

ALTERAÇÕES NA MICROBIOTA FECAL E NO SEU PERFIL FUNCIONAL EM CÃES ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO MAIOR OU MENOR CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNAS E FIBRAS

RENATA B. M. S. SOUZA¹, EDUARDA L. FERNANDES¹; JULIA S. RODRIGUES¹; LAIANE S. LIMA¹; KARINA K. MELOTTO¹; TAÍS S. BASTOS¹; SIMONE G. OLIVEIRA¹; ANANDA P. FÉLIX¹

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

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

Resumo: Objetivou-se avaliar as alterações na microbiota fecal e nos seus genes funcionais em cães alimentados com dietas contendo diferentes concentrações de proteínas e fibras. Foram utilizados 16 cães adultos da raça Beagle (n=8), alimentados inicialmente durante 21 dias com uma dieta contendo menor concentração de proteínas (20,42% de proteína bruta – PB) e fibras (6,10% fibra dietética total – FDT) – BPF e posteriormente, por mais 21 dias com uma dieta contendo maior concentração de proteínas (27,52% PB) e fibras (27,20% FDT) - APF. Ao final do período de alimentação de cada dieta (dias 21 e 42) foram coletadas fezes frescas para avaliação da microbiota fecal e dos seus genes funcionais por sequenciamento *Shotgun*. Os dados foram analisados por meio de análise discriminante linear (LDA) do tamanho do efeito (LEfSe). Foi observado que após o consumo da dieta APF houve aumento da abundância relativa das bactérias *Prevotella* e *Bifidobacterium* (P<0,05). O consumo da dieta BPF resultou em aumento da abundância de *Streptococcus* e maior atividade em vias metabólicas de carboidratos e proteínas (P<0,05), sugerindo menor aproveitamento da dieta.

PalavrasChaves: Saúde intestinal, sequenciamento shotgun, vias metabólicas

CHANGES IN FECAL MICROBIOTA AND FUNCTIONAL PROFILE IN DOGS FED DIETS WITH HIGHER OR LOWER PROTEIN AND FIBER CONCENTRATIONS

Abstract: The aim of this study was to evaluate changes in fecal microbiota and its functional genes in dogs fed diets with varying protein and fiber concentrations. Sixteen adult Beagle dogs (n=8) were fed a lower-protein (20.42% crude protein – CP) and lower-fiber diet (6.10% total dietary fiber – TDF) diet (LPF) for 21 days, followed by a higher-protein (27.52% CP) and higher-fiber (27.20% TDF) diet (HPF) for another 21 days. Fresh feces were collected at the end of each diet feeding period (days 21 and 42) for evaluation of fecal microbiota and its functional genes using shotgun sequencing. Data were analyzed using linear discriminant analysis (LDA) effect size (LEfSe). It was observed that consumption of the HPF diet increased the relative abundance of *Prevotella* and *Bifidobacterium* bacteria (P<0.05). Consumption of the LPF diet resulted in increased abundance of *Streptococcus* and greater activity in carbohydrate and protein metabolic pathways (P<0.05), suggesting reduced efficiency of nutrient utilization.

Keywords: Intestinal health, shotgun sequencing, metabolic pathways

Introdução: A microbiota intestinal tem sido relacionada a diversos processos fisiológicos essenciais à saúde dos cães. Isso ocorre pela presença de um número expressivo de genes que conferem às bactérias uma grande variedade de funções digestivas, associadas a produção de metabólitos alimentares (KHO e LAL, 2018). Por ser dinâmico, o microbioma é altamente influenciado pela dieta. Dentre os nutrientes, as proteínas e fibras presentes na alimentação podem afetar diretamente a composição e o perfil funcional da microbiota, por servirem de substrato para as bactérias no intestino grosso (PILLA e SUCHODOLSKI, 2021). Tal modulação, pode ser benéfica ou não ao hospedeiro, dependendo das concentrações dietéticas e digestibilidade/fermentabilidade desses nutrientes (BERMUDEZ SANCHEZ et al., 2021). Dessa forma, objetivou-se avaliar as alterações na microbiota fecal e nos seus genes funcionais em cães alimentados com dietas que apresentavam maior ou menor concentração de proteínas e fibras.

