

## INFLUÊNCIA DA IDADE SOBRE A MICROBIOTA FECAL DE CÃES EM CRESCIMENTO

EDUARDA L. FERNANDES<sup>1</sup>, LAIANE S. LIMA<sup>1</sup>, LORENNNA. N. A. SANTOS<sup>1</sup>, RENATA B. M. S. SOUZA<sup>1</sup>,  
HELOÍSA L. SILVA<sup>1</sup>, ANANDA P. FÉLIX<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Universidade Federal do Paraná, UFPR, Campus de Ciências Agrárias, Curitiba, PR, Brasil.  
Contato: eduardalorenaferrandes@gmail.com / Apresentador: EDUARDA L. FERNANDES

**Resumo:** Objetivou-se avaliar a influência da idade sobre a microbiota fecal de cães em crescimento. Foram utilizados 8 cães da raça Beagle dos 2 aos 14 meses de idade. Os cães foram alimentados com o mesmo alimento seco extrusado para cães em crescimento ao longo do estudo. Foram coletadas fezes frescas aos 2, 3, 5, 8, 11 e 14 meses de idade para análise da microbiota fecal, a qual foi analisada por sequenciamento do gene 16S rRNA. A beta-diversidade foi analisada por PCoA por dissimilaridade de Bray-Curtis e as diferenças entre as idades por PERMANOVA ( $P < 0,05$ ). Os gêneros bacterianos foram analisados por LEfSe ( $P < 0,05$ ). A beta-diversidade demonstrou diferenças gerais no perfil das comunidades bacterianas intestinais entre 2, 3 e 5, em comparação com 8, 11 e 14 meses de idade ( $P < 0,05$ ). Observou-se maior abundância dos gêneros *Streptococcus* e *Escherichia coli* dos 2 aos 5 meses de idade, enquanto os gêneros *Turicibacter*, *Peptacetobacter* (*Clostridium hiranonis*) e *Blautia* apresentaram maior abundância a partir dos 8 meses de idade ( $P < 0,05$ ). A partir de 8 meses de idade, a microbiota fecal dos cães assemelha-se à encontrada em adultos saudáveis, visto que apresentam maior abundância de gêneros relacionados à eubiose intestinal e menor abundância de microrganismos potencialmente patogênicos.

**Palavras-Chaves:** eubiose; filhotes; funcionalidade intestinal.

## THE INFLUENCE OF AGE ON THE FECAL MICROBIOTA OF GROWING DOGS

**Abstract:** The aim was to evaluate the influence of age on the fecal microbiota of growing dogs. Eight Beagle dogs were used from 2 to 14 months of age. The dogs were fed the same extruded dry food for growing dogs throughout the study. Fresh faeces were collected at 2, 3, 5, 8, 11 and 14 months of age for analysis of the faecal microbiota, which was analyzed by sequencing of the 16S rRNA gene. Beta-diversity was analyzed by PCoA by Bray-Curtis dissimilarity and differences between ages by PERMANOVA ( $P < 0.05$ ). Bacterial genera were analyzed by LEfSe ( $P < 0.05$ ). Beta-diversity showed general differences in the profile of intestinal bacterial communities between 2, 3 and 5, compared to 8, 11 and 14 months of age ( $P < 0.05$ ). The genera *Streptococcus* and *Escherichia coli* were more abundant from 2 to 5 months of age, while the genera *Turicibacter*, *Peptacetobacter* (*Clostridium hiranonis*) and *Blautia* were more abundant from 8 months of age ( $P < 0.05$ ). From the age of 8 months, the fecal microbiota of dogs resembles that found in healthy adults, since they have a higher abundance of genera related to intestinal eubiosis and a lower abundance of potentially pathogenic microorganisms.

