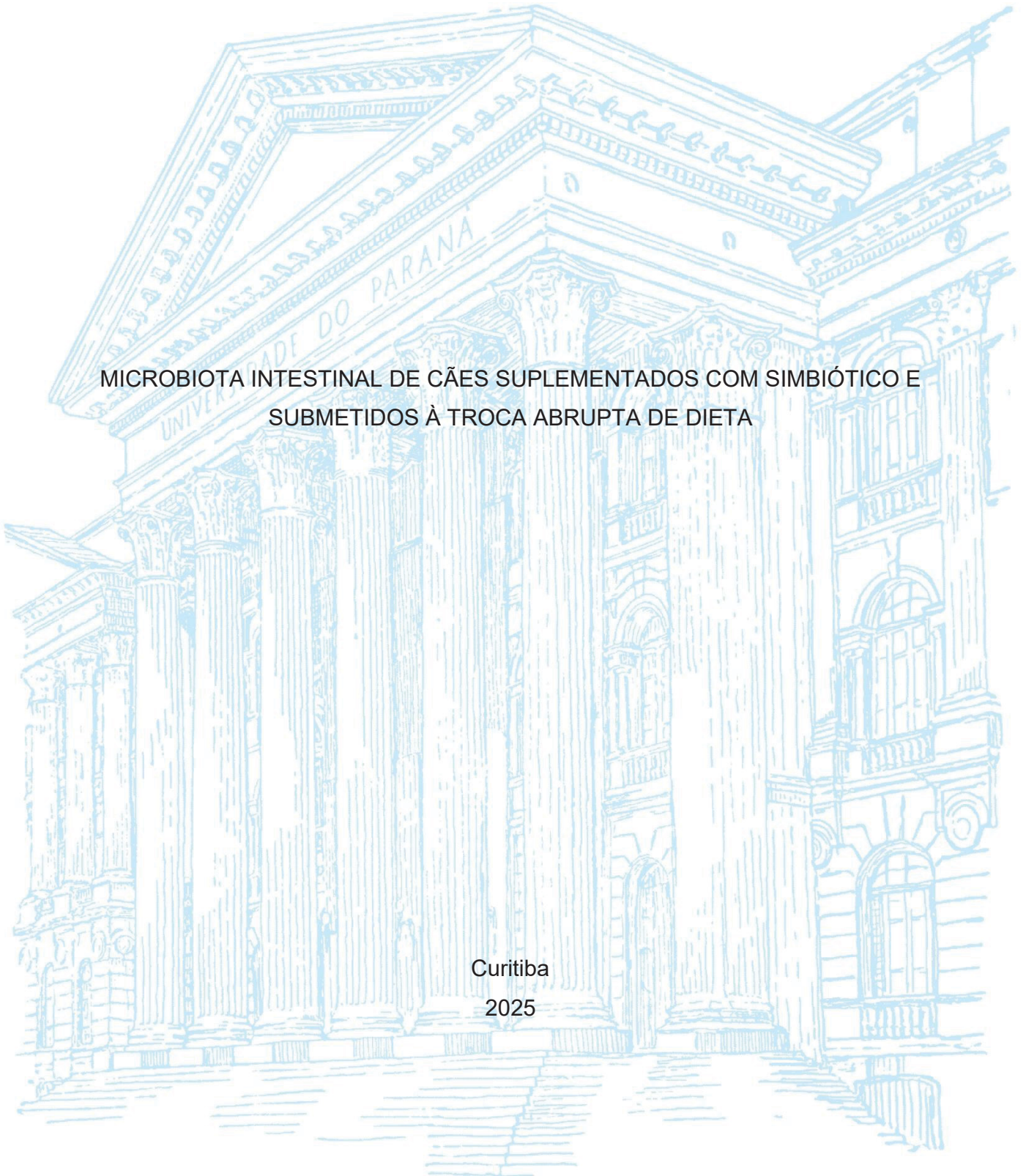


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

PRISCILA DE MORAES SANCHES VILLA

MICROBIOTA INTESTINAL DE CÃES SUPLEMENTADOS COM SIMBIÓTICO E  
SUBMETIDOS À TROCA ABRUPTA DE DIETA

Curitiba  
2025



PRISCILA DE MORAES SANCHES VILLA

MICROBIOTA INTESTINAL DE CÃES SUPLEMENTADOS COM SIMBIÓTICO E  
SUBMETIDOS À TROCA ABRUPTA DE DIETA

Dissertação apresentada ao curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ananda Portella Félix

Curitiba

2025

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO  
(CIP) UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Villa, Priscila de Moraes Sanches

Microbiota intestinal de cães suplementados com simbiótico e submetidos à troca abrupta de dieta / Priscila de Moraes Sanches Villa. – Curitiba, 2025.

1 recurso online: PDF.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

Orientadora: Profa. Dra. Ananda Portella Félix

1. Dieta. 2. Probiótico. 3. Cão. I. Félix, Ananda Portella. II. Universidade Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.

Bibliotecária: Talita Nunes Silva Gonçalves CRB-9/2244

# FOLHA DE APROVAÇÃO



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIAS  
VETERINÁRIAS - 40001016023P3

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação CIÊNCIAS VETERINÁRIAS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **PRISCILA DE MORAES SANCHES VILLA**, intitulada: **MICROBIOTA INTESTINAL DE CÃES SUPLEMENTADOS COM SIMBIÓTICO E SUBMETIDOS À TROCA ABRUPTA DE DIETA**, sob orientação da Profa. Dra. ANANDA PORTELLA FÉLIX, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua **APROVAÇÃO** no rito de defesa. A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 21 de Fevereiro de 2025.

Assinatura Eletrônica

26/02/2025 08:02:39.0

ANANDA PORTELLA FÉLIX

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

06/03/2025 09:54:54.0

SIMONE GISELE DE OLIVEIRA

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

26/02/2025 10:26:06.0

MARIANA SCHERAIBER

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE TUIUTI DO PARANÁ)

*Dedicação:*

*Minha família e meus amigos.*

|

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pela força e paz que Ele me dá diante das adversidades.

Ao meu pai Cezar Sanches, que nunca mediu esforços para minha formação profissional e sempre me incentivou.

À minha mãe Marcia Sanches, que é minha inspiração e apoio. Obrigado por todo o seu apoio e dedicação ao longo desses dois anos.

À minha avó Aparecida, companheira e amiga, de quem sentimos falta.

Aos meus amigos, pelo apoio incondicional.

À minha família, especialmente às minhas irmãs Carolina e Gabriela.

Aos meus amigos, que me apoiaram e me ajudaram a tornar a jornada mais fácil. Eu amo todos vocês com todo o meu coração!

Ao meu filhote de quatro patas Homer, por estar comigo em todos os momentos da minha vida acadêmica.

A todos os professores que tive a honra de conhecer ao longo da minha pós-graduação.

À minha supervisora Ananda Portella Félix pelo conhecimento compartilhado, oportunidades, conselhos, empatia e confiança em minhas habilidades. Minha profunda e eterna gratidão.

Aos professores Alex Maiorka, Simone Oliveira, Chayane Rocha, pelo apoio e ensino.

Agradeço imensamente a Organnact pelo apoio e incentivo a pesquisa.

## RESUMO

Situações estressantes, como mudanças abruptas na dieta, podem afetar negativamente a composição da microbiota intestinal e causar distúrbios gastrointestinais. Nesse contexto, os simbióticos têm sido objeto de estudos por sua capacidade de modular a microbiota intestinal e seus metabólitos. Dessa forma, objetivou-se avaliar o efeito da suplementação desimbiótica sobre as características fecais e microbiota intestinal em cães adultos saudáveis submetidos a uma mudança abrupta na dieta. Foram utilizados 16 cães adultos da raça Beagle, os quais foram divididos aleatoriamente em dois grupos, placebo, sem inclusão de aditivos (n=8), e simbiótico, com suplementação de cepas bacterianas probióticas e parede celular de levedura (n=8). Foi fornecido via oral duas cápsulas de placebo (grupo placebo) ou duas de simbiótico (grupo simbiótico) por animal por dia de modo cego e, portanto, os pesquisadores não tinham conhecimento sobre os tratamentos realizados (uma vez ao dia). O estudo teve duração de 40 dias, sendo que durante os primeiros 20 dias, todos os cães foram alimentados com uma dieta de alta digestibilidade e, em seguida foram transicionados abruptamente para uma dieta de baixa digestibilidade por mais 20 dias. Durante todo o estudo os cães se mantiveram nos grupos placebo e simbiótico. Fezes frescas foram coletadas nos dias 20, 22 e 40 do experimento para avaliação de matéria seca, score, amônia, pH e microbiota fecal. A quantificação dos táxons bacterianos foi realizada por qPCR e o índice de disbiose foi calculado. Os dados foram analisados por ANOVA e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). Não foi observado efeito do simbiótico sobre as características fecais ou sobre o índice de disbiose ( $P > 0,05$ ). Entretanto, houve aumento de *Bifidobacterium* e bactérias universais apenas nas fezes do grupo placebo logo após a troca abrupta de dieta ( $P < 0,05$ ). Houve aumento no índice de disbiose e na abundância de *Escherichia coli* imediatamente após a troca abrupta de dieta ( $P < 0,05$ ), independentemente da suplementação com simbiótico. Além disso, observou-se aumento de *Clostridium hiranonise*, redução no *Streptococcus*, *Bifidobacterium* e *Bacteroides* nas fezes com o consumo da dieta de alta digestibilidade ( $P < 0,05$ ). Conclui-se que a transição abrupta de dieta pode induzir aumento no índice

de disbiose em cães e que a digestibilidade dos nutrientes apresenta maior influência sobre a composição da microbiota intestinal que a suplementação do simbiótico em cães saudáveis, ou seja, não apresentavam diarreia osmótica.

**Palavras-chave:** digestibilidade; disbiose; probiótico.

## ABSTRACT

Stressful situations, such as abrupt dietary changes, can negatively affect the composition of the intestinal microbiota and may result in gastrointestinal disorders. In this context, symbiotics have been the subject of studies due to their ability to modulate the intestinal microbiota and its metabolites. This study aimed to evaluate the effect of symbiotic supplementation on fecal characteristics and intestinal microbiota in healthy adult dogs undergoing an abrupt dietary change. Sixteen adult Beagle dogs were randomly divided into two groups: placebo, without (n=8), and symbiotic, with supplementation of probiotic bacterial strains and yeast cell wall (n=8). Two placebo capsules (placebo group) or two symbiotic capsules (symbiotic group) per animal per day were provided orally in a single-blind design, so the researchers did not know the treatments. The study lasted for 40 days, and in the first 20 days all dogs were fed a high-digestible diet and then were abruptly transitioned to a low-digestible diet for another 20 days. During all the study the dogs were kept in the same placebo or symbiotic groups. Fresh feces were collected on days 20, 22, and 40 of the experiment to assess dry matter, score, ammonia, pH, and fecal microbiota. The bacterial taxa were quantified by qPCR and the dysbiosis index was calculated. The data was analyzed by ANOVA and the means were compared using the Tukey test ( $P < 0.05$ ). There was no effect of the symbiotic on fecal characteristics or the dysbiosis index ( $P > 0.05$ ). However, there was an increase in *Bifidobacterium* and total bacteria only in the feces of dogs of the placebo group after the diet change ( $P < 0.05$ ). There was an increase in the dysbiosis index and in the abundance of *Escherichia coli* immediately after the abrupt dietary change ( $P < 0.05$ ), regardless of supplementation. In addition, there was an increase in *Clostridium hiranonis* and a reduction in *Streptococcus*, *Bifidobacterium*, and *Bacteroides* in the feces with the consumption of the high-digestible diet ( $P < 0.05$ ). It is concluded that the abrupt dietary transition can induce an increase in the dysbiosis index in dogs and that nutrient digestibility has a greater influence on the composition of the intestinal microbiota than symbiotic supplementation in healthy dogs.

**Key words:** digestibility; dysbiosis; probiotic.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Índice de disbiose e bactérias quantificadas (logDNA) nas fezes de cães alimentados com dietas de alta (AD) ou baixa (BD) digestibilidade recebendo simbiótico (SIM) ou placebo (PLA).....48

Figura 2 - Características fecais de cães alimentados com dietas de alta (AD) ou baixa (BD) digestibilidade recebendo suplementação de simbiótico ou placebo.....50

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Microrganismos predominantes no trato gastrointestinal de cães .....	178
TABELA 2 - Composição de química dieta de alta e baixa digestibilidade .....	43
TABELA 3 - Médias do índice de disbiose e bactérias fecais de cães alimentados com dieta de alta e baixa digestibilidade, recebendo suplementação de placebo ou simbiótico. ....	46
TABELA 4 - Médias das características fecais de cães alimentados com dietas de alta (AD) e baixa (BD) digestibilidade recebendo suplementação (SU) de placebo (PLA) ou simbiótico (SIM).....	2147

## LISTA DE ABREVIÇÕES

AD	Alta digestibilidade
AGCC	Ácidos graxos de cadeia curta
BD	Baixa digestibilidade
CDA	Coeficiente de digestibilidade aparente
CHO	Carboidratos
EM	Energia metabolizável
EPM	Erro padrão da média
FAMs	Frações ativas de manoproteínas
FOS	Fruto-oligossacarídeos
GLP-1	Peptídeo Semelhante ao Glucagon-1
GOS	Galactooligossacarídeos
ID	Índice de disbiose
IDE	Intestino delgado
IG	Intestino grosso
ISAPP	Associação Científica Internacional de Probióticos
LPS	Lipopolissacarídeos
MOS	Mananoligossacarídeos
MSO	Matéria seca original
PCL	Parede celular de levedura
PLA	Placebo
RH <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Reativos de oxigênio
SID	Semel In Die" ou "uma vez ao dia
SIM	Simbiótico
TGI	Trato gastrointestinal
TR	Transição ração
TRL	Receptores Toll-like
UFC	Unidades formadoras de colônia

## LISTA DE SÍMBOLOS

®	Marca registrada
α	Alpha
β	Beta
μ	Micro ( $10^{-6}$ )
γ	Gamma

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>16</b>
1.1. OBJETIVOS .....	17
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>18</b>
2.1 MICROBIOTA INTESTINAL .....	18
2.2 MICROBIOTA INTESTINAL CANINA.....	19
2.4 PROBIÓTICOS .....	21
2.4.1 Utilização de probióticos.....	22
2.4.2 Cepas bacterianas probióticas .....	24
2.4.3 Leveduras probióticas .....	24
2.5 PREBIÓTICOS.....	26
2.5.1 Utilização de prebióticos.....	27
2.6 SIMBIÓTICOS.....	29
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>30</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>31</b>
<b>CAPÍTULO II - MICROBIOTA INTESTINAL DE CÃES SUPLEMENTADOS COM SIMBIÓTICOS E SUBMETIDOS À TROCA ABRUPTA DE DIETA.....</b>	<b>39</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>39</b>
<b>GUT MICROBIOME OF DOGS SUPPLEMENTED WITH SYMBIOTICS AND SUBMITTED TO AN ABRUPT DIETARY CHANGE.....</b>	<b>41</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>41</b>
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>42</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>42</b>
2.1 ANIMAIS E INSTALAÇÕES.....	43
2.2 TRATAMENTOS EXPERIMENTAIS.....	44
2.3 ANÁLISES LABORATORIAIS.....	45
2.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	46
<b>3 RESULTADOS.....</b>	<b>46</b>
<b>4 DISCUSSÃO.....</b>	<b>51</b>
<b>5 CONCLUSÃO.....</b>	<b>52</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>53</b>

<b>APÊNDICE 1 - COMISSÃO DE ÉTICA.....</b>	<b>58</b>
<b>APÊNDICE 2 - CERTIFICADO DE TRADUÇÃO CAPA UFPR.....</b>	<b>59</b>

## Capítulo 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

### 1. INTRODUÇÃO

O trato gastrointestinal é formado pela cavidade oral, faringe, intestino delgado, intestino grosso, ânus, glândulas anexas fígado e pâncreas. Suas principais funções incluem a digestão de alimentos, a absorção de água e nutrientes, a manutenção do equilíbrio energético e a modulação do sistema imunológico. Além disso, atua como uma barreira protetora contra microrganismos potencialmente patogênicos (Junqueira *et al.*, 2017).

