKI, 2022). Basierend auf den Ergebnissen der ersten Studie ist eine weitere Ursache für Spätfolgen denkbar: Eine Störung der Darmbarriere könnte zu einer Sensibilisierung des Immunsystems gegenüber Futtermittelbestandteilen führen, die in der akuten Phase vermehrt in die Blutbahn gelangen (SKOTNITZKI et al., 2022). Zukünftige Studien könnten die Patienten über einen längeren Zeitraum beobachten, um die Entwicklung chronischer Enteropathien und die langfristigen Auswirkungen von AHDS auf das Darmmikrobiom zu beurteilen. Besonders bei Hunden, die Antibiotika erhielten und hohe SIK-Werte aufweisen, wäre ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung chronischer gastrointestinaler Symptome denkbar.

Abschließend zeigen die Ergebnisse beider Studien, dass eine gestörte Darmbarriere bei Hunden mit AHDS eine zentrale Rolle spielt und mit dem klinischen Schweregrad korreliert. Obwohl FMT in akuten Fällen von AHDS keine signifikante klinische Verbesserung bewirkt, könnten alternative Verabreichungsmethoden oder der Einsatz in chronischen Fällen vielversprechend sein. Zukünftige Untersuchungen sollten sich auf den Langzeiteffekt von FMT auf das Mikrobiom und die Darmbarriere sowie auf die Auswirkungen von Antibiotika-induzierten Dysbiosen konzentrieren.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Diese Arbeit widmet sich der Untersuchung des akuten hämorrhagischen Durchfallsyndroms (AHDS) bei Hunden, mit besonderem Schwerpunkt auf der Störung der Darmbarriere sowie auf verschiedenen therapeutischen Ansätzen, insbesondere die Kottransplantation (FMT).

Die vorliegenden Studien zeigen, dass Hunden mit AHDS eine signifikant erhöhte intestinale Permeabilität (IP) aufweisen, gemessen durch die Serum-Iohexol-Konzentration (SIK). Es besteht eine klare Korrelation zwischen der erhöhten IP und dem Schweregrad der klinischen Symptome. Hunde mit schwereren Krankheitsverläufen, bewertet anhand des AHDS-Indexes und der SIRS-Kriterien, weisen eine stärkere Störung der Darmbarriere auf. Diese Erkenntnisse legen nahe, dass die Schädigung der Darmbarriere eine zentrale Rolle in der Pathophysiologie von AHDS spielt. Dennoch sind weitere umfassende Studien erforderlich, um die langfristigen Auswirkungen einer gestörten Darmbarriere auf die Entwicklung chronischer Darmerkrankungen bei betroffenen Hunden besser zu verstehen.

In Bezug auf die therapeutischen Ansätze ist festzuhalten, dass eine rein symptomatische Therapie in den meisten Fällen zu einer raschen klinischen Verbesserung führt. Der Einsatz von Antibiotika bringt hingegen keinen signifikanten Nutzen in Bezug auf die Dauer des Durchfallgeschehens, da sich die Geschwindigkeit der klinischen Besserung zwischen Hunden, die mit Antibiotika behandelt wurden, und solchen, die ohne diese auskamen, nicht unterscheidet. Darüber hinaus verschwinden die mit AHDS assoziierten NetF-kodierenden *C. perfringens* unabhängig von der durchgeführten Therapie. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass intestinale Überwucherungen durch Clostridien-Stämme, die mit AHDS in Verbindung stehen, selbstlimitierend sind und keine spezifische antibiotische Behandlung erfordern.

Auch die Rolle der FMT bei AHDS wird eingehend untersucht. Es kann festgehalten werden, dass FMT in der akuten Phase des Syndroms weder eine signifikant schnellere Normalisierung des Darmmikrobioms noch eine schnellere klinische Besserung bewirkt. Während FMT in akuten Fällen von AHDS keinen eindeutigen therapeutischen Vorteil zeigt, könnte sie in der Prävention von langfristigen Folgen, wie chronischen Darmbeschwerden, nützlich sein. Weitere Studien sind erforderlich, um das Potenzial von FMT zur Reduzierung langfristiger Komplikationen zu bewerten, insbesondere in Bezug auf die Wiederherstellung der

Darmbarriere und die Modulation des Mikrobioms bei Patienten mit rezidivierenden oder chronischen Beschwerden.

