



Open Access

DOI 10.2377/0023-2076-64-620

Institut für Tierernährung, Fachbereich Veterinärmedizin, Freie Universität Berlin

Untersuchungen zur präbiotischen Wirkung von Cellobiose bei Katzen

Nadine Paßlack, Jürgen Zentek

Korrespondenzadresse: nadine.passlack@fu-berlin.de

Zusammenfassung In vorliegender Studie sollte das präbiotische Potenzial von Cellobiose bei Katzen untersucht werden. Hierfür erhielten zehn adulte, gesunde Katzen ein Feuchtfutter ohne oder mit Cellobiosezusatz (0 g, 0,5 g und 1 g/kg Körpermasse/Tag). Nach einer jeweils 14-tägigen Fütterung wurde der Kot der Katzen zur Bestimmung mikrobieller Metaboliten und bakterieller Zellzahlen gesammelt.

Die Akzeptanz und Verträglichkeit der Cellobiose waren bei den Katzen sehr gut. Für die meisten mikrobiellen Metaboliten zeigte sich ein dosisabhängiger Effekt der Cellobiose. Unter anderem gingen die Konzentrationen an i-Butyrat, i-Valerat und Ammoniak im Kot der Katzen bei Einsatz der Cellobiose zurück, was für eine verminderte bakterielle Proteinfermentation im Dickdarm spricht. Zudem nahmen die Zellzahlen von *Lactobacillus* spp. und Enterokokken durch die Ergänzung des Futters mit Cellobiose zu sowie die des Clostridien-Clusters I ab. Diese Effekte können insgesamt als günstig für den Organismus bewertet werden.

Ogleich die vorliegende Arbeit einige Hinweise auf eine präbiotische Wirkung der Cellobiose bei Katzen gibt, sollte berücksichtigt werden, dass die Untersuchungen ausschließlich mit gesunden Tieren durchgeführt wurden. Daher erscheinen zukünftige Studien zu den Effekten von Cellobiose bei Katzen mit intestinalen Beschwerden hochinteressant.

Schlüsselwörter Präbiotikum, Darm, Protein, Fermentation

Investigations on the prebiotic effects of cellobiose in cats

Summary The present study was aimed at evaluating the prebiotic potential of cellobiose in cats. For this, ten healthy adult cats were fed a canned diet with or without cellobiose supplementation (0 g, 0.5 g and 1 g/kg body weight/day). At the end of each 14-day feeding period, the cats' faeces were collected to determine microbial metabolites and bacterial cell numbers. The cellobiose was well accepted and tolerated by the cats. A dose-dependent effect of cellobiose was observed for most of the microbial metabolites. A decrease of i-butyric acid, i-valeric acid and ammonium was detected in the faeces, which might indicate a reduced bacterial protein fermentation in the large intestine. In addition, the bacterial cell counts of *Lactobacillus* spp. and Enterococci increased, while the cell counts of the *Clostridium* cluster I decreased when cellobiose was supplemented to the diet. These effects can be considered to be beneficial for the host organism.

Although the present study might indicate that cellobiose has prebiotic effects in cats, it should be noted that healthy animals were exclusively used for this investigation. Future studies evaluating the effects of cellobiose in cats with intestinal disorders would therefore be highly interesting.

Keywords prebiotics, intestine, protein, fermentation

Einleitung

Eine stabile, ausgewogene Darmflora ist für die Gesundheit des Organismus von großer Bedeutung (Suchodolski 2011). Dysbiosen, d. h. ein Ungleichgewicht in der intestinalen Mikrobiota, können die Ursache oder ggf. auch Folge einer gastrointestinalen Erkrankung darstellen (Suchodolski 2016). Eine günstige Beeinflussung der metabolischen Aktivität und Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota ist daher sowohl für gesunde als auch für erkrankte Tiere von Interesse.

Die Fütterung kann die Bakteriengemeinschaft im Darm entscheidend beeinflussen. So sind einerseits die aufgenommene Menge und präzäkale Verdaulichkeit von Nährstoffen zu beachten, um den z. T. unerwünschten Einstrom unverdauter Nährstoffe in den Dickdarm und deren nachfolgende mikrobielle Fermentation zu minimieren. Andererseits können unlösliche Faserstoffe (z. B. Cellulose) günstig auf die Darmmotilität sowie bestimmte schwer verdauliche, mikrobiell fermentierbare Kohlenhydrate (z. B. Pektin oder Guar) positiv auf die Zusammensetzung der Darmmikrobiota wirken (Zen-



tek 2016). Wird ein bestimmtes Substrat von Darmbakterien fermentiert und dabei ein positiver Gesundheitseffekt erzielt, handelt es sich per definitionem um ein Präbiotikum (Gibson et al. 2017).

