

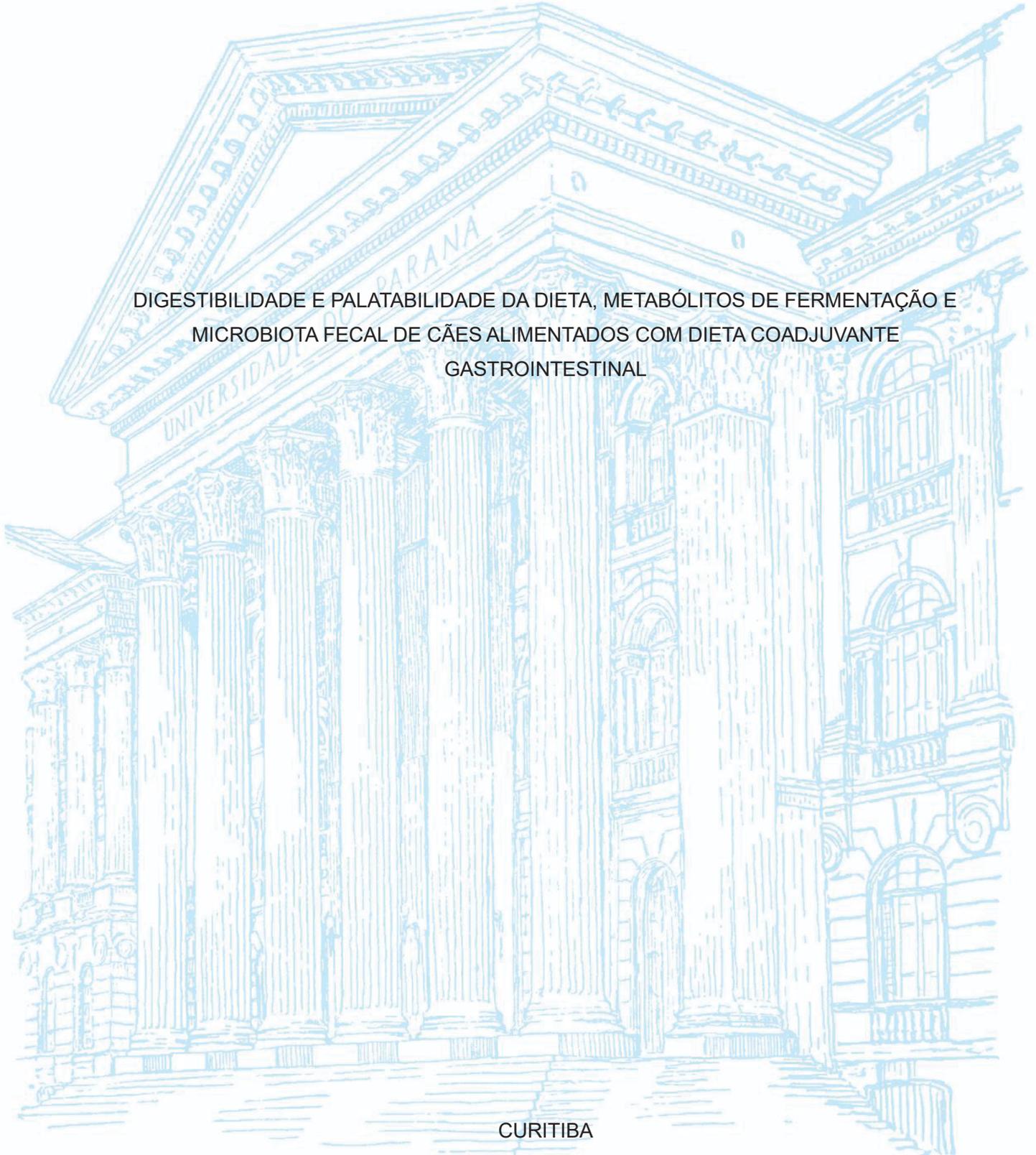
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LORENNIA NICOLE ARAÚJO SANTOS

DIGESTIBILIDADE E PALATABILIDADE DA DIETA, METABÓLITOS DE FERMENTAÇÃO E
MICROBIOTA FECAL DE CÃES ALIMENTADOS COM DIETA COADJUVANTE
GASTROINTESTINAL

CURITIBA

2025



LORENNIA NICOLE ARAÚJO SANTOS

DIGESTIBILIDADE E PALATABILIDADE DA DIETA, METABÓLITOS DE FERMENTAÇÃO E
MICROBIOTA FECAL DE CÃES ALIMENTADOS COM DIETA COADJUVANTE
GASTROINTESTINAL

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Setor de Ciências agrárias, da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Orientadora: Profa. Dra. Ananda Portella Félix.