FMT zeigt vielversprechende Ergebnisse bei der Behandlung von Parvovirus-Enteritis, antibiotikainduzierten Dysbiosen und chronischen Enteropathien bei Hunden und Katzen. Um den therapeutischen Nutzen weiter zu steigern, sind zusätzliche Forschungsprojekte erforderlich - sowohl zur Anwendung von FMT bei Erkrankungen anderer Organsysteme außerhalb des Gastrointestinaltrakts als auch zur Optimierung der Lagerung und Verabreichung von Spenderkot. Derzeit ist die Durchführung einer FMT noch zeitaufwendig, insbesondere aufgrund logistischer Hürden bei der Beschaffung geeigneten Spenderkots. In Zukunft könnte die Entwicklung von Kotbanken mit gesunden Spendern, die Herstellung von gefriergetrockneter Produkte und alternative Verabreichungsmethoden, wie die orale Gabe in Kapselform, den klinischen Einsatz erleichtern.

Abschließend ist festzuhalten, dass FMT eine sichere, gut verträgliche und wenig invasive Methode ist, die in jeder Tierarztpraxis durchgeführt werden kann. Sie kann besonders als mikrobiommodulierende Ergänzungstherapie bei bestimmten gastrointestinalen Erkrankungen wie Parvovirus-Enteritis und chronischen Enteropathien bei Hunden und Katzen von Nutzen sein.

VII. SUMMARY

This thesis is dedicated to the research of acute hemorrhagic diarrhea syndrome (AHDS) in dogs, with particular focus on the disruption of the intestinal barrier and on different therapeutic strategies, especially fecal microbiota transplantation (FMT).

The present studies show that dogs with AHDS have significantly increased intestinal permeability (IP) as measured by serum iohexol concentration (SIK). There is a clear correlation between the increased IP and the severity of the clinical signs. Dogs with more severe disease activity, as assessed by the AHDS-index and SIRS criteria, have more severe intestinal barrier dysfunction. These findings suggest that damage to the intestinal barrier plays a central role in the pathophysiology of AHDS. However, further research is needed to better understand the long-term impact of intestinal barrier dysfunction on the development of chronic intestinal disease in affected dogs.

With regard to therapeutic options, it is found that purely symptomatic therapy led to rapid clinical improvement in most cases. The use of antibiotics, on the other hand, does not achieve any additional benefit in terms of a shorter duration of diarrhea in the majority of cases. There is no significant difference in the pace of clinical improvement between dogs treated with and those without antibiotics. In addition, the reduction of NetF-encoding *C. perfringens* associated with AHDS is not dependent on the therapeutic strategy. These results suggest that the intestinal overgrowth of clostridial strains associated with AHDS is self-limiting and does not require specific antibiotic treatment.

The role of FMT in AHDS is also being studied in detail. It can be concluded that FMT in the acute phase of the syndrome does not significantly result in faster normalization of the gut microbiome or faster clinical improvement. Thus, while FMT does not show a clear therapeutic benefit in acute phase of the enteritis, it could be beneficial in the prevention of long-term consequences, such as chronic intestinal disorders. Further studies are needed to assess the potential of FMT to reduce long-term complications, particularly in terms of restoring the gut barrier and modulating the microbiome in patients with recurrent or chronic symptoms.

FMT shows promising results in the treatment of parvovirus enteritis, antibiotic-induced dysbiosis and chronic enteropathies in dogs and cats. In order to further increase the therapeutic benefit, additional research projects are required - both on the use of FMT in diseases of other organ systems beyond the gastrointestinal tract and on optimizing the storage and route of administration of donor feces. Currently, performing FMT is still time-consuming, particularly due to logistical hurdles in obtaining suitable donor feces. In the future, the development of fecal banks with healthy donors, the production of freeze-dried products and alternative administration methods, such as oral administration in capsule form, could facilitate clinical use.

In conclusion, FMT is a safe, well-tolerated and less invasive method that can be performed in any veterinary practice. It could be particularly useful as a microbiome-regulating complementary therapy for certain gastrointestinal diseases such as parvovirus enteritis and chronic enteropathies in dogs and cats.