Ein neuer diätetischer Ansatz zur Modulierung der intestinalen Mikrobiota von Haustieren im Sinne eines Präbiotikums könnte die Anwendung von Cellobiose darstellen. Cellobiose ist ein Disaccharid, das aus zwei β -1,4-glykosidisch verbundenen Glukosemolekülen besteht (Ouellette und Rawn 2015). In verschiedenen In-vitro- und In-vivo-Studien konnte gezeigt werden, dass Cellobiose die Produktion bakterieller Metaboliten sowie die Zusammensetzung von Darmbakterien beeinflussen kann. So führte in einer Studie beim Menschen die Inkubation von Stuhlproben mit Cellobiose zu einem Anstieg an Bifidobakterien, Milchsäure, kurzkettigen Fettsäuren (Sanz et al. 2005) oder *Lactobacillus acidophilus* NCFM (van Zanten et al. 2012). In porzinem Inokulum konnte unter osmotischem Stress eine Reduktion der Ammoniak-Konzentration durch den Zusatz von Cellobiose festgestellt werden (Heinritz et al. 2018). Weiterhin wurde im Zäkum von Ratten, die ein Futter mit 6 % Cellobiose erhielten, eine höhere Konzentration an bakteriellen Metaboliten im Vergleich zu Kontrolltieren nachgewiesen (Morita et al. 2008).

Für die Katze liegen bislang keine Studien zur potenziell präbiotischen Wirkung von Cellobiose vor. Es war daher das Ziel der vorliegenden Arbeit, einen möglicherweise auch dosisabhängigen Einfluss von Cellobiose auf die Mikrobiota sowie bakterielle Metaboliten im Kot von gesunden, adulten Katzen zu untersuchen.

Material und Methoden

Studiendesign

Für die vorliegende Studie wurden zehn adulte Katzen (sieben männliche und drei weibliche; $7,78 \pm 3,73$ Jahre) des Instituts für Tierernährung der Freien Universität Berlin eingesetzt. Die Katzen erhielten während des Versuchszeitraums ein Feuchttalleinfutter („Katzenmenü Geflügel“, Vet-Concept GmbH & Co. KG, Föhren, Deutschland), wobei die täglichen Futtermengen individuell zum Erhalt der Körpermasse (KM) berechnet wurden (NRC 2006). Die Fütterung erfolgte zweimal täglich (6:30 Uhr und 12:30 Uhr). Zu Studienbeginn wurde eine zweiwöchige Adaptationsphase vorgesehen, um die Katzen an das Feuchttfutter zu gewöhnen. In der sich anschließenden ersten Fütterungsperiode erhielten die Katzen das Feuchttfutter über weitere zwei Wochen. Am Ende dieser Fütterungsperiode wurden die Katzentoiletten in der Katzenhaltung mit einer Kunststofffeinstreu (Katkor, Rein Vet Products, Utrecht,

Niederlande) befüllt, um den Kot der Katzen sammeln zu können. Anschließend folgte die zweite Fütterungsperiode, in der die Katzen das Feuchttfutter mit der ersten Dosierung der Cellobiose (täglich 0,5 g/kg KM) erhielten. Die Cellobiose wurde morgens gleichmäßig unter die gesamte Tagesfuttermenge der Katzen gemischt. Diese Tagesration wurde anschließend auf zwei Mahlzeiten pro Tag aufgeteilt, wobei die Morgenmahlzeit direkt angeboten und die Mittagmahlzeit bis ca. 30 Minuten vor der Fütterung im Kühlschrank aufbewahrt wurde. Nach einer wiederum 14-tägigen Fütterungsdauer wurde der Kot der Katzen, wie für die erste Fütterungsperiode beschrieben, gesammelt. In der sich anschließenden dritten Fütterungsperiode wurde die Cellobiose dem Futter in der zweiten Dosierung (täglich 1 g/kg KM) untergemischt. Auch hier wurde eine zweiwöchige Fütterungsdauer mit darauffolgender Kotsammlung, wie oben dargestellt, vorgesehen.

Die Fütterung blieb in den Phasen der Kotsammlung stets unverändert. Da die Katzen während des gesamten Versuchszeitraums in ihrem gewohnten Gruppenverbund blieben, war eine individuelle Zuordnung der Kotproben nicht möglich. Um jedoch die Wahrscheinlichkeit zu erhöhen, dass von möglichst jeder Katze eine Probe vorlag, wurden am Ende jeder Fütterungsperiode mindestens zehn Kotproben gesammelt. Bei Abschluss der Kotsammlung lagen hierbei im ersten Versuchsdurchgang exakt zehn Kotproben vor, bei den Versuchsdurchgängen zwei und drei hingegen jeweils elf Kotproben. Während die mikrobiellen Metaboliten in allen vorhandenen Proben analysiert wurden, wurden aus arbeitsorganisatorischen Gründen bei der Bestimmung bakterieller Zellzahlen je zehn Kotproben aus den Versuchsdurchgängen eins und zwei sowie elf Kotproben aus dem Versuchsdurchgang drei berücksichtigt.

Die Katzentoiletten wurden in einem maximal zwei- bis dreistündigen Abstand kontrolliert und die vorhandenen Kotproben umgehend bei $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ eingefroren.