CURITIBA

2025

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

Santos, Lorena Nicole Araújo

Digestibilidade e palatabilidade da dieta, metabólitos de fermentação e microbiota fecal de cães alimentados com dieta coadjuvante gastrointestinal / Lorena Nicole Araújo Santos. – 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. Cães. 2. Doenças inflamatórias intestinais. 3. Butiratos. 4. Gastroenterologia veterinária. I. Félix, Ananda Portella. II. Universidade Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.

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 **LORENNIA NICOLE ARAUJO SANTOS**, intitulada: **Digestibilidade e palatabilidade da dieta, metabólitos de fermentação e microbiota fecal de cães alimentados com dieta coadjuvante gastrointestinal**, 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, 14 de Fevereiro de 2025.

Assinatura Eletrônica

17/02/2025 08:18:58.0

ANANDA PORTELLA FÉLIX

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

17/02/2025 14:27:01.0

SIMONE GISELE DE OLIVEIRA

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

21/02/2025 10:47:07.0

DANIELE CRISTINA DE LIMA ESCROBOT

Avaliador Externo (IMPEXTRACO)

Dedico este trabalho aos meus pais Carlos e Gislene, a minha irmã Bruna e minha sobrinha Helena.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço aos meus pais, Carlos e Gislene, pelo amor incondicional e por todos os esforços feitos para que eu pudesse estudar. Obrigada por cada gesto de apoio, pelas vezes incontáveis em que me acompanharam nos experimentos, seja arrumando baias, construindo brinquedos para os beagles ou simplesmente oferecendo palavras de conforto. Sem vocês, nada disso seria possível.

À minha irmã Bruna, ao meu cunhado Maurício e à minha sobrinha Helena, luz da minha vida e meu maior amor. Obrigada pelo carinho, apoio e por estarem sempre ao meu lado.

Ao meu namorado Maurício, que me (re)encontrou no meio dessa jornada e topou compartilhar comigo novos desafios e aventuras. Obrigada por acreditar em nós.

Ao eterno grupo “Beaglelinas”, que foi fundamental para a concretização deste projeto. Obrigada pela parceria ao longo de todos esses anos, pelos conselhos, ensinamentos e por dividirem comigo momentos de risos e difíceis. Um agradecimento especial a Renata, “nossa mãe” do laboratório e fonte de inspiração. Obrigada pela paciência, pelas orientações e pelo carinho.

Aos beagles e estagiários do LENUCAN, cada um de vocês deixou sua marca neste projeto. Um reconhecimento especial às estagiárias Thainá, Julia, Estephany e Khauane, que foram mais do que estagiárias, foram amigas que pude contar em todos os momentos.

Aos “Lepners” (LEPNAN), obrigada pela parceria, pelo apoio e pelos cafezinhos da tarde, que foram indispensáveis. Agradeço especialmente ao professor Alex e à professora Simone, que, em diversas vezes, atuaram como coorientadores. Obrigada pelos conselhos, pelo suporte e pelo carinho.

À minha Lepner favorita, melhor amiga e irmã de vida, Ana. Foram sete anos de caminhadas juntas, entre graduação e mestrado. Obrigada por ser meu maior apoio em todos os momentos. Eu te amo.

À minha orientadora, Profa. Ananda, minha eterna inspiração acadêmica. Obrigada pela orientação ao longo de toda a graduação e mestrado, pelos conselhos acadêmicos e pessoais, pela paciência e por acreditar em mim. Você proporcionou a realização de sonhos e abriu portas que transformaram minha vida. Mesmo trilhando novos caminhos, espero te reencontrar. Sentirei saudades imensas.

