

MICROBIOMA INTESTINAL, METABÓLITOS DE FERMENTAÇÃO E CARACTERÍSTICAS FECAIS DE CÃES SAUDÁVEIS ALIMENTADOS COM DIETA COADJUVANTE PARA DISTÚRBIOS GASTROINTESTINAIS

LORENN A. SANTOS¹, LAIANE S. LIMA¹, HELOÍSA L. SILVA¹, EDUARDA L. FERNANDES¹, RENATA B. M. S. SOUZA¹, THAINÁ B. MEDEIROS¹, LAURA CHICORIA¹, ANANDA P. FÉLIX¹.

¹Universidade Federal do Paraná, UFPR, Campus Ciências Agrárias, Curitiba, PR, Brasil

Contato: loreнна.araújo@ufpr.br / Apresentador: LORENN A. SANTOS.

Resumo: Objetivou-se avaliar o perfil do microbioma fecal, metabólitos de fermentação e características fecais de cães saudáveis alimentados com dieta coadjuvante para distúrbios gastrointestinais (G). Foram utilizados 16 cães adultos da raça Beagle, alimentados com a dieta controle (CO) por 20 dias. Posteriormente, o grupo CO continuou com a dieta CO (n=8) e o grupo teste iniciou a dieta G (n=8) por 30 dias. Fezes frescas foram coletadas nos dias 0, 3, 15 e 30 do experimento para análises de ácidos graxos de cadeia curta e ramificada, amônia, pH, matéria seca e microbiota fecal. Os dados de alfa-diversidade foram analisados por Kruskal-Wallis (P<0,05) e a beta-diversidade por PERMANOVA (P<0,05). Foi aplicada a análise discriminante linear (LDA) do tamanho do efeito (LEfSe) (P ajustado<0,05) e análise de componentes principais (PCA) utilizando matriz de correlação (P<0,05). Houve diferenciação do microbioma fecal dos cães dos grupos CO e G (P<0,05), com aumento de *Streptococcus* nas fezes do grupo CO e aumento de *Turicibacter* e *Faecalibacterium* nas fezes do grupo G. Ocorreu correlação entre a dieta G e variáveis relacionadas com a funcionalidade intestinal, como o butirato. Conclui-se que a dieta G pode modular benéficamente o microbioma fecal de cães saudáveis.

PalavrasChaves: Butirato; eubiose; *Faecalibacterium*.

GUT MICROBIOME, FERMENTATION METABOLITES, AND FECAL CHARACTERISTICS OF HEALTHY DOGS FED A COADJUVANT DIET FOR GASTROINTESTINAL DISORDERS

Abstract: The objective was to evaluate the fecal microbiome profile, fermentation metabolites and fecal characteristics of healthy dogs fed a coadjuvant diet for gastrointestinal disorders (G). Sixteen adult Beagle dogs were fed the control diet (CO) for 20 days. Subsequently, the CO group continued on the CO diet (n=8) and the test group started on the G diet (n=8) for 30 days. Fresh feces was collected on days 0, 3, 15 and 30 of the experiment for analysis of short and branched chain fatty acids, ammonia, pH, dry matter and fecal microbiota. Alpha-diversity data was analyzed by Kruskal-Wallis (P<0.05) and beta-diversity by PERMANOVA (P<0.05). Linear discriminant analysis (LDA) of effect size (LEfSe) (adjusted P<0.05) and principal component analysis (PCA) using correlation matrix (P<0.05) were applied. There was a differentiation in the fecal microbiome of dogs in the CO and G groups (P<0.05), with an increase in *Streptococcus* in the feces of the CO group and an increase in *Turicibacter* and *Faecalibacterium* in the feces of the G group. There was a correlation between the G diet and variables related to intestinal functionality, such as butyrate. It is concluded that the G diet can beneficially modulate the fecal microbiome of healthy dogs.

Keywords: Butyrate; eubiosis; *Faecalibacterium*.