Kotanalytik

Die Trockensubstanz(TS)-Gehalte der Kotproben wurden durch Trocknung der Proben im Trockenschrank bei $103\text{ }^{\circ}\text{C}$ bis zur Gewichtskonstanz ermittelt. Die Gehalte an Laktat in den Kotproben wurden mittels HPLC (AGILENT 1100, Agilent Technologies, CA, USA), die an Ammonium kolorimetrisch mithilfe der Berthelot-Methode und die Konzentrationen an kurzkettigen Fettsäuren gaschromatografisch (Model 19095 N-123, Agilent Technologies, CA, USA) bestimmt. Die Ermittlung bakterieller Zellzahlen (*Bacteroides-Prevotella-Porphyrromonas*-Cluster, *Escherichia*, Enterobakterien, Clostridien-Cluster I, IV und XIVa, Enterokokken, *Lactoba-*

Tab. 1: Futteraufnahme (g uS/Tag) und Körpermasse (kg) von Katzen bei Einsatz eines Feuchtfutters ohne oder mit Cellobiose (0 g, 0,5 g und 1 g/kg KM/Tag)

	0 g/kg KM/Tag (n = 10)	0,5 g/kg KM/Tag (n = 10)	1 g/kg KM/Tag (n = 10)	R ² (p-Wert)
Futteraufnahme	273 ± 41,3	272 ± 38,5	265 ± 41,0	0,006 (0,088)
Körpermasse	4,84 ± 0,98	4,86 ± 0,98	4,84 ± 1,00	0,000 (1,000)

uS = ursprüngliche Substanz, R² = Bestimmtheitsmaß

**Tab. 2: TS-Gehalt sowie bakterielle Metaboliten im Kot von Katzen bei Fütterung eines Feuchtfutters ohne oder mit Cellobiose (0 g, 0,5 g und 1 g/kg KM/Tag)**

	0 g/kg KM/Tag (n = 10)	0,5 g/kg KM/Tag (n = 11)	1 g/kg KM/Tag (n = 11)	R ² (p-Wert)
TS (%)	33,6 ± 9,29	32,1 ± 6,61	25,9 ± 7,58	0,150 (0,028)
In µmol/g uS				
L-Laktat	1,99 ± 2,15	3,06 ± 6,39	11,7 ± 14,0	0,168 (0,020)
D-Laktat	0,16 ± 0,12 ^a	2,32 ± 4,37 ^{ab}	11,2 ± 12,7 ^b	0,256 (0,003)
Ammonium	62,6 ± 14,5 ^a	59,7 ± 15,3 ^{ab}	41,6 ± 19,9 ^b	0,215 (0,007)
Acetat	67,9 ± 19,5 ^a	55,8 ± 12,6 ^{ab}	45,0 ± 11,5 ^b	0,302 (0,001)
Propionat	23,9 ± 5,98	19,6 ± 3,80	19,1 ± 4,07	0,155 (0,026)
i-Butyrat	3,78 ± 1,43 ^a	3,14 ± 0,98 ^{ab}	2,06 ± 1,47 ^b	0,237 (0,005)
n-Butyrat	21,3 ± 10,0	19,1 ± 8,70	20,9 ± 12,2	< 0,001 (0,935)
i-Valeriat	6,40 ± 2,68 ^a	5,15 ± 1,71 ^{ab}	3,53 ± 2,54 ^b	0,214 (0,008)
n-Valeriat	2,67 ± 3,57 ^a	5,50 ± 3,37 ^{ab}	8,25 ± 6,05 ^b	0,215 (0,008)
SCFA (gesamt)	126 ± 32,9	108 ± 25,1	98,8 ± 26,9	0,141 (0,034)
In % SCFA				
Acetat	54,0 ± 7,93	51,8 ± 5,81	46,6 ± 9,26	0,141 (0,034)
Propionat	19,1 ± 1,41	18,5 ± 2,80	20,1 ± 5,80	0,012 (0,555)
i-Butyrat	3,06 ± 0,91	2,91 ± 0,74	2,03 ± 1,22	0,166 (0,021)
n-Butyrat	16,7 ± 5,00	17,2 ± 4,77	20,0 ± 7,62	0,051 (0,215)
i-Valeriat	5,22 ± 1,88	4,79 ± 1,36	3,48 ± 2,10	0,144 (0,032)
n-Valeriat	1,86 ± 2,30 ^a	4,84 ± 2,62 ^{ab}	7,86 ± 4,46 ^b	0,374 (< 0,001)

TS = Trockensubstanz, uS = ursprüngliche Substanz, SCFA = short-chain fatty acids (kurzkettige Fettsäuren), R² = Bestimmtheitsmaß

Unterschiedliche Exponenten (a, b) in einer Reihe zeigen einen signifikanten Unterschied zwischen den Fütterungsgruppen an (p < 0,05).