Material e Métodos: Dezesseis cães adultos da raça Beagle (6 anos, 8 machos e 8 fêmeas), não-castrados e com condição corporal ideal foram alimentados durante 21 dias com uma dieta contendo menor concentração de proteínas (20,42% de proteína bruta – PB) e fibras (6,10% fibra dietética total – FDT, 4,89% insolúvel – FI e 1,21% solúvel - FS) – BPF, seguido por mais 21 dias com uma dieta contendo maior concentração de proteínas (27,52% PB) e fibras (27,20% FDT, 26,10% FI e 1,80% FS) - APF. As dietas continham milho, como única fonte de amido, e farinha de vísceras de aves (FVA), farinha de carne e ossos bovina e farelo de soja (dieta BPF) e FVA e glúten de milho 60 (dieta APF) como fontes proteicas. A dieta APF continha casca de soja e celulose como fontes de fibras. Ao final do período de alimentação de cada dieta (dias 21 e 42) foram coletadas fezes frescas para avaliação da microbiota fecal e dos seus genes funcionais. Após extração do DNA das fezes utilizando o kit *PowerSoil Pro*, o seu sequenciamento foi feito na plataforma *Diversigen* utilizando a técnica *BoosterShot Shallow Shotgun*. O sequenciamento metagenômico foi feito no sistema *Illumina NovaSeq 6000*, resultando em média 2.3 ± 0.8 milhões de leituras/amostra. A identificação das principais vias metabólicas enriquecidas foi feita com base na Enciclopédia de Genes e Genoma de Kyoto (KEGG), utilizando a base de dados de genes do NCBI RefSeq. Os dados (n=16/tratamento) foram analisados por meio de análise discriminante linear (LDA) do tamanho do efeito (LEfSe), considerando valor de P ajustado < 0,05.

Resultado e Discussão: A LEfSe é uma técnica de estatística multivariada utilizada para identificar variáveis com maior poder discriminatório entre tratamentos. Nesse contexto, a LEfSe identificou o aumento na abundância relativa de *Streptococcus* (escore LDA = -2,2) nas fezes do grupo BPF e aumento na *Prevotella* (escore LDA = 2,1) e *Bifidobacterium* (escore LDA = 2,2) no grupo APF (P<0,05). Esse resultado da dieta APF é consistente com os obtidos por Bermudez Sanchez et al. (2020), no qual cães alimentados com dieta com alta fibra e proteína apresentaram aumento do filo Bacteroidetes, ao

qual a *Prevotella* pertence. Esses dois gêneros são correlacionados a eubiose intestinal, indicando possíveis benefícios da dieta APF aos cães (GUARD et al., 2015; ZIESE e SUCHODOLSKI, 2021). Além das mudanças na microbiota, foi identificado enriquecimento em 15 vias metabólicas principais nas fezes do grupo BPF ($P < 0,05$, Figura 1). Dentre elas, cabe citar as vias de transporte e metabolismo de aminoácidos, carboidratos e metabólitos secundários, indicando maior atividade fermentativa no intestino do grupo BPF. Considerando o teor próximo de FS entre as dietas, esse resultado pode estar relacionado à menor digestibilidade da proteína da dieta BPF (83,2%) em relação à APF (87,5%), avaliada em estudo anterior (BASTOS et al., 2023), o que também deve ter contribuído ao aumento do *Streptococcus* (PILLA e SUCHODOLSKI, 2021) Isso demonstra, que a digestibilidade tem papel tão importante quanto à composição química da dieta para modulação da microbiota e suas funções no intestino.

