

UNIVERSITEIT GENT

FACULTEIT DIERGENEESKUNDE

Academiejaar 2014 – 2015

**PRE- EN PROBIOTICA BIJ HOND EN KAT**

door

Lisa DE BUYSER

Promotoren: Dierenarts Sofie Dupont  
Prof. dr. Myriam Hesta

Literatuurstudie in het kader  
van de Masterproef

© 2015 Lisa De Buyser



*Universiteit Gent, haar werknemers of studenten bieden geen enkele garantie met betrekking tot de juistheid of volledigheid van de gegevens vervat in deze masterproef, noch dat de inhoud van deze masterproef geen inbreuk uitmaakt op of aanleiding kan geven tot inbreuken op de rechten van derden.*

*Universiteit Gent, haar werknemers of studenten aanvaarden geen aansprakelijkheid of verantwoordelijkheid voor enig gebruik dat door iemand anders wordt gemaakt van de inhoud van de masterproef, noch voor enig vertrouwen dat wordt gesteld in een advies of informatie vervat in de masterproef.*

UNIVERSITEIT GENT

FACULTEIT DIERGENEESKUNDE

Academiejaar 2014 – 2015

**PRE- EN PROBIOTICA BIJ HOND EN KAT**

door

Lisa DE BUYSER

Promotoren: Dierenarts Sofie Dupont  
Prof. dr. Myriam Hesta

Literatuurstudie in het kader  
van de Masterproef

© 2015 Lisa De Buyser

## VOORWOORD

Graag zou ik enkele mensen willen bedanken die bijgedragen hebben tot het tot stand brengen van deze masterproef. In de eerste plaats een grote dankuwel aan mijn promotor dierenarts Sofie Dupont voor de snelle en goede bemerkingen op mijn schrijven. Bedankt ook aan mijn co-promotor prof. dr. Myriam Hesta voor het mee opvolgen van mijn masterproef. Als laatste bedank ik graag mijn ouders voor de opvoeding en de kansen die ze mij gegeven hebben. Dit heeft me gevormd tot de persoon die ik nu ben. Aan jullie allen: BEDANKT!

## INHOUDSOPGAVE

VOORWOORD

INHOUDSOPGAVE

SAMENVATTING .....	1
INLEIDING .....	2
LITERATUURSTUDIE.....	3
1. DE GASTRO-INTESTINALE ANATOMIE EN FYSIOLOGIE BIJ HOND EN KAT .....	3
2. PROBIOTICA .....	3
2.1 DE AANWEZIGE BACTERIËLE MICROBIOTA EN FERMENTATIEPROCESSEN T.H.V. HET COLON .....	3
2.2 DEFINITIE EN BEWEZEN PROBIOTICA BIJ HOND EN KAT.....	6
3. PREBIOTICA .....	7
3.1 WERKING .....	7
4. SYNBIOTICA .....	9
5. MOGELIJKE TOEPASSINGEN .....	10
5.1 DIARREE.....	10
5.2 INFLAMMATORY BOWEL DISEASE .....	10
5.3 VOEDSELALLERGIE.....	11
5.4 CALCIUM-OXALAATSTENEN .....	12
5.5 LEVERPATIËNTEN .....	13
5.6 OBESITAS .....	14
5.7 IMMUNITEIT .....	15
5.8 COLON KANKER .....	15
COMMERCIELE PRODUCTEN IN DE PRAKTIJK.....	17
DISCUSSIE .....	19
REFERENTIES .....	23

## SAMENVATTING

Het colon van zowel hond als kat bevatten een groot aantal bacteriën. De dominante fyta van deze bacteriën zijn *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria* en *Actinobacteria*. Het in stand houden van hun verhouding draagt bij tot de gezondheid van het dier. Pre- en probiotica hebben hier een invloed op waardoor hun belang in het hedendaagse onderzoek steeds meer toeneemt.

Prebiotica zijn voedselcomponenten die na orale opname onverteerd aankomen in het colon. Daar zorgen ze voor veranderingen in de samenstelling en/of activiteit van bacteriën die op hun beurt een gunstig effect hebben op het welzijn van de gastheer. In tegenstelling tot deze prebiotica zijn probiotica levende micro-organismen. Ze werken echter wel volgens hetzelfde principe.

Naast de pre- en probiotica zijn er tevens de synbiotica. Deze zijn een combinatie van een pre- en een probioticum op voorwaarde dat er sprake is van synergisme.

Over de effecten van pre-, pro- en synbiotica bij honden en katten dient nog veel onderzoek te worden gedaan. Wat wel reeds bewezen is, is het positieve effect op diarree van *Bifidobacterium animalis* voor de hond en *Enterococcus faecium* voor de kat.

De invloed van een pre- of probioticum op IBD werd tot nu toe enkel aangetoond bij ratten en muizen. Er werd wel geconstateerd dat honden en katten met IBD een andere samenstelling van microbiota vertoonden in vergelijking met gezonde soortgenoten.

Voor aandoeningen zoals voedselallergie, calcium-oxalaatstenen, leveraandoeningen, obesitas, verminderde immuniteit en colonkanker werden enkel nog maar studies verricht bij ratten, muizen of de mens. Bij deze diersoorten werden positieve invloeden bewezen.

## INLEIDING

Het maagdarmsstelsel van hond en kat bevat een complexe populatie aan bacteriën, fungi, protozoa en virussen. De hoogste concentratie van deze microbiota vinden we terug ter hoogte van het colon (Kerr et al., 2013). Hier zorgen de bacteriën voor het afbreken van de nog niet-verteerde voedselcomponenten ter vorming van short-chain fatty acids (SCFA's), namelijk acetaat, propionaat en butyraat (Stevens C.E. en Hume I.D., 1998). Daarnaast beschermen de bacteriën de gastheer tegen pathogenen door competitie voor nutriënten en mucosale adhesie (Hooda et al., 2012). Naast deze gunstige invloed, zijn er ook colonale bacteriën aanwezig die ongunstige invloeden op het maagdarmsstelsel kunnen uitoefenen. Het is belangrijk om de juiste verhouding tussen de gunstige en ongunstige bacteriën in het colon te handhaven. Wanneer de ongunstige bacteriën de overhand nemen, spreken we van dysbiose en kan dit leiden tot maagdarmlaasten zoals bijvoorbeeld diarree of obstipatie (Hooda et al., 2012).

Wegens het grote belang van de colonale microbiota voor de gezondheid van de gastheer, rees de laatste jaren de interesse over de beïnvloeding van deze microbiota bij hond en kat. Zowel pre-, pro- als synbiotica kunnen hier een positieve invloed op uitoefenen.

Prebiotica zijn voedselcomponenten die na orale opname onverteerd aankomen in het colon. Hier gaan ze de groei en/ of activiteit van bacteriën stimuleren ter bevordering van de gezondheid van de gastheer (Gibson et al., 2004). In tegenstelling tot de prebiotica, zijn de probiotica levende micro-organismen. Ze gaan net als de prebiotica een verandering teweegbrengen van de microbiota met een positieve invloed op de gezondheid van de gastheer tot gevolg (Schrezenmeir en de Vrese, 2001). Een combinatie van een prebioticum en een probioticum wordt een synbioticum genoemd op voorwaarde dat het prebioticum een gunstig effect heeft op het probioticum en er dus sprake is van synergisme (Schrezenmeir en de Vrese, 2001).

Vooraleer de werking van pre-, pro- en synbiotica kan worden nagegaan, is het belangrijk te weten hoe de normale microbiota bij hond en kat zijn opgebouwd en of deze gelijkend zijn tussen de verschillende rassen, leeftijden, voedingsschema's, leefomstandigheden, etc. Ook dient er onderzocht te worden welke pre-, pro- en synbiotica daadwerkelijk kunnen aanvaard worden bij zowel hond als kat en hoe hun werkingsmechanisme in elkaar zit. Indien dit alles gekend is, kan er gekeken worden naar de eventuele toepassingen waarvoor de pre-, pro- of synbiotica kunnen worden gebruikt. Toepassingen zoals diarree, inflammatory bowel disease, voedselallergie, calcium-oxalaatstenen, leverpatiënten, obesitas, immuniteit en colon kanker worden elk apart besproken en geëvalueerd of deze kunnen behandeld worden door middel van pre-, pro- of synbiotica. Om af te sluiten wordt er op het einde nog een overzicht gegeven van de commerciële pre- en probiotica die op de markt zijn voor honden en katten.



## 1. DE GASTRO-INTESTINALE ANATOMIE EN FYSIOLOGIE BIJ HOND EN KAT

Honden en katten zijn volgens de taxonomie onder te verdelen in de orde van de Carnivora. Zoals de naam doet vermoeden, zijn de meeste dieren in deze orde vleeseters, al zijn er ook enkele herbivoren en omnivoren in deze groep terug te vinden. De orde van de carnivora wordt gekenmerkt door een relatief eenvoudige maag en een kort darmstelsel. De dikke darm bevat een klein caecum, een niet-zakvormig colon en een rectum. Gedomesticeerde katten hebben een gastro-intestinaal stelsel dat sterk lijkt op dat van de hond, enkel hun caecum is minder gekronkeld (Stevens en Hume, 2004).

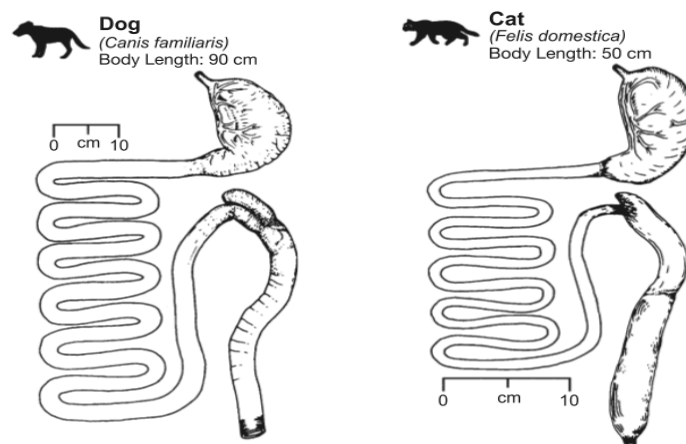


Fig. 1 Het gastro-intestinaal stelsel van de hond en de kat (uit Stevens en Hume, 2004)

De belangrijkste functies van het colon zijn enerzijds de absorptie van water en ionen en anderzijds de microbiële degradatie en absorptie van koolhydraten en proteïnen die niet reeds verteerd werden in de maag en de dunne darm. Door de productie van een  $\text{HCO}_3^-$  en een mucine-bevattende vloeistof door de klieren in het colon worden de epitheliale cellen beschermd en wordt het zure milieu geneutraliseerd. De motiliteit wordt geregeld door een combinatie van vier types van contracties: segmentatie, peristaltiek, antiperistaltiek en bewegingen van de inhoud van de darm. Door een samenwerking van deze contracties wordt de darminhoud naar caudaal gestuurd (Sjaastad et al., 2010).

## 2. PROBIOTICA

### 2.1 De aanwezige bacteriële microbiota en fermentatieprocessen t.h.v. het colon

Een populatie van verscheidene micro-organismen zoals bacteriën, fungi, protozoa en virussen vormt een complexe structuur in het gastro-intestinaal stelsel van honden en katten. Deze micro-organismen komen voor in het hele gastro-intestinale stelsel, al wordt de hoogste concentratie gevonden in het colon ( $10^9$  tot  $10^{11}$  cfu/g verteerd voedsel) (Kerr et al., 2013).

Een recente studie door Swanson et al. (2011) toonde de grote diversiteit aan bacteriële fyta aan in het gastro-intestinaal stelsel van de hond. Het grootste aandeel van deze bacteriën wordt vertegenwoordigd door de fyta *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria* en *Actinobacteria*. De rest van de bacteriële groepen behoort tot de fyta *Spirochaetes*, *Tenericutes*, *Verrucomicrobia*, *Cyanobacteria*, *Choroflexi* en een paar niet-geclassificeerde bacteriën (Suchodolski, 2011). Alhoewel de meeste bronnen het eens zijn over de dominante fyta, is er enige discussie over het juiste aandeel van deze verschillende bacteriën (Tabel 1). Volgens Xenoulis et al. (2008) is *Firmicutes* met een aandeel van 46,4% de grootste bacteriële groep aanwezig in het colon van de hond, gevolgd door de *Proteobacteria* met zo'n 26,6%. Swanson et al. (2011) beweert echter dat zowel de *Firmicutes*-groep als de *Bacteroidetes*-groep een even groot aandeel van zo'n 35% innemen en de *Proteobacteriën* slechts 13-15% van de aanwezige bacteriën vertegenwoordigen. Volgens Middelbos et al. (2010) behoort 24-40% van de bacteriën tot de *Fusobacteria*-groep. Deze waargenomen verschillen kunnen door verschillende redenen verklaard worden. De genen van het dier, het gebruikte dieet, de leeftijd, de leefomstandigheden en de gebruikte diagnostische techniek kunnen allen leiden tot een verschillend resultaat (Kerr et al., 2013).