Hinweis: Diese Tabelle wurde bereits im Rahmen eines Kongressbeitrags publiziert (Paßlack und Zentek 2018).

cillus spp., Bifidobakterien) in den Kotproben der Katzen erfolgte mittels quantitativer PCR (qPCR). Eine detaillierte Beschreibung der Methoden findet sich bei Paßlack et al. (2015).

Statistik

Die Ergebnisse wurden mithilfe von IBM SPSS Statistics 22 (IBM, New York, USA) ausgewertet. Die Datendarstellung erfolgt nachfolgend als Mittelwert ± Standardabweichung. Für den Gruppenvergleich wurde eine multivariate Varianzanalyse genutzt. Als Post-hoc-Tests dienten der Scheffé- bzw. Tamhane-Test (bei angenommener Varianzgleichheit bzw. Varianzungleichheit). Weiterhin wurde anhand einer Regressionsanalyse der lineare Zusammenhang zwischen den Untersuchungsparametern und der Dosierung der Cellobiose ermittelt. Das Signifikanzniveau lag bei $\alpha = 0,05$.

Ergebnisse

Die Katzen zeigten während des gesamten Studienzeitraums eine gute Akzeptanz und Verträglichkeit des Futters mit Cellobiosezusatz. Die Futteraufnahme und Körpermasse der Tiere blieben von dem Einsatz der Cellobiose unbeeinflusst (► Tab. 1).

In ► Tabelle 2 werden die ermittelten TS-Gehalte und die Konzentrationen an bakteriellen Metaboliten sowie in ► Tabelle 3 die bakteriellen Zellzahlen in den Kotproben der Katzen dargestellt.

Bei Vergleich der Fütterung ohne Cellobiosezusatz mit der Phase des höchsten Cellobiosezusatzes (1 g/kg KM/Tag) konnten

eine Zunahme von D-Laktat und n-Valeriat sowie eine Abnahme von Ammonium, Acetat, i-Butyrat und i-Valeriat im Kot der Katzen festgestellt werden. Weiterhin stieg bei diesem Fütterungsvergleich der prozentuale Anteil an n-Valeriat an der Gesamtkonzentration der kurzkettigen Fettsäuren. Die Regressionsanalyse konnte mit wenigen Ausnahmen ebenfalls einen Zusammenhang zwischen der Dosierung der Cellobiose und den mikrobiellen Metaboliten im Kot der Katzen detektieren. Allerdings war das Bestimmtheitsmaß (R²) hierbei eher moderat.

Die Ermittlung der mikrobiellen Zellzahlen im Kot der Katzen ergab höhere Zahlen an Enterokokken, wenn die Fütterung mit dem höchsten Cellobiosezusatz (1 g/kg KM/Tag) mit der Fütterung ohne Cellobiosezusatz verglichen wurde. Zudem waren die Zahlen an *Lactobacillus* spp. im Kot nach Einsatz von 1 g Cellobiose/kg KM/Tag höher als bei Einsatz von 0,5 g Cellobiose/kg KM/Tag. Die Regressionsanalyse ergab weiterhin geringere Zellzahlen des Clostridien-Clusters I im Kot der Katzen mit zunehmender Dosierung der Cellobiose.

Diskussion

Nach Kenntnis der Autoren wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit erstmalig potenziell präbiotische Eigenschaften von Cellobiose bei Katzen untersucht. Studien bei anderen Tierarten konnten grundsätzlich günstige Auswirkungen auf die Zusammensetzung und Aktivität der Mikrobiota in vivo oder in vitro aufzeigen (Hein-



Tab. 3: Mikrobielle Zellzahlen (\log_{10} /g ursprüngliche Substanz) im Kot von Katzen bei Aufnahme eines Feuchtfutters ohne oder mit Cellobiose (0 g, 0,5 g und 1 g/kg KM/Tag)

	0 g/kg KM/Tag (n = 10)	0,5 g/kg KM/Tag (n = 10)	1 g/kg KM/Tag (n = 11)	R ² (p-Wert)
BPP	11,4 ± 0,66	11,2 ± 1,08	11,4 ± 0,86	0,001 (0,871)
<i>Escherichia</i>	8,91 ± 1,19	8,92 ± 1,08	8,85 ± 1,24	0,001 (0,900)
Enterobakterien	8,43 ± 0,32	8,44 ± 0,16	8,46 ± 0,24	0,002 (0,805)
Clostridien-Cluster I	7,89 ± 0,41	7,23 ± 0,91	7,16 ± 0,89	0,135 (0,042)
Clostridien-Cluster IV	6,86 ± 0,35	6,74 ± 0,81	6,48 ± 0,68	0,060 (0,184)
Clostridien-Cluster XIVa	8,52 ± 0,41	8,04 ± 1,00	8,11 ± 1,03	0,038 (0,296)
Enterokokken	5,06 ± 0,60 ^a	5,47 ± 0,91 ^{ab}	5,61 ± 0,55 ^b	0,103 (0,078)
<i>Lactobacillus</i> spp.	4,18 ± 0,76 ^{ab}	4,01 ± 0,81 ^a	4,86 ± 0,19 ^b	0,132 (0,063)
Bifidobakterien	4,90 ± 0,52	4,72 ± 0,43	4,69 ± 0,33	0,040 (0,284)

BPP = *Bacteroides-Prevotella-Porphyrromonas*-Cluster, R² = Bestimmtheitsmaß

Unterschiedliche Exponenten (a, b) in einer Reihe zeigen einen signifikanten Unterschied zwischen den Fütterungsgruppen an (p < 0,05).

ritz et al. 2018, Morita et al. 2008, Sanz et al. 2005, van Zanten et al. 2012), jedoch standen entsprechende Untersuchungen bei der Katze noch aus.

