

## AVALIAÇÃO DE ADITIVOS SOBRE A DIGESTIBILIDADE, CARACTERÍSTICAS FECALIS, URINÁRIAS E MICROBIOTA DE CÃES

JÉSSICA N. D'AVILA<sup>1</sup>, JÉSSICA F. BARCELLOS<sup>1</sup>, LIEGE TEIXEIRA<sup>1</sup>, MATHEUS N. PERES<sup>1</sup>, THIAGO P. RIBEIRO<sup>2</sup> E LUCIANO TREVIZAN<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil<sup>2</sup>Tectron, Toledo, PR, Brasil

Contato: jessica.davila.neto95@gmail.com / Apresentador: JÉSSICA N. D'AVILA

**Resumo:** Objetivou-se avaliar uma dieta de formulação econômica (DB) frente a inclusão de *Yucca*, Protease, MOS ou uma mistura de *Yucca* + MOS + Protease sobre a digestibilidade dos nutrientes e energia, características fecais e urinárias e interferência sobre a microbiota fecal. Foram utilizados 14 Beagle, divididos em 5 tratamentos, em 3 blocos, cada um de 27 dias, com 10 dias de adaptação entre os blocos e 5 dias para digestibilidade. As médias dos coeficientes de digestibilidade, escore fecal e características urinárias foram submetidas a ANOVA e comparadas por Tukey ( $p < 0,05$ ). Os dados de microbioma foram analisados utilizando a metodologia Dual-index1. Os resultados obtidos foram classificados em 25 filos, 47 classes, 105 ordens, 177 famílias e 347 gêneros. Os tratamentos DB, DB+*Yucca*, DB+Protease, DB+*Yucca*+MOS+Protease apresentaram maior quantidade do filo *Firmicutes* quando comparado ao tratamento DB+MOS, com as classes *Alphaproteobacteria*, *Clostridia*, *Bacteroidia*, *Bacilos* e *Ignavibactérias*. O filo *Firmicutes* está relacionado com a formação de ácidos graxos de cadeia curta proveniente da fermentação de carboidratos, associado a efeitos benéficos pela ação antiinflamatória ou como fonte de energia para os enterócitos, além de do papel na regulação da motilidade intestinal e imunidade.

**PalavrasChaves:** *Yucca*; MOS; protease; efeito sinérgico; microbioma

## EVALUATION OF ADDITIVES ON THE DIGESTIBILITY, FECAL, URINARY CHARACTERISTICS AND MICROBIOTA OF DOGS

**Abstract:** The aim of this study was to evaluate a low-cost diet formulation (DB) with inclusion of *Yucca*, Protease, MOS or a mixture of *Yucca* + MOS + Protease on the digestibility of nutrients and energy, fecal and urinary characteristics, and interference on the fecal microbiota. Fourteen Beagle were used, divided into 5 treatments, in 3 blocks, lasting 27 days each, with 10 days of adaptation between blocks and 5 days for digestibility. The digestibility coefficients, fecal score and urinary characteristics were submitted to ANOVA and compared by Tukey ( $p < 0.05$ ). Microbiome data were analyzed using the Dual-index1 methodology. The results obtained were classified into 25 phyla, 47 classes, 105 orders, 177 families, and 347 genera. The DB, DB+*Yucca*, DB+Protease, DB+*Yucca*+MOS+Protease treatments showed a higher amount of the *Firmicutes* phylum when compared to the DB+MOS, with *Alphaproteobacteria*, *Clostridia*, *Bacteroidia*, *Bacilli* and *Ignavibacteria* classes. The *Firmicutes* phylum is related to the formation of short-chain fatty acids from carbohydrate fermentation, associated with beneficial effects through anti-inflammatory action or as a source of energy for enterocytes, in addition to its role in regulating intestinal motility and immunity.