Comumente cães são expostos a situações estressantes, como desmame, mudanças abruptas na alimentação, doenças e uso de medicamentos. Essas situações têm o potencial de alterar a composição e diversidade da microbiota intestinal (Fernandez *et al.*, 2000), interferindo negativamente no ambiente gastrointestinal, levando a um estado de disbiose. Com base nisso, aditivos funcionais têm sido amplamente estudados na nutrição de animais de companhia, evidenciando sua capacidade de modular de forma benéfica a microbiota intestinal e seus metabólitos (Bastos *et al.*, 2023). Entre esses aditivos, destacam-se os probióticos, prebióticos e simbióticos (Suchodolski, 2020).

Os probióticos são microrganismos vivos definidos como capazes de conferir benefícios à saúde do hospedeiro quando administrados em quantidades adequadas (Gibson *et al.*, 2017). O uso de probióticos pode contribuir com a funcionalidade intestinal por meio de vários mecanismos, incluindo a eliminação de patógenos intestinais (Lee *et al.*, 2003), produção de substâncias antimicrobianas (Jones e Versalovic, 2009), aumento da resposta imunológica (Pagniniet *al.*, 2010) e produção e regulação de metabólitos no intestino (Soo *et al.*, 2008). Já os prebióticos são definidos como ingredientes fermentados seletivamente por bactérias no intestino, que resultam em alterações benéficas na composição e atividade da microbiota gastrointestinal (Gibson *et al.*, 2017). Por sua vez, os simbióticos são preparações que incluem probióticos e prebióticos em sua composição, aproveitando os efeitos sinérgicos entre esses componentes para promover benefícios à funcionalidade intestinal (Gibson *et al.*, 2017).

Para cães, diversos microrganismos têm sido utilizados como probióticos, incluindo bactérias e leveduras vivas. Entre as cepas probióticas mais estudadas, o uso de *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bacillus subtilis* tem demonstrado

efeitos interessantes sobre a funcionalidade intestinal, tais como redução de bactérias potencialmente patogênicas, diminuição de compostos nitrogenados no intestino e aumento de IgA fecal (Swanson *et al.*, 2002; Benyacoub *et al.*, 2003; Marciňáková *et al.*, 2006; Bastos *et al.*, 2020). Em relação aos prebióticos, os mais estudados para cães incluem os frutooligossacarídeos (FOS), mananoligossacarídeos (MOS), galactooligossacarídeos (GOS) e inulina (Hughes & Rowland, 2001; Ogué-Bon *et al.*, 2010; Roberfroid *et al.*, 2010; Koh *et al.*, 2013).

Apesar dos efeitos benéficos já observados com o uso de probióticos e prebióticos em cães, a maioria dos estudos existentes avalia o uso de cepas probióticas e prebióticos individualmente ou examina *blends* com composições variáveis. Essa diversidade de abordagens, juntamente com as diferentes medidas e técnicas utilizadas para avaliar o efeito desses aditivos sobre a microbiota intestinal torna a interpretação dos resultados desafiadora. Diante disso, recentemente, foi desenvolvido o índice de disbiose, um método validado para identificar distúrbios da microbiota intestinal de cães de forma precisa e padronizada (Alshawaqfeh *et al.*, 2017). Considerando esses desafios e a importância do tema, o presente estudo tem como objetivo avaliar o efeito de um simbiótico sobre as características fecais, microbiota intestinal e índice de disbiose em cães adultos saudáveis submetidos a uma mudança abrupta de dieta.

## **1.1. OBJETIVOS**

### **1.1.2 Objetivo geral**

Avaliar os efeitos da suplementação de um simbiótico sobre a microbiota intestinal de cães adultos.

### **1.1.3 Objetivo específico**

Avaliar os efeitos do fornecimento da suplementação de um simbiótico sobre as características fecais, produtos de fermentação intestinal e perfil da microbiota intestinal de cães adultos saudáveis submetidos à troca abrupta de dieta. Ainda, essa dissertação apresentará uma revisão de literatura sobre o tema.

## 2. Revisão de Literatura

### 2.1 Microbiota intestinal

Diversos microrganismos constituem o trato gastrointestinal dos animais, como bactérias, vírus, protozoários e fungos. Entretanto, as bactérias são as representantes mais abundantes encontradas no sistema gastrointestinal (Suchodolski, J.S. 2011; Pilla, R. & Suchodolski 2020), influenciando em funções como fisiológicas, nutricionais, imunológicas e protetoras (Alessandri *et al.*, 2020).

O desenvolvimento da microbiota começa ainda na fase fetal e pode ser dinamicamente modulado por diversos fatores, como o tipo de parto, a ingestão de colostro e leite materno, a interação com o ambiente e com a mãe, além do desmame e da transição alimentar. Esses fatores exercem influência significativa na saúde do animal ao longo de sua vida (Balquei *et al.*, 2023; Goericke-Pesch *et al.*, 2018; Rota *et al.*, 2021).

A microbiota tem como referência à coletânea dinâmica de microrganismos presentes no sistema gastrointestinal, enquanto o microbioma abrange o material genético de todos os microrganismos que vivem em um ambiente definido, ou seja, refere-se tanto às células bacterianas do próprio indivíduo e ao seu material genético (Marchesi & Ravel, 2015; Blake & Suchodolski, 2016; Gibson *et al.*, 2017; Berget *et al.*, 2020). Assim, o microbioma gastrointestinal é reconhecido como um componente metabolicamente ativo, com capacidades únicas, cuja influência interfere diretamente na saúde do hospedeiro (Wernimont *et al.*, 2020; Suchodolski, 2022).

A microbiota do trato gastrointestinal canino abriga uma comunidade diversa e complexa de microrganismos, cuja variedade e concentração aumentam ao longo do trato. No entanto, cães e gatos possuem perfis bacterianos distintos, influenciados por fatores como idade, dieta, ambiente, características fisiológicas e condições intrínsecas de cada indivíduo (Suchodolski, 2011; Grześkowiak *et al.*, 2015; Honneffer *et al.*, 2017).

Estudos apontam que a carga microbiana total do estômago e intestino delgado de cães é menor do que a encontrada no intestino grosso (Mentula *et al.*, 2005; Ritchie *et al.*, 2008). Além disso, o intestino delgado é habitado por bactérias aeróbicas e anaeróbicas facultativas, enquanto o intestino grosso tem como principal colonização microrganismos anaeróbicos, com reflexão no microambiente e disponibilização de oxigênio nestes órgãos. Essas características são influenciadas pelas funções

fisiológicas dessas porções intestinais, sendo o cólon e ceco os principais compartimentos fermentativos em mamíferos monogástricos (Suchodolski, 2011; Suchodolski, 2016; Honneffer *et al.*, 2017).

## 2.2 Microbiota intestinal canina

O estômago de cães saudáveis possui um número baixo de bactérias totais quando comparado a outras espécies animais. A maior parte pertence aos filos Proteobactéria (99,6%) e Firmicutes (0,3%), enquanto os gêneros bacterianos que dominam são *Helicobacter spp.* e *Lactobacillus spp.* (Garcia-Mazcorro *et al.*, 2011).

As técnicas de cultura utilizadas para o estudo do microbioma intestinal canino apresentam limitações, pois a maioria das espécies bacterianas não é facilmente cultivável, especialmente as anaeróbicas. Por essa razão, a tabela 1 apresenta a composição microbiana predominante no trato gastrointestinal de cães, baseada no sequenciamento do ácido ribonucleico ribossomal (rRNA) 16S (Lee *et al.*, 2022).

No intestino delgado canino, quatro filos bacterianos são predominantes: Firmicutes, Fusobacteria, Bacteroidetes e Proteobacteria. No duodeno e jejuno, foram identificados seis filos: Firmicutes, Proteobacteria, Bacteroidetes, Spirochaetes, Fusobacteria e Actinobacteria, enquanto no íleo, os filos mais abundantes são Fusobacteria, Firmicutes e Bacteroidetes. Quanto aos gêneros bacterianos, *Lactobacillus spp.*, *Staphylococcus spp.* e *Clostridium spp.* estão entre os mais predominantes no duodeno e jejuno (Suchodolski *et al.*, 2008).

No intestino grosso encontram-se cinco filos: Firmicutes, Proteobacteria, Bacteroides, Fusobacteria e Actinobacteria. Com predominância de gêneros *Lactobacillus ssp.*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Pediococcus spp.*, *Enterococcus spp.* e *Bifidobacterium spp.* No íleo e cólon *Clostridium spp.* foi o gênero predominante. Mesmo com estes dados, deve-se ressaltar que as proporções dos filos e gêneros bacterianos podem variar dependendo da dieta, dos fatores ambientais e fisiológicos (Mentula, S. *et al.*, 2005; Lamendella, R. *et al.*, 2008; Handl, S. *et al.*, 2011).

A microbiota fecal de cães contém mais de  $10^8$  células/g de *bifidobactérias*, um grupo bacteriano amplamente reconhecido por seus benefícios à saúde de animais e humanos. As bactérias do gênero *Lactobacillus spp.* estão presentes em todas as

porções intestinais, com destaque para as espécies *L. casei*, *L. salivarius*, *L. rhamnosus*, *L. mucosae*, *L. fermentum*, *L. reuteri*, *L. animalis*, *L. acidophilus* e *L. johnsonii*. Em relação à população fúngica, os filos predominantes na microbiota fecal de cães incluem Ascomycota, Basidiomycota, Glomeromycota e Zycomycota (Jia *et al.*, 2009).

**TABELA 1– Microrganismos predominantes no trato gastrointestinal de cães.**

Estômago	Intestino Delgado	Intestino Grosso
<b>Filo</b> Firmicutes Proteobactéria	<b>Filo</b> Firmicutes Proteobactéria Bacteroidetes Spirochaetes Fusobactéria Actinobactéria	<b>Filo</b> Firmicutes Proteobactéria Bacteroidetes Spirochaetes Fusobactéria Actinobactéria
<b>Gênero</b> <i>Lactobacillus</i> <i>Helicobacter</i>	<b>Gênero</b> <i>Lactobacillus</i> <i>Staphylococcus</i>	<b>Gênero</b> <i>Lactobacillus</i> <i>Staphylococcus</i>

Adaptado de Lee *et al.* (2022).

### 2.3 Eubiose e disbiose

A eubiose é caracterizada pelo estado saudável da microbiota intestinal, compreendendo o equilíbrio entre a população de bactérias benéficas, potencialmente patogênicas e o sistema imunológico, garantindo a estabilidade e diversidade dos microorganismo no sistema gastrointestinal (Pilla & Suchodolski, 2020).

No ambiente de eubiose as bactérias comensais no intestino convertem carboidratos em ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), fornecendo energia para as células endoteliais, aumentando as células T reguladoras anti-inflamatórias e modulando a motilidade intestinal. As bactérias presentes no cólon também conduzem a conversão de ácidos biliares primários em ácidos biliares secundários, e estes apresentam propriedades anti-inflamatórias, além de induzir o GLP-1 (Glucagon –like Peptide -1, hormônio que é liberado no sangue após a refeição, sempre quando há a presença de glicose no sangue e sinaliza ao cérebro que o organismo recebeu alimentação, diminuindo o apetite) e reduzir a população de *Clostridium difficile* (Blake & Suchodolski, 2016).

A disbiose é definida como um desequilíbrio na microbiota intestinal, caracterizado pela redução da diversidade do microbioma e pelo predomínio de bactérias potencialmente patogênicas sobre as benéficas, interferindo na regulação intestinal e comprometendo sua função normal (Pilla & Suchodolski, 2021). Esse desequilíbrio afeta processos essenciais, como a quebra de peptídeos e a reabsorção de toxinas do lúmen intestinal, resultando em um funcionamento inadequado do sistema digestivo e contribuindo para o desenvolvimento de diversas doenças, incluindo obesidade, alergias, condições autoimunes, deficiências cognitivas e enteropatias crônicas (Belas *et al.*, 2020; Pilla & Suchodolski, 2021). Além disso, a maioria dos cães com doenças gastrointestinais apresenta simultaneamente disbiose, reforçando a associação entre o desequilíbrio microbiano e transtornos digestivos (Inness *et al.*, 2007; Ziese & Suchodolski, 2021).

Em um animal doente, a diminuição da produção de peptídeos antimicrobianos e muco resultam no aumento da permeabilidade do endotélio e à translocação de bactérias. Receptores *Toll-like* (TLR) presentes em macrófagos e outras células reconhecem padrões moleculares associados a patógenos específicos como lipopolissacarídeos (LPS) nas paredes celulares bacterianas, e desencadeiam reações inflamatórias. Os macrófagos fagocitam os microrganismos patogênicos, que também estimulam uma resposta imune no hospedeiro, podendo levar ao estresse oxidativo e conseqüentemente a disbiose intestinal (Blake & Suchodolski, 2016).