Cellobiose ist ein Disaccharid, welches, sofern es der Definition eines Präbiotikums (Gibson et al. 2017) entsprechen sollte, dem Abbau durch körpereigene Enzyme weitgehend entgeht und stattdessen mikrobiell im Darm fermentiert wird. Bei Ratten konnte in diesem Zusammenhang allerdings gezeigt werden, dass Cellobiose bereits im Dünndarm durch die körpereigene, mukosale β -Galaktosidase (Laktase) verdaut wurde (Morita et al. 2008). Andererseits konnte für den Menschen im Rahmen eines Toleranz- und Wasserstoffexhalationstests gezeigt werden, dass

die orale Aufnahme von Cellobiose zu keinem Anstieg der Glukose- und Insulingehalte im Blut, jedoch zu einer forcierten Wasserstoffkonzentration im Expirat führte (Nakamura et al. 2004). Folglich kann davon ausgegangen werden, dass die Cellobiose nicht bereits im Dünndarm enzymatisch gespalten und resorbiert, sondern stattdessen im Dickdarm mikrobiell fermentiert wurde (Nakamura et al. 2004). Nach Ansicht anderer Autoren (Morita et al. 2008) müsse bei der Dateninterpretation allerdings auch bedacht werden, dass die Studie von Nakamura et al. (2004) mit Individuen asiatischer Herkunft durchgeführt wurde, die eine deutlich geringere Laktaseaktivität aufweisen als beispielsweise Menschen aus Nord- und Westeuropa.



Bei Katzen kann ab einem Alter von etwa vier bis sieben Wochen eine deutliche Abnahme der Aktivität der β -Galaktosidase festgestellt werden (Morris et al. 1977). Zudem ist die Laktaseaktivität bei adulten Katzen beispielsweise geringer als bei adulten Hunden (Batchelor et al. 2011). Grundsätzlich kann daher vermutet werden, dass Cellobiose bei adulten Katzen nicht oder nur zu einem geringen Anteil durch körpereigene Enzyme verdaut wird. Im Vergleich zu der Studie von Nakamura et al. (2004) wurden in der vorliegenden Arbeit weder die Konzentrationen an Blutglukose und -insulin noch die Wasserstoffgehalte im Exspirat erfasst. Stattdessen wurden bakterielle Metaboliten und Zellzahlen im Kot der Katzen ermittelt, wobei die deutlichen und dosisabhängigen Veränderungen für eine mikrobielle Fermentation der Cellobiose im Intestinaltrakt der Tiere sprechen.

Die beobachtete Abnahme der Ammonium-, i-Butyrat- und i-Valeriat-Gehalte im Kot bei Einsatz der Cellobiose lässt eine reduzierte mikrobielle Proteinfermentation im Dickdarm vermuten. Sowohl i-Butyrat als auch i-Valeriat gehören zu den verzweigt-kettigen Fettsäuren und sind mit dem mikrobiellen Eiweißabbau im Dickdarm assoziiert (Macfarlane et al. 1992). Auch Ammoniak wird beim bakteriellen Eiweißabbau im Darm gebildet und, ebenso wie weitere Metaboliten der mikrobiellen Proteinfermentation, als potenziell toxisch angesehen (Hamer et al. 2012). Die Annahme eines reduzierten bakteriellen Eiweißabbaus bei steigender Dosierung der Cellobiose könnte in der vorliegenden Studie prinzipiell auch durch den Rückgang der Zellzahlen des Clostridien-Clusters I unterstützt werden, da viele Clostridien eine hohe proteolytische Aktivität aufweisen. Allerdings stellt der Clostridien-Cluster I eine heterogene Gruppe mit sowohl proteolytischen als auch saccharolytischen Vertretern dar (Collins et al. 1994), sodass weiterführende molekularbiologische Untersuchungen erforderlich wären, um den Einfluss der Cellobiose auf einzelne Clostridienpezies zu ermitteln.