Tabel 1. Het procentuele aandeel van de bacteriële microbiota t.h.v. het colon bij de hond: een vergelijking tussen verschillende onderzoeken.

BACTERIE STAM	Swanson et al.	Xenoulis et al.	Middelbos et al.	VOORBEELD
<i>Bacteroidetes</i>	35%	11,2%	32-34%	<i>Bacteroides spp.</i>
<i>Firmicutes</i>	35%	46,4%	15-28%	<i>Lactobacillus spp.</i>
<i>Proteobacteria</i>	13-15%	26,6%	5-6%	<i>Enterobacterie spp.</i>
<i>Fusobacteria</i>	7-8%	3,6%	24-40%	
<i>Actinobacteria</i>	n.g.	1,0%	0,8-1,4%	<i>Bifidobacterium</i>
<i>Spirochaetes</i>	n.g.	10,3%	n.g.	

n.g. = niet gekend

De bovengenoemde resultaten zijn enkel geldig voor de hond. In het gastro-intestinale stelsel van de kat werden *Bifidobacterium spp.*, *Bacteroides spp.*, *Lactobacillus-Enterococcus spp.*, *C. histolyticum* en *Desulfovibrio spp.* teruggevonden (Inness et al., 2005). Net zoals bij de hond, behoren deze bacteriën tot de fyta *Actinobacteriën*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes* en *Proteobacteriën*. Suchodolski (2011) en Inness et al. (2005) besluiten daardoor beiden dat de dominante microbiota van zowel hond als kat op elkaar gelijken.

De microbiota hebben enkele zeer belangrijke functies. Zo beschermen ze de gastheer o.a. tegen pathogenen door competitie voor nutriënten en mucosale adhesie. Hierdoor kunnen de pathogenen nog moeilijk overleven in de omgeving (Hooda et al., 2012). Bovendien bevatten de gastro-intestinale microbiota enzymen die zorgen voor de fermentatie van moeilijk afbreekbare voedingselementen.

De eindproducten van deze fermentatie, de kortketenige vetzuren (KKVZ) of short-chain fatty acids (SCFA), namelijk acetaat, propionaat en butyraat, worden bij Carnivora gerapporteerd in het colon aan een concentratie van 65 tot 235mM (Stevens C.E. en Hume I.D., 1998) en hebben op zichzelf enkele belangrijke voordelige effecten. Deze SCFA's, ook wel volatiele vetzuren genoemd, zorgen voor energie ten behoeve van epitheliale groei en metabolisme (Sunvold et al., 1995). Daarenboven hebben ze een aandeel in de ileale motiliteit. Een studie bij honden door Kamath et al. (1987) toonde aan dat wanneer de concentratie van SCFA's in het colon stijgt, de ileale motiliteit evenredig toeneemt. Men kan hieruit besluiten dat fermenteerbare vezels in de voeding nodig zijn voor het behoud van een normale ileale en colonale motiliteit.

Elke SCFA heeft zijn eigen specifieke functie. Butyraat zorgt voor de energie van colonocyten en heeft een antitumorale activiteit, acetaat functioneert als energiebron voor perifere weefsels zoals o.a. spieren en propionaat en lactaat draagt bij tot de energievoorziening van hepatocyten (Pinna C. en Biagi G, 2014; Kolida en Gibson, 2007).

Nadat de fermentatie tot SCFA's voltooid is, worden deze vrij snel opgenomen door de darmwand. Slechts een deel ervan wordt uitgescheiden via de faeces (zoals weergegeven in deel A van Fig. 2). Enkele bacteriën behorend tot de normale colonmicrobiota zorgen voor de omzetting van proteïnen en andere stikstofhoudende verbindingen naar ammonia en andere bacteriële proteïnen. Een deel van het ammonium wordt geïncorporeerd in een microbieel proteïne of geëxcreteerd via de faeces. Het grootste deel wordt geabsorbeerd en getransporteerd naar de lever voor de productie van ureum of de synthese van proteïnen (deel B van Fig. 2) (Stevens C.E en Hume I.D., 2004; Wrong O.M. en Vince A., 1984).

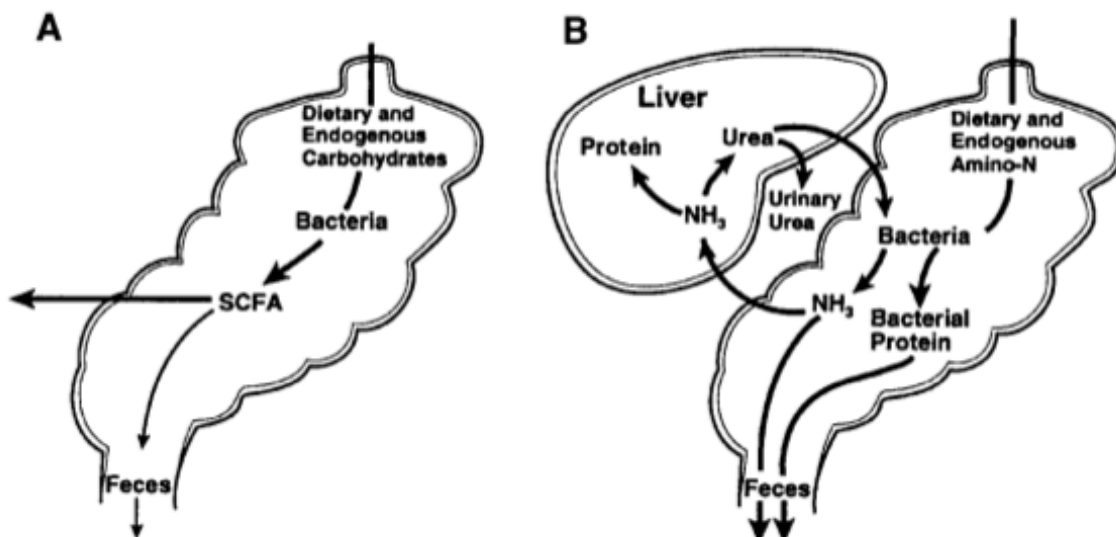


Fig. 2 Bacterieel metabolisme van stikstof en fermentatie van koolhydraten in het colon van zoogdieren (uit Stevens C.E. en Hume I.D.,2004)

In vivo studies bij volwassen honden toonden aan dat de absorptie van SCFA's tegelijk gebeurt met de absorptie van natrium t.h.v. het colon. Tevens stijgt hun absorptie bij een daling in pH (Herschel et al., 1981). Door de absorptie van natrium en SCFA's wordt door middel van osmose water mee onttrokken vanuit het colon (Herschel et al., 1981; Hijova E. en Chmelarova A., 2007; Stevens C.E. en Hume I.D., 1998).

Het belang van de energie die via absorptie van SCFA's wordt bekomen, moet echter wel gerelativeerd worden. Er werd immers aangetoond dat de energie die hiermee bekomen wordt slechts instaat voor een aandeel van 2% van de nodige onderhoudsenergie van honden. Ter vergelijking: bij mensen staat het in voor 6-9% van de onderhoudsenergie en bij varkens voor 10-31% (Stevens C.E. en Hume I.D., 1998).

## 2.2 Definitie en bewezen probiotica bij hond en kat

Over de jaren heen zijn reeds verschillende definities van het woord 'probioticum' gepubliceerd. Eén van de meest recente definities werd door Schrezenmeir en de Vrese (2001) als volgt beschreven: "*Een probioticum is een bereiding van of een product dat levensvatbare, goed bepaalde micro-organismen in een voldoende hoge concentratie bevat die een verandering teweegbrengen van de microbiota (door implantatie of kolonisatie) ergens in de gastheer en hierdoor bijdragen tot bevorderlijke gezondheidseffecten van deze gastheer*".

Bij de mens werden reeds verschillende studies uitgevoerd ter bepaling van eventuele probiotische effecten van microbiële strengen. Hieruit bleken *Lactobacillus GG*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium spp.*, *Streptococcus spp.* en de gist *Saccharomyces boulardii* te kunnen worden geïnclassificeerd onder de term probioticum (Guandalini, 2011).

Bij de hond zijn de studies echter veel zeldzamer. De reeds bewezen probiotica zijn *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium longum* en *Enterococcus faecium* (Baillon et al., 2004; Rowland et al., 1998; Bybee et al., 2011). De probiotische activiteit van zowel *Enterococcus faecalis* als *Lactobacillus animalis* werden ook geëvalueerd. Hierbij werd geconstateerd dat ze beiden beschikken over een probiotische activiteit. Vooraleer ze mogen geklasseerd worden onder de probiotica van de hond, dienen er echter nog verdere studies te worden verricht (Strompfová et al., 2004; Biagi et al., 2007)

Studies naar probiotica bij katten zijn bijna onbestaande. Een studie door Marshall-Jones et al. (2006) richtte zich naar de vraag of *Lactobacillus acidophilus* als probiotica mocht worden beschouwd bij katten. Er werd geconcludeerd dat deze *Lactobacillus*-species een positieve invloed had op de samenstelling van de microbiota bij gezonde katten en tevens bijdraagt tot goede systemische en immuniteitseffecten.

### 3. PREBIOTICA

Gibson en Roberfroid (1995) stelde in 1995 dat prebiotica “*niet-verteerbare voedselcomponenten zijn die een voordeel bieden voor de gezondheid van de gastheer door selectief de groei en/of activiteit van één of een beperkt aantal bacteriën in het colon te stimuleren*”. Deze definitie diende in 2004 te worden bijgewerkt. Er werd immers ontdekt dat prebiotica niet alleen zorgen voor lokale verandering in de colonale microbiota, maar dat deze verandering ook haar weerslag heeft op enkele systemische verschijnselen. Hierdoor veranderde de definitie naar: “*een prebioticum is een selectief fermenteerbaar voedingsingrediënt dat zorgt voor specifieke veranderingen in de compositie en/of activiteit in het gastro-intestinale stelsel en dat een positieve weerslag heeft op de gezondheid en het welzijn van de gastheer*” (Gibson et al., 2004).

Vooraleer men een voedingscomponent mag classificeren onder de noemer prebioticum, moet het aan enkele voorwaarden voldoen. Zo mag het eerst en vooral niet gehydrolyseerd of geabsorbeerd worden in het gastro-intestinale stelsel voordat het aankomt in het colon. Het moet met andere woorden resistent zijn aan maagzuur, hydrolyse door dierlijke enzymen en aan intestinale absorptie. Als tweede voorwaarde geldt dat het een selectief substraat dient te zijn voor één of een beperkt aantal bevorderlijke bacteriën in het colon. De microbiota zal dit substraat fermenteren waardoor hun groei en/of activiteit gestimuleerd wordt. Als derde voorwaarde kan gesteld worden dat de verandering in de microbiota lumenale of systemische effecten dient te induceren die voordelig zijn voor de gastheer (Gibson en Roberfroid, 1995; Gibson et al., 2004).

Prebiotica die aan deze voorwaarden voldoen zijn: fructo-oligosacchariden (inuline en oligofructose), galacto-oligosacchariden, lactulose en mannanoligosacchariden (Roberfroid, 2007; Korneeva et al., 2012; Rowland en Tanaka, 1993).

#### 3.1 Werking

Na de opname van FOS komt het onverteerd terecht in het colon. Daar gebeurt de fermentatie door de aanwezige Bifidobacteriën en sommige Lactobacillen via de productie van extracellulaire  $\beta$ -fructosidases (Ogué-Bon, 2010; Kolida en Gibson, 2007). Als eindproducten worden alle SCFA's en lactaat bekomen (Pan et al, 2009). Bifidobacteriën en Lactobacillen kunnen met andere woorden FOS gebruiken als een energiesubstraat en zo een vermeerdering van hun eigen aantal bekomen. Door deze groei zal de hoeveelheid van andere bacteriën zoals *Enterococcus*, *Enterobacteriaceae* en *Clostridia* dalen (Tabel 2) (Gibson et al, 1995; Pan et al, 2009; Wang en Gibson, 1993).