Introdução: Doenças gastrointestinais em cães abrangem uma variedade de enfermidades, como as enteropatias crônicas. Animais afetados por essas condições demonstram alterações no perfil da microbiota fecal, como um aumento de microrganismos indesejados (HONNEFFER et al., 2014). Assim, a composição e a digestibilidade das dietas desempenham papel crucial no manejo de doenças gastrointestinais em cães (LENOX, 2021), pois certos nutrientes ou aditivos são capazes de modular a microbiota intestinal, servindo de substrato para o crescimento de bactérias específicas. Além disso, a fermentação moderada de fibras prebióticas pode resultar na produção de metabólitos com ação anti-inflamatória, o que pode ser especialmente benéfico para cães com enteropatias crônicas (PILLA E SUCHODOLSKI, 2021). Assim, objetivou-se avaliar o perfil da microbiota fecal, metabólitos de fermentação e características fecais de cães saudáveis alimentados com uma dieta coadjuvante formulada para distúrbios gastrointestinais.

Material e Métodos: Foram avaliadas duas dietas, controle (dieta seca extrusada para cães adultos, CO) e teste (dieta seca extrusada para distúrbios gastrointestinais, G). A dieta CO apresentou: 24,18% de proteína bruta (PB), 9,19% de cinzas, 3,81% de fibra bruta (FB) e 10,40% de extrato etéreo ácido (EEA). A dieta G apresentou 31,30% de PB, 2,09% de FB, 9,97% de cinzas e 18,55% de EEA, com base na matéria seca (MS). Foram utilizados 16 cães adultos da raça Beagle (8 machos e 8 fêmeas), com 1 ano e peso corporal de 10,3±0,86 kg, distribuídos inteiramente ao acaso (n=8/grupo). Todos os cães foram alimentados com a dieta CO por 20 dias. Posteriormente, 8 cães permaneceram consumindo a dieta CO e o grupo teste foi transicionado para a dieta G. Fezes frescas foram coletadas nos dias 0, 3, 15 e 30 após a divisão dos grupos CO e G, para avaliação nas fezes de pH (pHmetro digital), escore (CARCIOFI et al., 2009); amônia (BRITO et al., 2010), MS e AGCC e ramificada (AGCR), por cromatografia gasosa. A microbiota fecal foi analisada por sequenciamento do gene 16S rRNA. Os dados de alfa-diversidade foram analisados por Kruskal-Wallis (P<0,05) e a beta-diversidade por dissimilaridade de Bray-curtis. Foi aplicada a análise discriminante linear (LDA) do tamanho do efeito (LEfSe) para comparar os gêneros bacterianos entre os tratamentos em cada período (P ajustado <0,05). Para avaliar a relação entre as dietas e as características fecais, metabólitos de fermentação e microbiota fecal no dia 30, os dados foram submetidos à análise de componentes principais (PCA) utilizando matriz de correlação (P<0,05).

Resultado e Discussão: Não houve efeito das dietas sobre os índices de alfa-diversidade do microbioma fecal ($P > 0,05$, não apresentados). Contudo, a análise da beta-diversidade revelou diferenciação progressiva no perfil geral do microbioma após consumo da dieta G, em relação à CO ($P < 0,05$, Figura 1). Em relação a composição da microbiota fecal, foram observadas diferenças na abundância de gêneros que compõem o índice de disbiose canino (ALSHAWAQFEH et al., 2017). Destaca-se maior abundância fecal de *Streptococcus* nos dias 3 (LDA = 5,70), 15 (LDA = 5,72) e 30 (LDA = 5,85) no grupo CO e maior de *Turicibacter* nos dias 15 (LDA = -4,43) e 30 (LDA = -4,68) e *Faecalibacterium* no dia 30 (LDA = -5,23) no grupo G ($P < 0,05$, não apresentados). Em relação as demais variáveis, no dia 30, observou-se que a dieta CO se correlacionou positivamente com maior pH e abundâncias relativas de *Streptococcus*, *Blautia* e *Escherichia coli* ($P < 0,05$, Figura 2). Maior MS e escore fecal, bem como maiores concentrações fecais de amônia, AGCR totais, butirato, *Turicibacter* e *Faecalibacterium* foram correlacionadas positivamente com a dieta G ($P < 0,05$, Figura 2). Esses resultados são relacionados à animais saudáveis (ALSHAWAQFEH et al., 2017). Inclusive, o *Faecalibacterium* é conhecido por ser um dos principais produtores de butirato no intestino (ZHOU et al., 2018), corroborando com os resultados do aumento do butirato no grupo G, o que pode ser benéfico para cães com distúrbios gastrointestinais (PILLA E SUCHODOLSKI, 2021).

