

## BETA-1,3/1,6-GLUCANAS MODULA O MICROBIOMA FECAL DE CÃES EM CRESCIMENTO APOS CIRURGIA DE CASTRAÇÃO

RENATA B. M. S. SOUZA<sup>1</sup>, HELOÍSA L. SILVA<sup>1</sup>, LAIANE S. LIMA<sup>1</sup>, EDUARDA L. FERNANDES<sup>1</sup>, LORENNAN. A SANTOS<sup>1</sup>, KHAUANE P. SANTOS<sup>1</sup>, DEBORA C. TAVERNA<sup>1</sup>, THAILA C. PUTAROV<sup>2</sup>, ANANDA P. FÉLIX<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Paraná, UFPR, Campus Ciências Agrárias, Curitiba, PR, Brasil. <sup>2</sup>Biorigin, Lençóis Paulistas, Brasil.

Contato: renata.bacila@ufpr.br / Apresentador: RENATA B. M. S. SOUZA

**Resumo:** Objetivou-se avaliar o impacto da suplementação de beta-1,3/1,6-glucanas (BG) sobre o perfil do microbioma fecal de cães filhotes antes e após desafio cirúrgico. Foram avaliados dois tratamentos: controle, sem, e teste, com fornecimento via oral de 65 mg/kg de peso corporal/dia de BG purificadas de *Saccharomyces cerevisiae* por 60 dias. Para isso, foram utilizados 16 cães filhotes da raça Beagle distribuídos inteiramente ao acaso (n=8/grupo). No dia 31, os cães foram submetidos à cirurgia de castração. Nos dias 0, 15, 30, 34 e 60, foram coletadas fezes frescas para avaliação do microbioma fecal. Os dados de alfa-diversidade bacteriana foram analisados por Kruskal-Wallis (P<0,05) e a beta-diversidade pelo teste PERMANOVA. A análise discriminante linear (LDA) do tamanho do efeito (LEfSe) foi aplicada para verificar os gêneros com maior poder discriminatório entre os grupos, com P ajustado < 0,05. O consumo de BG promoveu aumento da riqueza e clara diferenciação no perfil do microbioma entre os grupos nos dias 34 e 60 (P<0,05). Além disso, o LDA demonstrou aumento de gêneros biomarcadores de eubiose no grupo BG, como *Faecalibacterium*, *Blautia* e *Turicibacter* (P<0,05). Conclui-se que o consumo de BG modula beneficemente o microbioma fecal de cães filhotes submetidos à castração.

**PalavrasChaves:** Eubiose; *Faecalibacterium*; *Saccharomyces cerevisiae*.

## BETA-1,3/1,6-GLUCANS MODULATES FECAL MICROBIOME OF GROWING DOGS AFTER SPAY OR NEUTERING SURGERY

**Abstract:** This study aimed to assess the impact of beta-1,3/1,6-glucan (BG) supplementation on the fecal microbiome profile of puppies before and after surgical challenge. Two treatments were evaluated: control, without, and test, with oral supplementation of 65 mg/kg body weight/day of purified BG from *Saccharomyces cerevisiae* for 60 days. For this, 16 Beagle puppies were used, distributed in a completely randomized design (n=8/group). On day 31, the dogs were submitted to spay or neutering surgery. On days 0, 15, 30, 34, and 60, fresh feces were collected to evaluate the fecal microbiome. Bacterial alpha-diversity data was analyzed by Kruskal-Wallis (P<0.05) and beta-diversity by the PERMANOVA test. Linear discriminant analysis (LDA) of effect size (LEfSe) was applied to verify the genera with the greatest discriminatory power among the groups, with an adjusted P < 0.05. BG consumption promoted an increase in richness and clear differentiation in the microbiome profile among the groups on days 34 and 60 (P<0.05). In addition, LDA showed an increase in eubiosis biomarker genera in the BG group, such as *Faecalibacterium*, *Blautia*, and *Turicibacter* (P<0.05). It is concluded that BG consumption beneficially modulates the fecal microbiome of puppies submitted to sterilization.