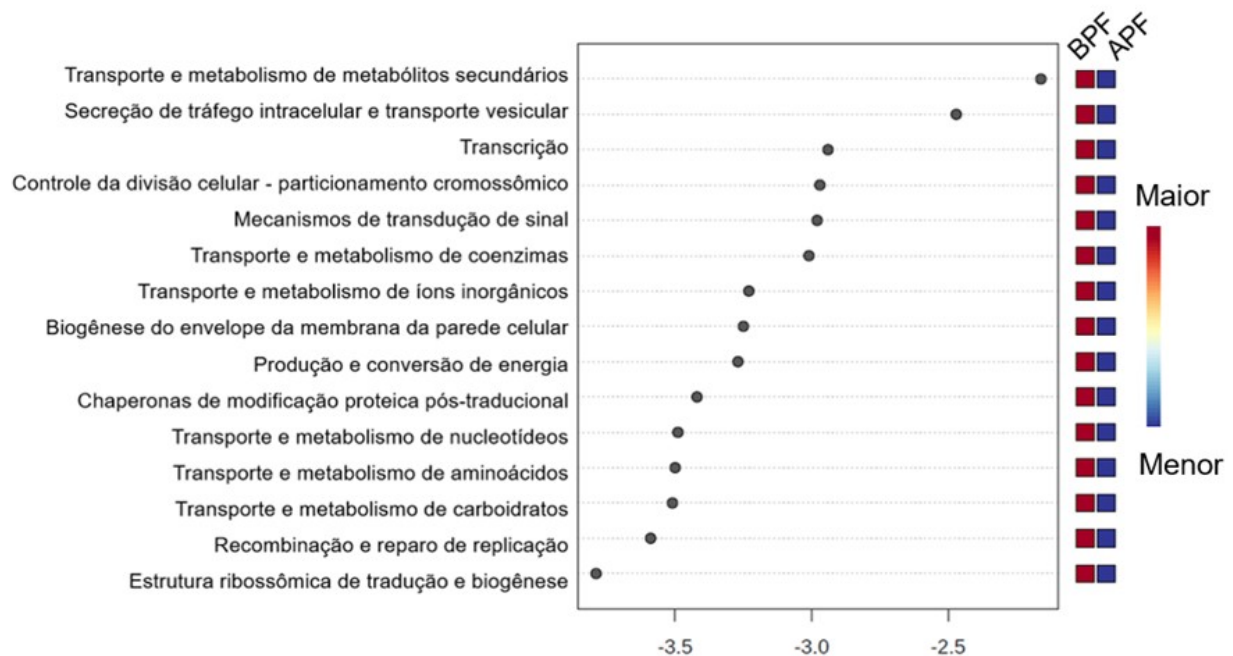


Figura 1. LefSe das principais vias metabólicas enriquecidas nas fezes dos cães alimentados com as dietas com menor (BPF) e maior (APF) concentração de proteína e fibras ($P < 0,05$).

Conclusão: O consumo da dieta APF modulou positivamente a composição da microbiota, por meio do aumento da abundância relativa de bactérias relacionadas a eubiose, como *Prevotella* e *Bifidobacterium*. O consumo da dieta BPF resultou em aumento da abundância de *Streptococcus* e maior enriquecimento de vias metabólicas de carboidratos, proteínas e metabólitos secundários, sugerindo menor aproveitamento da dieta.

Agradecimentos: Agradecimento ao CNPQ pelo apoio financeiro com a bolsa do primeiro autor.

Referências Bibliográficas: BASTOS, T. S. et al. Effect of Yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a Probiotic on Diet Digestibility, Fermentative Metabolites, and Composition and Functional Potential of the Fecal Microbiota of Dogs Submitted to an Abrupt Dietary Change. *Microorganisms*, v. 11, n. 2, p. 506, 17 fev. 2023. BERMUDEZ SANCHEZ, S. et al. Fecal microbiota in client-owned obese dogs changes after weight loss with a high-fiber-high-protein diet. *PeerJ*, v. 8, p. e9706, 5 out. 2020. BERMUDEZ SANCHEZ, S. et al. Untargeted fecal metabolome analysis in obese dogs after weight loss achieved by feeding a high-fiber-high-protein diet. *Metabolomics*, v. 17, n. 7, p. 66, 2021. GUARD, B. C. et al. Characterization of Microbial Dysbiosis and Metabolomic Changes in Dogs with Acute Diarrhea. *PLOS ONE*, v. 10, n. 5, p. e0127259, 22 maio 2015. KHO, Z. Y.; LAL, S. K. The Human Gut Microbiome – A Potential Controller of Wellness and Disease. *Frontiers in Microbiology*, v. 9, 14 ago. 2018. 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. ZIESE, A.-L.; SUCHODOLSKI, J. S. Impact of Changes in Gastrointestinal Microbiota in Canine and Feline Digestive Diseases. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v. 51, n. 1, p. 155–169, jan. 2021.