Die Zunahme an *Lactobacillus* spp. und Enterokokken im Kot der Katzen unter Einsatz der Cellobiose kann grundsätzlich positiv bewertet werden. Nach aktueller Definition eines Präbiotikums führt das entsprechende Substrat aufgrund von Effekten auf Laktobazillen, jedoch auch auf andere, als günstig zu bewertende Bakterienstämme, zu einem gesundheitsfördernden Effekt (Gibson et al. 2017). Bestimmten Vertretern der Enterokokken wird ein probiotisches Potenzial zugesprochen (Fijan 2014), es finden sich jedoch auch pathogene Enterokokken (Pillay et al. 2018). In diesem Zusammenhang muss allerdings bemerkt werden, dass bislang keine Infektionen bei Katzen durch Enterokokken beschrieben wurden, die Tiere können jedoch pathogene Stämme beherbergen (Pillay et al. 2018). Welche Stämme der Enterokokken durch den Zusatz der Cellobiose zum Futter gefördert wurden, konnte mithilfe der in der vorliegenden Studie genutzten Methoden nicht näher spezifiziert werden, sodass auch hier weiterführende molekularbiologische Untersuchungen interessant wären.

Bei der Interpretation der Ergebnisse sollte berücksichtigt werden, dass mit dem vorgesehenen Studiendesign einige Limitationen einhergingen. So wurde einerseits ein Feuchttalleinfutter verwendet, um die Cellobiose leicht und gut untermischen zu können. Das Feuchtfutter wies mit einem deklarierten Proteingehalt von 10,5 % in



der ursprünglichen Substanz (entspricht 50 % in der TS) einen hohen, obgleich produkttypischen Proteingehalt auf. Die hohe Proteinaufnahme mag folglich zu einer gewissen Beeinflussung der intestinalen Mikrobiota der Katzen beigetragen haben. So konnte gezeigt werden, dass ein hoher Proteingehalt im Futter (bis 56 % in der TS) insbesondere peptidolytische Bakterien im Kot von Katzen fördert (Thies 2018). Da jedoch für die Katzen der vorliegenden Studie identische Studienbedingungen vorlagen, insbesondere da alle Katzen das gleiche Feuchtfutter erhielten, und zudem ein Vergleich zur Fütterung ohne Cellobiosezusatz („Nullprobe“) vorgenommen wurde, ist an dieser Stelle eine Beurteilung der Effekte der Cellobiose möglich. Für zukünftige Untersuchungen erscheint es allerdings interessant, den Einfluss der Cellobiose auch unter anderen Fütterungsbedingungen, beispielsweise bei Einsatz eines Trockenfutters mit einem moderaten Protein-, jedoch höheren Stärkeanteil, zu evaluieren.

Ebenso sollte bei der Interpretation der Ergebnisse bedacht werden, dass die Cellobiose zwar in aufsteigender Dosierung bei den Katzen eingesetzt, jedoch keine Auswaschphase zwischen den Versuchsdurchgängen vorgesehen wurde. Grundsätzlich ist es möglich, dass bereits die geringere Dosierung (0,5 g/kg KM) zu einer gewissen Veränderung und Stabilisierung der Darmflora beigetragen hat und dies durch die höhere Dosierung (1 g/kg KM) weiter forciert wurde. Die statistische Datenauswertung hat allerdings gezeigt, dass lediglich bei der höheren Dosierung der Cellobiose ein Einfluss auf die Konzentrationen bakterieller Metaboliten und Zellzahlen im Kot der Katzen vorlag. Einzig bei der Konzentration an *Lactobacillus* spp. im Kot wurde ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Cellobiosegruppen vorgefunden, wobei die geringsten Zellzahlen bei der niedrigeren Dosierung der Cellobiose vorlagen. Man kann daher

davon ausgehen, dass bei einem grundsätzlich ausreichend langen Einsatz der Cellobiose in der Dosierung 1 g/kg KM/Tag die beobachteten Effekte bei Katzen eine verlässliche Aussagekraft besitzen.

Als weitere Limitation der Studie ist zu berücksichtigen, dass lediglich Kotproben analysiert wurden, die aufgrund des Studiendesigns nicht individuell den einzelnen Tieren zuzuordnen waren. Letzteres erfolgte vor dem Hintergrund, dass die vorliegende Arbeit eine erste Evaluation darstellen sollte, wie die Akzeptanz, Verträglichkeit und der grundsätzliche Einfluss der Cellobiose auf mikrobiologische Parameter bei Katzen einzuschätzen ist. Daher wurde auf eine Einzelhaltung der Tiere in Stoffwechselläufigen verzichtet und eine Kotsammlung in der bestehenden Gruppenhaltung als für diese Zwecke ausreichend angesehen. Die Tatsache, dass von den Tieren lediglich der Kot untersucht wurde, ist aus ethischen Überlegungen heraus erfolgt, da eine Entnahme von Digestaproben ein invasives Vorgehen oder einen Finalversuch erfordert hätte. Mikrobiologische Studien bei Katzen beschränken sich daher in der Regel auf Untersuchungen von Kotproben oder anderen, nichtinvasiv zu gewinnenden Proben. Dennoch ist bei ermittelten fäkalen mikrobiellen Metaboliten und Zellzahlen stets zu berücksichtigen, dass diese nicht gleichbedeutend mit den intestinalen Gegebenheiten sind, sodass die Daten grundsätzlich vorsichtig zu interpretieren sind.