De fermentatie van galacto-oligosacchariden (GOS) gebeurt op een vergelijkbare manier als deze van FOS. De hydrolyse gebeurt echter wel door  $\beta$ -galactosidase dat geproduceerd wordt door Bifidobacteriën (Ogué-Bon, 2010). De eindproducten zijn, net zoals bij FOS, alle SCFA's en lactaat (Pan et al, 2009). Ook hier wordt er een stijging van Bifidobacteriën en Lactobacillen bekomen en een daling van zowel *Enterococcus* als *Enterobacteriaceae* (Flickering et al, 2000; Pan et al, 2009; Rowland en Tanaka, 1993).

Lactulose is een disacharide bestaande uit galactose en fructose. Na fermentatie in het colon komen acetaat en propionaat in hoge concentraties vrij. Butyraat wordt ook geproduceerd, maar dit gebeurt in een lagere concentratie dan de andere SCFA's (Sunvold et al, 1995). De productie van deze SCFA's heeft twee gevolgen: 1) er wordt een daling van de pH in het lumen van het colon verkregen, 2) via osmose wordt er water aangezogen. De daling van de pH zorgt ervoor dat het bacterieel geproduceerde ammoniak ( $\text{NH}_3$ ) wordt omgezet naar ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ). Ammonium wordt niet goed geabsorbeerd naar de systemische circulatie maar grotendeels uitgescheiden via de faeces. We verkrijgen een hogere faecale ammonium concentratie in de faeces (Beynen et al., 2001). Uit het tweede gevolg van de SCFA-productie vloeit voort dat lactulose bijdraagt tot een oplossing voor constipatie vermits het fungeert als een osmotisch laxativum (Gibas-Dorna en Piątek, 2014).

Er dient opgemerkt te worden dat lactulose het enige prebioticum is waarbij een daling van de faecesconsistentie werd vastgesteld (Zentek et al., 2002).

Bij de fermentatie van mannanoligosacchariden (MOS) wordt er een stijging van zowel Lactobacillen als Bifidobacteriën bekomen (Flickeringer et al., 2000; Swanson et al. 2002b). Tevens zien we een daling van *Bacteroides*, *Enterococcus* en *Enterobacteriaceae* (Flickeringer et al., 2000; Pan et al., 2009).

Volgens Swanson et al. (2002b) resulteert orale opname van MOS in een stijging van serum lymfocyten (% van WBC) en van serum immunoglobuline A (IgA). Het heeft echter geen effect op IgM of IgG. Hieruit valt te concluderen dat mannanoligosacchariden een positieve invloed hebben op de systemische immuniteit. Wanneer echter MOS in combinatie met FOS wordt toegediend, wordt er een stijging van de ileale IgA concentratie geconstateerd. Dit heeft met andere woorden een positief effect op de lokale immuniteit. De gastheer is hierdoor beter beschermd tegen kolonisatie van pathogenen ter hoogte van het colon.

Bijkomend kan gesteld worden dat MOS als prebiotium voornamelijk werd beschreven bij de kip en het varken. Het fungeert dan als een receptor-analoog. Hiermee wordt bedoeld dat MOS bindt op een receptor van een bepaalde bacterie (vb. Salmonella, E. coli). De bacterie kan zich niet meer hechten aan oppervlakte-koolhydraten van het celepitheel van de darm, waardoor het zal worden uitgescheiden. Op deze manier wordt er een daling van de bacterie-infectie bekomen (Swanson et al., 2002b).

Tabel 2. Overzicht van de werking van de prebiotica bij de hond

	SCFA's	Effecten	stijgende bacteriën	dalende bacteriën
FOS	stijging alle SCFA's en lactaat <sup>1</sup>	n.g.	<i>Bifidobacteria</i> <sup>1,5,6</sup> <i>Lactobacilli</i> <sup>1</sup>	<i>Enterococcus</i> <sup>1</sup> <i>Enterobacteriaceae</i> <sup>1,5</sup> <i>Clostridia</i> <sup>5</sup>
GOS	stijging alle SCFA's en lactaat <sup>1</sup>	n.g.	<i>Bifidobacteria</i> <sup>7,8</sup> <i>Lactobacilli</i> <sup>8</sup>	<i>Enterococcus</i> <sup>1</sup> <i>Enterobacteriaceae</i> <sup>1,8</sup>
MOS	n.g.	n.g.	<i>Bifidobacteria</i> <sup>7</sup> <i>Lactobacilli</i> <sup>9</sup>	<i>Bacteroides</i> <sup>7</sup> <i>Enterococcus</i> <sup>1</sup> <i>Enterobacteriaceae</i> <sup>1</sup>
Lactulose	stijging alle SCFA's <sup>2</sup>	- ↓ faecesconsistentie <sup>3</sup> - ↓ faeceale pH <sup>4</sup> - ↑ faecaal ammonium <sup>4</sup> - ↓ ureum urine <sup>4</sup> - ↑ Ca en Mg absorptie <sup>4</sup>	n.g.	n.g.

<sup>1</sup>Pan et al., 2009; <sup>2</sup>Sunvold et al., 1995; <sup>3</sup>Zentek et al., 2002; <sup>4</sup>Beynen et al., 2001; <sup>5</sup>Wang et al., 1993; <sup>6</sup>Gibson et al., 1995; <sup>7</sup>Flickeringer et al., 2000; <sup>8</sup>Rowland et al. 1993; <sup>9</sup>Swanson et al., 2002b; n.g. = niet gekend

#### 4. SYNBIOTICA

Volgens Schrezenmeir en de Vrese (2001) is een synbiotikum een combinatie van een prebioticum en een probioticum. Deze term mag enkel gebruikt worden indien er sprake is van synergisme. Het prebioticum dient met andere woorden een gunstig effect te hebben op het probioticum. Rekening houdend met deze definitie werden er bij de hond drie synbiotica geëvalueerd:

1. Fructo-oligosacharide (FOS) + *Lactobacillus acidophilus*

Deze synbiotische combinatie zorgde voor een grotere daling van de concentratie van schadelijke stoffen in faeces (zoals o.a. fenolen) dan wanneer enkel FOS of enkel *L. acidophilus* zou worden toegediend. (Swanson et al., 2002a)

2. Galactosyl melbiose mengsel + *Lactobacillus reuteri*

Het toedienen van deze synbiotische combinatie zorgde voor een verandering van SCFA-productie in vergelijking met het toedienen van het prebioticum alleen. (Tzortzis et al., 2004)

### 3. Galacto-oligosaccharide (GOS) + *Bifidobacterium bifidum*

GOS stimuleert de groei van *Bifidobacteriën spp.* Er werd aangetoond dat deze stimulatie nog groter werd bij het toevoegen van de probiotische streng *B. bifidum*. Samen vormen ze m.a.w. een synbioticum. (Ogué-Bon et al., 2010)

## 5. MOGELIJKE TOEPASSINGEN

### 5.1 Diarree

Diarree is een veelvoorkomend probleem bij zowel honden als katten. Men dient op te merken dat diarree een symptoom is en geen ziekte op zich (Guandalini, 2011). Voor de behandeling ervan dient men dus steeds op zoek te gaan naar het onderliggende probleem. Soms is dit echter niet te vinden, zoals in de studie van Herstad et al. (2010). Hierbij werd getest naar het effect van een niet specifiek genoemd probioticum op diarree bij honden. Er werd geconcludeerd dat het toegediende probioticum zorgde voor een snellere stopzetting van de diarree dan bij de placebogroep. Het beschermend effect van het probioticum tegen diarree is te wijten aan de fermentatie ervan t.h.v. het colon ter vorming van SCFA's, waaronder butyraat. Butyraat is een belangrijk substraat voor colonocyten dat instaat voor het behoud van de gezondheid van de darm. Het zorgt voor verhoogde proliferatie van de colonocyten, een verhoogde water- en elektrolytenabsorptie en meer activiteit van brush border enzymen. Tevens stimuleert het de longitudinale contracties met een betere passage van de faeces doorheen het colon tot gevolg. Als laatste kan er vermeld worden dat butyraat instaat voor een stijging van de mucine secretie. Hierdoor verkrijgt men een daling van de microbiële adhesie en een betere stimulatie van de lokale immuniteit t.h.v. het colon (Cave, 2012; Leonel en Alvarez-Leite, 2012).

Dit verklaart dat bij toediening van *Bifidobacterium animalis AHC7* bij honden met acute idiopathische diarree en *Enterococcus faecium SF68* bij katten een significante verbetering te merken was van de diarree-symptomen (Kelley et al., 2009.; Bybee et al., 2011).

### 5.2 Inflammatory bowel disease

Inflammatory bowel disease (IBD) is een veelvoorkomende gastro-intestinale aandoening bij zowel honden als katten. Over de etiologie ervan is men nog steeds niet zeker, al vermoedt men dat één van de oorzaken te maken heeft met een slechte communicatie tussen de microbiota van het colon en het immuunstelsel van de gastheer. IBD wordt bij de hond gekenmerkt door chronische gastro-intestinale symptomen zoals chronisch intermitterend braken, zowel dunne als dikke darm diarree en gewichtsverlies (Tilley et al., 2011).

Verschillende studies toonden aan dat er een verschil in microbiota bestaat tussen gezonde honden en honden met IBD. Volgens een studie van Xenoulis et al. (2008) hadden honden met IBD een gestegen concentratie aan *Enterobacteriaceae*. Suchodolski et al. (2010) constateerde dat honden met IBD een hogere *Proteobacteriën*-concentratie en een lagere aantal *Clostridia*-populatie bezaten.



Eveneens werd er een hoger aantal *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Conchiformibious*, *Achromobacter*, *Brucella* en *Brevundimonas* geconstateerd. Er kan dus geconcludeerd worden dat IBD honden gekenmerkt worden door een gestegen concentratie van de *Enterobacteriaceae* en een gedaalde concentratie van de *Clostridia*-populatie (Swanson et al., 2011). Inness et al. (2005) deed dezelfde studie bij IBD katten en vond een lagere concentratie van de totale hoeveelheid bacteriën, een lager aantal *Bifidobacteria* en een gedaald aantal *Bacteroides* bacteriën dan bij gezonde katten. Ook bij de *Desulfovibrio spp* bacteriën bleek een verandering te zijn. Deze bacteriën waren significant hoger bij de IBD katten. Door de toediening van pre- of probiotica wordt er getracht de afwijkende microbiële samenstelling bij honden en katten met IBD positief te beïnvloeden ter vorming van een gezonde microbiële flora. Er dient met andere woorden een stimulatie van de groei van niet-pathogene bacteriën zoals *Lactobacilli* en *Bifidobacteria* te worden bekomen. Dit is mogelijk door middel van o.a. inuline, FOS of probiotische stammen van Lactobacillen en/of Bifidobacteriën (Cave, 2012). Deze pre- of probiotica, samen met de absorptie-effecten van niet-fermenteerbare vezels, zouden volgens Cave (2012) in theorie ideaal zijn voor het management van colitis. Enkele studies met het probioticum *Lactobacillus reuteri* staven deze theorie. Zo concludeerde men in een studie van Madsen et al. (1999) dat rectale toediening van dit probioticum aan interleukine-10 deficiënte muizen voor een preventie van de colitis zorgde. Twee soortgelijke studies werden gedaan door Fabia et al. (1993) en Mao et al. (1996) waarbij *Lactobacillus reuteri* voor een verbetering van enerzijds acetaat-geïnduceerde colitis en anderzijds methotrexaat-geïnduceerde colitis bij ratten zorgde. *L. reuteri* heeft m.a.w. een positief effect op IBD. Dit probioticum produceert reuterin dat zorgt voor de afdoding van pathogene micro-organismen en stimulatie van de gunstige colonale bacteriën (Casas en Dobrogosz, 2000).

### 5.3 Voedselallergie

Helm en Burks (2002) beschreven in 2002 voedselallergie als volgt: “*Voedselallergie is een patroon van immuniteitsreacties tegen de opname van natuurlijke voedingscomponenten dat resulteert in een IgE-gemedieerde voedselallergie*”.