Diversos fatores contribuem para o desenvolvimento da disbiose intestinal, incluindo o uso indiscriminado de medicações, como antibióticos, que afetam significativamente a microbiota intestinal e frequentemente resultam em diarreia em cães. Além disso, doenças gastrointestinais e fatores ambientais, como o estresse, desempenham um papel importante ao comprometer a imunidade e favorecer a proliferação de bactérias oportunistas (Blake & Suchodolski, 2016).

## **2.4 Probióticos**

Segundo a Associação Científica Internacional de Probióticos (ISAPP) tem como definição de probióticos como “microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem um benefício à saúde do hospedeiro” (Hill *et al.*, 2014).

Para que um microrganismo seja considerado um probiótico eficaz, ele deve atender a critérios microbiológicos específicos, como permanecer vivo e biologicamente viável desde a produção até o consumo, ser resistente à digestão pelo ácido gástrico e enzimas intestinais, além de reduzir ou prevenir a aderência de bactérias patogênicas à barreira intestinal. Também deve ser capaz de produzir substâncias que inibam o crescimento de potenciais patógenos e contribuir para o equilíbrio da microbiota intestinal. Além disso, é fundamental que seja seguro, sem a capacidade de adquirir ou transmitir resistência a antibióticos ou produzir metabólitos prejudiciais à saúde. O probiótico deve conferir benefícios comprovados à saúde geral do animal e demonstrar eficácia nas espécies para as quais é destinado (Kosin & Rakshit, 2006; Weese & Martin, 2011).

Outro critério essencial é a correta identificação taxonômica do microrganismo, incluindo a especificação do gênero, da espécie e da cepa, conforme estabelecido pelo Código Internacional de Nomenclatura de Bactérias. Como os efeitos dos probióticos são cepa-específicos, a identificação precisa é indispensável para determinar sua ação e benefícios (Kosin, 2006; Weese *et al.*, 2011; Hill *et al.*, 2014).

Os probióticos podem exercer efeitos benéficos na colonização da microbiota intestinal, cujos mecanismos incluem a direta interação entre probiótico e receptores no hospedeiro ou células bacterianas (Cunningham *et al.*, 2021). Assim como a produção de moléculas que podem ser utilizadas tanto pelo probiótico quanto por outros microrganismos presentes no ambiente. São responsáveis pela secreção de metabólitos, alteração do microambiente, como por exemplo, a redução do pH, com competição por nutrientes e sítios de ligação. Além disso, as bactérias podem produzir compostos, como bacteriocinas, que ajudam a suprimir e inibir patógenos, promovendo a integridade da barreira intestinal. Esse mecanismo contribui para prevenir a adesão e o estabelecimento de microrganismos potencialmente patogênicos (Kosin & Rakshitt, 2006; Weese & Martin, 2011).

#### **2.4.1 Utilização de Probióticos**

Em consideração a importância da microbiota intestinal e a ação das bactérias sobre a manutenção do funcionamento do intestino, os probióticos podem ser utilizados

ao longo de todas as fases de vida dos animais para manutenção ou restabelecimento da eubiose, uma vez que os distúrbios gastrointestinais são um dos problemas de saúde mais comuns em cães (Suchodolski, 2011; Mondo *et al.*, 2019).

Os probióticos têm se destacado como uma intervenção promissora na promoção da saúde de animais de companhia, trazendo diversos benefícios que impactam positivamente tanto a saúde intestinal quanto a imunológica. A suplementação com probióticos tem sido amplamente estudada devido aos seus efeitos benéficos na saúde dos animais, especialmente no que se refere à modulação do sistema imunológico. Estudos indicam que esses microrganismos auxiliam no fortalecimento da resposta imune, contribuindo para o combate a infecções e o controle de doenças inflamatórias (Beynen & Legerstee, 2010; Sánchez *et al.*, 2021; Thomas, McMillan & Gupta, 2022). Além disso, os probióticos desempenham um papel fundamental no equilíbrio da microbiota intestinal, sendo particularmente eficazes na restauração dessa microbiota após o uso de antibióticos, o que promove um ambiente intestinal mais saudável e funcional (Moens, Verce & De Vuyst, 2019; Suchodolski, 2022; Bastos, 2024).

Outro benefício amplamente relatado na literatura é a proteção contra infecções por enteropatógenos. Pesquisas demonstram que a administração de probióticos reduz a suscetibilidade a infecções bacterianas, virais e parasitárias, funcionando como uma barreira protetora contra agentes patogênicos (Roussel, Guérin-Danan & Moreau, 2018; Wang, Liu & Wu, 2020; Hernández-Macias, Guzmán-Partida & López-García, 2021). Além disso, sua inclusão na dieta tem sido associada à redução de distúrbios gastrointestinais, diminuindo os sinais clínicos de enteropatias e outras enfermidades digestivas. Esses microrganismos também contribuem para a redução da produção de compostos putrefativos, minimizando odores indesejáveis nas fezes (Honneffer, Minamoto & Suchodolski, 2017; Amaral *et al.*, 2024).

Os probióticos também demonstram potencial no controle de distúrbios alérgicos, auxiliando na redução de sinais clínicos como inflamações cutâneas e dermatites, o que melhora a qualidade de vida dos animais (Beynen, Van der Meer & Legerstee, 2011; Rai, Sharma & Singh, 2013). Além disso, há evidências que sugerem um papel importante dessas substâncias na prevenção e controle da obesidade, uma vez que influenciam

processos metabólicos e inflamatórios relacionados ao ganho de peso (Gambardella, Rossi & Ferrara, 2021; Maturama *et al.*, 2023).

Diante desses achados, fica evidente que a utilização de probióticos representa uma abordagem promissora para a promoção da saúde animal, abrangendo desde a regulação da microbiota intestinal até a modulação do sistema imunológico e a prevenção de diversas doenças.

A aplicação desses microrganismos vivos na dieta de animais de companhia mostra-se uma estratégia multifuncional, contribuindo não apenas para o bem-estar geral dos animais, mas também para a prevenção e o manejo de diversas condições clínicas (Rossi *et al.*, 2014; Grześkowiak, 2015; Gómez-Gallego *et al.*, 2016; Lee *et al.*, 2020; Lee *et al.*, 2022; Xu *et al.*, 2019; Lima *et al.*, 2020; Wernimont *et al.*, 2020).

#### **2.4.2 Cepas bacterianas probióticas**

Em produtos comerciais, as cepas probióticas mais comumente utilizadas são as bactérias ácido-lácticas, como *Lactobacillus spp.*, *Enterococcus spp.*, *Streptococcus spp.* e *Bifidobacterium spp.* (Song *et al.*, 2012), além de outros microrganismos, incluindo cepas específicas de *Escherichia coli* (Zyrek *et al.*, 2007), *Bacillus spp.* e leveduras de *Saccharomyces spp.* (D'Angelo *et al.*, 2018).

A suplementação da dieta de cães com *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis* demonstrou efeitos positivos nas características fecais e nos produtos de fermentação intestinal. A adição desses probióticos resultou em uma melhora na consistência fecal e na redução do odor das fezes, além de diminuir a concentração de aminas biogênicas, como putrescina, espermidina e cadaverina, bem como fenóis e quinolina nas amostras fecais (Bastos *et al.*, 2020). De forma semelhante, a inclusão de 0,01% de *Bacillus subtilis* na alimentação de cães adultos foi associada a uma redução nas concentrações de amônia fecal, possivelmente devido à diminuição de microrganismos com potencial patogênico em decorrência da suplementação probiótica (Félix *et al.*, 2010).

#### **2.4.3 Leveduras probióticas**

As leveduras são organismos unicelulares compostos por uma camada externa (parede celular) e um citoplasma proteico em seu interior. A *Saccharomyces spp.* é uma

levedura utilizada comumente como probiótico, pois apresenta diferentes mecanismos de ação, resistência aos antibióticos em comparação a cepas bacterianas probióticas, apresentando estabilidade no trato gastrointestinal e atuam como auxiliares na modulação e na saúde da microbiota intestinal, já que a utilização de probióticos associada a antibacterianos é comum no tratamento de enteropatias (Martins *et al.*, 2005).

Os probióticos à base de leveduras do gênero *Saccharomyces cerevisia* e podem auxiliar no restabelecimento de uma microbiota intestinal equilibrada. Esse equilíbrio contribui diretamente para a melhora da função intestinal, reduzindo desconfortos digestivos, especialmente em casos de distúrbios gastrointestinais frequentemente associados a mudanças na dieta, entre outros fatores. (Lin *et al.*, 2020; Cunningham *et al.*, 2021).

Mesmo que os mecanismos através dos quais os probióticos à base de levedura atuam não estejam completamente elucidados, existem evidências de que eles atuam principalmente através da produção de metabólitos, como AGCC, antioxidantes, e vitaminas do complexo B. Em animais, sua utilização foi descrita para a melhoria da digestibilidade, para neutralização de toxinas bacterianas, estimulação do sistema imune e supressão de bactérias potencialmente patogênicas. Atuam também na remoção do oxigênio do trato gastrointestinal, estimulando a proliferação de bactérias anaeróbicas (Strompfová *et al.*, 2021).

Stercova *et al.* (2016) estudaram os efeitos da administração de levedura viva *Saccharomyces cerevisia* e na digestibilidade dos nutrientes e microbiota fecal de cães. Os autores observaram uma diminuição nas contagens de *Escherichia coli* e *Enterococcus faecalis* nas fezes. Bastos *et al.* (2023) obtiveram resultados semelhantes, na qual a suplementação com levedura resultou em menor concentração fecal de aminas biogênicas totais e amônia, além de maior concentração fecal de butirato, proporcionando menor índice de disbiose, maior abundância de *Bifidobacterium* e *Turicibacter* e menor abundância de *Lactobacillus* e *Escherichia coli*. Esses estudos demonstram evidências que probióticos de leveduras podem contribuir para mudanças favoráveis na microbiota intestinal de cães.

## 2.5 Prebióticos

De acordo com a Associação Científica Internacional de Probióticos e Prebióticos (ISAPP), prebióticos são substratos fermentados de forma seletiva por microrganismos, promovendo mudanças específicas na composição e na atividade da microbiota intestinal, que resultam em benefícios para a saúde e o bem-estar do hospedeiro. Essa definição destaca a capacidade dos prebióticos de influenciar positivamente o equilíbrio microbiano intestinal.

Para que um composto seja considerado um prebiótico eficaz, é necessário atender a critérios específicos relacionados à sua digestibilidade e fermentação no trato gastrointestinal. Primeiramente, o substrato não deve ser digerido parcial ou totalmente pelo sistema enzimático do hospedeiro, garantindo que alcance intacto a porção do intestino grosso, onde exercerá seus efeitos benéficos sobre a microbiota (Suchodolski, 2022; Bastos, 2024).

Além disso, é essencial que apresente resistência à fermentação por bactérias patogênicas, evitando a proliferação de microrganismos potencialmente prejudiciais ao equilíbrio intestinal (Roussel, Guérin-Danan & Moreau, 2018; Wang, Liu & Wu, 2020). Dessa forma, a seletividade do substrato contribui para a manutenção da saúde intestinal e reduz o risco de disbiose.

Outro critério fundamental é o potencial de fermentação seletiva no cólon por microrganismos benéficos, promovendo efeitos positivos à microbiota intestinal. Estudos demonstram que determinados prebióticos, como os mananoligossacarídeos (MOS) e os  $\beta$ -glucanos, podem estimular o crescimento de bactérias benéficas, favorecendo a produção de metabólitos com propriedades imunomoduladoras e anti-inflamatórias (Hernández-Macias, Guzmán-Partida & López-García, 2021; Sánchez *et al.*, 2021; Tanihiro, Nakamura & Yamada, 2021).

Como contribuição para mudanças específicas, os prebióticos alteram tanto a composição quanto a atividade da microbiota intestinal (Pinna, C. & Biagi, G., 2014; Gibson *et al.*, 2017). Como principal objetivo da suplementação prebiótica tem-se o aprimoramento da microbiota intestinal, por meio de interação dos substratos de forma direta com as células hospedeiras, modulando a sinalização imune e das células epiteliais

intestinais, através da regulação da função da barreira intestinal (Rezende *et al.* 2021; Yang F.; Cheung, P.C.K., 2023).

Os prebióticos mais empregados na alimentação animal são os MOS, os fruto-oligossacarídeos (FOS) e os galacto-oligossacarídeos (GOS) (Swanson *et al.*,2020; Brito *et al.*,2014; Souza *et al.*, 2018; Rentas *et al.*, 2020).

A parede celular de levedura (PCL) é utilizada de forma comum como aditivo prebiótico na alimentação animal por ser rica em MOS. Estudos nos últimos anos desenvolveram cepas específicas da levedura *Saccharomyces cerevisiae* e técnicas especiais para separar e purificar componentes específicos de sua estrutura (Theodoro *et al.*, 2019; Santos *et al.*, 2021).

De maneira geral, a estrutura da PCL é composta por 85% de polissacarídeos e 15% de proteínas. A distribuição destes componentes se organiza em três camadas principais: manoproteínas (20 a 23%), um complexo no qual o polissacarídeo mano está covalentemente ligado a proteína, glucanos (48 a 60%), polissacarídeos com ligações do tipo  $\beta$ -1,3 e  $\beta$ -1,6 de glicose e quitina (0,6 a 2,7%) e polímeros com ligação do tipo  $\beta$ -1,4 N-acetilglicosamina (Klis *et al.*,2002; Klis *et al.*, 2006).

### **2.5.1 Utilização de prebióticos**

Os cães apresentam o trato gastrointestninal curto e simples, com reduzida capacidade de fermentação de substâncias não digeridas no cólon. Entretanto, alguns benefícios para a saúde foram alcançados com a administração de prebióticos, como a redução de infecções, uma melhora na sensibilidade à insulina e melhor consistência das fezes (Apanavicius *et al.*,2007; Respondek *et al.*, 2008; Verbrugghe *et al.*, 2009; Kanakupt *et al.*, 2011; Gouveia *et al.*,2013).

Os prebióticos atuam na atividade metabólica, na melhor composição de comunidades bacterianas intestinais, na imunomodulação e no fornecimento de substratos para fermentação microbiana, levando à produção de AGCC, como butirato e propionato (Rezende *et al.*, 2021; Guarner *et al.*, 2023).

### 2.5.2 Mananoligossacarídeos (MOS)

Os MOS, oligossacarídeos originados a partir de polissacarídeos, estão presentes na PCL de *Sacharomyces cerevisiae* e apresentam a capacidade de modular o sistema imunológico e a microbiota intestinal. Os MOS não são hidrolisados por enzimas endógenas em animais monogástricos, o que facilita o reconhecimento por células imunes inatas (Jia *et al.*, 2009). Sua influência na resposta imune está ligada a aumentos na atividade de lisozimas, anticorpos e células T (Rentas *et al.*, 2020).