Die Katzen der vorliegenden Studie waren gesund und wiesen während des gesamten Versuchszeitraums keine gastrointestinalen Beschwerden auf. Bei den ermittelten TS-Gehalten der Kotproben ist anzumerken, dass diese zwar mit steigender Dosierung der Cellobiose etwas abnahmen, jedoch bei keiner Katze Durchfall auftrat. Insgesamt lag daher eine gute Verträglichkeit des Futters mit Cellobiosezusatz bei den Katzen vor.



Die in dieser Studie gewählten Dosierungen der Cellobiose von 0,5 g/kg KM/Tag und 1 g/kg KM/Tag haben sich an Dosierungsempfehlungen für andere Substanzen, die zur Unterstützung der Darmfunktion eingesetzt werden, orientiert. So können beispielsweise ähnliche Mengen an Weizenkleie oder Futterzellulose vorgesehen werden (Zentek 2016). Auch der diätetische Einsatz von Laktose oder Laktulose bei Leber- und Nierenpatienten zur Absenkung des pH-Werts im Dickdarm und zu einer dadurch vermittelten reduzierten intestinalen Absorption von Ammoniak wird in einer ähnlichen Dosierung empfohlen (Zentek 2016).

Unter Berücksichtigung der täglich eingesetzten Futtermengen bei den Katzen der vorliegenden Studie führte die vorgesehene Dosierung zu einem Cellobiosegehalt von durchschnittlich 0,81 % (Dosis 1) bzw. 1,62 % (Dosis 2) in der ursprünglichen Substanz des Futters. Bezogen auf die TS des Futters entsprach dies durchschnittlichen Gehalten von 3,86 % (Dosis 1) bzw. 7,72 % (Dosis 2).

Die Ergebnisse haben gezeigt, dass bei den Katzen vor allem unter der höheren Dosierung der Cellobiose deutliche Effekte auf die Zusammensetzung und Aktivität der intestinalen Mikrobiota zu sehen waren. Dies sollte bei einem zukünftigen Einsatz von Cellobiose in der Praxis berücksichtigt werden. In diesem Zusammenhang ist auch darauf hinzuweisen, dass Cellobiose im Jahr 2017 neu in die „Positivliste für Einzelfuttermittel“ (DLG 2019) aufgenommen wurde. Als Einschlusskriterium wird hier u. a. genannt, dass „ein nachgewiesener Futterwert“ vorliegen muss, „d. h. das Erzeugnis muss [...] oral in wirksamer Menge aufgenommen werden und [...] einen relevanten Beitrag zur Energie- und/oder Nährstoffversorgung leisten oder [...] zur [...] Unterstützung der Funktion des Verdauungstraktes und/oder dessen Eubiose beitragen“ (DLG 2019). Weiterhin wird in der „Positivliste“ eine „prebiotische Wirkung“ der Cellobiose angemerkt (DLG 2019).

Zukünftige Untersuchungen mit erkrankten Katzen, insbesondere mit intestinalen Störungen, wären vor dem Hintergrund der Ergebnisse von großem klinischem Interesse. Die beobachteten Effekte bei den gesunden Katzen sprechen grundsätzlich für eine potenziell präbiotische Wirkung der Cellobiose bei dieser Tierart, der per definitionem durch ein Präbiotikum zu erzielende gesundheitsfördernde Effekt (Gibson et al. 2017) sollte jedoch bei erkrankten Tieren bzw. auch im Zusammenhang mit einer möglichen prophylaktischen Verwendung, z. B. in Stresssituationen, weiterführend überprüft werden.

Zusammenfassung und Schlussfolgerung

Das Futter mit Cellobiose wurde von den Katzen der vorliegenden Studie gut akzeptiert und vertragen. Die Veränderungen der bakteriellen Metaboliten im Kot der Tiere lassen eine Beeinflussung der Aktivität und Zusammensetzung der intestinalen Mikrobiota erkennen. Dies wurde durch die Bestimmung bakterieller Zellzahlen in den Kotproben gestützt. Die Zunahme an Enterokokken und *Lactobacillus* spp. unter der höchsten Dosierung der Cellobiose kann grundsätzlich als positiv bewertet werden, ebenso die dosisabhängig abnehmenden Zellzahlen des Clostridien-Clusters I. Weiterführende Untersuchungen, insbesondere an Tieren mit intestinalen Beschwerden, erscheinen vor diesem Hintergrund hochinteressant.



Conflict of interest

Diese Studie wurde von der Firma ElsPetFeed Ingredients GmbH (Elsdorf, Deutschland) finanziell unterstützt. Die Firma hatte hierbei keinen Einfluss auf die Gewinnung, Auswertung oder Interpretation der vorliegenden Daten.