**Keywords:** Eubiosis; *Faecalibacterium*; *Saccharomyces cerevisiae*.

**Introdução:** Durante a fase de crescimento, os cães enfrentam uma série de fatores estressantes, incluindo alterações no ambiente, na dieta e, frequentemente, procedimentos cirúrgicos como a castração. Esses fatores podem alterar negativamente o microbioma intestinal (Souza *et al.*, 2023), o que é particularmente preocupante nesta fase, devido à relação desse ecossistema com a saúde animal (Blake; Suchodolski, 2016). Neste contexto, a utilização de beta-1,3/1,6-glucanas derivadas de leveduras apresenta potencial de modulação do microbioma intestinal em cães adultos (Marchi *et al.*, 2024), sugerindo que tal abordagem dietética possa ser interessante para filhotes, especialmente quando submetidos a situações estressantes. Assim, este estudo teve como objetivo avaliar o impacto da suplementação de 65 mg/kg de peso corporal/dia de beta-1,3/1,6-glucanas purificadas da levedura *Saccharomyces cerevisiae* sobre o perfil do microbioma fecal de cães filhotes antes e após cirurgia de castração.

**Material e Métodos:** Esse estudo foi aprovado pela Comissão de ética no uso de animais. Foram avaliados dois tratamentos, sendo: controle, sem aditivo, e teste, com fornecimento via oral de 65 mg/kg de peso corporal/dia de beta-1,3/1,6-glucanas (BG) purificadas da levedura *Saccharomyces cerevisiae* por 60 dias. O produto foi pesado diariamente e individualmente antes do fornecimento do alimento, em balança de precisão, garantindo a quantidade adequada a cada animal. A dieta base foi um alimento seco completo extrusado sem aditivos funcionais, atendendo as recomendações para cães em crescimento da FEDIAF (2021). Para isso, foram utilizados 16 cães filhotes da raça Beagle (8 machos e 8 fêmeas), com idade inicial de 3 meses e peso corporal médio de 4,06 ± 0,50 kg, distribuídos inteiramente ao acaso. Os cães foram submetidos à cirurgia de castração com anestesia total no dia 31 do experimento. Nos dias 0, 15, 30, 34 (após cirurgia) e 60 foram coletadas fezes frescas para análise do microbioma fecal, por sequenciamento do gene 16S rRNA. Os dados dos índices de alfa-diversidade foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis (P<0,05). A beta-diversidade foi aferida por dissimilaridade de Bray-curtis e comparada por PERMANOVA (P<0,05). Ainda, foi aplicada a análise discriminante linear (LDA) do tamanho do efeito (LEfSe) para verificar os gêneros bacterianos com maior poder discriminatório entre os tratamentos em cada período, com P ajustado <0,05.

**Resultado e Discussão:** As beta-1,3/1,6-glucanas podem modular o microbioma intestinal de cães (Marchi *et al.*, 2024), possivelmente devido às suas interações com o tecido linfóide associado ao intestino. Os resultados observados corroboram

com essa possibilidade, demonstrando aumento ( $P < 0,05$ ) na riqueza microbiana (número de unidades taxonômicas operacionais - OTUs) nos dias 34 (Controle = 209 e BG = 270) e 60 (Controle = 199 e BG = 244). Além disso, observou-se clara diferenciação no perfil geral do microbioma entre os grupos nos dias 34 e 60 ( $P < 0,05$ , Figura 1). No dia 34, logo após a castração, o grupo controle apresentou perfil de microbioma menos homogêneo entre os cães do mesmo grupo, sugerindo possível contribuição das beta-1,3/1,6-glucanas na estabilização da microbiota intestinal após a cirurgia (Figura 1). Em relação a composição do microbioma fecal, os principais gêneros aumentados no grupo BG foram: *Turicibacter* (LDA = 4,97) no dia 15, *Megamonas* (LDA=5,8) e *Gemmiger* (LDA=3,9) no dia 30 e *Ligilactobacillus* (LDA= 3,45) no dia 60 ( $P < 0,05$ , dados não apresentados). Estes microrganismos são relacionados a eubiose, e encontrados em cães saudáveis (Fung *et al.*, 2019; Langon, 2023; Lee *et al.*, 2022). O dia 34, após castração, foi o período de avaliação com as maiores diferenças no perfil do microbioma entre os grupos, havendo aumento de *Clostridium* no grupo controle e aumento de *Faecalibacterium*, *Blautia* e *Turicibacter* no grupo BG ( $P < 0,05$ , Figura 2). Esses gêneros são conhecidos como indicadores de eubiose em cães (AlShawaqfeh *et al.*, 2017).