Os MOS destacam-se ainda por sua capacidade de se ligar às fímbrias bacterianas, prevenindo a adesão dessas bactérias ao epitélio intestinal (Agazzi *et al.*, 2020). Essa ligação ocorre porque muitas bactérias possuem fímbrias específicas para a manose, o que facilita sua adesão à parede intestinal e o início da infecção. No entanto, os MOS atuam como ligantes competitivos, reduzindo a colonização bacteriana. Além disso, essa característica favorece o aumento das populações de *Lactobacillus spp.* e de *Bifidobacterium spp.* nas fezes, contribuindo para a preservação da integridade da superfície intestinal (Van *et al.*, 2020; Grieshop *et al.*, 2004; Roberfroid, M.B., 2002).

Swanson *et al.* (2002) observaram que a suplementação com MOS resultou em influência positiva nas populações microbianas, contribuindo para o aumento no número de *Lactobacillus spp.* e redução nas concentrações de microrganismos aeróbicos nas fezes de cães quando comparados com o grupo controle. Com relação a parâmetros imunológicos, a suplementação com MOS pode induzir ao aumento no percentual de linfócitos, nas concentrações séricas de IgA, nas concentrações de leucócitos no sangue, estimulando assim uma resposta imune contra patógenos, além da diminuição de atividades inflamatórias e melhoria da imunidade inata (Theodoro *et al.*, 2019).

A suplementação com diferentes concentrações de frações ativas de mananoproteínas (FAMs) em cães adultos e senis demonstrou efeitos positivos na resposta imunológica. A inclusão de 0,04% e 0,08% de FAMs na dieta estimulou tanto a imunidade inata quanto a adquirida, influenciando parâmetros das respostas imunes específicas e inespecíficas. Dentre os efeitos observados, destaca-se o aumento da atividade fagocítica dos neutrófilos e a maior produção de intermediários reativos de oxigênio, como o peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (Kroll *et al.*, 2020).

### 2.5.3 Fruto-oligossacarídeos (FOS)

Os FOS são oligossacarídeos pertencentes ao grupo do frutanos, por isso o termo FOS é empregado para os frutanos do tipo inulina que apresentam ou não um grupo terminal de glicose. Na composição dos FOS, duas a nove unidades de frutose estão ligadas através de ligações glicosídicas  $\beta$  (2-1) e a ligação com a glicose é do tipo  $\alpha$  (1-2), como ocorre na sacarose (Veja, R., Zuniga-Hansen, M. E., 2015; Singh *et al.*, 2016).

Os FOS apresentam potenciais efeitos prebióticos e são encontrados em diversas espécies de plantas e em produtos como alho, alcachofra, cebola, chicória e yacon (Roberfroid, M. B.; 2007). Esses componentes favorecem o desenvolvimento da microbiota benéfica do intestino por serem altamente fermentáveis por bactérias lácticas, enquanto microrganismos patogênicos como *Salmonella spp.* e *Escherichia coli* são incapazes de realizar a fermentação de FOS (Swanson *et al.*, 2002; Middelbos *et al.*, 2007).

## 2.6 Simbióticos

Os simbióticos são definidos de acordo com a ISAPP, como “uma mistura constituída por microrganismos vivos e substratos utilizados seletivamente por microrganismos hospedeiros que confere um ou mais benefícios à saúde do hospedeiro”.

Desse modo, os simbióticos são compostos por prebióticos e probióticos e com esta combinação podem ser complementares (o prebiótico e o probiótico apresentam mecanismos e benefícios independentes) ou sinérgica (quando o microrganismo vivo é selecionado com base em sua capacidade de fornecer um benefício à saúde e o substrato é escolhido para fornecer uma base de suporte ao crescimento ou a atividade desse microrganismo selecionado) (Kolida, S.; Gibson, G. R.; 2011; Cunningham *et al.*, 2021).

### 2.6.1 Simbióticos em cães

Nos últimos anos, a suplementação com simbióticos tem sido amplamente estudada por seus efeitos benéficos na modulação da microbiota intestinal e no fortalecimento do sistema imunológico (Maturama *et al.*, 2023).

A composição da microbiota intestinal dos cães é influenciada por diversos fatores, incluindo dieta, idade e estado de saúde (Richie, Skowronski & Abraham, 2008). Quando

ocorrem desequilíbrios nessa microbiota, podem surgir distúrbios gastrointestinais, como a doença inflamatória intestinal (IBD), que está frequentemente associada a respostas imunológicas exacerbadas e processos inflamatórios crônicos (Honneffer, Minamoto & Suchodolski, 2017). Nesse contexto, estratégias nutricionais têm sido propostas para restaurar o equilíbrio da microbiota e minimizar a inflamação intestinal, sendo a suplementação com simbióticos uma abordagem promissora para promover a saúde gastrointestinal dos cães (Amaral *et al.*, 2024).

Dentre os componentes dos simbióticos, os  $\beta$ -glucanos, polímeros de glicose encontrados na parede celular de leveduras e cereais, demonstram efeitos imunomoduladores e antioxidantes, contribuindo para o crescimento de bactérias benéficas, como *Bifidobacterium longum* (Hernández-Macias, Guzmán-Partida & López-García, 2021). Além disso, estudos indicam que esses compostos podem reduzir o impacto negativo de micotoxinas no trato gastrointestinal dos animais, favorecendo a integridade intestinal (Każmierczak-Siedlecka, Daca & Folwarski, 2020; Stercova, Faldynova & Slama, 2016). Por sua vez, os MOS auxiliam na adesão seletiva de bactérias e contribuem para a neutralização de toxinas bacterianas, promovendo um ambiente intestinal mais equilibrado (Tanihiro, Nakamura & Yamada, 2021; Roussel, Guérin-Danan & Moreau, 2018).

Além dos benefícios diretos no trato gastrointestinal, os simbióticos vêm sendo investigados por sua capacidade de modular a resposta imune dos cães. Evidências sugerem que compostos derivados de levedura podem interagir com receptores celulares do sistema imunológico, estimulando tanto a resposta inata quanto a adaptativa (Heuvelin, Lebreton & Grangette, 2019; Pawar *et al.*, 2017). Além disso, a associação de simbióticos com minerais como o selênio tem demonstrado efeitos sinérgicos na capacidade antioxidante dos animais, contribuindo para a proteção contra o estresse oxidativo e para a manutenção da saúde metabólica (Gambardella, Rossi & Ferrara, 2021). Esses efeitos podem ser especialmente relevantes na mitigação de danos celulares e na promoção do bem-estar geral dos cães (Beynen & Legerstee, 2010; Thomas, McMillan & Gupta, 2022).

### **3. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Os simbióticos possuem a capacidade de modular os sistemas inflamatório e antioxidante, graças aos compostos derivados do metabolismo secundário de probióticos e prebióticos. Substâncias como leveduras, MOS e FOS apresentam potencial para serem utilizados como aditivos na alimentação de cães e gatos. Isso ocorre porque, além de oferecerem benefícios à saúde, esses compostos atendem às demandas de tutores e indústrias que valorizam ingredientes com efeitos suplementares para a dieta e o tratamento de animais de companhia. No entanto, ainda há a necessidade de padronizar e identificar os tipos de compostos utilizados, bem como de otimizar os processos de fabricação. Para que os simbióticos sejam amplamente aplicados como aditivos funcionais, é essencial que mais estudos experimentais sejam conduzidos em cães e gatos, ampliando a compreensão sobre os benefícios desses compostos e sua aplicabilidade prática.

A crescente compreensão da relação entre nutrição, microbiota e saúde gastrointestinal reforça a importância dos simbióticos como ferramentas nutricionais em cães. Pesquisas recentes demonstram que a combinação de prebióticos e probióticos pode auxiliar na recuperação da microbiota após o uso de antibióticos e reduzir a incidência de doenças gastrointestinais (Moens, Verce & De Vuyst, 2019; Wang, Liu & Wu, 2020). Além disso, a utilização sustentável de simbióticos provenientes de subprodutos industriais tem sido proposta como uma abordagem viável para a nutrição animal dentro do conceito de economia circular (Varney, Shah & Narasimhan, 2021). Estudos futuros devem explorar a dosagem ideal e as interações entre diferentes simbióticos para otimizar seus efeitos na saúde canina.

## REFERÊNCIAS

AGAZZI, A. et al. (2020). Dietary mannan oligosaccharides modulate gut inflammatory response and improve duodenal villi height in post-weaning piglets improving feed efficiency. *Animals*, v. 10, n. 8, p. 1283.

ALESSANDRI, G., et al. (2020). Catching a glimpse of the bacterial gut Community of companion animals: a canine and feline perspective. *MicrobialBiotechnology*, v.13, n.6, p.1708 -1732.

AMARAL, A., et al. (2024). Effects of beta-glucans and MOS supplementation on fecal microbiota composition in dogs with mild IBD. *Journal of Animal Nutrition and Health*, 12(1), 45-57.

APANAVICIUS, C. J. et al. (2007). Fructan supplementation and infection affect food intake, fever, and epithelial sloughing from Salmonella challenge in weanling puppies. *The Journal of Nutrition*, v.137, n. 8, p. 1923-1930.

BALQUEI, F., et al. (2023). Factors Affecting Gut microbiota of Puppies from Birth to Weaning. *Animals*, v.13, n. 4, p. 578.

BASTOS, T.S. (2020). Utilização de bacillus subtilis e Bacillus Licheniformis como probiótico sobre a digestibilidade da dieta e produtos de fermentação intestinal em cães. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós Graduação em Zootecnia, Curitiba – PR.

BASTOS, T.S. et al. (2023). 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.

BASTOS, C. (2024). Impact of combining yeasts from different fermentation media on canine gut microbiota modulation. *Animal Microbiome Research*, 18(2), 99-112.

BELAS, A., et al. (2020). The microbiome and antimicrobial resistance in companion animals. In: *Advances in Animal Health, medicine and Production: A research Portrait of the Centre for Interdisciplinary Research in Animal Health (CIISA)*, University of Lisboa, Portugal. Springer Internacional Publishing, p. 233-245.

BERG, G. et al. (2020). Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. *Microbiome*, v. 8, p. 1-22.

BEYNEN, A. C. & LEGERSTEE, F. J. (2010). Yeast-derived products in immune and metabolic modulation. *Veterinary Research Communications*, 34\_(4), 267-275.

BEYNEN, A. C., VAN DER MEER, R., & LEGERSTEE, F. J. (2011). Influence of yeast products on inflammatory and immune responses in companion animals. *International Journal of Veterinary Medicine*, 29\_(3), 145-159.

BLAKE, A. B.; SUCHODOLSKI, J.S. (2016). Importance of gut microbiota for the health and disease of dogs and cats. *Animal Frontiers*, v. 6, n.3, p. 37-42.

BRITO, J.M. et al. (2014). Probióticos, prebióticos e simbióticos na alimentação de não-ruminantes - revisão. *Revista Eletrônica Nutritime*, v.11, n.1, p. 3070-3084.

CUNNINGHAM, M. et al. (2021). Shaping the future of probiotics and prebiotics. *Trends in microbiology*, v. 29, n.8, p.667-685.

D' ANGELO, S. et al. (2018). Effect of *Sacharomycesboulardii* in dogs with chronic enteropathies: double-blinded, placebo-controlled study. *Veterinary Record*, v.12, n.9, p. 258.

FÉLIX, A.P., et al. (2010). A Digestibility and fecal characteristics of dogs fed with *Bacillus subtilis* in diet. *Revista Ciência Rural*, n.40, v. 10, p. 2169-2173.

FÉLIX, A. P.; BACILA, A. R. F. (2023). Saúde intestinal em foco: o papel da microbiota e os benefícios da utilização de probióticos, prebióticos e simbióticos. Curitiba: Organnact.

GAMBARDELLA, A., ROSSI, M., & FERRARA, G. (2021). Synergistic effects of selenium and yeast on antioxidant capacity in animal models. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 75, 102837.

GARCIA-MAZCORRO, J.F. et al. (2011). Effect of a multi-species symbiotic formulation on fecal bacterial microbiota of healthy cats and dogs as evaluated by pyrosequencing. *FEMS microbiology ecology*, v. 78, n. 3, p. 542-554.

GERSHON, M. D. (2009). *The Second Brain: The Enteric Nervous System and Its Connection to the Microbiome*. HarperCollins Publishers.

GIBSON, G. R. et al. (2017). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, v. 14, n. 8, p. 491-502.

GOERICKE, P., S., et al. (2018). Bacteriological findings in the canine uterus during Caesarean section performed due to dystocia and their correlation to puppy mortality at the time of parturition. *Reproduction in domestic animals*, v.53, n. 4, p.889-894, 2018.

GÓMEZ-GALLEGO, C. et al. (2016). A canine-specific probiotic product in treating acute or intermittent diarrhea in dogs: A double-blind placebo-controlled efficacy study. *Vet. Microbiol.*, v. 197, p.122-128.

GOUVEIA, E. M. et al. (2013). Action of phosphorylated mannanoligosaccharides in immune and hematological responses and fecal consistency of dogs experimentally infected with enteropathogenic *Escherichia coli* strains. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 44, p. 499-504.

GRIESHOP, C. et al. (2004). Gastrointestinal and immunological responses of senior dogs to chicory and mannan-oligosaccharides. *Archives of animal nutrition*, v. 52, n. 6, p. 483-494.

GRZEŚKOWIAK, L. et al. (2015). Microbiota and probiotics in canine and feline welfare. *Anaerobe*, 34, p. 14-23.

GUARNER, F. et al. (2023). Probiotics and prebiotics. *World Gastroenterology Organisation Global Guidelines*. February.

HANDL, S. et al. (2011). Massive parallel 16S rRNA gene pyrosequencing reveals highly diverse fecal bacterial and fungal communities in healthy dogs and cats. *FEMS microbiology ecology*, v.76, n.2, p. 301-310.

HEUVELIN, J., Lebreton, C., & Grangette, C. (2019). Yeast-derived products and their interaction with cellular immune receptors: Mechanisms and applications. *Microbial Biotechnology*, 12(1), 81-95.

HERNÁNDEZ-MACIAS, S., GUZMÁN-PARTIDA, A. M., & LÓPEZ-GARCÍA, M. T. (2021).  $\beta$ -glucans and their role in promoting *Bifidobacterium longum* and beneficial microbiota in simulated gastrointestinal models. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105(7), 3127-3140.

[HILL, C. HILL, C.](#) et al. (2014). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature reviews gastroenterology & hepatology*, v.11, n-8, p-8, p.506-514.