Erklärung

Teile dieser Studie wurden im Rahmen des DVG-Kongresses 2018 als freier Vortrag präsentiert und als Abstract in der Kleintierpraxis (Paßlack und Zentek 2018) publiziert. ■

Literatur

- Batchelor DJ, Al-Rammahi M, Moran AW, Brand JG, Li X, Haskins M, German AJ, Shirazi-Beechey SP (2011): Sodium/glucose cotransporter-1, sweet receptor, and disaccharidase expression in the intestine of the domestic dog and cat: two species of different dietary habit. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 300: R67–75.
- Collins MD, Lawson PA, Willems A, Cordoba JJ, Fernandez-Garayzabal J, Garcia P, Cai J, Hippe H, Farrow JA (1994): The phylogeny of the genus *Clostridium*: proposal of five new genera and eleven new species combinations. *Int J Syst Bacteriol* 44: 812–826.
- DLG e. V. (2019): Positivliste für Einzelfuttermittel. 13. Aufl. https://www.dlg.org/fileadmin/downloads/fachinfos/futtermittel/positivliste/2019/Positivliste_Einzelfutter_13_Auflage.pdf.
- Fijan S (2014): Microorganisms with claimed probiotic properties: an overview of recent literature. *Int J Environ Res Public Health* 11: 4745–4767.
- Gibson GR, Hutkins R, Sanders ME, Prescott SL, Reimer RA, Salminen SJ, Scott K, Stanton C, Swanson KS, Cani PD, Verbeke K, Reid G (2017): Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 14: 491–502.
- Hamer HM, De Preter V, Windey K, Verbeke K (2012): Functional analysis of colonic bacterial metabolism: relevant to health? *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 302: G1–9.
- Heinritz SN, Weiss E, Seifert J, Mosenthin R, Kuß S, Degenhardt AG, Koch TJ (2018): Effect of cellobiose supplementation on in vitro fermentation activity and bacterial numbers of porcine inocula. *J Anim Physiol Anim Nutr* 102: 474–482.
- Macfarlane GT, Gibson GR, Beatty E, Cummings JH (1992): Estimation of short-chain fatty acid production from protein by human intestinal bacteria based on branched-chain fatty acid measurements. *FEMS Microbiol Ecol* 101: 81–88.
- Morita T, Ozawa M, Ito H, Kimio S, Kiriya S (2008): Cellobiose is extensively digested in the small intestine by beta-galactosidase in rats. *Nutrition* 24: 1199–1204.
- Morris JG, Trudell J, Pencovic T (1977): Carbohydrate digestion by the domestic cat (*Felis catus*). *Br J Nutr* 37: 365–373.
- Nakamura S, Oku T, Ichinose M (2004): Bioavailability of cellobiose by tolerance test and breath hydrogen excretion in humans. *Nutrition* 20: 979–983.
- NRC (2006): Nutrient requirements of dogs and cats. The National Academic Press, Washington, D.C.
- Ouellette RJ, Rawn JD (2015): Principles of Organic Chemistry. Elsevier, Oxford.
- Paßlack N, Zentek J (2018): Untersuchungen zum präbiotischen Potenzial von Cellobiose bei Katzen. *Kleintierprax* 63: 742.
- Paßlack N, Vahjen W, Zentek J (2015): Dietary inulin affects the intestinal microbiota in sows and their suckling piglets. *BMC Vet Res* 11: 51.
- Pillay S, Zishiri OT, Adeleke MA (2018): Prevalence of virulence genes in *Enterococcus* species isolated from companion animals and livestock. *Onderstepoort J Vet Res* 85: e1–e8.
- Sanz ML, Gibson GR, Rastall RA (2005): Influence of disaccharide structure on prebiotic selectivity in vitro. *J Agric Food Chem* 53: 5192–5199.
- Suchodolski JS (2011): Companion animals symposium: microbes and gastrointestinal health of dogs and cats. *J Anim Sci* 89: 1520–1530.
- Suchodolski JS (2016): Diagnosis and interpretation of intestinal dysbiosis in dogs and cats. *Vet J* 215: 30–37.
- Thies L (2018): Untersuchungen zum Einfluss des Proteingehalts sowie der Proteinqualität im Futter auf die fäkale Mikrobiota von Katzen. Berlin, FU, veterinärmed. Fak., Diss.
- van Zanten GC, Knudsen A, Røytiö H, Forssten S, Lawther M, Blennow A, Lahtinen SJ, Jakobsen M, Svensson B, Jespersen L (2012): The effect of selected synbiotics on microbial composition and short-chain fatty acid production in a model system of the human colon. *PLoS One* 7: e47212.
- Zentek J (2016): Ernährung des Hundes. Grundlagen – Fütterung – Diätetik. 8., aktualisierte Aufl. Enke, Stuttgart.

Korrespondenzadresse

PD Dr. Nadine Paßlack
Institut für Tierernährung
Fachbereich Veterinärmedizin
Freie Universität Berlin
Königin-Luise-Str. 49
14195 Berlin
nadine.passlack@fu-berlin.de