

EFEITOS DA IDADE SOBRE A DIGESTIBILIDADE DA DIETA E METABÓLITOS DE FERMENTAÇÃO E MICROBIOTA INTESTINAL DE CAES EM CRESCIMENTO

EDUARDA L. FERNANDES¹, KARINA K. MELOTTO¹; LAIANE S. LIMA¹; RENATA B. M. S. SOUZA¹; MARCELLE PONS¹; JULIA S. RODRIGUES¹; SIMONE G. OLIVEIRA¹; ANANDA P. FÉLIX¹

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

Resumo: Objetivou-se avaliar o efeito da idade sobre os coeficientes de digestibilidade (CDA) da dieta e metabólitos de fermentação e microbiota intestinal de cães em crescimento. Oito cães da raça Beagle em crescimento foram alimentados com dieta seca extrusada para cães filhotes durante 105 dias (dos 2,5-3 aos 6 meses de idade). Foram realizadas análises dos CDA da dieta, metabólitos de fermentação (ácidos graxos de cadeia curta – AGCC e ramificada – AGCR e amônia) e microbiota fecal nos 3 e 6 meses de idade. Houve redução no CDA do extrato etéreo em hidrólise ácida e aumento da matéria seca, amônia e AGCC nas fezes dos cães aos 6 meses ($P < 0,05$). Foi observada maior riqueza da microbiota nos cães aos 3 meses ($P < 0,05$), mas sem diferença na diversidade (índice de Shannon) entre as duas idades ($P > 0,05$). Os animais com 6 meses apresentaram maior abundância dos gêneros *Blautia*, *Fusobacterium* e *Faecalibacterium* e menor abundância de *Streptococcus* ($P < 0,05$). Os resultados mostram que a maioria dos CDA da dieta não se altera, mas os metabólitos de fermentação e a composição e riqueza da microbiota intestinal de cães mudam dos 3 aos 6 meses de idade, sugerindo que a microbiota comensal se estabelece ao longo do tempo.

PalavrasChaves: eubiose; funcionalidade intestinal; produtos de fermentação intestinal.

EFFECTS OF AGE ON DIET DIGESTIBILITY AND INTESTINAL METABOLITES AND MICROBIOTA IN GROWING DOGS

Abstract: The objective was to evaluate the effect of age on the apparent digestibility (ADC) of the diet and intestinal metabolites and microbiota of growing dogs. Eight growing Beagle dogs were fed a kibble diet for puppies for 105 days (2.5-3 to 6 months old). Analyzes of diet ADC, intestinal fermentative metabolites (short-chain – SCFA and branched-chain fatty acids – BCFA and ammonia) and microbiota were performed at 3 and 6 months of age. There was a reduction in the ADC of ether extract in acid hydrolysis and an increase in fecal dry matter, ammonia, and SCFA in dogs at 6 months ($P < 0.05$). Greater richness of the microbiota was observed in dogs at 3 months ($P < 0.05$), but without difference in diversity (Shannon index) between both ages ($P > 0.05$). Animals aged 6 months had a higher abundance of *Blautia*, *Fusobacterium*, and *Faecalibacterium* and a lower abundance of *Streptococcus* ($P < 0.05$). The results show that most of the dietary ADC do not differ, but the fermentative metabolites and the composition and diversity of the intestinal microbiota of dogs change with age, suggesting that the commensal microbiota is established over time.

Keywords: eubiosis; intestinal functionality; intestinal fermentation products.

Introdução: Os microrganismos do trato gastrointestinal desempenham papel crucial na saúde, metabolismo e desenvolvimento de seu hospedeiro, podendo modular o ambiente intestinal, os metabólitos de fermentação e interferir na digestibilidade dos alimentos. Entre os muitos fatores que influenciam a composição da microbiota intestinal, a idade é uma das mais críticas (GARRIGUES *et al.*, 2022). Dependendo da composição e da evolução da microbiota durante o crescimento inicial do cão, o impacto na funcionalidade intestinal pode ser maior ou menor (GARRIGUES *et al.*, 2022). Neste contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da idade sobre os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) e energia metabolizável (EM) da dieta e metabólitos de fermentação e microbiota intestinal em cães em crescimento.

Material e Métodos: Foram utilizados 8 cães em crescimento da raça Beagle, sendo 4 machos e 4 fêmeas, com peso inicial de $4,25 \pm 0,53$ kg, e idade inicial de 2,5 a 3 meses. Os cães foram alimentados com a mesma dieta seca extrusada comercial para cães em crescimento, atendendo as recomendações da FEDIAF (2021), durante 105 dias. Os ensaios de digestibilidade foram realizados com 5 dias de coleta total de fezes (AAFCO, 2016), quando os cães completaram 3 e 6 meses de idade. O período de adaptação à dieta foi de 15 dias para os cães aos 3 meses de idade. Foram analisados na dieta e fezes as concentrações de matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo em hidrólise ácida (EEHA), matéria mineral e energia bruta, segundo a AOAC (1995). No 5º dia de coleta de fezes dos ensaios de digestibilidade, foram coletadas fezes frescas para avaliar os produtos de fermentação e a microbiota intestinal. A amônia foi analisada segundo BRITO *et al.* (2010) e os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e ramificada (AGCR) foram analisados por cromatografia gasosa. A microbiota foi analisada por meio de sequenciamento do gene 16S rRNA. Os dados de digestibilidade e produtos de fermentação intestinal foram analisados pelo teste t-Student ($P < 0,05$). Os dados de microbiota foram analisados pelo teste U de Mann-Whitney ($P < 0,05$). A beta-diversidade foi representada por meio da análise de coordenadas principais (PCoA) usando dissimilaridade de Bray-Curtis ($P < 0,05$, PERMANOVA).