HONNEFFER, J. B., MINAMOTO, Y., & SUCHODOLSKI, J. S. (2017). Microbiota and metabolomic changes in canine gastrointestinal disease. *Frontiers in Veterinary Science*, 4, 29.

INNESS, V.L. et al. (2007). Molecular characterization of the gut microflora of healthy and inflammatory bowel disease cats using fluorescence in situ hybridization with special reference to *Desulfovibrio* spp. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, v.91, n. 1-2, p. 48-53.

JIA, J. Investigation of the faecal microbiota associated with canine chronic diarrhoea. *FEMS Microbiology Ecology*, v. 71, n. 2, p. 304-312.

KAŹMIERCZAK-SIEDLECKA, K., DACA, A., & FOLWARSKI, M. (2020). Antioxidant potential of  $\beta$ -glucans from yeast in preventing oxidative stress induced by mycotoxins in animal cells. *Mycotoxin Research*, 36(4), 345-360.

KLIS, F. et al. (2002). Dynamics of cell wall structure in *Sacharomyces cerevisiae*. *FEMS microbiology reviews*, v. 26, n.3, p. 239-256.

KLIS, F. et al. (2006). Cell wall construction in *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, v. 23, n.3, p. 185-202.

KOLIDA, S. & GIBSON, G.R. Synbiotics in health and disease. *Annual review of food Science and Technology*, v. 2, p. 373-393.

KOSIN, B. & RAKSHIT, S.K. (2006). Microbial and processing criteria for production of probiotics: a review. *Food technology and Biotechnology*, v. 44, n.3, p. 371-379.

LAMENDELLA, R. et al. (2008). Bifidobacteria in feces and environmental waters. *Applied and environmental microbiology*, v.74, n.3, p. 575-584.

[LEE, D. LEE, D.](#) et al. (2022). Perspectives and advances in probiotics and the gut microbiome in companion animals. *Journal of Animal Science and Technology*, v.64, n. 2, p. 197.

LIN, C. Y. et al. (2020). Supplementation of yeast cell wall fraction tends to improve intestinal health in adult dogs undergoing an abrupt diet transition. *Frontiers in Veterinary Science*, v. 7, p. 597939.

MARCHESI, J. R. & RAVEL, J. (2015). The vocabulary of microbiome research: a proposal.

Microbiome, v.3, p.1-3.

MARTINS, F. S. et al. (2005). Screening of yeasts as probiotic based on capacities to colonize the gastrointestinal tract and to protect against enteropathogen challenge in mice. *The Journal of general and applied microbiology*, v. 51, n. 2, p. 83-92.

MATURAMA, T., et al. (2023). [Postbiotics](#). [Postbiotics](#) in animal health: Mechanisms and applications in microbiome modulation. *Advances in Veterinary Science*, 16(1), 23-41.

MCDONALD, J. A., SCHROEDER, B. O., & BACKHED, F. (2002). Dietary  $\beta$ -glucans and their role in enhancing antioxidant defenses in broiler chickens exposed to mycotoxins. *Poultry Science*, 81(9), 1322-1331.

MENTULA, S. ET AL. (2005). Comparison between cultured small intestinal and fecal microbiotas in beagle dogs. *Applied and environmental microbiology*, v.71, n. 8, p. 4169-4175.

MIDDELBOS, I. S. et al. (2007). Evaluation of fermentable oligosaccharides in diets fed to dogs in comparison the fiber standards. *Journal of Animal Science*, v. 85, n.11, p. 3033-3044.

MOENS, F., VERCE, M., & DE VUYST, L. (2019). *Saccharomyces* and *Lactobacillus rhamnosus* association: Protective effects on gut microbiota after antibiotic use. *Journal of Probiotics and Gut Health*, 7(3), 142-158.

MONDO, E. et al. (2019). Role of gut microbiota in dog and cat's health and diseases. *Open Veterinary Journal*, v.9, n.3, p. 253-258.

PAWAR, S. D., et al. (2017). Modulation of platelet and leukocyte concentrations by yeast-derived products in animal models. *Immunology Letters*, 190, 113-121.

PILLA, R., [SUCHODOLSKIR.](#), [SUCHODOLSKI](#), J. S. (2020). The role of the canine gut microbiome and metabolome in health and gastrointestinal disease. *Frontiers in Veterinary Science*, v. 14, n. 6, p.498.

PILLA, R., SUCHODOLSKI, J. S. (2021). [Thegut](#). [Thegut](#) microbiome of dogs and cats, and the influence of diet. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, [v.51,n.v.51, n.3](#), p. 605-621.

PINNA, C. & BIAGI, G. (2014). Utilisation of Prebiotics and Symbiotics in Dogs. *Journal of Animal Science*, 13:1.

RAI, S., SHARMA, P., & SINGH, R. (2013). Yeast cell wall-derived  $\beta$ -glucans as antioxidants: Mechanisms and applications in animal health. *Antioxidants*, 2(4), 451-468.

REZENDE, E. S. V. et al. (2021). Dietary fibers as beneficial microbiota modulators: A proposed classification by prebiotic categories. *Nutrition*, v. 89, p. 111-217.

RENTAS, M. F. et al. (2020). Galactoligosaccharide and prebiotic blend improve colonic health and immunity of adult dogs. *PLoS One*, v.15, n.8, p. e0238006.

RICHIE, J. P., SKOWRONSKI, J., & ABRAHAM, A. (2008). Composition and metabolic functions of the gut microbiota in companion animals. *Comparative Microbial Ecology*, 22(3), 167-181.

ROBERFROID, M. B. (2007). Inulin-type fructans: functional food ingredients, *The Journal of Nutrition*, v. 137, n.11, p. 2493S-2502S.

ROSSI, G. et al. (2014). Comparison of microbiological, histological, and immunomodulatory parameters in response to treatment with either combination therapy with prednisone and metronidazole or probiotic VSL#3 strains in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *Plo Sone*, v.9, n.4, p. e 94699.

ROTA, A., et al. (2021). Does bacteria colonization of canine newborns start in the uterus? *Animals*, v.11, n.5, p. 1415.

ROUSSEL, C., GUÉRIN-DANAN, C., & MOREAU, T. (2018). Neutralization of toxins and pathogen protection by yeast-derived postbiotics. *Veterinary Microbiology*, 214, 20-30.

SÁNCHEZ, M. L., ALVAREZ, M., & TORRES, P. (2021). Role of  $\beta$ -glucans and MOS in stimulating the innate immune response in animals. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 235, 110288.

SANTOS, K. D. M. et al. (2021). *Saccharomyces cerevisiae* Dehydrated Culture Modulates Fecal Microbiota and Improves Innate Immunity of Adult Dogs. *Fermentation*, v.8, n.1, p.2.

SINGH, R. S. et al. (2016). Recent insights in enzymatic synthesis of fructooligosaccharides from inulin. *Internacional Journal of Biological Macromolecules*, v. 85, p. 565-572.

SONG, D. et al. (2012). Recent Application of Probiotics in Food and Agricultural Science.

SOUZA, C. M.M. et al. (2018). Association of mannanoligosaccharides and yucca as a promoter of intestinal health and faecal characteristics of dogs. *Archives of Veterinary Science*, v.22, n.3, p. 15-23.

STERCOVA, A., FALDYNOVA, M., & SLAMA, P. (2016). Beneficial effects of  $\beta$ -glucans in reducing the impact of mycotoxins in broiler chickens. *Animal Nutrition*, 2(4), 256-263.

STROMPFOVÁ, V. et al (2021). Effect of hydrolyzed yeast administration on fecal microbiota, haematology, serum biochemistry and cellular immunity in healthy dogs. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, p. 1-10.

SUCHODOLSKI, J. S. et al. (2008). Analysis of bacterial diversity in the canina duodenum, jejunum, ileum and colon by comparative 16S rRNA gene analysis. *FEMS microbiology ecology*, v.66, n. 3, p. 567-578.

SUCHODOLSKI, J. S. (2011). Intestinal microbiota of dogs and cats: a bigger world than we thought. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v. 41, n. 2, p. 261-272.

SUCHODOLSKI, J. S. (2022). The gut microbiota and microbiome: Functions and impact on animal health. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 36(2), 476-489.

SWANSON, K.S. et al. (2002). Supplemental fructooligosaccharides and mannanoligosaccharides influence immune function, ileal and total tract nutrient digestibilities, microbial populations and concentrations of protein catabolites in the large bowel of dogs. *The Journal of Nutrition*, v. 132, n.5, p. 980-989.

SWANSON, K. S. et al. (2020). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics. *Nature reviews gastroenterology&Hepatology*, v.17, n.11, p. 687-701.

TANIHIRO, K., NAKAMURA, Y., & YAMADA, T. (2021). Effects of yeast-derived mannanoligosaccharides (MOS) on beneficial bacterial growth in the gut. *Applied Environmental Microbiology*, 87(6), e. 02158-20.

THEODORO, S, S. et al. (2019). Effects of the solubility of yeast cell wall preparations on their potential prebiotic properties in dogs. *Plos One*, v.14, n. 11.

THOMAS, D. J., MCMILLAN, A., & GUPTA, R. (2022). Immunomodulatory effects of yeast-derived compounds in various clinical conditions. *Journal of Veterinary Medicine and Research*, 9(1), 57-72.

VAN DEN ABBEELE, P. et al. (2020). Dried yeast cell walls high in beta-glucan and mannan-oligosaccharides positively affect microbial composition and activity in the canine gastrointestinal tract in vitro. *Journal of Animal Science*, v. 98, n. 6, p. 173.

VARNEY, M. L., SHAH, M., & NARASIMHAN, B. (2021). Sustainable production of postbiotics from industrial by-products: A circular economy approach. *Environmental Biotechnology*, 15(4), 221-234.

VEGA, R., ZUNIGA-HANSEN, M. (2015). The effect of processing conditions on the stability of fructooligosaccharides in acidic food products. *Food Chemistry*, v. 173, p. 784-789.

WANG, Y., LIU, Q., & WU, X. (2020). Protection of gut microbiota against pathogenic bacteria through *Lactobacillus rhamnosus* supplementation. *Journal of Functional Foods*, 68, 103896.

WEESE, J.S., MARTIN, H. Assessment of commercial probiotic bacterial contents and label accuracy. *The Canadian Veterinary Journal*, v. 52, n.1, p. 43.

WERNIMONT, S. M., et al. (2020). The effects of nutrition on the gastrointestinal microbiome of cats and dogs: impact on health and disease. *Frontiers in Microbiology*, v. 11, p. 1266.

YANG, F., & CHEUNG, P.C.K. (2023). Fungal  $\beta$ -Glucan-Based Nanotherapeutics: From Fabrication to Application. *Journal of Fungi*, v.9, n.4, p.475.

XU, H. et al. (2019). Metagenomic analysis revealed beneficial effects of probiotics in improving the composition and function of the gut microbiota in dogs with diarrhoea. *Food & Function*, v. 10, n.5, p. 2618-2629.

ZIESE, A. & SUCHODOLSKI, J. S. (2021). Impact of changes in gastrointestinal microbiota in canine and feline digestive diseases. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, v. 51, n.1, p. 155-169.

ZYREK, A. A., et al. (2007). Molecular mechanisms underlying the probiotic effects of *Escherichia coli* Nissle 1917 involve ZO-2 and PKC $\lambda$  redistribution resulting in tight junction and epithelial barrier repair. *Cellular Microbiology*, v.9, n.3, p. 804-816.

## CAPÍTULO II - MICROBIOTA INTESTINAL DE CÃES SUPLEMENTADOS COM SIMBIÓTICOS E SUBMETIDOS À TROCA ABRUPTA DE DIETA

### RESUMO

Situações estressantes, como mudanças abruptas na dieta, podem afetar negativamente a composição da microbiota intestinal e causar distúrbios gastrointestinais. Nesse contexto, os simbióticos têm sido objeto de estudos por sua capacidade de modular a microbiota intestinal e seus metabólitos. Dessa forma, objetivou-se avaliar o efeito da suplementação desimbiótica sobre as características fecais e microbiota intestinal em cães adultos saudáveis submetidos a uma mudança abrupta na dieta. Foram utilizados 16 cães adultos de um ano e meio, da raça Beagle, os quais foram divididos aleatoriamente em dois grupos, placebo, sem (n=8), e simbiótico, com suplementação de cepas bacterianas probióticas e parede celular de levedura (n=8). Foi fornecido via oral duas cápsulas de placebo e duas de simbiótico por animal, uma vez ao dia (SID), de modo cego. O experimento foi de 40 dias, durante todo o período receberam suplementação ao acaso, divididos em dois períodos. Durante 20 dias, todos os cães foram alimentados com uma dieta de alta digestibilidade, em seguida, foram transicionados abruptamente para uma dieta de baixa digestibilidade por mais 20 dias, durante todo período estavam sendo suplementados com simbiótico e placebo. Fezes frescas foram coletadas nos dias 20, 22 e 40 do experimento para avaliação de matéria seca, escurecimento, amônia, pH e microbiota fecal. A quantificação dos táxons bacterianos foi realizada por qPCR e o índice de disbiose foi calculado. Os dados foram analisados por ANOVA e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). Não foi observado efeito do simbiótico sobre as características fecais ou sobre o índice de disbiose ( $P > 0,05$ ). Entretanto, houve aumento de *Bifidobacterium* e bactérias universais apenas nas fezes do grupo placebo logo após a troca abrupta de dieta ( $P < 0,05$ ). Houve aumento no índice de disbiose e na abundância de *Escherichia coli* imediatamente após a troca abrupta de dieta ( $P < 0,05$ ), independentemente da suplementação. Além disso, observou-se aumento de *Clostridium hiranonis* e redução no *Streptococcus*, *Bifidobacterium* e *Bacteroides* nas fezes com o consumo da dieta de alta digestibilidade ( $P < 0,05$ ). Conclui-se que a transição abrupta de dieta pode induzir aumento no índice de disbiose em cães

e que a digestibilidade dos nutrientes apresenta maior influência sobre a composição da microbiota intestinal que a suplementação do simbiótico em cães saudáveis, sem presença de diarreia osmótica.