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

Agus A, Planchais J, Sokol H. Gut Microbiota Regulation of Tryptophan Metabolism in Health and Disease. *Cell Host Microbe* 2018; 23: 716-24.

Alexeev EE, Lanis JM, Kao DJ, Campbell EL, Kelly CJ, Battista KD, Gerich ME, Jenkins BR, Walk ST, Kominsky DJ, Colgan SP. Microbiota-Derived Indole Metabolites Promote Human and Murine Intestinal Homeostasis through Regulation of Interleukin-10 Receptor. *The American Journal of Pathology* 2018; 188: 1183-94.

AlShawaqfeh MK, Wajid B, Minamoto Y, Markel M, Lidbury JA, Steiner JM, Serpedin E, Suchodolski JS. A dysbiosis index to assess microbial changes in fecal samples of dogs with chronic inflammatory enteropathy. *FEMS Microbiol Ecol* 2017; 93

Arpaia N, Campbell C, Fan X, Dikiy S, van der Veeken J, deRoos P, Liu H, Cross JR, Pfeffer K, Coffey PJ, Rudenski AY. Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T-cell generation. *Nature* 2013; 504: 451-5.

Bansal T, Alaniz RC, Wood TK, Jayaraman A. The bacterial signal indole increases epithelial-cell tight-junction resistance and attenuates indicators of inflammation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 228-33.

Berlanda M, Innocente G, Simionati B, Di Camillo B, Facchin S, Giron MC, Savarino E, Sebastiani F, Fiorio F, Patuzzi I. Faecal Microbiome Transplantation as a Solution to Chronic Enteropathies in Dogs: A Case Study of Beneficial Microbial Evolution. *Animals (Basel)* 2021; 11

Bettmann MA, Morris TW. Recent advances in contrast agents. *Radiol Clin North Am* 1986; 24: 347-57.

Blacher E. LM, Tatrovsky E., Elinav E. Microbiome-Modulated Metabolites at the Interface of Host Immunity. *J Immunol* 15 January 2017: 572-80.

Busch K, Suchodolski JS, Kuhner KA, Minamoto Y, Steiner JM, Mueller RS, Hartmann K, Unterer S. *Clostridium perfringens* enterotoxin and *Clostridium difficile* toxin A/B do not play a role in acute haemorrhagic diarrhoea syndrome in dogs. *Vet Rec* 2015; 176: 253.

Chaitman J, Ziese AL, Pilla R, Minamoto Y, Blake AB, Guard BC, Isaiah A, Lidbury JA, Steiner JM, Unterer S, Suchodolski JS. Fecal Microbial and Metabolic Profiles in Dogs With Acute Diarrhea Receiving Either Fecal Microbiota Transplantation or Oral Metronidazole. *Front Vet Sci* 2020; 7: 192.

Chaitman J, Gaschen F. Fecal Microbiota Transplantation in Dogs. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2021; 51: 219-33.

Chu V, Goggs R, Bichoupan A, Radhakrishnan S, Menard J. Hypophosphatemia in Dogs With Presumptive Sepsis: A Retrospective Study (2008-2018). *Front Vet Sci* 2021; 8: 636732.

Crisan CV, Hammer BK. The *Vibrio cholerae* type VI secretion system: toxins, regulators and consequences. *Environ Microbiol* 2020; 22: 4112-22.

Deitch EA. Nutrition and the gut mucosal barrier. *Curr Opin Gen Surg* 1993: 85-91.

den Besten G, van Eunen K, Groen AK, Venema K, Reijngoud DJ, Bakker BM. The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *J Lipid Res* 2013; 54: 2325-40.

Duboc H, Rainteau D, Rajca S, Humbert L, Farabos D, Maubert M, Grondin V, Jouet P, Bouhassira D, Seksik P, Sokol H, Coffin B, Sabate JM. Increase in fecal primary bile acids and dysbiosis in patients with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterol Motil* 2012; 24: 513-20, e246-7.