**Keywords:** *Yucca*; MOS; protease; synergic effect; microbiome;

**Introdução:** Existem diferentes aditivos que podem ser usados em alimentos, adicionados com o propósito de produzir benefícios às dietas (CAPPELLI, MANICA E HASHIMOTO, 2016). O extrato de *Yucca* contribui para o controle do odor das fezes (MAIA *et al.*, 2010); os mananoligossacarídeos (MOS), se ligam às bactérias patogênicas impedindo a fixação no mucosa (SOUZA *et al.*, 2017); e as proteases auxiliam na digestão da proteína e absorção de aminoácidos (NAIDU, 2011) reduzindo o conteúdo indigestível propenso a fermentação no cólon. A associação entre aditivos pode produzir interação na luz intestinal gerando efeitos somatórios ou inibitórios. Os mesmos aditivos podem interferir nos substratos para fermentação podendo impactar na composição da microbiota intestinal. Busca-se nos aditivos fatores que possam preservar a eubiose. Objetivou-se avaliar os efeitos dos aditivos de forma isolada e consorciada sobre a digestão, características fecais e urinárias e sobre a microbiota fecal de cães saudáveis.

**Material e Métodos:** Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética Animal, protocolo número 41825. Foram utilizados 14 cães Beagle com peso médio de 10 kg. A alimentação foi fornecida conforme recomendado pelo NRC (2006) e a água foi fornecida *ad libitum*. Os cães foram distribuídos aleatoriamente em 5 tratamentos usando 3 blocos de 27 dias adotando delineamento em quadrado latino balanceado e incompleto para obter 6 repetições por tratamento. Cada período incluiu uma fase de adaptação de 10 dias, seguida de um ensaio de digestibilidade de 5 dias, sendo realizada a coleta de amostras para análises de microbiota, no último dia experimental de cada bloco. Uma dieta basal de baixo custo foi formulada e extrusada sem aditivos. Os aditivos testes foram adicionados por cima da dieta diretamente no comedouro. Os tratamentos foram elaborados a partir da dieta basal com a inclusão de um ou mais aditivos para produzir as seguintes dietas: Dieta basal (DB), Dieta basal + Extrato de *Yucca* (BY), Dieta basal + Protease (BP), Dieta basal + Extrato de *Yucca* + MOS (BYMOS), Dieta basal + Extrato de *Yucca* + MOS + Protease (BYMOSP). A digestibilidade foi realizada de acordo com o protocolo do NRC (2006) e as análises estatísticas foram realizadas pelo software Jamovi® utilizando ANOVA. As análises de microbiota foram realizadas utilizando a metodologia *Dual-index1*. Procedimentos de modelos mistos foram implementados para determinar o efeito da dieta nos índices de diversidade *Chao1* e *Shannon* através do teste *Kruskall-Wallis*, sendo  $p < 0,05$  considerado significativo.

**Resultado e Discussão:** O fornecimento *on top* dos aditivos foi bem aceito pelos cães. Os coeficientes de digestibilidade não diferiram entre os tratamentos ( $p < 0,5$ ). Apesar da melhora na qualidade fecal ter sido observada com a inclusão de extrato de *Yucca* e MOS (Souza *et al.*, 2017), neste estudo as dietas produziram escore fecal dentro dos parâmetros desejados, embora a dieta controle tenha sido produzida para ser desafiadora. Concluímos que a dieta basal não representou desafio necessário para demonstrar o efeito dos aditivos. *Firmicutes*, *Bacteroides* e *Fusobacterias* foram os filos predominantes nas fezes de cães (Tabela 2). A DB, BY, BP e BYMOSP apresentaram maior quantidade do filo *Firmicutes* quando comparado ao tratamento BYMOS, sendo as classes *Alphaproteobacteria*, *Clostridia*, *Bacteroidia*, *Bacilli* e *Ignavibacteria* as principais representantes. *Firmicutes* está associado com o aumento de produção de ácidos graxos de cadeia curta que promovem benefícios à saúde intestinal com efeitos anti-inflamatórios, além de servir como fonte de energia para os enterócitos, e participar na regulação da motilidade intestinal e imunidade (DENG & SWANSON, 2014). A adição da protease aumentou a abundância relativa de *Lachnospiraceae* em relação a dieta contendo BYMOS ( $p < 0,05$ ). A família *Peptostreptococcaceae* diminuiu no tratamento BY em comparação com BYMOSP ( $p = 0,0430$ ). O gênero *Prevotella* diminuiu no tratamento BP em comparação com BYMOSP ( $p = 0,0269$ ), que pode estar relacionado ao envolvimento na hidrólise de saponinas (KIM, 2017).