**Palavras-chave:** digestibilidade; disbiose; probiótico.

## GUT MICROBIOME OF DOGS SUPPLEMENTED WITH SYMBIOTICS AND SUBMITTED TO AN ABRUPT DIETARY CHANGE

### ABSTRACT

Stressful situations, such as abrupt dietary changes, can negatively affect the composition of the intestinal microbiota and may result in gastrointestinal disorders. In this context, symbiotics have been the subject of studies due to their ability to modulate the intestinal microbiota and its metabolites. This study aimed to evaluate the effect of symbiotic supplementation on fecal characteristics and intestinal microbiota in healthy adult dogs undergoing an abrupt dietary change. Sixteen adult Beagle dogs were randomly divided into two groups: placebo, without (n=8), and symbiotic, with supplementation of probiotic bacterial strains and yeast cell wall (n=8). Two placebo capsules and two symbiotic capsules per animal per day were provided orally in a single-blind design, so the researchers did not know the treatments. For 20 days, all the dogs were fed a high-digestibility diet and then abruptly transitioned to a low-digestibility diet for another 20 days, in all the entire period they were being supplemented with symbiotic and placebo. Fresh feces were collected on days 20, 22, and 40 of the experiment to assess dry matter, score, ammonia, pH, and fecal microbiota. The bacterial taxa were quantified by qPCR and the dysbiosis index was calculated. The data was analyzed by ANOVA and the means were compared using the Tukey test ( $P < 0.05$ ). There was no effect of the symbiotic on fecal characteristics or the dysbiosis index ( $P > 0.05$ ). However, there was an increase in *Bifidobacterium* and total bacteria only in the feces of dogs of the placebo group after the dietary change ( $P < 0.05$ ). There was an increase in the dysbiosis index and in the abundance of *Escherichia coli* immediately after the abrupt dietary change ( $P < 0.05$ ), regardless of supplementation. In addition, there was an increase in *Clostridium hiranonis* and a reduction in *Streptococcus*, *Bifidobacterium*, and *Bacteroides* in the feces with the consumption of the high-digestible diet ( $P < 0.05$ ). It is concluded that abrupt dietary transition can induce an increase in the dysbiosis index in dogs and that nutrient digestibility has a greater influence on the composition of the intestinal microbiota than symbiotic supplementation in healthy dogs.

**Key words:** digestibility; dysbiosis; probiotic.

## 1. INTRODUÇÃO

Comumente cães são expostos a situações estressantes, como desmame, mudanças abruptas na alimentação, doenças e uso de medicamentos. Essas situações têm o potencial de alterar a composição e diversidade da microbiota intestinal (Fernandez *et al.*, 2000), interferindo negativamente no ambiente gastrointestinal, levando a um estado de disbiose. Considerando isso, aditivos funcionais têm sido objeto de estudos na nutrição de animais de companhia, demonstrando capacidade de modular beneficemente a microbiota intestinal e seus metabólitos (Bastos *et al.*, 2023). Entre esses aditivos, destacam-se os probióticos, prebióticos e simbióticos (Suchodolski, 2020).

Os probióticos são microrganismos vivos definidos como capazes de conferir benefícios à saúde do hospedeiro quando administrados em quantidades adequadas (Gibson *et al.*, 2017). O uso de probióticos pode contribuir com a funcionalidade intestinal por meio de vários mecanismos, incluindo a eliminação de patógenos intestinais (Lee *et al.*, 2003), produção de substâncias antimicrobianas (Jones e Versalovic, 2009), aumento da resposta imunológica (Pagnini *et al.*, 2010) e produção e regulação de metabólitos no intestino (Soo *et al.*, 2008). Já, os prebióticos são definidos como ingredientes fermentados seletivamente, que resultam em alterações benéficas na composição e atividade da microbiota gastrointestinal (Gibson *et al.*, 2017). Por sua vez, os simbióticos são preparações que incluem probióticos e prebióticos em sua composição, aproveitando os efeitos sinérgicos entre esses componentes para promover benefícios à funcionalidade intestinal (Gibson *et al.*, 2017).

Para cães, diversos microrganismos têm sido utilizados como probióticos, incluindo bactérias e leveduras vivas. Entre as cepas probióticas mais estudadas, o uso de *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus acidophilus* e *Bacillus subtilis* têm demonstrado efeitos interessantes sobre a funcionalidade intestinal, tais como redução de bactérias potencialmente patogênicas, diminuição de compostos nitrogenados no intestino e aumento de IgA fecal (Swanson *et al.*, 2002; Benyacoub *et al.*, 2003; Marciňáková *et al.*, 2006; Bastos *et al.*, 2020). Em relação aos prebióticos, os mais estudados para cães incluem os frutooligossacarídeos (FOS), mananoligossacarídeos (MOS),

galactooligossacarídeos e inulina (Hughes & Rowland, 2001; Ogué-Bon *et al.*, 2010; Roberfroid *et al.*, 2010; Koh *et al.*, 2013).

Apesar dos efeitos benéficos já observados, a maioria dos estudos existentes avalia o uso de cepas probióticas e prebióticos individualmente ou *blends* com composições variáveis. Essa diversidade de abordagens, juntamente com as diferentes medidas e técnicas utilizadas para avaliar o efeito desses aditivos sobre a microbiota intestinal, torna a interpretação dos resultados desafiadora. Diante disso, recentemente, foi desenvolvido o índice de disbiose, um método validado para identificar distúrbios da microbiota intestinal de cães de forma precisa e padronizada (Alshawaqfeh *et al.*, 2017). Considerando esses desafios e a importância de uma avaliação com poucas informações na literatura, o presente estudo tem como objetivo avaliar o efeito de um simbiótico sobre as características fecais, microbiota intestinal e índice de disbiose em cães adultos saudáveis submetidos a uma mudança abrupta de dieta.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Animais e instalações**

O uso de animais para este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brasil, sob o protocolo n.066/2023. O estudo foi realizado no Laboratório de Estudos em Nutrição Canina - LENUCAN em Curitiba, Paraná, Brasil (25° 25' 40" S, 49° 16' 23" W).

Foram utilizados 16 cães adultos castrados da raça Beagle com aproximadamente 1,5 ± 0,03 anos de idade (8 machos e 8 fêmeas), com peso corporal médio de 11,22 ± 1,10 kg e escore de condição corporal de 4,8 ± 0,6, em uma escala de 1 a 9 (Laflamme, 1997). Todos os animais foram submetidos a avaliação clínica prévia e foram considerados saudáveis. Durante o período de coleta de fezes, os cães foram alojados individualmente em canis de alvenaria (5 m de comprimento x 2 m de largura), com uma cama e acesso livre a água fresca. As instalações tinham grades e telas metalizadas recintos que permitiam interação visual e limitada com os cães vizinhos. Durante a maior parte do experimento, os cães tiveram livre acesso a uma área externa de 1,137 m<sup>2</sup> por

4h/dia para exercícios voluntários e socialização. A temperatura ambiente variou de 16° C a 28° C, com um ciclo claro-escuro de 12 horas (luz das 6:00 às 18:00).

## 2.2 Tratamentos experimentais

Foram avaliados dois tratamentos experimentais: placebo e simbiótico, na dose de 2 cápsulas por dia, juntamente com a dieta pela manhã, de modo cego, durante 40 dias. Cada oito cães (4 machos e 4 fêmeas) receberam um dos tratamentos de modo inteiramente ao acaso. Cada cápsula do tratamento simbiótico consistia em 1,5 mg de um aditivo formado por:  $1,9 \times 10^8$  UFC/g de *Lactobacillus lactis*,  $1,3 \times 10^8$  UFC/g de *Bifidobacterium bifidum*,  $2,6 \times 10^8$  UFC/g de *Enterococcus faecium*,  $3,7 \times 10^8$  UFC/g de *Lactobacillus acidophilus*,  $2,6 \times 10^8$  UFC/g de *Lactocaseibacillus casei*,  $3,7 \times 10^8$  UFC/g de *Saccharomyces cerevisiae*,  $1,9 \times 10^8$  UFC de *Bacillus subtilis*, 3400 mg/kg de MOS, 1760 mg/kg de inulina, água, amido, glicerina, goma xantana e palatabilizante (LactobacDog® Plus, Organnact®, Curitiba, PR, Brasil). As cápsulas placebo, sem simbiótico, continham apenas água, amido, glicerina, goma xantana e palatabilizante.

Nos primeiros 20 dias do experimento, todos os cães foram alimentados com um alimento completo seco extrusado para cães adultos de alta digestibilidade (AD), sem aditivos funcionais como prebióticos ou probióticos. No 21º dia experimental, os cães foram submetidos à troca abrupta de dieta, para um alimento completo seco extrusado para cães adultos de baixa digestibilidade (BD), sem aditivos funcionais como probióticos e prebióticos. Os cães consumiram a dieta BD por mais 20 dias. Os animais foram alimentados duas vezes ao dia de acordo com as suas necessidades de energia metabolizável para manutenção, segundo o NRC (2006). A água foi fornecida à vontade.

A composição química, os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) e energia metabolizável (EM) das dietas estão descritos na tabela 1. Os CDA e EM da dieta foram determinados em estudo prévio em cães utilizando o método da coleta total de fezes, segundo a AAFCO (2016).

Tabela 1. Composição química (% , matéria seca), coeficientes de digestibilidade aparente (CDA, %) e energia metabolizável (EM kcal/kg) das dietas de alta (AD) e baixa digestibilidade (BD).

Item	AD	BD
<b>Composição química</b>		
Matéria seca	93,89	93,64
Proteína bruta	24,76	24,18
Fibra bruta	1,78	3,81
Extrato etéreo em hidrólise ácida	13,09	10,40
Matéria mineral	7,51	9,19
Cálcio	1,65	2,74
Fósforo	0,81	1,14
<b>CDA</b>		
Matéria seca	82,6	70,7
Matéria orgânica	85,7	75,2
Proteína bruta	86,1	78,2
Extrato etéreo	91,2	89,0
Energia metabolizável	3925,2	3265,8

Ingredientes principais da dieta AD: Milho, farinha de vísceras de aves, quirera de arroz, farelo de arroz desengordurado, hidrolisado de fígado de aves, banha refinada, gordura de aves, vitaminas e minerais.

Ingredientes principais da dieta BD: Milho, farelo de trigo, farinha de carne e ossos bovino, farinha de penas hidrolisada, hidrolisado de fígado de aves e suíno, gordura de aves, vitaminas e minerais.

### 2.3 Análises laboratoriais

As dietas experimentais foram moídas a 1mm em moinho (Arthur H. 149 Thomas Co., Filadélfia, PA, EUA) e analisadas quanto à matéria seca (MS) a 105°C, por 12 horas, proteína bruta (método 954.01), fibra bruta (método 994.13), matéria mineral (método 942.05) e extrato etéreo em hidrólise ácida (método 942.05). Todas as análises seguiram as recomendações da *Association of the Official Analytical Chemists* (AOAC, 1995). A energia bruta foi determinada em bomba de calorimetria (IKA, C200, Alemanha).

Fezes frescas, com no máximo 15 minutos de defecação, foram coletadas nos dias 20, 22 e 40 experimentais, para análises de matéria seca (MSf), escore, pH, amônia

e microbiota. O escore fecal foi avaliado sempre pelo mesmo pesquisador, atribuindo pontos de 1 a 5, sendo: 1 = fezes macias e sem forma definida; 2 = fezes moles e mal-formadas; 3 = fezes moles, formadas e úmidas; 4 = fezes bem formadas e consistentes; 5 = fezes bem formadas, duras e secas, de acordo com Carciofi *et al.*, (2009). O pH fecal foi medido com pHmetro digital (331, Politeste Instrumentos de Teste Ltda., São Paulo, SP, Brasil) usando 3,0 g de fezes frescas diluídas em 30 mL de água destilada. A concentração de amônia fecal foi determinada de acordo com Brito *et al.*, (2010).

A análise da microbiota fecal foi feita por qPCR dos gêneros *Faecalibacterium*, *Blautia*, *Fusobacterium*, *Turicibacter*, *Clostridium hiranonis*, *Streptococcus*, *Escherichia coli*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium* e bactérias totais. Com base nos resultados das 7 primeiras bactérias corrigidas para o número de bactérias totais, foi calculado o índice de disbiose. Essas análises, bem como o cálculo do índice de disbiose, foram realizados de acordo com Alshawaqfeh *et al.*, (2017).

## 2.4 Análises estatísticas

Os dados foram analisados quanto à normalidade pelo teste Shapiro Wilk. Os dados com distribuição normal foram submetidos à Análise de variância, considerando os efeitos de dieta (AD20, BD22 e BD40), suplementação (placebo e simbiótico) e interação dieta x suplementação. Cada cão foi considerado uma unidade experimental, totalizando 8 repetições por tratamento. Quando o teste F da ANOVA indicou diferença estatística para dieta ou interação dieta x suplementação ( $P < 0,05$ ), as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ). As análises foram realizadas no software MiniTab®18.

## 3. RESULTADOS

Não houve episódios de recusa alimentar, vômito ou diarreia durante todo experimento. Todos os cães mantiveram o peso e o escore de condição corporal constantes ao longo do estudo e consumiram as cápsulas integralmente. Os resultados do índice de disbiose e bactérias fecais estão apresentados na tabela 2 e figura 1.

Após a transição para a dieta de BD, houve aumento no índice de disbiose em todos os grupos experimentais ( $P < 0,05$ ). Não houve efeito do simbiótico sobre o índice

de disbiose ( $P>0,05$ ). Apesar disso, todos os cães apresentaram índice de disbiose menor que 0, característico de cães saudáveis sem distúrbios gastrointestinais (Al Shawaqfeh *et al.*, 2017).