De diagnose van voedselallergie kan enkel gesteld worden door het consequent toedienen van enkel en alleen een eliminatiedieet. Dit kan zelfgemaakte of commerciële voeding zijn met voedingscomponenten waarmee de hond of de kat nog nooit in aanraking is geweest. Deze voeding wordt gedurende enkele weken toegediend. Indien men duidelijke verbeteringen van de symptomen merkt, is er grote kans dat men te maken heeft met een hond/kat met voedselallergie. Een diagnose kan gesteld worden na het uitvoeren van een provocatietest met de oude voeding. (Verlinden et al., 2006).

Naast deze speciale voeding zijn er ook studies gebeurd naar het effect van probiotica op de behandeling van voedselallergie. De meeste experimenten werden gedaan op muizen. Zo is er de studie van Shida et al. (2002) die het effect van de *Lactobacillus casei* streng *Shirota* op muizen testte specifiek gericht naar voedselallergie. Er werd geconstateerd dat intraperitoneale injectie van deze *Lactobacillus*-streng zorgt voor een inductie van de interleukine-12 (IL-12) respons in het serum.

Dit zorgt op zijn beurt voor de onderdrukking van de IgE (antistof verantwoordelijk voor allergische reacties) en IgG1 (antistof aangemaakt bij herhaald contact met een antigeen) secretie en van de systemische allergische respons. IgE is een belangrijke factor in het optreden van allergische symptomen. Bij een allergie t.o.v. een bepaalde voedselcomponent zullen bij opname van de component de B-cellen aan het allergeen worden blootgesteld. Deze B-cellen zullen als reactie hierop IgE-antistoffen maken. Deze gaan op hun beurt binden aan de allergenen. Na de blootstelling kunnen IgE's tevens binden op mastcellen. Bij een tweede blootstelling aan hetzelfde allergeen krijgen de mastcellen via de IgE's het signaal om histamine vrij te stellen. Deze degranulatie leidt tot vasculaire veranderingen die aan de basis liggen van de allergische symptomen (Abbas et al., 2012). *L. casei* is met andere woorden een potentiële oplossing voor voedselallergie bij muizen door hun onderdrukking van IgE.

Studies met honden zijn voor dit onderwerp zeldzaam. Marsella et al. (2012) voerde wel een studie uit naar het effect van *Lactobacillus rhamnosus* op de klinische presentatie van atopische dermatitis en op de immunologische effecten ervan. Volgens Ermel et al. (1997) is de atopische hond een goed model voor voedselallergie. Er kan dus gesteld worden dat de resultaten van de studie van Marsella et al. (2012) ook gelden voor honden met voedselallergie. In deze studie constateerde men dat na stimulatie met verschillende allergenen de controlegroep een hogere interleukine-10 concentratie had dan de groep die het probioticum toegediend kreeg. Ook de concentratie van IgE en transforming growth factor  $\beta$  (TGF-  $\beta$ ) werden vergeleken tussen de groepen. Deze verschilden echter niet. Uit de resultaten werd geconcludeerd dat *L. rhamnosus* een positief klinisch effect heeft op de geteste atopische honden en dus een positieve invloed heeft op het verminderen van allergische reacties op bepaalde voedselcomponenten.

#### 5.4 Calcium-oxalaatstenen

Calcium-oxalaatstenen is een veelvoorkomend probleem bij honden en katten. Oxalaat is een zoutvormend ion van oxaalzuur en kan met calcium een oxaalzout vormen (Mogna et al., 2014).

De reductie van het oxalaatgehalte in de darm kan worden bekomen door stimulatie van oxalaat-degraderende microbiota, zoals bv. *Lactobacillus* (Liebman en Al-Wahsh, 2011). Deze bacteriën gebruiken het enzym formyl-CoA transferase voor de omzetten van formyl-CoA en oxalaat tot oxalyl-CoA en formaat. Oxalyl-CoA kan op zijn beurt worden omgezet door oxalyl-CoA decarboxylase ter vorming van formyl-CoA en CO<sub>2</sub> (Turronil et al., 2007). Door een toename van Lactobacillen kan er m.a.w. een reductie van het oxalaatgehalte in de darm worden verkregen. Deze reductie kan op zijn beurt leiden tot een gedaalde opname van oxalaat naar de systemische circulatie. Hierdoor dient er via de urine een veel lagere concentratie aan oxalaat te worden geëlimineerd waardoor het risico op de vorming van calcium-oxalaatstenen sterk verminderd. Dit is echter slechts een hypothese (Mogna et al., 2014). Murphy et al. (2008) bestudeerde het effect van *Lactobacilli* en *Bifidobacteria* probiotica van honden- en katten-oorsprong op de degradatie van oxalaat. De 13 geteste *Bifidobacteria*-strengen vertoonde in deze in vitro studie geen effect op het oxalaatgehalte. In tegenstelling tot 11 van de 18 geteste *Lactobacillus*-strengen die wel een daling van de oxalaatconcentratie teweegbrachten.

Dit resultaat werd bevestigd door een gelijkaardige studie van Weese et al. (2004). Na de in vitro studie werden enkele van deze *Lactobacillus*-strengen van honden- en katten-oorsprong geselecteerd voor een in vivo studie in ratten. Hier werd geconstateerd dat niet elke probiotische streng dat in vitro goede resultaten leverde ook in vivo goed presteerde. Immers enkel *L. acidophilus* 223C (kat) en *L. acidophilus* 5323 (hond) zorgde voor een daling van het oxalaatgehalte.

Weese et al. (2004) suggereert o.b.v. deze resultaten dat manipulatie van de *L. acidophilus*-component van de gastro-intestinale microbiota kan helpen om het oxalaatgehalte in de urine te reduceren en het risico op calcium oxalaat urolithiase te doen dalen. Een verlaagde hoeveelheid oxalaat in de darm zorgt immers voor een verlaagde absorptie en dus een gedaalde hoeveelheid oxalaat dat geëlimineerd dient te worden via de urine (Mogna et al., 2014).

Het effect van de prebiotica op oxalaatdegradatie bij honden en katten is nog niet volledig opgehelderd, maar een combinatie van guargom (een galactomannan) en FOS zou goede resultaten beloven tegen calcium oxalaat urolithiasis. Het mechanisme van deze daling is nog niet gekend. (Weese et al., 2004).

## 5.5 Leverpatiënten

Lactulose is een herkende lange termijn behandeling tegen hepatische encefalopathie (Tams, 1984; Andres en Córdoba, 2001). Deze ziekte wordt volgens Andres en Córdoba (2001) gedefinieerd als “een verstoring in de functie van het centrale zenuwstelsel ten gevolge van lever insufficiëntie.” De insufficiëntie van de lever leidt immers tot het niet omzetten van stikstofhoudende producten (geproduceerd t.h.v. de darm) tot ureum. Hierdoor zullen de stikstofhoudende producten in de systemische circulatie terechtkomen en via deze weg de hersenen bereiken. Eens ze in de hersenen terechtkomen, hebben ze hun effect op het bewustzijn en het gedrag (Andres en Córdoba, 2001). Om die reden is het belangrijk om bij leverpatiënten de concentratie van stikstof in de systemische circulatie zo laag mogelijk te houden.

Bij humane patiënten is bewezen dat er een correlatie bestaat tussen de ernst van hepatische encefalopathie en de totale ammonia concentratie in het bloed (Janus et al., 2003). Lactulose is omwille van deze reden een optie voor de behandeling van leverpatiënten. De fermentatie van lactulose zorgt voor een onderdrukking van de ammonia-vorming en inhibeert tevens de activiteit van de enzymen verantwoordelijk voor de release van ammonia. Hierdoor zal er minder ammonia door het colon worden opgenomen, waardoor de lever minder belast zal worden (Beynen et al., 2001; Vince en Burridge, 1980). Volgens Marks (2012) en White et al. (2013) fungeert lactulose als een zuurvormer in het colon. De pH van het colon zal onder invloed van lactulose verzuren waardoor ammonia in het colon blijft onder de vorm van het ammonium ion. Door deze verzuring zal tevens de pH van het colon lager zijn dan deze van het bloed. Wat op zijn beurt zorgt voor de migratie van ammonia naar het colon ter vorming van het ammonium-ion. De trapping van het ammonium-ion in het colon zorgt ervoor dat het kan worden geëlimineerd d.m.v. de faeces. De concentratie van ammonia in het bloed zal m.a.w. dalen. Dit heeft een positieve invloed bij leverpatiënten.

## 5.6 Obesitas

Het probiotisch effect op obesitas is voornamelijk bestudeerd bij muizen. Probiotica kunnen zowel een positieve als een negatieve invloed hebben op het overgewicht van de muizen. Een studie van Angelakis et al. (2012) toonde aan dat de inoculatie van muizen met *Lactobacillus ingluviei* zorgde voor een significante stijging van zowel het lichaams- als het levergewicht. Tevens stelde men bij de muizen een gestegen concentratie van *Lactobacillus spp.* en *Firmicutes* in de faeces vast. Bernardeau et al. (2002) deden een gelijkaardige studie en verkregen hetzelfde resultaat. Het gestegen lichaamsgewicht werd in deze studie bekomen door toediening van *L. rhamnosus MA27/6B* of *L. acidophilus MA27/6R* in het drinkwater van muizen. In tegenstelling tot de twee bovenvermelde studies zijn er ook studies bekend die een daling van het lichaamsgewicht vertoonde bij toediening van probiotica. Zo zorgt de toediening van *L. plantarum PL62* voor een reductie van het gewicht van epididymaal, inguinaal, mesenteriaal en perirenaal wit vetweefsel, een daling van het glucosegehalte in het bloed en een reductie van het lichaamsgewicht (Lee et al., 2007).

Naast deze studie bij muizen werd door Omar et al. (2013) *L. amylovorus*-bevattende yoghurt, *L. fermentum*-bevattende yoghurt of yoghurt zonder deze lactobacillen toegediend aan gezonde maar obese proefpersonen. Het resultaat toonde een daling van het vetweefselgewicht in de drie verschillende groepen. De grootste daling vond plaats in de *L. amylovorus*-groep. Bij consumptie van dit probioticum onderging de microbiële flora een verandering. Er werd een daling van de *Clostridia*-cluster en een stijging van het aantal *Lactobacilli* verkregen. Deze stijging van *Lactobacilli* werd ook opgemerkt bij de *L. fermentum*-groep.

Het effect van oligofruuctose op obesitas is voornamelijk beschreven bij ratten. Verschillende studies toonden aan dat na een lange termijn behandeling met oligofruuctose de ratten een positieve invloed ervoeren. Er werden effecten beschreven zoals een daling van het gewicht van de lever en een neiging tot een lager vetweefselgewicht. Het voornaamste effect dat gezien werd in elk van de studies was echter een lagere triglyceriden concentratie in het bloed. (Agheli et al, 1998; Fiordaliso et al., 1995; Delzenne en Kok, 1998) Volgens Delzenne en Kok (1998) is dit te wijten aan een gedaalde expressie en activiteit van enzymen nodig voor het vetmetabolisme in de lever. Een voorbeeld van zo'n enzym is vetzuursynthase of kortweg FAS. Door de mindere activiteit van deze enzymen is er een daling van de *de novo* vetaanmaak in de lever waardoor we een reductie van de very low density lipoproteïnen (VLDL) en triglyceriden opmerken.

In tegenstelling tot de vele studies over het effect van pre- en probiotica op obesitas bij ratten en muizen, is er slechts weinig gekend over hun effect op obese honden. In een studie bij Collies door Jeusette et al. (2004) kon wel gesteld worden dat FOS een daling veroorzaakte van corneale lipidose, wat een gepaard kan gaan met obesitas. Het effect van deze FOS op de totale cholesterolconcentratie was echter variabel en kortstondig.

Ook Respondek et al. (2008) deed een studie naar het effect van kortketenige FOS. De toevoeging hiervan aan het dieet van obese honden zorgde voor een daling van de met obesitas gepaard gaande insuline resistentie en bleek tevens de transcriptie van genen te moduleren die betrokken zijn bij zowel het vetzuur- als het glucose metabolisme.