Duboc H, Rajca S, Rainteau D, Benarous D, Maubert MA, Quervain E, Thomas G, Barbu V, Humbert L, Despras G, Bridonneau C, Dumetz F, Grill JP, Masliah J, Beaugerie L, Cosnes J, Chazouilleres O, Poupon R, Wolf C, Mallet JM, Langella P, Trugnan G, Sokol H, Seksik P. Connecting dysbiosis, bile-acid dysmetabolism and gut inflammation in inflammatory bowel diseases. *Gut* 2013; 62: 531-9.

Dupont N, Jessen LR, Moberg F, Zyskind N, Lorentzen C, Bjornvad CR. A retrospective study of 237 dogs hospitalized with suspected acute hemorrhagic diarrhea syndrome: Disease severity, treatment, and outcome. *J Vet Intern Med* 2021; 35: 867-77.

Frias R, Strube K, Ternes W, Collado MC, Spillmann T, Sankari S, Westermarck E. Comparison of ⁵¹chromium-labeled ethylenediamine tetra-acetic acid and iohexol as blood markers for intestinal permeability testing in Beagle dogs. *Vet J* 2012; 192: 123-5.

Gal A, Barko PC, Biggs PJ, Gedye KR, Midwinter AC, Williams DA, Burchell RK, Pazzi P. One dog's waste is another dog's wealth: A pilot study of fecal microbiota transplantation in dogs with acute hemorrhagic diarrhea syndrome. *PLoS One* 2021; 16: e0250344.

Gonzalez LM, Moeser AJ, Blikslager AT. Animal models of ischemia-reperfusion-induced intestinal injury: progress and promise for translational research. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2015; 308: G63-75.

Hauptman JG, Walshaw R, Olivier NB. Evaluation of the sensitivity and specificity of diagnostic criteria for sepsis in dogs. *Vet Surg* 1997; 26: 393-7.

Hromada S, Qian Y, Jacobson TB, Clark RL, Watson L, Safdar N, Amador-Noguez D, Venturelli OS. Negative interactions determine *Clostridioides difficile* growth in synthetic human gut communities. *Mol Syst Biol* 2021; 17: e10355.

Kelly CR, Kahn S, Kashyap P, Laine L, Rubin D, Atreja A, Moore T, Wu G. Update on Fecal Microbiota Transplantation 2015: Indications, Methodologies, Mechanisms, and Outlook. *Gastroenterology* 2015; 149: 223-37.

Khoruts A, Sadowsky MJ. Understanding the mechanisms of faecal microbiota transplantation. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2016; 13: 508-16.

Kiu R, Hall LJ. An update on the human and animal enteric pathogen *Clostridium perfringens*. *Emerg Microbes Infect* 2018; 7: 141.

Klenner S, Frias R, Coenen M, Failing K, Hewicker-Trautwein M, Ternes W, Verspohl J, Spillmann T. Estimation of intestinal permeability in healthy dogs using the contrast medium iohexol. *Vet Clin Pathol* 2009; 38: 353-60.

Konig J, Wells J, Cani PD, Garcia-Rodenas CL, MacDonald T, Mercenier A, Whyte J, Troost F, Brummer RJ. Human Intestinal Barrier Function in Health and Disease. *Clin Transl Gastroenterol* 2016; 7: e196.

Lasser EC, Farr RS, Fujimagari T, Tripp WN. The significance of protein binding of contrast media in roentgen diagnosis. *Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med* 1962; 87: 338-60.

Leipig-Rudolph M, Busch K, Prescott JF, Mehdizadeh Gohari I, Leutenegger CM, 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 Invest* 2018; 30: 495-503.

Mehdizadeh Gohari I, Parreira VR, Nowell VJ, Nicholson VM, Oliphant K, Prescott JF. A novel pore-forming toxin in type A *Clostridium perfringens* is associated with both fatal canine hemorrhagic gastroenteritis and fatal foal necrotizing enterocolitis. *PLoS One* 2015; 10: e0122684.

Mehdizadeh Gohari I, Unterer S, Whitehead AE, Prescott JF. NetF-producing *Clostridium perfringens* and its associated diseases in dogs and foals. *J Vet Diagn Invest* 2020; 32: 230-8.

Melton-Celsa A, Mohawk K, Teel L, O'Brien A. Pathogenesis of Shiga-toxin producing *Escherichia coli*. *Curr Top Microbiol Immunol* 2012; 357: 67-103.