Ao Laboratório de Nutrição Animal, obrigada pelas análises, ensinamentos e pela parceria de sempre, em especial a Cleusinha, que esteve sempre disponível para ajudar.

À Universidade Federal do Paraná, minha casa ao longo desses anos. Obrigada por tudo que vivi e aprendi aqui.

À Adimax e à VB Alimentos, gratidão pelo apoio ao desenvolvimento desta pesquisa.

A cada um de vocês, meu mais sincero agradecimento. Vocês foram essenciais para que este projeto se tornasse realidade. Espero, um dia, poder retribuir tudo o que recebi. Amo todos vocês!

RESUMO

Os distúrbios gastrointestinais incluem uma diversidade de enfermidades, como as enteropatias agudas e crônicas. O tratamento desses distúrbios inclui dietas específicas que, além de proporcionar alta digestibilidade dos nutrientes e palatabilidade, deve também auxiliar na modulação positiva da microbiota intestinal. Dessa forma, o objetivo do estudo foi avaliar a digestibilidade e palatabilidade da dieta, bem como os metabólitos de fermentação e microbiota fecal de cães saudáveis alimentados com uma dieta coadjuvante formulada para distúrbios gastrointestinais. Foram utilizados 16 cães adultos da raça beagle (8 machos e 8 fêmeas), alimentados com uma dieta controle para manutenção de cães saudáveis por 20 dias, como período pré-experimental. Posteriormente, os cães foram divididos em dois grupos, distribuídos inteiramente ao acaso, nos quais 8 dos cães continuaram a ser alimentados com a dieta controle, e os outros 8 foram transicionados de forma abrupta para uma dieta gastrointestinal (Teste) por 35 dias de período experimental. Fezes frescas foram coletadas nos dias 0, 3, 15 e 30 do período experimental para análises de matéria seca, pH, metabólitos de fermentação e microbiota fecal. A coleta de fezes para a digestibilidade foi realizada nos dias 31 a 36. A dieta teste apresentou maior digestibilidade e palatabilidade em comparação a dieta controle ($P < 0,05$). Foi observada redução no pH e aumento nas concentrações fecais de butirato, amônia, serotonina, cadaverina, putrescina e aminas totais no grupo teste ($P < 0,05$). As dietas resultaram em clara diferenciação no perfil geral do microbioma fecal dos cães a partir do dia 3 ($P < 0,05$). Ainda, foi observado aumento de *Streptococcus* nas fezes do grupo controle e aumento de *Turicibacter* e *Faecalibacterium* nas fezes do grupo teste ($P < 0,05$). Dessa forma, a dieta teste apresenta alta digestibilidade dos nutrientes e melhor palatabilidade, altera os metabólitos de fermentação e modula benéficamente o microbioma fecal de cães saudáveis, demonstrando ser um alimento com potencial de recomendação para animais com distúrbios gastrointestinais.

Palavras-chave: Butirato; enteropatias crônicas, *Faecalibacterium*, *Turicibacter*.

ABSTRACT

Gastrointestinal disorders include a variety of diseases, such as acute and chronic enteropathies. The treatment of these disorders includes specific diets which, in addition to providing high nutrient digestibility and palatability, should also help to positively modulate the intestinal microbiota. The aim of this study was to evaluate the digestibility of the diet, the fermentation metabolites and the fecal microbiota of healthy dogs fed a coadjuvant diet formulated for gastrointestinal disorders. Sixteen adult beagle dogs (8 males and 8 females) were fed a control diet for the maintenance of healthy dogs for 20 days as a pre-experimental period. Subsequently, the dogs were divided into two groups, distributed entirely at random, in which 8 of the dogs continued to be fed the control diet, and the other 8 were abruptly transitioned to a gastrointestinal diet (Test) for 35 days of the experimental period. Fresh fecal matter was collected on days 0, 3, 15 and 30 of the experimental period for analysis of dry matter, pH, fermentation metabolites and fecal microbiota. Feces was collected for digestibility on days 31 to 36. The test diet showed greater digestibility and palatability compared to the control diet ($P < 0.05$). There was a reduction in pH and an increase in fecal concentrations of butyrate, ammonia, serotonin, cadaverine, putrescine and total amines in the test group ($P < 0.05$). The diets resulted in a clear differentiation in the general profile of the dogs' fecal microbiome from day 3 onwards ($P < 0.05$). There was also an increase in *Streptococcus* in the feces of the control group and an increase in *Turicibacter* and *Faecalibacterium* in the feces of the test group ($P < 0.05$). Thus, the test diet shows high nutrient digestibility and palatability, alters fermentation metabolites and beneficially modulates the fecal microbiome of healthy dogs, demonstrating that it is a food with potential for recommendation for animals with gastrointestinal disorders.