**Tabela 1. Médias comparadas do coeficiente de digestibilidade da matéria natural, matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, extrato etéreo, carboidrato, matéria mineral, fibra bruta, energia bruta e parâmetros de qualidade fecal**

	DB <sup>a</sup>	BY <sup>b</sup>	BP <sup>c</sup>	BYMOS <sup>d</sup>	BYMOSP <sup>e</sup>
<b>Coefficiente de digestibilidade (%)</b>					
Matéria Natural	35,5	29,3	31,4	36,5	30,6
Matéria Seca	76,4	74,9	76,6	75,2	74,8
Matéria Orgânica	79,9	78,9	80,1	78,9	78,6
Proteína Bruta	77,8	75,4	78	77,4	76,3
Extrato Etéreo	98	99	99	99	99
Carboidrato	78,5	77,6	78,4	76,8	76,9
Matéria Mineral	39,8	35,1	40,9	37,6	36,1
Fibra Bruta	-11,8	-13	-17,9	-15,9	-18,2
Energia	79,3	77,6	79	78,6	77,3
<b>Parâmetros Fecais<sup>f</sup></b>					
Peso Inicial	10,94	11,87	11,9	11,17	11,92
Peso Final	11,44	11,61	11,97	11,39	12,09
Matéria Natural consumida	1147	1181	1213	1163	1227
Matéria Seca Fezes	32,69	31,61	31,22	34,80	32,54
pH Fecal	6,05	6,09	6,09	6,12	6,05
Escore Fecal <sup>g</sup>	2,21	2,70	2,61	2,19	2,53
pH Urinário	7,31	7,32	7,33	7,70	7,71
Densidade Urinária	1022	1023	1020	1024	1019

<sup>a</sup> Dieta basal; Energia metabolizável: 3162kcal/kg; Proteína: 230 g/kg; Extrato Etéreo: 110 g/kg; Matéria Mineral: 89,5 g/kg; Umidade: 10%.

<sup>b</sup> Dieta basal + Extrato de Yucca

<sup>c</sup> Dieta basal + Protease

<sup>d</sup> Dieta basal + Extrato de Yucca + MOS

<sup>e</sup> Dieta basal + Extrato de Yucca + MOS + Protease

<sup>f</sup> "Escore fecal baseado na seguinte escala: 1 = "tipo bala", esfereola com pouca pressão; 1,5 = duro e seco; fezes racham quando pressionados; 2 = bem formado, não deixa marcas ao ser apanhado; 2,5 = bem formado com superfície levemente úmida, deixa uma marca ao pegar; 3 = úmido, começando a perder a forma, deixando uma marca definida quando apanhado; 3,5 = muito úmido, ainda com alguma forma definida; 4 = umidade perdida, sem forma real; 4,5 = fezes líquidas de consistência leve; 5 = fezes líquidas inteiras.

**Tabela 2. Índices de diversidade alfa [mediana (1<sup>o</sup>; 3<sup>o</sup> quartis)] na microbiota fecal de cães alimentados com dietas experimentais.**

	DB <sup>a</sup>	BY <sup>b</sup>	BP <sup>c</sup>	BYMOS <sup>d</sup>	BYMOSP <sup>e</sup>	p
<b>Riqueza</b>						
Chao1	130 [119;148]	125 [98;164]	130 [124;143]	124 [92;146]	141 [122;148]	0.8306
OUT	128 [118;145]	123 [98;162]	129 [123;138]	124 [92;146]	141 [122;147]	0.8351
Fisher	19,8 [18,0;23,3]	18,9 [14,7;26,1]	19,9 [18,9;21,6]	19,0 [13,4;23,1]	22,1 [18,7;23,3]	0.8351
Simpson	0,91 [0,74;0,95]	0,94 [0,72;0,97]	0,92 [0,86;0,95]	0,89 [0,82;0,95]	0,93 [0,87;0,95]	0.8123
Shannon	3,26 [2,60;3,65]	3,65 [2,71;3,92]	3,54 [3,13;3,68]	3,17 [2,57;3,82]	3,58 [3,23;3,78]	0.6692
<b>Uniformidade</b>						
Pielou	0,67 [0,54;0,76]	0,74 [0,57;0,79]	0,73 [0,65;0,75]	0,67 [0,57;0,76]	0,73 [0,66;0,77]	0.6881