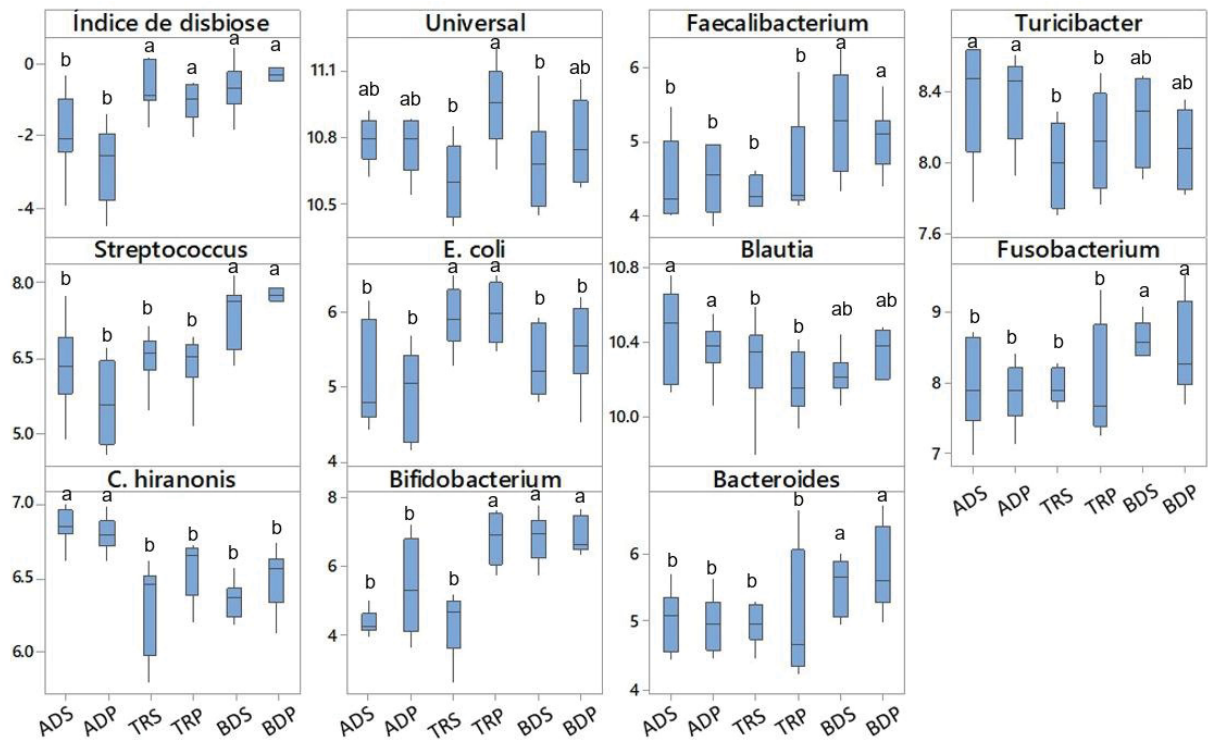
Houve maior abundância de bactérias universais no grupo placebo em relação ao simbiótico logo após a transição dietética ( $P<0,05$ ). A abundância das bactérias *Faecalibacterium*, *Streptococcus*, *Fusobacterium*, *Bifidobacterium* e *Bacteroides* aumentou nas fezes de ambos os grupos, placebo e simbiótico, após 20 dias de consumo da dieta de BD, sendo que o aumento na *Bifidobacterium* foi observado logo após a transição apenas no grupo placebo ( $P<0,05$ ). Já, a abundância fecal de *C. hiranonis* foi maior nos cães alimentados com a dieta de AD ( $P<0,05$ ), independentemente da suplementação. Entretanto, quando observado apenas os efeitos da suplementação, os cães do grupo placebo apresentaram maior abundância fecal de *C. hiranonis*, independentemente da dieta ( $P<0,05$ ). Houve aumento na *E. coli* fecal em ambos os grupos após a troca abrupta pela dieta de BD, sendo que os valores foram reduzidos após 20 dias de consumo dessa dieta ( $P<0,05$ ).

**Tabela 2.** Médias do índice de disbiose (ID) e bactérias (logDNA) fecais de cães alimentados com dietas de alta (AD) e baixa digestibilidade (BD) recebendo suplementação (SU) de placebo (PLA) ou simbiótico (SIM).

Dieta	AD		TR <sup>1</sup>		BD		EPM <sup>2</sup>	P- valor		
	SIM	PLA	SIM	PLA	SIM	PLA		D	SU	SU
SU										
ID	-1,93b	-2,76b	-0,64a	-1,05a	-0,66a	-0,32a	0,169	<b>&lt;0,001</b>	0,222	0,13
Universal (Totais)	10,79ab	10,76ab	10,60b	10,94a	10,69b	10,78ab	0,027	0,758	<b>0,008</b>	<b>0,08</b>
<i>Faecalibacterim</i>	4,46b	4,48b	4,41b	4,65b	5,27a	5,04a	0,091	<b>0,002</b>	0,939	0,51
<i>Turicibacter</i>	8,35a	8,36a	7,88b	8,12b	8,24ab	7,98ab	0,053	<b>0,018</b>	0,984	0,13
<i>Streptococcus</i>	6,34b	5,64b	6,52b	6,38b	7,38a	7,59a	0,133	<b>&lt;0,001</b>	0,285	0,12
<i>E. coli</i>	5,11b	4,92b	5,94a	6,00a	5,35b	5,52b	0,092	<b>&lt;0,001</b>	0,920	0,61
<i>Blautia</i>	10,46a	10,37a	10,29b	10,18b	10,23ab	10,29ab	0,031	<b>0,036</b>	0,426	0,9
<i>Fusobacterium</i>	7,98b	7,85b	7,95b	7,98b	8,50a	8,45a	0,088	<b>0,017</b>	0,761	18
<i>C. hiranonis</i>	6,86a	6,81a	6,31b	6,57b	6,36b	6,50b	0,039	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,040</b>	0,06
<i>Bifidobacterium</i>	4,37b	5,37b	4,38b	6,82a	6,90a	6,94a	0,201	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,01</b>
<i>Bacteroides</i>	5,04b	4,98b	4,96b	5,04b	5,54a	5,75a	0,089	<b>0,003</b>	0,648	0,78

TR: segundo dia após transição abrupta da dieta AD para a BD. EPM: erro padrão da média

<sup>a,b</sup>Médias seguidas por letras distintas diferem pelo teste de Tukey ( $P<0,05$ ).



<sup>a,b</sup>Médias seguidas por letras distintas diferem pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Figura 1. Índice de disbiose e bactérias quantificadas (logDNA) nas fezes de cães alimentados com dietas de alta (AD) ou baixa (BD) digestibilidade recebendo simbiótico (SIM) ou placebo (PLA). A Transição (TR) representa a coleta de fezes no segundo dia após a troca abrupta para a dieta de baixa digestibilidade.

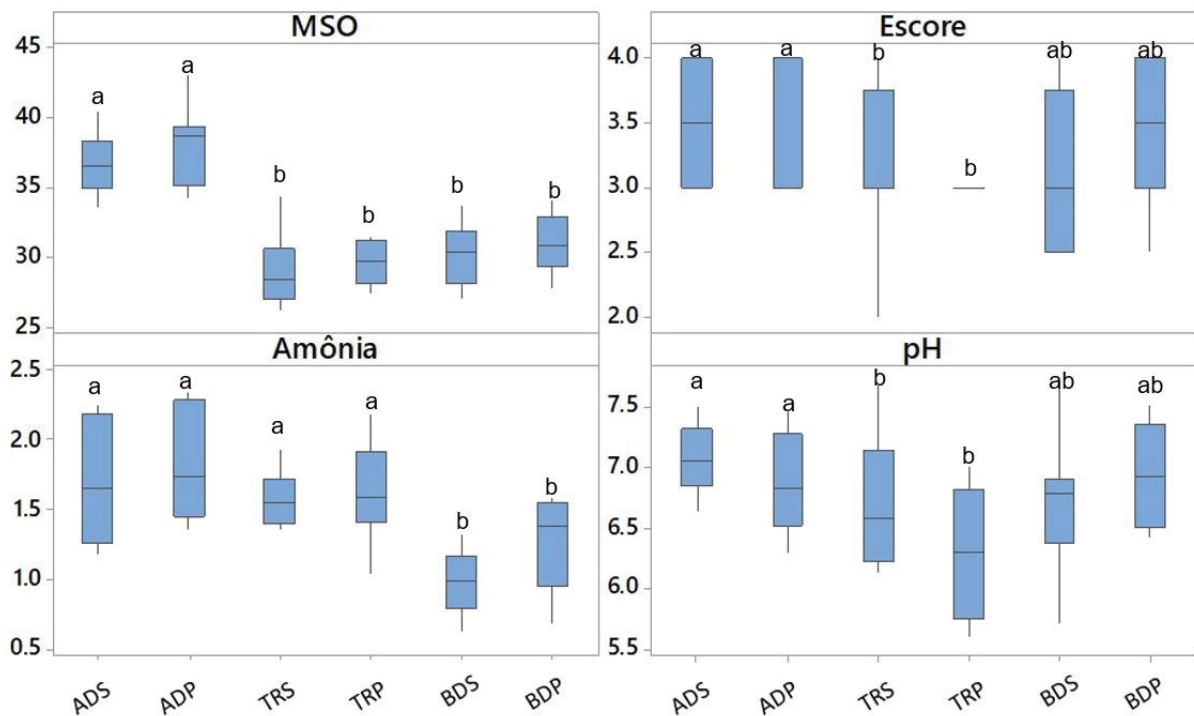
Em relação às características fecais (Tabela 3), quando avaliado apenas os efeitos das dietas, os cães alimentados com a dieta de AD apresentaram de modo geral maior MSf, escurecimento, amônia e pH fecais ( $P < 0,05$ ). Os tratamentos simbiótico e placebo não influenciaram nas características fecais dos cães ( $P > 0,05$ , Tabela 3 e Figura 2).

**Tabela 3.** Médias das características fecais de cães alimentados com dietas de alta (AD) e baixa (BD) digestibilidade recebendo suplementação (SU) de placebo (PLA) ou simbiótico (SIM).

Dieta	AD		TR <sup>1</sup>		BD		EPM <sup>2</sup>	P-valor		
	SIM	PLA	SIM	PLA	SIM	PLA		D	SU	D x SU

MS (%)	36,70a	37,94a	29,00b	29,66b	30,19b	30,98b	0,60	<b>&lt;0,001</b>	0,200	0,922
Escore	3,5a	3,6a	3,1b	3,0b	3,0ab	3,5ab	0,09	<b>0,049</b>	0,462	0,483
Amônia	1,71a	1,84a	1,59a	1,62a	0,99b	1,28b	0,06	<b>&lt;0,001</b>	0,135	0,570
pH	7,08a	6,87a	6,71b	6,31b	6,71ab	6,93ab	0,07	<b>0,023</b>	0,346	0,166

<sup>1</sup>TR: segundo dia após transição abrupta da dieta AD pela BD. <sup>2</sup>EPM: erro padrão da média. Escore: 1 = fezes líquidas a 5 = fezes secas. MS: matéria seca (%). <sup>a,b</sup>Médias seguidas por letras distintas diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).



<sup>a,b</sup>Médias seguidas por letras distintas diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

Figura 2. Características fecais de cães alimentados com dietas de alta (AD) ou baixa (BD) digestibilidade recebendo suplementação de simbiótico ou placebo. A Transição (TR) representa a coleta de fezes no segundo dia após a troca abrupta para a dieta de baixa digestibilidade. Amônia (%), MSO (matéria seca original, %), Escore (1 = fezes líquidas a 5 = fezes secas).

#### 4. DISCUSSÃO

O presente estudo utilizou a transição abrupta de uma dieta de AD para uma de BD, como forma de desafio à microbiota intestinal, para verificar os efeitos de um simbiótico em cães saudáveis. De modo geral, os resultados indicam que a digestibilidade da dieta

apresentou maior efeito sobre a microbiota intestinal que a suplementação do simbiótico avaliado. Alterações abruptas na dieta são conhecidas por afetarem significativamente a microbiota intestinal dos cães, podendo causar disbiose dependendo da sua composição e digestibilidade (Lin *et al.*, 2022; Bastos *et al.*, 2023). Por sua vez, o desequilíbrio da microbiota intestinal está comumente associado a distúrbios gastrointestinais, demonstrando a importância da manutenção de um microbioma estável (Honneffer *et al.*, 2014).

Durante o período de consumo da dieta AD, todos animais apresentaram maior abundância fecal de *Clostridium hiranonis*. Essa bactéria é encontrada em animais saudáveis, e tem importante função na conversão de ácidos biliares primários em secundários no intestino (Suchodolski, 2022). Ainda, corroborando com esse resultado de modulação positiva da microbiota intestinal, os cães alimentados com a dieta de AD apresentaram maior consistência fecal. Esse resultado é esperado e pode ser atribuído às características nutricionais da dieta AD, que possuía maior CDA da proteína bruta (CDA = 86,1 vs. 78,2%) e moderado teor de fibra bruta (1,78 vs. 3,81%), em relação à dieta BD. Osmolaridade intestinal, sem presença de diarreia osmótica nos animais.

O aumento da abundância fecal de *E. coli* após a troca para a dieta de BD pode ser explicado pela maior concentração de compostos nitrogenados não digeridos que chegaram ao cólon dos cães. A maior disponibilidade de proteína e peptídeos não digeridos no cólon pode aumentar a produção de metabólitos fermentativos com potencial tóxico para a mucosa intestinal, como aminas biogênicas, fenóis e indóis, promovendo ambiente que favorece o crescimento de bactérias potencialmente patogênicas, como a *E. Coli* (Windey *et al.*, 2012). Apesar disso, após 20 dias de consumo da dieta BD, as quantidades de *E. coli* foram reduzidas e houve aumento das bactérias *Faecalibacterium*, *Streptococcus*, *Fusobacterium*, *Bifidobacterium* e *Bacteroides* nas fezes de ambos os grupos. Essas bactérias, com exceção do *Streptococcus*, são relacionadas a eubiose e encontradas em animais saudáveis (AlShawaqfeh *et al.*, 2017; Suchodolski, 2022). Pode-se atribuir esse resultado a uma possível adaptação da microbiota intestinal dos cães a dieta BD consumida após 20 dias. Fato semelhante foi observado em um estudo no qual a microbiota intestinal foi estabilizada em duas semanas após a transição abrupta de

dieta em cães (Lin *et al.*, 2022). Além disso, é importante ressaltar que esses animais podem estar mais acostumados com mudanças alimentares do que cães domiciliados.

O simbiótico não teve efeito sobre o índice de disbiose e características fecais dos cães. No entanto, foi observado aumento na abundância fecal de bactérias universais e de *Bifidobacterium* logo após a troca abrupta para a dieta de BD apenas no grupo placebo. Embora o gênero *Bifidobacterium* normalmente não esteja relacionado à disbiose em cães (AlShawaqfeh *et al.*, 2017), o seu aumento, associado à maior abundância de bactérias universais, pode indicar algum grau de desequilíbrio no microbioma intestinal dos cães após a troca abrupta de dieta apenas no grupo placebo. Isso poderia indicar efeito do simbiótico em manter a microbiota mais estável em situações de troca abrupta de dieta. Inclusive, um estudo em cães com insuficiência pancreática exócrina observou aumento na abundância fecal de *Bifidobacterium* nos animais doentes, em relação aos saudáveis (Blake *et al.*, 2019), provavelmente pela maior chegada de substrato no cólon desses animais.

Apesar de estudos observarem efeitos benéficos na funcionalidade intestinal em cães suplementados com simbióticos (Swanson *et al.*, 2002; Ogué-Bone *et al.*, 2011; Garcia-Mazcorro *et al.*, 2012; Tanprasertsuk *et al.*, 2021), os resultados deste estudo indicam que a eficácia pode provavelmente variar dependendo da dieta, presença de distúrbios gastrointestinais e composição inicial da microbiota intestinal dos animais. Inclusive, um estudo observou que os efeitos do simbiótico foram mais expressivos em cães saudáveis com maior abundância de *Proteobacteria* e menor de *Lactobacillus* nas fezes (Tanprasertsuk *et al.*, 2021). Desse modo, considerando a complexidade das interações que ocorrem no trato gastrointestinal, é importante que mais estudos sejam conduzidos para melhor elucidar os potenciais efeitos de simbióticos para a funcionalidade intestinal de cães.