## 5.7 Immuniteit

Het effect van pre- en probiotica op de immuniteit bij de hond is nog niet uitgebreid bestudeerd. Dit is in tegenstelling tot de bestudering van hun effect bij muizen en mensen. Uit deze verschillende studies (Yasui et al., 1995, Malin et al., 1996) bij muizen en mensen kan er geconcludeerd worden dat verschillende probiotica een effect hebben op de IgA productie. Zo toonde Yasui et al. (1995) aan dat muizenjongen van moedermuizen oraal geïnoculeerd met rotavirus en gevoederd met *Bifidobacterium breve* beter beschermd waren tegen rotavirus-geïnduceerde diarree dan de muizenjongen van de controlegroep. De moeders van de controlegroep kregen geen *Bifidobacterium breve*, maar werden wel oraal geïnfecteerd met rotavirus. *Bifidobacterium breve* induceerde met andere woorden een immuunrespons bij de moederdieren. Er werden IgA's aangemaakt tegenover de rotavirusinfectie. Deze IgA's werden doorgegeven via de melk waardoor de jongen ook beschermd waren.

De capaciteit van *Enterococcus faecium* voor het stimuleren van de immuniteit bij puppies werd bestudeerd door Benyacoub et al. (2003). Als conclusie werd er gesteld dat de IgA-concentraties bij de groep gevoederd met *E. faecium* vanaf week 44 van administratie hoger was ten opzichte van de controlegroep. De totale plasma IgG concentratie was niet verschillend tussen *E. faecium* groep en de controle groep. Ook de percentages van CD4<sup>+</sup> en CD8<sup>+</sup> cellen verschilde niet tussen de groepen. De oppervlakte-expressie van MHCII molecule bij monocyten was wel hoger op week 44 bij puppies gevoederd met *E. faecium* ten opzichte van de controlegroep.

Naast deze studie bij jonge honden werd er tevens ook een studie uitgevoerd bij gezonde volwassen honden die *Enterococcus faecalis* oraal toegediend kregen (Kanasugi et al., 1997). Uit deze studie werd besloten dat dit probioticum voor een stimulatie van de niet-specifieke immuunrespons zorgde.

## 5.8 Colon kanker

Het effect van pre- en probiotica op de inhibitie van colonkanker is voornamelijk bestudeerd bij ratten. Dit leverde enkele veelbelovende resultaten op. Zo bestudeerde Rowland et al. (1998) het effect van *Bifidobacterium longum* en inuline op de inhibitie van het optreden van colon kanker bij ratten die één week op voorhand twee maal behandeld werden met een dosis azoxymethaan, een product dat volgens Chen en Huang (2009) colonkanker kan induceren. Het optreden van afwijkende punten in de crypten van het colon werd onderzocht. Dit is immers één van de vroegste symptomen die men kan vinden die kunnen wijzen op beginnende kanker. Orale toediening van *B. longum* of inuline zorgde voor een daling van de incidentie van zo'n afwijkende punten in de crypten. Een symbiotische combinatie tussen dit pre- en probioticum zorgde voor een nog grotere inhibitie van colonkanker. De conclusie van dit experiment luidde dat *B. longum* en inuline waarschijnlijk een effect hebben op de vroege fase van het carcinogeen proces t.h.v. het colon.

Een studie van Reddy en Rivenson (1993) beaamt het positieve effect van *B. longum* op het verminderde voorkomen van colonkanker. *B. longum* zorgde in dit experiment voor een significante inhibitie van 2-amino-3-methylimidazolquinoline-geïnduceerde carcinogenese t.h.v. het colon, maar ook t.h.v. de lever.

Naast het effect van *B. longum* en inuline gebeurde er ook een studie over de effecten van *Lactobacillus casei*. Toediening van dit probioticum samen met een fysiologische zoutoplossing via een maagsonde aan ratten resulteerde in een daling van de DNA schade geïnduceerd door methylnitrosoguanidine (Pool-Zobel et al., 1993). Ook Goldin et al. (1996) bestudeerde het effect van *L. casei* op colonkanker. Orale toediening van *L. casei subsp. rhamnosus* voor en tijdens een carcinogene behandeling met 1,2-dimethylhydrazine dihydrochloride (DMH) zorgde voor een significante daling van het voorkomen van colontumoren. Deze daling in incidentie werd echter niet gezien bij dieren die pas *L. acidophilus* kregen na de 9<sup>e</sup> week van de carcinogene behandeling met DMH.

Het prebioticum lactulose bleek eveneens een positief effect te hebben. Rowland et al. (1996) diende een groep ratten DMH toe als carcinogeen induceerder. De helft van deze groep ratten werd reeds gevoed met een sucrosedieet. De andere helft werd gevoed met een lactulose dieet. Deze diëten werden verdergezet en 16 uur na het toedienen van DMH werden de ratten gedood. Er werd geconstateerd dat het toegediende DMH voor een significante verhoging van de DNA schade zorgde. Echter de groep gevoed met lactulose had wel een lager percentage aan DNA schade dan de groep gevoed met sucrose. Lactulose heeft dus een invloed op de bescherming tegen het ontstaan van colonkanker.

## COMMERCIELE PRODUCTEN IN DE PRAKTIJK

Provable®-DC is een commercieel beschikbaar synbioticum dat kan worden gebruikt voor zowel honden als katten. Het is samengesteld uit FOS, arabinogalactanen en een mix van zeven bacteriële species per capsule. Deze bacteriële species zijn: *Enterococcus faecium*, *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei ssp. rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum* en *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*. Het exacte aandeel van elke probiotische component is niet gekend vermits deze informatie gepatenteerd is (Garcia-Mazcorro et al., 2011). In een studie van Garcia-Mazcorro et al (2011) werd de effectiviteit van Provable®-DC nagegaan bij gezonde honden en katten. Men kon concluderen dat een 21 dagen durende orale administratie van dit commercieel product leidt tot een gestegen concentratie van de probiotische bacteriën in de faeces maar geen veranderingen teweegbrengt in de gastrointestinale functie en in de immuunfunctie.

Vitacanis® is een commercieel probioticum ontwikkeld voor de preventie van intestinale aandoeningen bij honden en katten. Het bevat zowel *Lactobacillus acidophilus* als *Enterococcus faecium* en de gist *Saccharomyces cerevisiae*. Dit probioticum bevat met andere woorden twee reeds bij de hond bewezen probiotica (Maia et al., 2001). Over het effect van Vitacanis® zijn echter nog geen studies bij honden en katten bekend. Maia et al. (2001) bestudeerde wel het effect van Vitacanis® op gnotobiotische muizen die geïnfecteerd werden met *Salmonella enterica subspecies enterica* ser. Typhimurium. Het toedienen van Vitacanis® leidde tot minder ernstige lever- en intestinale laesies dan bij de controlegroep. De muizen gingen echter nog steeds dood aan de Salmonella-infectie.

Een ander voorbeeld van een commercieel probioticum is Probican pasta. Probican pasta bevat *Enterococcus faecium EE3* (Marcináková et al., 2006). Voor dit probioticum geldt hetzelfde als voor Vitacanis®: het probiotisch effect van *E. faecium* bij de hond werd reeds bewezen, maar studies over Probican pasta zelf zijn nog niet voorhanden. Naast deze Probican pasta zijn er nog verschillende andere probiotica voor honden op de markt die *E. faecium* bevatten zoals Pro-Kolin+, CystoPro, Fortiflora® Canine Probiotic Supplement en Promodulate™ (zie tabel 3 en 4) (Matthewman et al., 2014). Of deze producten daadwerkelijk werken is nog niet wetenschappelijk aangetoond.

Tabel 3. Probiotische producten voor honden beschikbaar in het Verenigd Koninkrijk in 2014 (Matthewman et al., 2014)

Animal	Probiotic product	Indication by the manufacturer	Amount of probiotic	Probiotic	Manufacturer
Dogs	Synbiotic D-C	Acute diarrhoea	$2 \times 10^9$ CFU/capsule	<i>Enterococcus faecium</i> NCIMB 10415 E1707	Protexin
	Pro-Kolin+	Acute diarrhoea – immediate response	$2 \times 10^8$ CFU/g		
	Pro-Kolin Enterogenic	Chronic diarrhoea – long-term management of gastrointestinal sensitivity	$1 \times 10^9$ CFU/sachet		
	CystoPro	Cystitis – supports urinary health	$1 \times 10^8$ CFU/g		
	Pro-Fibre	To reduce anal gland impaction	$2 \times 10^7$ CFU/g		
	Bio-Premium	Supports normal digestive function	$2 \times 10^8$ CFU/g		
	Pro-Soluble	Supplement to promote efficient digestion and boost natural immunity	$2 \times 10^8$ CFU/g		
	FortiFlora Canine Probiotic Supplement	Managing stress-induced diarrhoea and during antibiotic therapy	$1 \times 10^8$ CFU/g	<i>E faecium</i> SF 68 NCIMB 10415 E1705	Purina Veterinary Diets
	PuppyStim puppy probiotic and colostrum	Small, weak, underweight, newborn or failing puppies	$3 \times 10^6$ CFU/g	Cylactin, <i>E faecium</i> NCIMB 10415	Millpledge Veterinary Pharmaceuticals
	Promodulate	Maintains normal gut function in times of stress	$667 \times 10^6$ CFU/g	<i>E faecium</i> SF 68 NCIMB 10415	
	Norm-Prozorb	To assist in the management of digestive tract upsets	$1 \times 10^8$ CFU/g	Cylactin E 1705 <i>E faecium</i> NCIMB 10415	
	Canigest	Nutritional management of digestive tract upsets	$6.6 \times 10^8$ CFU/g	<i>E faecium</i> NCIMB 10415	TRM Pet Products
	Blooming Pets Inner Balance Probiotics	“Pick me up” in times of stress or to ensure a good balance of friendly flora in the gut	$2 \times 10^9$ CFU/g	<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Bifidobacterium bifido</i>	Blooming Pet Products
	Life Stage Probiotic Treats	Probiotics to aid digestion	$1 \times 10^9$ CFU/kg	<i>E faecium</i>	Feelwells
	YUMPRO BioActiv	Digestive health support	$2 \times 10^7$ CFU/tablet	<i>E faecium</i> E1707	Lintbells
	YUMPRO BioActiv PLUS	To restore and support digestive health	$1 \times 10^9$ CFU/sachet	<i>E faecium</i> E1707	
	Lactosym Vet Probiotic	Aids effective, healthy digestion in all sorts of pets and livestock	$1 \times 10^{10}$ CFU/50 ml	<i>L rhamnosus</i> , <i>L plantarum</i> , <i>L acidophilus</i> , <i>E faecium</i>	MultigerM (UK) Enterprises
Entrodex (Probiotic)	Enhances dietary energy intake and strength	$4.5 \times 10^9$ CFU/g	<i>E faecium</i>	Vydx Animal Health and Nutrition	
Canikur Pro	Maintenance of digestive function	$5 \times 10^{11}$ CFU/kg	<i>E faecium</i> NCIMB 10415 E1707	Boehringer Ingelheim	

Tabel 4. Probiotische producten voor katten beschikbaar in het Verenigd Koninkrijk in 2014 (Matthewman et al., 2014).

Animal	Probiotic product	Indication by the manufacturer	Amount of probiotic	Probiotic	Manufacturer
Cats	FortiFlora Feline Probiotic	Managing stress-induced diarrhoea and during antibiotic therapy	$1 \times 10^8$ CFU/g	<i>E faecium</i> SF 68	Purina Veterinary Diets
	KittyStim kitten probiotic and colostrum	Small, weak, underweight newborn or failing kittens	$3 \times 10^6$ CFU/g	Cylactin, <i>E faecium</i> NCIMB 10415	Millpledge Veterinary Pharmaceuticals
	Promodulate	Maintains normal gut function in times of stress	$667 \times 10^6$ CFU/g	<i>E faecium</i> SF 68 NCIMB 10415	
	Norm-Prozorb	To assist in the management of digestive tract upsets	$1 \times 10^8$ CFU/g	Cylactin E 1705 <i>E faecium</i> NCIMB 10415	
	Canigest	Nutritional management of digestive tract upsets	$6.6 \times 10^8$ CFU/g	<i>E faecium</i> NCIMB 10415	TRM Pet Products
	Inner Balance Probiotics	“Pick me up” in times of stress or to ensure a good balance of friendly flora	$2 \times 10^9$ CFU/g	<i>L acidophilus</i> , <i>B bifido</i>	Blooming Pet Products
	Lactosym Vet Probiotic	Aids effective, healthy digestion in all sorts of pets and livestock	$1 \times 10^{10}$ CFU/50 ml	<i>L rhamnosus</i> , <i>L plantarum</i> , <i>L acidophilus</i> , <i>E faecium</i>	MultigerM (UK) Enterprises



## DISCUSSIE

De pre- en probiotica werken in op de bacteriële microbiota t.h.v. het colon. Om een studie hieromtrent op een juiste manier te kunnen beoordelen dient de exacte samenstelling van de microbiota gekend te zijn. Uit meerdere onderzoeken bleek dat de fyta *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Fusobacteria* en *Actinobacteria* het hoofdaandeel van de bacteriën omvatten (Middelbos et al., 2010; Swanson et al., 2011; Xenoulis et al., 2008). Er werden echter wel uiteenlopende procentuele aandelen van de fyta bekomen welke kunnen te wijten zijn aan o.a. het verschil in de leeftijd tussen de geteste honden. Swanson et al. (2011) en Middelbos et al. (2010) werkten met honden van een vergelijkbare leeftijd (tussen 1,5 en 1,7 jaar oud). De leeftijd van de geteste honden bij Xenoulis et al. (2008) lag een stuk hoger (tussen 2,7 en 6 jaar oud). Verder werden er verschillende hondenrassen gebruikt. De variatie van de genen tussen de honden kan mede een verklaring zijn voor het verschillende aandeel aan bacteriën. Hand et al. (2013) stelt immers dat genetica samen met andere factoren zoals voeding en leeftijd een rol spelen in de vorming van de microbiële flora bij de hond. Vervolgens zijn andere factoren zoals leefomstandigheden en de gebruikte diagnostische test ook een verklaring voor de uiteenlopende resultaten (Kerr et al., 2013). Om het volledige microbioom van zowel hond als kat in kaart te kunnen brengen zal het nodig zijn te standaardiseren binnen de bovengenoemde factoren.