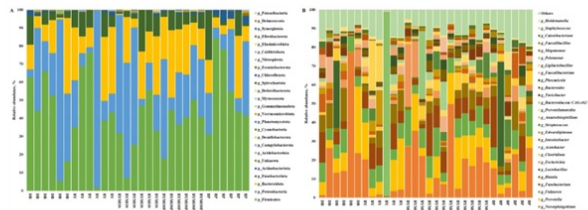
<sup>a</sup> Dieta basal

<sup>b</sup> Dieta basal + Extrato de Yucca

<sup>c</sup> Dieta basal + Protease

<sup>d</sup> Dieta basal + Extrato de Yucca + MOS

<sup>e</sup> Dieta basal + Extrato de Yucca + MOS + Protease



**Figura 1. Abundâncias relativas do filo bacteriano (A) e gêneros (B) nas fezes de cães saudáveis alimentados com as dietas experimentais durante 27 dias. Outros correspondem aos táxons de bactérias com < 1% de abundância. DB: Dieta basal; BY: Dieta basal + Yucca; BYMOS: Dieta basal + MOS + Yucca; BYMOSP: Dieta basal + Yucca + MOS + Protease; BP: Dieta basal + protease.**

**Conclusão:** A dieta basal não representou desafio para demonstrar ação dos aditivos sobre digestibilidade e características fecais. As fezes mantiveram excelente qualidade em todas as dietas. A microbiota sofreu modesta influência dos aditivos com maior proporção do filo *Firmicutes* que estão associados a saúde intestinal.

**Agradecimentos:** Os autores agradecem o apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES e TECTRON – Tecnologia e Inovação.

**Referências Bibliográficas:** CAPPELLI, Sandro; MANICA, Emanuel; HASHIMOTO, Juliano. A importância dos aditivos na alimentação de cães e gatos: revisão da literatura. *Pubvet*, [S.L.], v. 10, n. 3, p. 212-223, mar. 2016. Editora MV Valero. DENG, Ping; SWANSON, Kelly S. Gut microbiota of humans, dogs and cats: current knowledge and future opportunities and challenges. *British Journal Of Nutrition*, [S.L.], v. 113, n. 1, p. 6-17, 21 nov. 2014. Cambridge University Press (CUP). KIM, Dong-Hyun. Gut microbiota-mediated pharmacokinetics of ginseng saponins. *Journal Of Ginseng Research*, [S.L.], v. 42, n. 3, p. 255-263, jul. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jgr.2017.04.011>. MAIA, Gustavo V. C.; SAAD, Flávia M. O. B.; ROQUE, Natália C.; FRANÇA, Janine; LIMA, Lídia M. S.; AQUINO, Adriana A. Zeólitas e *Yucca schidigera* em rações para cães: palatabilidade, digestibilidade e redução de odores fecais. *Revista Brasileira de Zootecnia*, [S.L.], v. 39, n. 11, p. 2442-2446, nov. 2010. FapUNIFESP (SciELO). NAIDU, K. S. Characterization and purification of protease enzyme. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, n. Issue, p. 107-112, 2011. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requirements of dogs and cats. National Academies Press, 2006. SOUZA, Camila M. M; LIMA, Daniele C.; KAELE, Gislaïne C. B.; OLIVEIRA, Simone G.; KURITZA, Leandro N.; FÉLIX, Ananda P. Associação de mananoligossacarídeos e yucca como promotor da saúde intestinal e características fecais de cães. *Archives of Veterinary Science*, v. 23, n. 1, 2018.