Mortier F, Strohmeyer K, Hartmann K, Unterer S. Acute haemorrhagic diarrhoea syndrome in dogs: 108 cases. *Vet Rec* 2015; 176: 627.

Mutzel W, Speck U. Pharmacokinetics and biotransformation of iohexol in the rat and the dog. *Acta Radiol Suppl* 1980; 362: 87-92.

Mwangi S, Timmons J, Fitz-Coy S, Parveen S. Characterization of *Clostridium perfringens* recovered from broiler chicken affected by necrotic enteritis. *Poult Sci* 2019; 98: 128-35.

Navarro MA, McClane BA, Uzal FA. Mechanisms of Action and Cell Death Associated with *Clostridium perfringens* Toxins. *Toxins (Basel)* 2018; 10

Ortín-Piqueras V ST, Pöytäkangas M, Vaccaro D. E, Sankari S, Frías R. Determination of iohexol in canine plasma – strong correlation between enzyme-linked immunosorbent assay, high-performance liquid chromatography, and neutron activation analysis. *Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science* 2018; 44

Pereira GQ, Gomes LA, Santos IS, Alfieri AF, Weese JS, Costa MC. Fecal microbiota transplantation in puppies with canine parvovirus infection. *J Vet Intern Med* 2018; 32: 707-11.

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

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. Effects of metronidazole on the fecal microbiome and metabolome in healthy dogs. *J Vet Intern Med* 2020; 34: 1853-66.

Quraishi MN, Shaheen W, Oo YH, Iqbal TH. Immunological mechanisms underpinning faecal microbiota transplantation for the treatment of inflammatory bowel disease. *Clin Exp Immunol* 2020; 199: 24-38.

Raoufinia R, Mota A, Keyhanvar N, Safari F, Shamekhi S, Abdolalizadeh J. Overview of Albumin and Its Purification Methods. *Adv Pharm Bull* 2016; 6: 495-507.

Režen T, Rozman D, Kovács T, Kovács P, Sipos A, Bai P, Mikó E. The role of bile acids in carcinogenesis. *Cell Mol Life Sci* 2022; 79: 243.

Shin A, Camilleri M, Vijayvargiya P, Busciglio I, Burton D, Ryks M, Rhoten D, Lueke A, Saenger A, Girtman A, Zinsmeister AR. Bowel functions, fecal unconjugated primary and secondary bile acids, and colonic transit in patients with irritable bowel syndrome. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013; 11: 1270-5 e1.

Sindern N, Suchodolski JS, Leutenegger CM, Mehdizadeh Gohari I, Prescott JF, Proksch AL, Mueller RS, 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: 100-5.

Skotnitzki E, Suchodolski JS, Busch K, Werner M, Zablotski Y, Ballhausen BD, Neuerer F, Unterer S. Frequency of signs of chronic gastrointestinal disease in dogs after an episode of acute hemorrhagic diarrhea. *J Vet Intern Med* 2022; 36: 59-65.

Steiner JM, Williams DA, Moeller EM. Kinetics of urinary recovery of five sugars after orogastric administration in healthy dogs. *Am J Vet Res* 2002; 63: 845-8.

Strube K. Vergleichende Iohexol- und Iodbestimmung in caninen und equinen Serum- und Rattenurinproben nach oraler Verabreichung von Iohexol - Ein Beitrag zum möglichen Einsatz von Iohexol als Marker für die intestinale Permeabilität. 2007;

Suchodolski JS. Analysis of the gut microbiome in dogs and cats. *Vet Clin Pathol* 2022; 50 Suppl 1: 6-17.

Sun Z, Wang X, Andersson R. Role of intestinal permeability in monitoring mucosal barrier function. History, methodology, and significance of pathophysiology. *Dig Surg* 1998; 15: 386-97.