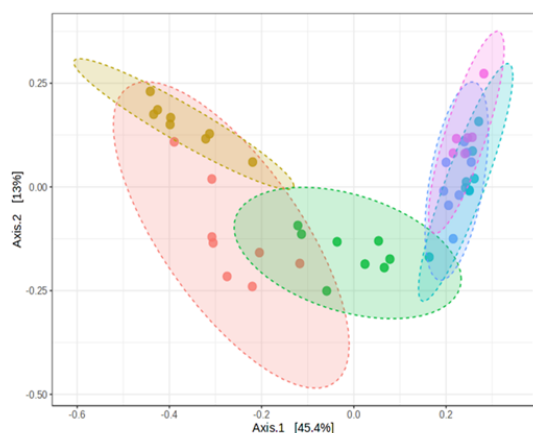
**Keywords:** eubiosis; intestinal functionality; puppies.

**Introdução:** A microbiota intestinal é essencial para a saúde do hospedeiro, a qual contribui para a modulação do sistema imunológico, integridade da mucosa, produção de metabólitos e utilização de nutrientes. Além disso, a microbiota fecal é amplamente estudada como um biomarcador da funcionalidade intestinal (Félix et al., 2022). Sua composição pode ser influenciada por diversos fatores, dentre eles a idade (Blake et al., 2020). Cães filhotes apresentam particularidades gastrointestinais, uma vez que ainda estão em desenvolvimento e a microbiota intestinal é imatura, característica de disbiose (Garrigues et al., 2022). Um estudo abrangendo a fase de crescimento dos cães permite identificar o ponto crítico de transição a partir do qual a composição e diversidade da microbiota se estabilizam e se tornam equiparáveis aos observados em cães adultos. Portanto, o objetivo desse estudo foi avaliar a influência da idade sobre a microbiota fecal de cães ao longo do crescimento.

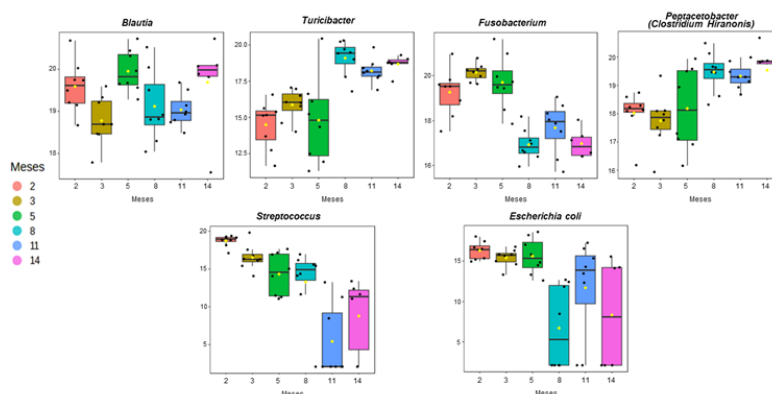
**Material e Métodos:** O estudo foi aprovado pela Comissão de ética no uso de animais. Foram utilizados 8 cães da raça Beagle (4 machos e 4 fêmeas), entre 2 ( $56 \pm 17,9$  dias) à 14 meses ( $424 \pm 15,28$  dias) de idade. Os cães foram alimentados com o mesmo alimento completo seco extrusado para cães em crescimento ao longo do estudo, de acordo com as suas necessidades de energia metabolizável (NEM) para crescimento ou manutenção (dependendo da idade), recomendadas pela FEDIAF (2024) e ajustadas segundo a curva de crescimento proposta para cães filhotes saudáveis (Salt et al., 2017). Quando os cães completaram 2, 3, 5, 8, 11 e 14 meses de idade, aproximadamente 2 gramas de amostra foram retiradas do interior das fezes recém-coletadas, no máximo 15 minutos após a defecação. As amostras foram transferidas para microtubos Eppendorf estéreis e armazenadas a  $-80^{\circ}\text{C}$  até a análise da microbiota fecal. A microbiota foi analisada por meio de sequenciamento do gene 16S rRNA. A beta-diversidade foi aferida pela análise das coordenadas principais (PCoA), utilizando o método de dissimilaridade de Bray-curtis. As diferenças entre o perfil geral da microbiota entre os tratamentos foram analisadas pelo teste de PERMANOVA, considerando  $P < 0,05$ . Os gêneros bacterianos foram analisados por LEfSe ( $P < 0,05$ ).