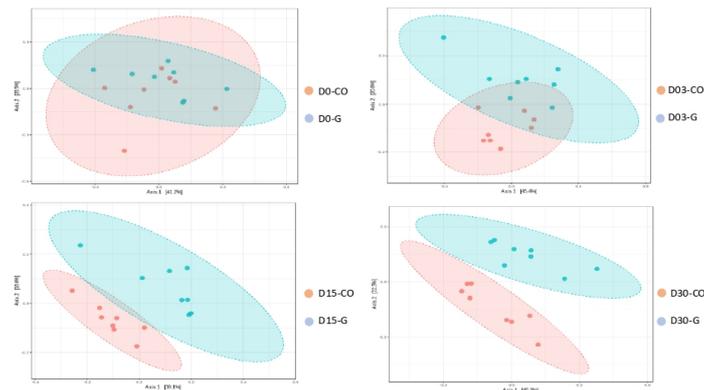


Figura 1. Beta-diversidade indicando a diferenciação das comunidades bacterianas de cães alimentados com as dietas **controle** e **teste** nos dias (D) 0, 3, 15 e 30. $P < 0,05$ entre os grupos nos dias 3, 15 e 30 ($P < 0,05$). $P = 0,450$ entre os grupos no dia 0.

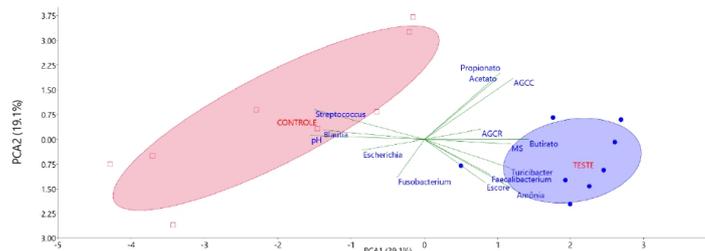


Figura 2. Análise de componentes principais (PCA) das variáveis fecais que se correlacionaram com as dietas **controle** ou **teste** no dia 30. Os vetores indicam as variáveis correlacionadas positivamente com cada dieta ($P < 0,05$). $P < 0,05$ entre os grupos por ANOSIM.

Conclusão: O consumo da dieta para distúrbios gastrointestinais demonstrou melhorar a consistência fecal dos cães. Além disso, foi capaz de modular a microbiota fecal e seus metabólitos, promovendo aumento de bactérias relacionadas a eubiose, como *Turicibacter* e *Faecalibacterium* e aumentando as concentrações de butirato fecal.

Agradecimentos: Agradecimento a Adimax pelo apoio à pesquisa e a 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. BRITO, C. B. M. et al. Digestibility and palatability of dog foods containing different moisture levels, and the inclusion of a mould inhibitor. **Animal Feed Science and Technology**, v. 159, n. 3–4, p. 150–155, ago. 2010. CARCIOFI, A. C. et al. Comparison of micronized whole soybeans to common protein sources in dry dog and cat diets. **Animal Feed Science and Technology**, v. 151, n. 3–4, p. 251–260, maio 2009. HONNEFFER, J. B. et al. Microbiota alterations in acute and chronic gastrointestinal inflammation of cats and dogs. **World Journal of Gastroenterology**, v. 20, n. 44, p. 16489, 2014. LENOX, C. E. Nutritional Management for Dogs and Cats with Gastrointestinal Diseases. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, fev. 2021. PILLA, R.; SUCHODOLSKI, J. S. The Gut Microbiome of Dogs and Cats, and the Influence of Diet. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 51, n. 3, p. 605–621, maio 2021. ZHOU, L. et al. *Faecalibacterium prausnitzii* Produces Butyrate to Maintain Th17/Treg Balance and to Ameliorate Colorectal Colitis by Inhibiting Histone Deacetylase 1. **Inflammatory Bowel Diseases**, v. 24, n. 9, p. 1926–1940, 16 ago. 2018.