## 5. CONCLUSÃO

Conclui-se que dietas de baixa digestibilidade promovem aumento do índice disbiose intestinal, com maior abundância de *E. coli* e *Streptococcus* e redução no *C. hiranonis* em cães. O uso de simbiótico pode não alterar a eubiose e as características fecais de cães saudáveis de laboratório submetidos à troca abrupta de alimentação.

## REFERÊNCIAS

AAFCO. Association of American Feed Control Officials. Dog and Cat Nutrient Profiles. Official Publication of the Association of American Feed Control Officials Incorporated. AAFCO, Oxford, IN, USA, 2016.

ALEXANDER, C.; SWANSON, K.S.; FAHEY, Jr., G.C.; GARLEB, K.A. Perspective: Physiologic importance of short-chain fatty acids from non-digestible carbohydrate fermentation. *Adv. Nutr.* 10, 576–589, 2019.

ALSHAWAQFEH, M.K.; WAJID, B.; MINAMOTO, Y.; MARKEL, M.; LIDBURY, J.A.; STEINER, J.M.; SERPEDIN, E.; SUCHODOLSKI, J.S. A dysbiosis index to assess microbial changes in fecal samples of dogs with chronic inflammatory enteropathy. *FEMS Microbiol. Ecol.* 93, 136, 2017.

AOAC. Association of the Official Analytical Chemists, AOAC. Official Methods of Analysis, 16th ed. AOAC, Washington, D. C, USA, 1995.

BLAKE, A.B.; GUARD, B.C.; HONNEFFER, J.B.; LIDBURY, J.A.; STEINER, J.M.; SUCHODOLSKI, J.S. Altered microbiota, fecal lactate, and fecal bile acids in dogs with gastrointestinal disease. *PLoS One.* 14, e0224454, 2019.

BOLYEN, E.; RIDEOUT, J.R.; DILON, M.R.; BOKULICH, N.A.; ABNET, C.C.; ALGHALITH, G.A.; ALEXANDER, H.; ALM, E.J.; ARUMUGAM, M.; ASNICAR, F. *et al.* Reproducible, interactive, scalable, and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nat. Biotechnol.*, 37, 852–857, 2019.

BASTOS, T. S.; SOUZA, C. M. M.; LEGENDRE, H.; RICHARD, N.; PILLA, R.; SUCHODOLSKI, J. S.; FÉLIX, A. P. 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*, 11(2), 506, 2023.

BASTOS, T.S.; LIMA, D.C.; SOUZA, C.M.M. *et al.* *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* reduce faecal protein catabolites concentration and odor in dogs. *BMC Vet Res* 16, 116, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02321-7>.

BENYACOUB, J.; CZARNECKI-MAULDEN, G.L.; CAVADINI, C.; SAUTHIER, T.; ANDERSON, R.E.; SCHIFFRIN, E.J. *et al.* Supplementation of food with *Enterococcus faecium* (SF68) stimulates immune functions in young dogs. *Journal of Nutrition* 133, 1158-1162, 2003.

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.

CHANDLER, R.E. Intestinal microbiota and cardio metabolic risk: mechanisms and diet modulation, *Arq. Bras. Endocrinol Metab.*58, 2018.

EPHRAIM, E.; COCHRANE, C.Y.; JEWELL, D.E. Varying protein levels influence metabolomics and the gut microbiome in healthy adult dogs. *Toxins* 12, 517, 2020.

FERNANDEZ, P.C.C.; LADEIRA, I.Q.; FERREIRA, C.L.L.F. *et al.* Viabilidade do uso de probióticos na alimentação de monogástricos. *Cad. Tec. Vet. Zootec.*, n.31, p.53-71, 2000.

GARCIA MAZCORRO, J.F.; LANERIE, D.J.; DOWD, S.E.; PADDOCK, C.G.; GRÜTZNER, N.; STEINER, J.M.; IVANEK, R.; SUCHODOLSKI, J.S. Effect of a multi-species synbiotic formulation on fecal bacterial microbiota of healthy cats and dogs as evaluated by pyrosequencing. *FEMS Microbiol. Ecol.* 78:542-554, 2011.

GIBSON, G.R.; HUTKINS, R.; SANDERS, M.E.; PRESCOTT, S.L.; REIMER, R.A.; SALMINEN, S.J.; SCOTT, K.; STANTON, C.; SWANSON, K.S.; CANI, P.D.; VERBEKE, K.; REID, G. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotic and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nat Rev. Gastroenterol Hepatol.* 14(8):491-502, 2017.

HONNEFFER, J.B.; MINAMOTO, Y.; SUCHODOLSKI, J.S. Microbiota alterations in acute and chronic gastrointestinal inflammation of cats and dogs. *World journal of gastroenterology: WJG*, v. 20, n. 44, p. 16489, 2014.

JONES, S.E.; VERSALOVIC, J. Probiotic *Lactobacillus reuteri* biofilms produce antimicrobial and anti-inflammatory factors. *BMC Microbiology* 9, 35, 2009.

KANEHISA, M.; GOTO, S. KEGG. Kyoto encyclopedia of genes and genomes. *Nucleic Acids Res.* 28, 27–30, 2000.

KANEHISA, M.; SATO, Y.; KAWASHIMA, M.; FURUMICHI, M.; TANABE, M. KEGG. As a reference resource for gene and protein annotation. *Nucleic Acids Res.* 44, D457–D462, 2016.

KRÖGER, S.; VAHJEN, W.; ZENTEK, J. Influence of lingo cellulose and lower high level of sugar beet pulp on nutrient digestibility and the fecal microbiota in dogs. *J. Anim. Sci.* 95, 1598–1605, 2017.

LAFLAMME, D.R.P.C. Development and validation of a body condition score system for dogs. *Canine Pract.* 22, 10–15, 1997.

LEE, Y.K.; PUONG, K.Y.; OUWEHAND, A.C.; SALMINEN, S. Displacement of bacterial pathogens from mucus and Caco-2 cell surface by lactobacilli. *Journal of Medical Microbiology* 52 (Pt 10), 925–930, 2003.

LIN, C.Y.; ALEXANDER, C.; STEELMAN, A.J.; WARZECHA, C.M.; DE GODOY, M.R.; SWANSON, K.S. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on fecal characteristics, nutrient digestibility, fecal fermentative end-products, fecal microbial populations, immune function, and diet palatability in adult dogs. *J. Anim. Sci.* 97, 1586–1599, 2019.

LIN, C.Y.; JHA, A.R.; OBA, P.M.; YOTIS, S.M.; SHMALBERG, J.; HONAKER, R.W.; SWANSON, K.S. Longitudinal fecal microbiome and metabolite data demonstrate rapid shifts and subsequent stabilization after an abrupt dietary change in healthy adult dogs. *Anim. Microb.* 4, 46, 2022.

MARCIŇÁKOVÁ, M.; SIMONOVÁ, M.; STROMPFOVÁ, V.; LAUKOVÁ, A. Oral application of *Enterococcus faecium* strain EE3 in healthy dogs. *Folia Microbiologica (Praha)* 51, 239–242, 2006.

NRC, National Research Council: Nutrient Requirements of Dogs and Cats. National Academy Press, Washington, DC, USA, 2006.

OGUÉ, B.E.; KHOOC, C.; HOYLES, L.; MC CARTNEY, A.L.; GIBSON, G.R.; RASTALL, R.A. In vitro fermentation of rice bran combined with *Lactobacillus acidophilus* 14 150B or *Bifido bacterium longum* 05 by the canine faecal microbiota. *FEMS Microbiol. Ecol.* 75:365-376, 2011.

O’Leary, N.A.; WRIGHT, M.W.; BRISTER, J.R.; CIUFO, S.; HADDAD, D.; MC VEIGH, R.; PRUITT, K.D. Reference sequence (RefSeq) data base at NCBI: Current status,

taxonomic expansion, and function an annotation. *Nucleic Acids Res.* 44, D733–D745, 2016.

PAGNINI, C.; SAEED, R.; BAMIAS, G.; ARSENEAU, K.O.; PIZARRO, T.T.; COMINELLI, F. Probiotics promote gut health through stimulation of epithelial innate immunity. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107, 454–459, 2010.

SABCHUK, T.T.; LOWNDES, F.G.; SCHERAIBER, M.; SILVA, L.P.; FÉLIX, A.P.; MAIORKA, A.; OLIVEIRA, S.G. Effect of soya hulls on diet digestibility, palatability, and intestinal gas production in dogs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 225, 134–142, 2017.

STERCOVA, E.; KUMPRECHTIVA, D.; AUCLAIR, E.; NOVAKOVA, J. Effects of live yeast dietary supplementation on nutrient digestibility and fecal microflora in beagle dogs. *J. Anim. Sci.* 94, 2909–2918, 2016.

SOO, I.; MADSEN, K.L.; TEJPAR, Q.; SYDORA, B.C.; SHERBANIUK, R.; CINQUE, B. *et al.* VSL#3 probiotic up regulates intestinal mucosa alkaline phosphatase and reduces inflammation. *Canadian Journal of Gastroenterology* 22, 237–242, 2008.

SUCHODOLSKI, J.S. Dysbiosis and the use of pre-, pro- and synbiotic. *Clinical Small Animal Internal Medicine*, p. 621-626, 2020.

SUCHODOLSKI, J.S. Analysis of the gut microbiome in dogs and cats. *Veterinary Clinical Pathology*, v. 50, p. 6-17, 2022.

SWANSON, K.S., DOWD S.E., SUCHODOLSKI, J.S., MIDDELBOSS, I.S., VESTER, B.M., BARRY K.A. *et al.* Phylogenetic and gene-centric metagenomics of the canine intestinal microbiome reveals similarities with humans and mice. *ISME Journal* 5, 639–649, 2011.

SWANSON, K.S.; GRIESHOP, C.M.; FLICKINGER, E.A.; BAUER, L.L.; CHOW, J.; WOLF, B.W.; GARLEB, K.A.; FAHEY, G.C.J. Fructo oligosaccharides and *Lactobacillus acidophilus* modify gut microbial populations, total tract nutrient digestibilities and fecal protein catabolite concentrations in healthy adult dogs. *J. Nutr.* 132:3721-3731, 2002.

TANPRASERTSUK, J.; AASHISH, R.J.; SHMALBERG, J.; JONES, R.B.; PERRY, L.M.; MAUGHAN, H.; HONAKER, R.W. The microbiota of healthy dogs demonstrates individualized responses to symbiotic supplementation in a randomized controlled trial. *Anim. microbiome* 3, 36, 2021.

TOMASIK, P.J.; TOMASIK, P. Probiotics and prebiotics. *Cereal Chem.*, v.80, p.113-117, 2003.

TRAMONTANO, M.; ANDREJEV, S.; PRUTEANU, M.; KLÜNEMANN, M.; KUHN, M.; GALARDINI, M.; JOUHTEN, P.; ZELEZNIAK, A.; ZELLER, G.; BORK, P.; *et al.* Nutritional preferences of human gut bacteria reveal their metabolic idiosyncrasies. *Nat. Microbiol.* 3, 514-522, 2018.

WINDEY, K., DE PRETER, V., VERBEKE, K. Relevance of protein fermentation to gut health. *Mol. Nutr. Food Res.* 56, 184-196. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/mnfr.201100542>, 2012.

## APÊNDICE – COMISSÃO DE ÉTICA



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

### CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo número 066/2023, referente ao projeto de pesquisa “**Microbioma intestinal de cães suplementados com probiótica**”, sob a responsabilidade de **Ananda Portella Félix** – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de Outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas citadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DO SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - BRASIL, com grau de invasividade 1, em 04/12/2023.

Finalidade	Pesquisa
Vigência da autorização	Janeiro/2024 a Março/2024
Espécie/Linhagem	Canis lupus familiaris (canino)
Número de animais	16
Peso/Idade	12kg/1 ano e 6 meses
Sexo	Macho e fêmea
Origem	Laboratório de Estudos em Nutrição Canina da UFPR em Curitiba, Paraná, Brasil

\*A autorização para início da pesquisa/ aula se torna válida a partir da data de emissão deste certificado.

### CERTIFICATE

We certify that the protocol number 066/2023, regarding the research program “**Gut microbiome of dogs supplemented with probiotic**” under **Ananda Portella Félix** – which includes the production, maintenance and/or utilization of animals from Chordata phylum, Vertebrata subphylum (except Humans), for scientific or teaching purposes – is in accordance with the precepts of Law nº 11.794, of 8 October 2008, of Decree nº 6.899, of 15 July 2009, and with the edited rules from Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), and it was approved by the ANIMAL USE ETHICS COMMITTEE OF THE AGRICULTURAL SCIENCES CAMPUS OF THE UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ (Federal University of Paraná, Brazil), with degree of invasiveness 1, on 2023, December 4th.

Purpose	Research
Validity	2024 January until 2024 March
Specie/Line	Canis lupus familiaris (canine)
Number of animals	16
Weight/Age	26,455lb/1 year and 6 months old
Sex	Male and female
Origin	Canine Nutrition Studies Laboratory at UFPR in Curitiba, Paraná, Brazil

\*The authorization to start the research/class becomes valid from the date of issue of this certificate.

Curitiba 04 de dezembro de 2023.

Documento assinado digitalmente  
ALEX MAIORKA  
Data: 4/12/2023 09:21:24 -0300  
Verifique em <https://validar.dl.gov.br/>

**ALEX MAIORKA**  
Coordenador  
Comissão de Ética no Uso de Animais/AG/UFPR

## APÊNDICE – CERTIFICADO DE TRADUÇÃO CAPA UFPR

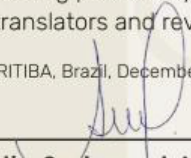
# Translation certificate

The Academic Publishing Advisory Center (CAPA) of the Federal University of Paraná certifies that the manuscript entitled

**GUT MICROBIOME OF DOGS SUPPLEMENTED WITH SYNBIOTICS AND SUBMITTED TO ABRUPT DIETARY CHANGE**

written by **Priscila de Moraes Sanches Villa** as first author, has undergone a thorough translation and editing process by two members of CAPA's team of translators and reviewers.

CURITIBA, Brazil, December 10th, 2024.

  
\_\_\_\_\_  
**Adriana Cristina Sambugaro de Mattos Brahim, Phd**  
CAPA's Coordinator