**Resultado e Discussão:** O período de desenvolvimento dos cães é crítico para o estabelecimento da microbiota intestinal, a qual é importante para a funcionalidade do sistema gastrointestinal. No presente estudo, a análise da beta-diversidade demonstrou diferenças gerais no perfil das comunidades bacterianas intestinais entre os meses 2, 3 e 5, em comparação com 8, 11 e 14 meses de idade ( $P < 0,05$ , Figura 1). As comunidades bacterianas dos cães nos meses 8, 11 e 14 não diferiram entre si, com estabilização a partir dos 8 meses de idade ( $P > 0,05$ , Figura 1). O mesmo foi observado em outro estudo com cães em crescimento (Blake et al., 2020). Nos primeiros meses de vida, os filhotes apresentam microbiota intestinal imatura, característica de disbiose. Isso é evidenciado pelo aumento na abundância de microrganismos potencialmente patogênicos, como *Streptococcus* e *Escherichia coli* (AlShawaqfeh et al., 2017), conforme observado em cães com até 5 meses de idade.

( $P < 0,05$ , Figura 2). Inclusive, a diminuição na abundância relativa de *Escherichia coli* ao longo do crescimento pode ser indicativa da transição de um ambiente aeróbico para um ambiente suficientemente anaeróbico (Guard et al., 2017,  $P < 0,05$ , Figura 2). A mudança para um ambiente intestinal anaeróbico contribuiu para o crescimento de bactérias associadas à eubiose, como *Turicibacter*, *Peptacetobacter* (*Clostridium hiranonis*) e *Blautia* (AlShawaqfeh et al., 2017), as quais aumentaram nas fezes de cães a partir dos 8 meses de idade ( $P < 0,05$ , Figura 2).



**Figura 1:** Beta-diversidade por dissimilaridade de Bray-curtis ilustrando a diferenciação das comunidades bacterianas dos cães com 2, 3, 5, 8, 11 e 14 meses de idade ( $P < 0,05$  por PERMANOVA).



**Figura 2:** Abundância (log DNA) dos gêneros *Blautia*, *Turicibacter*, *Fusobacterium*, *Peptacetobacter*, *Streptococcus* e *Escherichia coli* nas fezes dos cães com 2, 3, 5, 8, 11 e 14 meses de idade.

**Conclusão:** A partir de aproximadamente 8 meses de idade, a microbiota dos cães assemelha-se à encontrada em adultos saudáveis, mantendo-se estável na idade adulta, visto que apresentam maior abundância de gêneros relacionados à eubiose intestinal, como *Turicibacter*, *Peptacetobacter*, e *Blautia* e menor abundância de microrganismos potencialmente patogênicos, como *Streptococcus* e *Escherichia coli*.

**Agradecimentos:** Agradecimento ao CNPQ e ao Instituto PremieRpet pelo apoio à pesquisa e VB alimentos pelo suporte ao laboratório.

**Referências Bibliográficas:** ALSHAWAQFEH, M. et al. A dysbiosis index to assess microbial changes in fecal samples of dogs with chronic inflammatory enteropathy. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 93, n. 11, 11 out. 2017. FEDIAF. Nutritional guidelines for complete and complementary pet food for cats and dogs. **European Pet Food Industry**, 2024. FÉLIX, A. P.; SOUZA, C. M. M.; DE OLIVEIRA, S. G. Biomarkers of gastrointestinal functionality in dogs: A systematic review and meta-analysis. **Animal Feed Science and Technology**, v. 283, p. 115183, jan. 2022. GARRIGUES, Q. et al. Gut microbiota development in the growing dog: A dynamic process influenced by maternal, environmental and host factors. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 9, 2 set. 2022. GUARD, B. C. et al. Characterization of the fecal microbiome during neonatal and early pediatric development in puppies. **PLOS ONE**, v. 12, n. 4, p. e0175718, 27 abr. 2017. SALT, Carina et al. Growth standard charts for monitoring bodyweight in dogs of different sizes. **PLoS One**, v. 12, n. 9, p. e0182064, 2017.