Resultado e Discussão: Não houve diferença nos CDA e EM da dieta ao comparar as idades estudadas ($P > 0,05$, dados não apresentados). Contudo, ocorreu redução (87,4%-85,2%, $P < 0,05$) no CDA do EEHA e aumento da matéria seca fecal (MSf, 26,7%-29,0%) em cães aos 6 meses comparados aos 3 meses de idade ($P < 0,05$). Em estudo semelhante, FÉLIX *et al.* (2013) também observaram maior digestibilidade do EEHA e menor MSf em cães mais novos. Os cães aos 6 meses de idade apresentaram maior concentração fecal de amônia, acetato, propionato, butirato e AGCC totais ($P < 0,05$, Tabela 1), sem diferença nos AGCR ($P > 0,05$, dados não apresentados). O aumento na produção desses metabólitos pode ser explicado pelas

alterações encontradas na microbiota dos cães durante o seu crescimento (ZIESE e SUCHODOLSKI, 2021). Dentre as alterações observadas, os cães com 6 meses apresentaram maior abundância de *Blautia*, *Fusobacterium* e *Faecalibacterium*, os quais são importantes produtores de AGCC, e menor abundância de *Streptococcus* ($P < 0,05$, Tabela 2). Esses resultados estão relacionados com a melhora na eubiose intestinal (ALSHAWAQFEH *et al.*, 2017). Além dessas diferenças, a análise da beta-diversidade encontrou distinções gerais no perfil das comunidades bacterianas intestinais entre os cães de 3 e 6 meses de idade (PCoA1 54,70% e PCoA2 9,48%) ($P < 0,05$). Em relação à alfa-diversidade, embora a riqueza bacteriana indicada pelo índice de chao1 e número de OTUs tenha sido maior nos cães com 3 meses, a diversidade da microbiota indicada pelo índice de Shannon não apresentou diferença significativa entre as idades estudadas ($P > 0,05$, Tabela 2).

Tabela 1. Médias da concentração fecal de amônia (%) e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC, $\mu\text{mol/g}$) de cães filhotes com 3 e 6 meses de idade.

Item	3 meses	6 meses	EPM	P
Amônia	0,13	0,22	0,017	0,005
Acetato	60,61	75,51	3,190	0,010
Propionato	25,22	30,76	1,266	0,018
Butirato	7,29	9,74	0,464	0,002
AGCC totais	93,13	116,00	4,571	0,005

EPM: erro padrão da média; P: probabilidade pelo teste t-Student ($P < 0,05$).

Tabela 2. Medianas (mínimo-máximo) dos índices de alfa-diversidade e abundância relativa (%) dos principais gêneros bacterianos nas fezes de cães filhotes com 3 e 6 meses de idade.

Item	3 meses	6 meses	P
Alfa-diversidade			
Otus	261,2 (224-336)	197,0 (187-233)	<0,001
Chao1	309,0 (245-421)	224,1 (197-257)	<0,001
Shannon	3,82 (3,03-4,24)	3,67 (3,49-3,87)	0,867
Abundância relativa (%)			
<i>Blautia</i>	6,02 (1,30-11,03)	16,13 (9,40-19,17)	<0,001
<i>Fusobacterium</i>	3,82 (0,61-9,54)	9,15 (2,74-36,78)	0,047
<i>Faecalibacterium</i>	0,83 (0,02-4,01)	2,83 (0,41-10,59)	0,042
<i>Streptococcus</i>	3,13 (0,83-6,69)	0,26 (0,01-1,19)	<0,001

Conclusão: Os resultados mostram que a maioria dos CDA da dieta não se altera, mas que a composição, diversidade e metabólitos produzidos pela microbiota intestinal de cães mudam dos 3 aos 6 meses de idade, sugerindo que a microbiota comensal se estabelece ao longo do tempo.

Agradecimentos: À Dalpet pelo apoio ao projeto.

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, p. fix136, 2017. Association of American Feed Control Officials, 2016. Dog and Cat Nutrient Profiles. Official Publications of the Association of American Feed Control Officials Incorporated. AAFCO, Oxford, IN, USA. Association of the Official Analytical Chemists, AOAC. 1995. Official Methods of Analysis, 16th ed. AOAC, Washington, D. C, USA. 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, 2010. FEDIAF. The European Pet Food Industry Federation. 2021. Nutritional guidelines for complete and complementary pet food for cats and dogs. Bruxelas, Belgian: The European Pet Food Industry Federation. FÉLIX, A. P. *et al.* Digestibility and metabolizable energy of raw soybeans manufactured with different processing treatments and fed to adult dogs and puppies. *Journal of Animal Science*, v. 91, n. 6, p. 2794-2801, 2013. 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*, p. 1323, 2022. ZIESE, A. L.; SUCHODOLSKI, J. S. Impact of changes in gastrointestinal microbiota in canine and feline digestive diseases. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, v. 51, n. 1, p. 155-169, 2021.