Sung CH, Pilla R, Chen CC, Ishii PE, Toresson L, Allenspach-Jorn K, Jergens AE, Summers S, Swanson KS, Volk H, Schmidt T, Stuebing H, Rieder J, Busch K, Werner M, Lisjak A, Gaschen FP, Belchik SE, Tolbert MK, Lidbury JA, Steiner JM, Suchodolski JS. Correlation between Targeted qPCR Assays and Untargeted DNA Shotgun Metagenomic Sequencing for Assessing the Fecal Microbiota in Dogs. *Animals (Basel)* 2023; 13

Takáčová M, Bomba A, Tóthová C, Michál'ová A, Turňa H. Any Future for Faecal Microbiota Transplantation as a Novel Strategy for Gut Microbiota Modulation in Human and Veterinary Medicine? *Life (Basel)* 2022; 12

Thanissery R, McLaren MR, Rivera A, Reed AD, Betrapally NS, Burdette T, Winston JA, Jacob M, Callahan BJ, Theriot CM. Clostridioides difficile carriage in animals and the associated changes in the host fecal microbiota. *Anaerobe* 2020; 66: 102279.

Unterer S, Busch K, Leipig M, Hermanns W, Wolf G, Straubinger RK, Mueller RS, Hartmann K. Endoscopically visualized lesions, histologic findings, and bacterial invasion in the gastrointestinal mucosa of dogs with acute hemorrhagic diarrhea syndrome. *J Vet Intern Med* 2014; 28: 52-8.

Unterer S, Lechner E, Mueller RS, Wolf G, Straubinger RK, Schulz BS, Hartmann K. Prospective study of bacteraemia in acute haemorrhagic diarrhoea syndrome in dogs. *Vet Rec* 2015; 176: 309.

Van Damme L, Cox N, Callens C, Haesebrouck F, Dargatz M, Ducatelle R, Van Immerseel F, Goossens E. *C. perfringens* challenge reduces matrix metalloproteinase activity in the jejunal mucosa of Eimeria-infected broiler chickens. *Vet Res* 2020; 51: 100.

Wang S, Martins R, Sullivan MC, Friedman ES, Misic AM, El-Fahmawi A, De Martinis ECP, O'Brien K, Chen Y, Bradley C, Zhang G, Berry ASF, Hunter CA, Baldassano RN, Rondeau MP, Beiting DP. Diet-induced remission in chronic enteropathy is associated with altered microbial community structure and synthesis of secondary bile acids. *Microbiome* 2019; 7: 126.

Werner M, Ishii PE, Pilla R, Lidbury JA, Steiner JM, Busch-Hahn K, Unterer S, Suchodolski JS. Prevalence of *Clostridioides difficile* in Canine Feces and Its Association with Intestinal Dysbiosis. *Animals* 2023; 13: 2441.

Will K, Nolte I, Zentek J. Early enteral nutrition in young dogs suffering from haemorrhagic gastroenteritis. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 2005; 52: 371-6.

Zhang LS, Davies SS. Microbial metabolism of dietary components to bioactive metabolites: opportunities for new therapeutic interventions. *Genome Med* 2016; 8: 46.

Ziese AL, Suchodolski JS, 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.

Ziese AL, Suchodolski JS. Impact of Changes in Gastrointestinal Microbiota in Canine and Feline Digestive Diseases. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2021; 51: 155-69.

IX. DANKSAGUNG

Mit der Fertigstellung dieser Arbeit möchte ich die Gelegenheit nutzen, all den Menschen zu danken, die mich auf meinem Weg begleitet, unterstützt und gefördert haben.

Zunächst gilt mein tiefster Dank Herrn Prof. Dr. Stefan Unterer, meinem Doktorvater. Stefan, du hast mich im wahrsten Sinne des Wortes aus der Rotation herausgepickt und mir damit eine Tür geöffnet, die mein weiteres berufliches Leben maßgeblich geprägt hat. Deine unermüdliche Unterstützung, dein Glaube an meine Fähigkeiten und deine schier endlose Geduld haben es mir ermöglicht, zu wachsen – sowohl in wissenschaftlicher Hinsicht als auch in meiner klinischen Ausbildung. Besonders dankbar bin ich für die zahlreichen Möglichkeiten, die du mir ermöglicht hast, wie die gemeinsame Teilnahme am ACVIM-Kongress in Texas, welche nicht nur fachlich, sondern auch persönlich eine enorme Bereicherung war. Dein Anspruch, aus uns die besten Internisten zu formen, hat mich stets motiviert, über mich hinauszuwachsen.