Onderzoek naar welke probiotica bij hond en kat een positieve invloed hebben op samenstelling van de microbiële flora, en dus daadwerkelijk als probioticum kunnen aanvaard worden, is veel zeldzamer dan bij de mens. Zo zijn er reeds zes verschillende humane probiotica aanvaard. Dit in tegenstelling tot bij de hond waar slechts drie erkende probiotica gekend zijn, namelijk: *Lactobacillus acidophilus* (Baillon et al., 2004), *Bifidobacterium longum* (Rowland et al., 1998) en *Enterococcus faecium* (Bybee et al., 2011). Deze zijn echter elk slechts in één studie bevestigd geweest. Kijkend naar de methode waarmee de studies zijn uitgevoerd kan er wel gesteld worden dat deze zo correct mogelijk uitgevoerd werden. Bybee et al. (2011) bijvoorbeeld werkte met 182 honden van verschillende rassen en leeftijden die op gelijke manier gehuisvest werden en tevens dezelfde voeding aangeboden kregen. Een standaardisering betreffende eventuele beïnvloedende factoren op de microbiële flora is hier dus van kracht. De vraag reist nog steeds of bovengenoemde probiotica daadwerkelijk efficiënt zijn, aan welke dosis ze dienen toegediend te worden en wat hun mogelijke bijwerkingen zijn.

Bij de kat zijn de studies nog zeldzamer dan bij de hond. Enkel een studie van Marshal-Jones et al. (2006) concludeerde dat *Lactobacillus acidophilus* een probiotische werking had. Deze studie werd op een kleine schaal uitgevoerd met 15 katten van het type Europese Korthaar waarbij de leeftijd schommelt tussen de 4 en 5,5 jaar oud. Of een soortgelijke studie met een groter aantal katten van verschillende rassen en verschillende leeftijden hetzelfde resultaat geven, zal verder onderzoek uitsluitsel over geven.

Anders dan bij probiotica, zijn studies naar prebiotica bij honden in grotere omvang bestudeerd. Meerdere onderzoeken kwamen op hetzelfde resultaat: fructo-oligosacchariden (inuline en oligofruuctose), galacto-oligosacchariden, lactulose en mannanoligosacchariden zijn de werkzame prebiotica bij de hond (Roberfroid, 2007; Korneeva et al., 2012; Rowland en Tanaka, 1993). Studies naar de werking van deze prebiotica toonden ook een grote uniformiteit, waardoor er gesteld kan worden dat de verkregen informatie betrouwbaar is. Bij de kat dient er nog grondig onderzoek te gebeuren naar de efficaciteit van bovengenoemde prebiotica. Er zijn nog geen studies uitgevoerd die hierover sluitend bewijsmateriaal bevatten.

Op gebied van synbiotica werden slechts een paar studies bij de hond teruggevonden die het bewijs voerde voor drie synbiotica, zijnde: fructo-oligosaccharide en *L. acidophilus* (Swanson et al., 2002a), galactosyl melbiose mengsel en *L. reuteri* (Tzortzis et al., 2004) en galacto-oligosaccharide en *B. bifidum* (Ogué-Bon et al., 2010). Bevestigende studies zijn hiervoor niet terug te vinden. Of deze synbiotische combinaties dus daadwerkelijk werkzaam zijn bij de hond kan nog niet met zekerheid gesteld worden. Net zoals betreffende de prebiotica is er qua synbiotica bij katten een groot gebrek aan studies. Of deze studies er ooit zullen komen zal o.a. afhangen van de eventuele rijzende interesse naar alternatieve middelen zoals pre- en synbiotica en de financiële middelen die hiervoor kunnen uitgetrokken worden.

Het onderzoek naar het effect van pre- en probiotica bij hond en kat is nog niet volledig opgeklaard. De positieve invloed van probiotica op de behandeling van diarree is wel reeds aangetoond. *Bifidobacterium animalis* AHC7 bij de hond en *Enterococcus faecium* SF68 bij de kat zorgde voor een gunstig effect op de diarreeverschijnselen (Kelley et al., 2009; Bybee et al., 2011). De studie van Bybee et al. (2011) was een dubbelblinde studie uitgevoerd bij 217 katten van verschillende leeftijden en afkomst. Deze variatie aan proefdieren bracht wel een uniforme en dus betrouwbare conclusie met zich mee. De bevindingen van de uitgevoerde studies kunnen tevens gestaafd worden met de theorie dat butyraat gevormd wordt uit de fermentatie van de toegediende probiotica. Deze SCFA heeft een door verschillende studies over de jaren heen bewezen ondersteunend en behandelend effect op de darmwand zodat diarree verholpen kan worden (Cave, 2012; Leonel en Alvarez-Leite, 2012).

Gezien diarree eveneens een symptoom is van IBD, lijkt het redelijk dat probiotica ook een rol kunnen spelen in de therapie ervan. Echter doordat de etiologie van IBD nog niet volledig opgehelderd is, kan er hiermee enkel symptomatisch worden ondersteund. IBD-honden worden gekenmerkt door een gestegen concentratie van de *Enterobacteriaceae* en een gedaalde concentratie van de *Clostridia*-populatie (Swanson et al., 2011). Ook bij katten werd er een veranderde microbiotapopulatie teruggevonden (Inness et al., 2005). Men veronderstelt dat het corrigeren van deze veranderde microbiota naar de normale populatie een positieve invloed zal hebben op de IBD-patiënten. De praktische kant van deze theorie werd enkel nog maar bevestigd in studies bij muizen en ratten met het probioticum *Lactobacillus reuteri* (Madsen et al., 1999; Fabia et al., 1993; Mao et al., 1996). De efficiëntie van het gebruik van probiotica bij honden en katten met IBD werd nog niet wetenschappelijk

bevestigd. Om deze reden is de toepassing ervan nog niet verantwoord in de praktijk gezien negatieve gevolgen niet uitgesloten kunnen worden.

Op gebied van voedselallergie bestaat er geen studie voor honden die daadwerkelijk enkel gericht is op het effect van een pre- of probioticum naar voedselallergie. Marsella et al. (2012) deed wel een studie waaruit bleek dat *Lactobacillus rhamnosus* een goed effect had op atopische dermatitis. Dit resultaat mag volgens Ermel et al. (1997) geëxtrapoleerd worden naar een hond met voedselallergie. Maar of dit daadwerkelijk zo is voor *L. rhamnosus* is nog steeds niet bewezen. Een goed uitgebouwde studie specifiek gericht naar *Lactobacillus rhamnosus* bij honden met voedselallergie kan verder uitsluitel geven of het bekomen resultaat van Marsella et al. (2012) correct is en daadwerkelijk mag geëxtrapoleerd worden.

Calcium-oxalaatstenen zijn een veelvoorkomend probleem bij honden en katten. Indien pre- en/of probiotica een daling van het voorkomen van deze urinaire stenen zou kunnen veroorzaken kan dit een grote vooruitgang betekenen. Een in vitro studie toonde reeds een daling van het oxalaatgehalte door toediening van *Lactobacillus*-strengen bij zowel honden als katten (Murphy et al., 2008; Weese et al. 2004). Een in vivo studie met *Lactobacilli* van honden- en katten-oorsprong werd enkel nog maar uitgevoerd bij ratten. Er kan met andere woorden niet geconcludeerd worden dat *Lactobacillus* daadwerkelijk helpt tegen de vorming van calcium-oxalaatstenen. Hiervoor dienen er nog in vivo studies bij honden en katten te worden uitgevoerd.

Voor leverpatiënten is er een positieve invloed van het toedienen van het prebioticum lactulose. Het bewijs hiervan en de theorie erachter werd reeds door verschillende studies geleverd. (Tams, 1984; Fascetti en Delaney, 2012; Beynen et al., 2001; Vince en Burridge, 1980). Het gebruik van lactulose wordt m.a.w. terecht routinematig in de praktijk toegepast.

Het effect van de microbiotasamenstelling op obesitas bij muizen en ratten werd reeds op grote schaal bestudeerd. Het is belangrijk na te gaan welke probiotica er dienen toegediend te worden om obesitas te kunnen verhelpen. Lee et al. (2007) toonde een positieve invloed van *L. plantarum* PL62 op het lichaamsgewicht bij obese muizen aan en Omar et al. (2013) verkreeg een gelijkend resultaat bij toediening van *L. amylovorus* bij humane proefpersonen. Of deze effecten ook geldig zijn bij de hond is nog niet aangetoond. Hiervoor dient te worden bepaald of muizen een goed model vormen voor obesitas bij de hond en dienen studies bij honden en katten dit resultaat te bevestigen.

Het effect van prebiotica zoals bv. FOS op obese honden is enkel op kleinschalige wijze getest geweest en dit voornamelijk gericht naar de risicofactoren of de factoren die gepaard kunnen gaan met obesitas. Opname van FOS zou zorgen voor een daling van corneale lipidose, een daling van insuline resistentie en een modulatie van de transcriptie van genen betrokken bij zowel het vetzuur- als het glucose metabolisme (Jeusette et al., 2004; Respondek et al., 2008). Verder onderzoek zal uitsluitel moeten geven over hun werking t.o.v. obesitas. Gezien het grote aantal obesitas-patiënten in de hondenpopulatie en de moeilijkheid om deze honden terug in een gezonde conditie te krijgen, is dit zeker een onderzoeksgebied dat verdere aandacht nodig heeft.

Ook de uitwerking van pre- en probiotica op de immuniteit werd voornamelijk bij andere diersoorten dan hond en kat bestudeerd. De enige twee studies bij honden constateerden enerzijds een verhoogde IgA-concentratie en een verhoogde oppervlakte-expressie van MHCII moleculen bij monocytten bij toediening van *Enterococcus faecium* en anderzijds een stimulatie van de niet-specifieke immunerespons bij toediening van *E. faecalis* (Benyacoub et al., 2003; Kanasugi et al. 1997). De verhoogde IgA-concentratie bij toediening van een probioticum werd eveneens gevonden tijdens studies bij muizen en mensen (Yasui et al., 1995; Malin et al., 1996), wat het resultaat bij honden kan bevestigen. Studies naar dit onderwerp bij puppies en kittens zijn eveneens een interessant onderzoeksgebied. In deze leeftijdsgroep is een goede immuniteit immers een belangrijke factor voor hun gezondheid. Er kan worden nagegaan of het mogelijk is deze jonge dieren reeds een boost te geven tijdens het spenen waardoor pathogenen een verminderde kans hebben tot kolonisatie.

Op gebied van colonkanker zijn er eveneens positieve resultaten gekomen uit studies met probiotica bij ratten. Over of probiotica wel degelijk een effect hebben op de immuniteit en de preventie van colonkanker bij honden kan nog geen uitspraak over worden gedaan. Er kan echter opgemerkt worden dat het voorkomen van colon kanker bij de hond redelijk zeldzaam is (Selting, 2013). Dit onderzoeksgebied is m.a.w. geen prioriteit.