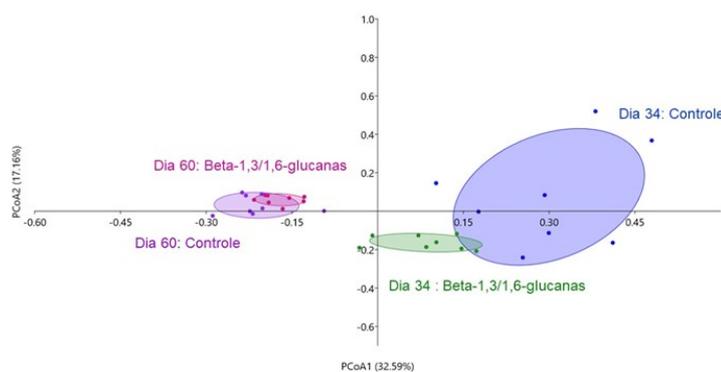


Figura 1. Beta-diversidade por dissimilaridade de Bray-curtis indicando a diferenciação das comunidades bacterianas em cães do grupo Controle e Beta-1,3/1,6-glucanas nos dias 34 e 60. Comparação entre os grupos pelo teste de PERMANOVA ( $P < 0,05$ ).

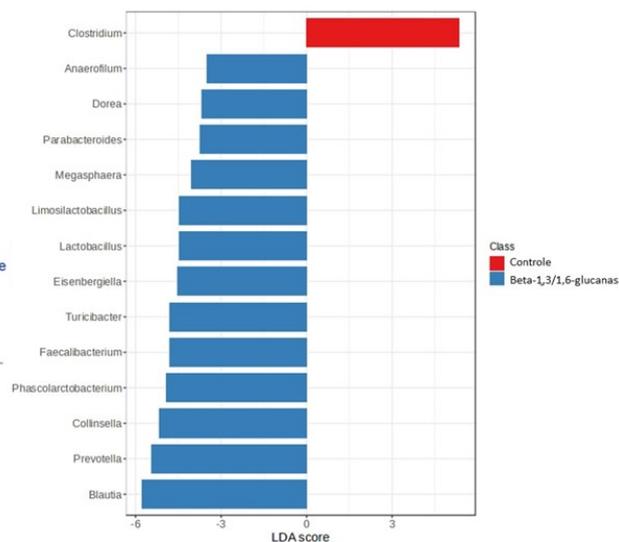


Figura 2. Gêneros bacterianos fecais enriquecidos no grupo Controle e Beta-1,3/1,6-glucanas no dia 34. P ajustado  $< 0,05$  pelo teste LEfSe.

**Conclusão:** A ingestão de beta-1,3/1,6-glucanas pode modular positivamente o microbioma fecal de cães filhotes, por meio do aumento da riqueza bacteriana e de gêneros relacionados a eubiose como, *Faecalibacterium*, *Blautia* e *Turicibacter*. Ainda, pode reduzir a abundância do gênero *Clostridium* e promover menor variação nas comunidades bacterianas após desafio cirúrgico.

**Agradecimentos:** Agradecimento ao CNPQ pela bolsa do primeiro autor, Biorigin pelo apoio à pesquisa e VB alimentos pelo suporte ao laboratório.

**Referências Bibliográficas:** ALSHAWAQFEH, M. K. *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, 2017. BLAKE, A. B.; SUCHODOLSKI, J. S. Importance of gut microbiota for the health and disease of dogs and cats. *Animal Frontiers*, v. 6, n. 3, p. 37–42, 2016. FEDIAF. The European Pet Food Industry Federation. Nutritional guidelines for complete and complementary pet food for cats and dogs. Bruxelas, Belgian: The European Pet Food Industry Federation, 2021. FUNG, T. C. *et al.* Intestinal serotonin and fluoxetine exposure modulate bacterial colonization in the gut. *Nature Microbiology*, v. 4, n. 12, p. 2064–2073, 2019. LANGON, X. Validation of method for faecal sampling in cats and dogs for faecal microbiome analysis. *BMC Veterinary Research*, v. 19, n. 1, p. 274, 2023. LEE, H.-J. *et al.* Antimicrobial activity of dominant *Ligilactobacillus animalis* strains in healthy canine feces and their probiotic potential. *FEMS Microbiology Letters*, v. 369, n. 1, 2022. MARCHI, P. H. *et al.* Effects of Increasing Levels of Purified Beta-1,3/1,6-Glucans on the Fecal Microbiome, Digestibility, and Immunity Variables of Healthy Adult Dogs. *Microorganisms*, v. 12, n. 1, p. 113, 2024. SOUZA, R. B. M. dos S. de *et al.* Effects of dietary supplementation with a blend of functional oils to fecal microbiota, and inflammatory and oxidative responses, of dogs submitted to a periodontal surgical challenge. *Animal Feed Science and Technology*, v. 295, 2023.