Ein ganz besonderer Dank gilt meiner Betreuerin Frau Dr. Kathrin Busch. Kathy, du warst jederzeit mit einem offenen Ohr für mich da und hast mich auch in entscheidenden Momenten begleitet. Du hast meinen klinischen Alltag enorm bereichert. Mit deiner Fachkenntnis standest du mir jederzeit zur Seite, hast mir Dinge immer wieder erklärt und besonders viel Geduld mit meinen Ultraschall- und Endoskopierfähigkeiten bewiesen. Wir haben sehr viel miteinander durchgestanden und erlebt, diese Zeit werde ich nie vergessen. Danke!

Ein weiterer großer Dank geht an meinen weiteren Betreuer Herrn Dr. Jan Suchodolski. Jan, deine fachliche Expertise und unermüdliche Unterstützung waren von unschätzbarem Wert. Es war eine große Bereicherung mit dir zusammenzuarbeiten. Durch dich haben sich zahlreiche Möglichkeiten eröffnet, die meine wissenschaftliche Laufbahn maßgeblich beeinflussten – darunter auch die Teilnahme am GutSea in Costa Rica. Auch du musstest dir meine Vorträge mehrmals anhören, und deine sprachliche Expertise zeigte sich bei jeder Korrektur aufs Neue. Ich bin so dankbar für deine Geduld und deine Unterstützung, die einen entscheidenden Beitrag zum Gelingen dieser Arbeit geleistet haben.

Besonders möchte ich meiner Kollegin, Mitstreiterin und mittlerweile auch sehr geschätzten Freundin Helene Stübing danken. Helene, gemeinsam haben wir die Höhen und Tiefen der

Dissertation gemeistert, unzählige Stunden mit Patientensammlungen verbracht, Vorträge vorbereitet und uns durch den Klinikalltag gekämpft. Ich vermisse dich in meinem beruflichen Alltag, doch ich bin mir sicher, dass unsere Freundschaft auch die räumliche und arbeitliche Trennung überdauern wird. Gemeinsam diese Dissertation abzuschließen, ist ein besonderer Meilenstein, und ich danke dir von Herzen dafür, dass wir diesen Weg zusammen gegangen sind.

Mein herzlicher Dank geht zudem an das gesamte GastroTeam – Anna, Sabrina, Kati und Lilly und allen Mitarbeiter*innen der medizinischen Kleintierklinik der LMU München. Ohne euch wäre die Patientensammlung in der Form niemals möglich gewesen. Euer Einsatz und eure Teamarbeit haben nicht nur das wissenschaftliche Fundament dieser Arbeit gelegt, sondern auch den Klinikalltag bereichert. Danke für eure unschätzbare Unterstützung!

Nicht zuletzt möchte ich meiner Familie – meinen Eltern und meinen beiden Schwestern – meinen tiefsten Dank aussprechen. Ihr habt immer an mich geglaubt, mich nie im Stich gelassen und mich in jeder Hinsicht unterstützt. Eure bedingungslose Liebe und euer Vertrauen haben mir Kraft gegeben, selbst in den schwierigsten Momenten. Ihr habt mir nicht nur Halt, sondern auch die Balance gegeben, die ich so oft gebraucht habe. Ohne euch wäre kein einziger Schritt meiner Ausbildung und meiner Weiterbildung möglich gewesen. Ich bin so dankbar, dass ihr mich auf diesem Weg begleitet habt.

Und schließlich möchte ich meinem Freund, Patrick, von ganzem Herzen danken. Du hast während meines Studiums, der schlaflosen Nächte am Schreibtisch und der langen Arbeitsphasen am meisten zurückstecken müssen. Du hast mich auf jedem Schritt dieses Weges unermüdlich unterstützt. Ich bin so unendlich dankbar, dass du diese herausfordernde Zeit mit mir durchgestanden hast und mir dabei immer wieder den Rücken gestärkt hast. Deine Liebe und dein Vertrauen haben mir die Kraft gegeben, bis zum Ende durchzuhalten.

Diese Arbeit ist auch ein Ergebnis eurer Unterstützung, eures Vertrauens und eurer Geduld – ohne euch wäre all das nicht möglich gewesen.

Danke!