Het loont de moeite om de effecten van pre-, pro- en synbiotica bij honden en katten verder te onderzoeken. Dit zou immers kunnen leiden tot nieuwe therapeutische inzichten. Hiermee zouden veelvoorkomende aandoeningen zoals urinaire calcium-oxalaatstenen en obesitas misschien op een alternatieve en minder invasieve manier behandeld kunnen worden.

Globaal kan gesteld worden dat er nog niet genoeg onderzoek uitgevoerd werd naar het effect van pre-, pro- en synbiotica bij honden en katten. Nochtans zijn er reeds vele commerciële producten van pre- en probiotica op de markt. De werking hiervan dient echter kritisch te worden bekeken. Het probiotisch product dient bacteriële strengen te bevatten die daadwerkelijk werkzaam zijn als probioticum bij hond en kat. Bij de hond zijn deze probiotica al veel beter opgehelderd dan bij de kat. Naast de inhoud van het commerciële product is ook de concentratie van de bacteriën van groot belang. Een product met een te lage concentratie aan bacteriën heeft immers geen effect. Indien dit product vervolgens gebruikt wordt in een studie bij hond en/of kat zal dit leiden tot foute conclusies omtrent zijn werkzaamheid. De effecten van pre-, pro- en synbiotica zijn tevens moeilijk te bewijzen vermits het volledige microbioom nog niet gekend is. Bij katten is het onderzoek nog zeldzamer dan bij honden. Nochtans leveren studies bij mensen, ratten en muizen reeds veelbelovende resultaten op. Dit onderwerp brengt nog heel wat vragen met zich mee. Indien verder onderzoek verricht wordt, kan de aandacht best gaan naar de behandeling van aandoeningen zoals obesitas en calcium-oxalaatstenen. Dit zijn immers veel voorkomende aandoeningen en alternatieve of aanvullende therapieën zijn hiervoor meer dan welkom.

## REFERENTIES

1. Abbas A.K., Lichtman A.H.H. en Pilla S. (2012). Answers to review questions. In: Basis immunology: functions and disorders of the immune system. 4th edition. Elsevier Saunders, Philadelphia, p. e8.
2. Agheli N., Kabir M., Berni-Canani S., Petitjean E., Boussairi A., Luo J., Bornet F., Slama G. en Rizkalla S.W. (1998). Plasma lipids and fatty acid synthase activity are regulated by short-chain fructo-oligosaccharides in sucrose-fed insulin-resistant rats. *The Journal of nutrition* 128(8), 1283-1288.
3. Andres T.B. en Córdoba J. (2001). Hepatic encephalopathy. *The American Journal of Gastroenterology* 96, 1968-1976.
4. Angelakis E., Bastelica D., Amara A.B., Filali A.E., Dutour A., Mege J., Alessi M., Raoult D. (2012). An evaluation of the effects of *Lactobacillus ingluviei* on body weight, the intestinal microbiome and metabolism in mice. *Microbial Pathogenesis* 52, 61-68.
5. Baillon M.L., Marshall-Jones Z.V. en Butterwick R.F. (2004). Effects of probiotic *Lactobacillus acidophilus* strain DSM13241 in healthy adult dogs. *American Journal of Veterinary Research* 65(3), 338-343.
6. Benyacoub J., Czarnecki-Maulden G.L., Cavadini C., Sauthier T., Anderson R.E., Schiffrin E.J. en von der Weid T. (2003). Supplementation of food with *Enterococcus faecium* (SF68) stimulates immune functions in young dog. *The Journal of nutrition* 133(4), 1158-1162.
7. Bernardeau M., Vernoux J.P., Gueguen M. (2002). Safety and efficacy of probiotic lactobacilli in promoting growth in post-weaning Swiss mice. *International Journal of Food Microbiology* 77, 19-27.
8. Beynen A.C., Kappert H.J. en Yu S. (2001). Dietary lactulose decreases apparent nitrogen absorption and increases apparent calcium and magnesium absorption in healthy dogs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 85, 67-72.
9. Biagi G., Cipollini I., Pompei A., Zaghini G. en Matteuzzi D. (2007). Effect of a *Lactobacillus animalis* strain on composition and metabolism of the intestinal microflora in adult dogs. *Veterinary Microbiology* 124(1-2), 160-165.
10. Bybee S.N., Scorza A.V. en Lappin M.R. (2011). Effect of the probiotic *Enterococcus faecium* SF68 on presence of diarrhea in cats and dogs housed in an animal shelter. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 25(4), 856-860.
11. Casas I.A. en Dobrogosz W.J. (2000). Validation of the probiotic concept: *Lactobacillus reuteri* confers broadspectrum protection against disease in humans and animals. *Microbial ecology in health and disease* 12, 247-285.

12. Cave N. (2012). Nutritional management of gastrointestinal diseases. In: Fascetti A.J en Delaney S.J. (Editors) Applied veterinary clinical nutrition, 1th edition, Wiley-Blackwell, West-Sussex, p. 179-180.
13. Chen J. en Huang X.F. (2009). The signal pathways in azoxymethane-induces colon cancer and preventive implications. *Cancer biology and therapy* 8(14), 1313-1317.
14. Delzenne N.M. en Kok N. (1998). Effect of non-digestible fermentable carbohydrates on hepatic fatty acid metabolism. *Biochemical Society transactions* 26(2), 228-230.
15. Ermel R.W., Kock M., Griffey S.M., Reinhart G.A. en Frick O.L. (1997). The atopic dog: a model for food allergy. *Laboratory animal science* 47(1), 40-49.
16. Fabia R., Ar'Rajab A., Johansson M.L., Willén R., Andersson R., Molin G. en Bengmark S. (1993). The effect of exogenous administration of *Lactobacillus reuteri* R2LC and oat fiber on acetic acid-induced colitis in rat. *Scandinavian journal of gastroenterology* 28(2), 155-162.
17. Marks S.L. (2012). Nutritional management of hepatobiliary diseases. In: Fascetti A.J en Delaney S.J. (Editors) Applied veterinary clinical nutrition, 1th edition, Wiley-Blackwell, West-Sussex, p. 246.
18. Fiordaliso M., Kok N., Desager J.P., Goethals F., Deboyser D., Roberfroid M. en Delzenne N. (1995). Dietary oligofructose lowers triglycerides, phospholipids and cholesterol in serum and very low density lipoproteins of rats. *Lipids* 30(2), 163-167.
19. Flickeringer E.A., Wolf B.W., Garleb K.A., Chow J., Leyer G.J., Johns P.W. en Fahey G.C. Jr. (2000). Glucose-based oligosaccharides exhibit different in vitro fermentation patterns and affect in vivo apparent nutrient digestibility and microbial population in dogs. *Journal of Nutrition* 130(5), 1267-1273.
20. Garcia-Mazcorro J.F., Lanerie D.J., Dowd S.E., Paddock C.G., Grützner N., Steiner J.M., Ivanek R. en Suchodolski J.S. (2011). Effect of a multi-species symbiotic formulation on fecal bacterial microbiota of healthy cats and dogs as evaluated by pyrosequencing. *FEMS microbiology ecology* 78(3), 542-554.
21. Gibas-Dorna M. en Piątek J. (2014). Functional constipation in children – evaluation and management. *Przegląd Gastroenterologiczny* 9(4), 194-199.
22. Gibson G.R., Beatty E.R., Wang X. en Cummings J.H. (1995). Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. *Gastroenterology* 108(4), 975-982.
23. Gibson G.R. en Roberfroid M.B. (1995). Dietary Modulation of the Human Colonic Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics. *American Journal of Nutrition* 125, 1401-1412.
24. Gibson G.R., Probert H.M., Van Loo J., Rastall R.A. en Roberfroid M.B. (2004). Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics, *Nutrition Research Reviews* 17, 259-275.

25. Goldin B.R., Gualtieri L.J. en Moore R.P. (1996). The effect of Lactobacillus GG on the initiation and promotion of DMH-induced intestinal tumors in the rat. *Nutrition and cancer* 25(2), 197-204.
26. Guandalini S. (2011). Probiotics for prevention and treatment of diarrhea. *Journal of Clinical Gastroenterology* 45(3), S149-S153.
27. Hand D., Wallis C., Colyer A. en Penn C.W. (2013). Pyrosequencing the canine faecal microbiota: breadth and depth of biodiversity. *PLoS One* 8(1), e53115.
28. Helm R.M. en Burks A.W. (2002). Animal models of food allergy. *Current opinion in allergy and clinical immunology* 2(6), 541-546.
29. Herschel D.A., Argenzio R.A., Southworth M., Stevens C.E. (1981). Absorption of volatile fatty acid, Na, and H<sub>2</sub>O by the colon of the dog. *American Journal of Veterinary Research* 42, 118-1124.
30. Herstad H.K., Nesheim B.B., L'Abée-Lund T., Larsen S. en Skancke E. (2010). Effects of a probiotic intervention in acute canine gastroenteritis – a controlled clinical trial. *The Journal of small animal practice* 51(1), 34-38.
31. Hijova E. en Chmelarova A. (2007). Short chain fatty acids and colonic health. *Bratisl Lek Listy* 108(8), 354-358.
32. Hooda S., Minamoto Y., Suchodolski J.S. en Swanson K.S (2012). Current state of knowledge: the canine gastrointestinal microbiome. *Animal Health Research Reviews* 13(1), 78-88.
33. Inness V.L., McCartney A.L., Khoo C., Gross K.L. en Gibson G.R. (2005). Molecular characterisation of the gut microflora of healthy and inflammatory bowel disease cats using fluorescence in situ hybridisation with special reference tot *Desulfovibrio* spp. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 91, 48-53.
34. Janus P.O., Aggarwal A., Krieger D., Easley K.A., Karafa M.T., Van Lente F., Arroliga A.C. en Mullen K.D. (2003). Correlation between ammonia levels and the severity of hepatic encephalopathy. *American Journal of Medicine* 114, 188-193.
35. Jeusette I., Grauwels M., Cuvelier C., Tonglet C., Istasse L. en Diez M. (2004). Hypercholesterolaemie in a family of rough collie dogs. *The journal of small animal practice* 45(6), 319-324.
36. Kamath P.S., Hoepfner M.T. en Phillips S.F. (1987). Short-chain fatty acids stimulate motility of the canine ileum. *American Journal of Physiology* 253, G427-G433.
37. Kanasugi H., Hasegawa T., Goto Y., Ohtsuka H., Makimura S. en Yamamoto T. (1997). Single administration of enterococcal preparation (FK-23) augments non-specific immune responses in healthy dogs. *International journal of immunopharmacology* 19(11-12), 655-659.

38. Kelley R.L., Minikheim D., Kiely B., O'Mahony L., O'Sullivan D., Boileau T. en Park J.S. (2009). Clinical benefits of probiotic canine-derived *Bifidobacterium animalis* strain AHC7 in dogs with acute idiopathic diarrhea. *Veterinary therapeutics: research in applied veterinary medicine* 10(3), 121-130.
39. Kerr K.R., Beloshapka A.N. en Swanson K.S. (2013). Use of genomic biology to study companion animal intestinal microbiota. *Journal of animal science* 91, 2504-2511.
40. Kolida S. en Gibson G.R. (2007). Prebiotic capacity of inulin-type fructans. *The Journal of Nutrition* 137, 2503S-2596S.
41. Korneeva O.S., Cheremushkina I.V., Glushchenko A.S., Mikhailova N.A., Baturo A.P., Romanenko E.E. en Zlygostev S.A. (2012). Prebiotic properties of mannose and its effect on specific resistance. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol* 5, 67-70.
42. Lee K., Paek K., Lee H.Y., Park J.H., Lee Y. (2007). Antiobesity effect of trans-10,cis-12-conjugated linoleic acid-producing *Lactobacillus plantarum* PL62 on diet-induced obese mice. *Journal of Applied Microbiology* 103(4), 1140-1146.
43. Leonel A.J. en Alvarez-Leite J.I. (2012). Butyrate : implications for intestinal function. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care* 15(5), 474-479.
44. Liebman M. en Al-Wahsh I.A. (2011). Probiotics and other key determinants of dietary oxalate absorption. *Advances in nutrition* 2(3), 254-260.
45. Madsen K.L., Doyle J.S., Jewell L.D., Tavernini M.M. en Fedorak R.N. (1999). *Lactobacillus* species prevents colitis in interleukin 10 gene-deficient mice. *Gastroenterology* 116, 1107-1114.
46. Maia O.B., Duarte R., Silva A.M., Cara D.C. en Nicoli J.R. (2001). Evaluation of the components of a commercial probiotic in gnotobiotic mice experimentally challenged with *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. Typhimurium. *Veterinary microbiology* 79(20), 183-189.
47. Malin M., Suomalainen H., Saxelin M. en Isolauri E. (1996). Promotion of IgA immune response in patients with Crohn's disease by oral bacteriotherapy with *Lactobacillus* GG. *Annals of nutrition and metabolism* 40(3), 137-145.
48. Mao Y., Nobaek S., Kasravi B., Adawi D., Stenram U., Molin G. en Jeppsson B. (1996). The effects of *Lactobacillus* strains and oat fiber on methotrexate-induced enterocolitis in rats. *Gastroenterology* 111(2), 334-344.
49. Marsella R., Santoro D. en Ahrens K. (2012). Early exposure to probiotics in a canine model of atopic dermatitis has long-term clinical and immunological effects. *Veterinary immunology and immunopathology* 146(2), 185-189.
50. Marcináková M., Simonová M., Strompfová V. en Lauková A. (2006). Oral application of *Enterococcus faecium* strain EE3 in healthy dogs. *Folia microbiologica* 51(3), 239-242.



51. Marshall-Jones Z.V., Baillon M.A., Croft J.M. en Butterwick R.F. (2006). Effects of *Lactobacillus acidophilus* DSM13241 as a probiotic in healthy adult cats. *American journal of veterinary research* 67, 1005-1012.
52. Matthewman L. (2014). Probiotics under the microscope: what they are, uses and advice for clients. *VN Times* 7(12), 6-8.
53. Middelbos I.S., Vester B.B.M., Qu A., White B.A., Swanson K.S. en Fahey Jr G.C. (2010). Phylogenetic Characterization of Fecal Microbial Communities of Dogs Fed Diets with or without Supplemental Dietary Fiber Using 454 Pyrosequencing. *PLoS ONE* 5(3), 1-9.
54. Mogna L., Pane M., Nicola S. en Raiteri E. (2014). Screening of different probiotic strains for their in vitro ability to metabolise oxalates: any prospective use in humans?. *Journal of clinical gastroenterology* 48(1), S91-S95.
55. Murphy C., Murphy S., O'Brien F., O'Donoghue M., Boileau T., Sunvold G., Reinhart G., Kiely B., Shanahan F. en O'Mahony L. (2009). Metabolic activity of probiotics – oxalate degradation. *Veterinary microbiology* 136(1-2), 100-107.
56. Ogué-Bon E., Khoo C., McCartney A.L., Gibson G.R. en Rastall R.A. (2010). In vitro effects of synbiotic fermentation on the canine faecal microbiota. *FEMS Microbiology Ecology* 73(3), 587-600.
57. Omar J.M., Chan Y., Jones M.L., Prakash S., Jones P.J.H. (2013). *Lactobacillus fermentum* and *Lactobacillus amylovorus* as probiotics alter body adiposity and gut microflora in healthy persons. *Journal of functional Foods* 5, 116-123.
58. Pan X.D., Chen F.Q., Wu T.X., Tang H.G. en Zhao Z.Y. (2009). Prebiotic oligosaccharides change the concentrations of short-chain fatty acids and the microbial population of mouse bowel. *Journal of Zhejiang University Science B*. 10(4), 258-263.
59. Pinna C. en Biagi G. (2014). The utilisation of prebiotics and synbiotics in dogs. *Italian Journal of Animal Science* 13, 169-178.
60. Pool-Zobel B.L., Bertram B., Knoll M., Lambertz R., Neudecker C., Schillinger U., Schmezer P. en Holzapfel W.H. (1993). Antigenotoxic properties of lactic acid bacteria in vivo in the gastrointestinal tract of rats. *Nutrition and cancer* 20(3), 271-281.
61. Reddy B.S. en Rivenson A. (1993). Inhibitory effect of *bifidobacterium longum* on colon, mammary and liver carcinogenesis induced by 2-amino-3-methylimidazo(4,5-f)quinoline, a food mutagen. *Cancer research* 53(17), 3914-3918.
62. Respondek F., Swanson K.S., Belsito K.R., Vester B.M., Wagner A., Istasse L. en Diez M. (2008). Short-chain fructooligosaccharides influence insulin sensitivity and gene expression of fat tissue in obese dogs. *The journal of nutrition* 138(9), 1712-1718.
63. Roberfroid M.B. (2007). Prebiotics: the concept revisited. *American Journal of Nutrition* 137, 830S-837S.

- 64.** Rowland I.R., Bearne C.A., Fischer R. en Pool-Zobel B.L. (1996). Effect of lactulose DNA damage induced by DMH in the colon of human flora-associated rats. *Nutrition and cancer* 26(1), 37-47.
- 65.** Rowland I.R., Rumney C.J., Coutts J.T., Lievens L.C. (1998). Effect of *Bifidobacterium longum* and inulin on gut bacterial metabolism and carcinogen-induced aberrant crypt foci in rats. *Carcinogenesis* 19(2), 281-285.
- 66.** Rowland I.R., Tanaka R. (1993). The effects of transgalactosylated oligosaccharides on gut flora metabolism in rats associated with a human faecal microflora. *Journal of Applied Bacteriology* 74(6), 667-674.
- 67.** Schrezenmeir J. en de Vrese M. (2001). Probiotics, prebiotics, and synbiotics – approaching a definition. *American Journal of Clinical Nutrition* 73, 361S-364S.
- 68.** Selting K.A. (2013). Intestinal Tumors. In: Withrow S.J., Vail D.M., Page R. (Editors) *Small animal clinical oncology*, fifth edition, Elsevier, Missouri, p. 412.
- 69.** Shida K., Takahashi R., Iwadate E., Takamizawa K., Yasui H., Sato T., Habu S., Hachimura S. en Kaminogawa S. (2002). *Lactobacillus casei* strain Shirota suppresses serum immunoglobulin E and immunoglobulin G1 responses and systemic anaphylaxis in a food allergy model. *Clinical and experimental allergy: journal of the british society for allergy and clinical immunology* 32(4), 563-570.
- 70.** Sjaastad O.V., Sand O. en Hove K. (2010). *Physiology of Domestic Animals*. Second edition. Scandinavian Veterinary Press, Oslo, Noorwegen, p. 611-616.
- 71.** Stevens C.E. en Hume I.D. (1998). Contributions of Microbes in Vertebrate Gastrointestinal Tract to Production and Conservation of Nutrients. *Physiological Reviews* 78, 394-427.
- 72.** Stevens C.E. en Hume I.D. (2004). *Comparative Physiology of the Vertebrate Digestive System*. 2nd edition. Cambridge university press, Cambridge, UK, p. 58 en p. 212.
- 73.** Stropfová V., Lauková A. en Ouwehand A.C. (2004). Selection of enterococci for potential canine probiotic additives. *Veterinary Microbiology* 100(1-2), 107-114.
- 74.** Suchodolski J.S. (2011). Companion animals symposium: Microbes and gastrointestinal health of dogs and cats. *Journal of animal science* 89, 1520-1530.
- 75.** Suchodolski J.S., Xenoulis P.G., Paddock C.G., Steiner J.M. en Jergens A.E. (2010). Molecular analysis of the bacterial microbiota in duodenal biopsies from dogs with inflammatory bowel disease. *Veterinary Microbiology* 142(3-4), 394-400.
- 76.** Sunvold G.D., Fahey G.C., Merchen N.R.J., Titgemeyer E.C., Bourquin L.D., Bauer L.L. en Reinhart G.A. (1995). Dietary fiber for dogs: IV. In vitro fermentation of selected fiber sources by dog fecal inoculum and in vivo digestion and metabolism of fiber-supplemented diets. *Journal of animal science* 73, 1099-1109.
- 77.** Swanson K.S., Dowd S.E., Suchodolski J.S., Middelbos I.S., Vester B.M., Barry K.A., Nelson K.E., Torralba M., Henrissat B., Coutinho P.M., Cann I.K.O., White B.A. en Fahey Jr G.C. (2011).

Phylogenetic and gene-centric metagenomics of the canine intestinal microbiome reveals similarities with humans and mice. *The ISME Journal* 5, 639-649.

- 78.** Swanson K.S., Grieshop C.M., Flickinger E.A., Bauer L.L., Chow J., Wolf B.W., Garleb K.A. en Fahey G.C Jr. (2002a). Fructooligosaccharides and *Lactobacillus acidophilus* modify gut microbial populations, total tract nutrient digestibilities and fecal protein catabolite concentrations in healthy adult dogs. *Journal of Nutrition* 132(12), 3721-3731.
- 79.** Swanson K.S., Grieshop C.M., Flickinger E.A., Bauer L.L., Healy H.P., Dawson K.A., Merchen N.R. en Fahey G.C. Jr. (2002b). Supplemental fructooligosaccharides and mannanoligosaccharides influence immune function, ileal and total tract nutrient digestibilities, microbial populations and concentrations of protein catabolites in the large bowel of dogs. *The Journal of nutrition* 132(5), 980-989.
- 80.** Tams T.R. (1984). Management of liver disease in dogs and cats. *Modern veterinary practice* 65(2), 107-114.
- 81.** Tilley L.P. en Smith F.W.K.J. (2011). *Blackwell's five-minute veterinary consult: canine and feline*. 3th edition. Wiley-Blackwell, West Sussex, UK, p.700-701.
- 82.** Turnbaugh P.J., Ley R.E, Mahowald M.A., Magrini V., Mardis E.R. en Gordon J.I. (2006). An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 444(7122), p. 1027-1031.
- 83.** Turrionil S., Vitali B., Bendazzoli C., Candela M., Gotti R., Federici F., Pirovano F. en Brigidi P. (2007). Oxalate consumption by lactobacilli: evaluation of oxalyl-CoA decarboxylase and formyl-CoA transferase activity in *Lactobacillus acidophilus*. *Journal of applied microbiology* 103(5), p. 1600-1609.
- 84.** Tzortzis G., Goulas A.K., Baillon M.L., Gibson G.R. en Rastall R.A. (2004). In vitro evaluation of the fermentation properties of galactooligosaccharides synthesised by alpha-galactosidase from *Lactobacillus reuteri*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 64(1), 106-111.
- 85.** Verlinden A., Hesta M., Millet S. en Janssens G.P. (2006). Food allergy in dogs and cats: a review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 46(3), p. 259-273.
- 86.** Vince A.J. en Burridge S.M. (1980). Ammonia production by intestinal bacteria: the effects of lactose, lactulose and glucose. *Journal of medical microbiology* 13(2), 177-191.
- 87.** Wang X. en Gibson G.R. (1993). Effects of the in vitro fermentation of oligofructose and inulin by bacteria growing in the human large intestine. *The Journal of applied Bacteriology* 75(4), 373-380.
- 88.** Weese J.S., Weese H.E., Yuricek L. en Rousseau J. (2004). Oxalate degradation by intestinal lactic acid bacteria in dogs and cats. *Veterinary microbiology* 101(13), 161-166.
- 89.** White L., Duncan G. en Baumle W. (2013). *Medical-surgical nursing: an integrated approach*. 3th edition. Delmar, NY, p. 740 -745.

- 90.** Wrong O.M. en Vince A. (1984). Urea and ammonia metabolism in the human large intestine. *Proceedings of the Nutrition Society* 43, 77-86.
- 91.** Xenoulis P.G., Palculict B., Allenspach K., Steiner J.M., Van House A.M. en Suchodolski J.S. (2008). Molecular-phylogenetic characterization of microbial communities imbalances in the small intestine of dogs with inflammatory bowel disease. *FEMS microbiology ecology* 66, 579-589.
- 92.** Yasui H., Kiyoshima J. en Ushijima H. (1995). Passive protection against rotavirus-induced diarrhea of mouse pups born to and nursed by dams fed bifidobacterium breve YIT4064. *The Journal of infectious diseases* 172(2), 403-409.
- 93.** Zentek J., Marquart B. en Pietrzak T. (2002). Intestinal effects of mannanoligosaccharides, transgalactooligosaccharides, lactose and lactulose in dogs. *The Journal of nutrition* 132(6 Suppl 2), 1682S-1684S.