Key words: Butyrate; chronic enteropathies; *Faecalibacterium*, *Turicibacter*

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I – Considerações gerais

FIGURA 1 - Trato gastrointestinal saudável e disbiose.....	21
FIGURA 2 - Impacto funcional do AGCC no hospedeiro	22

Capítulo II – Efeitos de um alimento coadjuvante gastrointestinal sobre a digestibilidade e palatabilidade da dieta, metabólitos de fermentação e microbiota fecal de cães

FIGURA 1 - Concentração fecal de butirato (mmol/g de matéria seca) de cães do grupo controle e teste nos dias (D) 0, 3, 15 e 30	56
FIGURA 2 - Beta-diversidade por dissimilaridade de Bray-Curtis dos gêneros do microbioma fecal de cães alimentados com as dietas controle (CTR) e teste nos dias (D) 0, 3, 15 e 30	61
FIGURA 3 - Abundância relativa dos filos bacterianos dos cães alimentados com as dietas controle (CTR) e teste durante os dias (D) 0, 3, 15 e 30	62
FIGURA 4 - Análise discriminante linear do tamanho do efeito (LEfSe) dos gêneros bacterianos das fezes de cães alimentados com a dieta teste nos dias (D) 0, 3, 15 e 30.....	63
FIGURA 5 - Análise discriminante linear do tamanho do efeito (LEfSe) dos gêneros bacterianos enriquecidos nas fezes de cães alimentados com as dietas controle (CTR) e teste no dia 3 (D03)	64
FIGURA 6 - Análise discriminante linear do tamanho do efeito (LEfSe) dos gêneros bacterianos enriquecidos nas fezes de cães alimentados com as dietas controle (CTR) e teste no dia 15 (D15)	65
FIGURA 7 - Análise discriminante linear do tamanho do efeito (LEfSe) dos gêneros bacterianos enriquecidos nas fezes de cães alimentados com as dietas controle (CTR) e teste no dia 30 (D30)	66

FIGURA 8 - Abundância (log) dos gêneros *Streptococcus*, *Turicibacter*, *Faecalibacterium* e *Blautia* nas fezes de cães alimentados com as dietas controle (CTR) e teste nos dias (D) 0, 3, 15 e 30 67

LISTA DE TABELAS

Capítulo I – Considerações gerais

TABELA 1 - Características da diarreia e sinais clínicos acompanhantes de acordo com a origem da doença.....	19
--	----

Capítulo II - Efeitos de um alimento coadjuvante gastrointestinal sobre a digestibilidade e palatabilidade da dieta, metabólitos de fermentação e microbiota fecal de cães

TABELA 1 - Composição química analisada das dietas experimentais (% na matéria seca).....	49
TABELA 2 - Médias do consumo, coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) dos nutrientes e energia metabolizável (EM) das dietas e características fecais dos cães	54
TABELA 3 - Médias das características fecais de cães alimentados com as dietas controle e teste durante 30 dias	55
TABELA 4 - Médias das concentrações fecais de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC, mmol/g de matéria seca) e ramificada (AGCR, mmol/g de matéria seca) de cães alimentados com as dietas controle e teste durante 30 dias	57
TABELA 5 - Médias das concentrações fecais de aminas biogênicas (mg/kg de matéria seca) de cães alimentados com as dietas controle e teste durante 30 dias	58
TABELA 6 - Medianas (mínimo e máximo) das % das áreas de picos de fenóis, indóis e p-cresol de cães alimentados com as dietas controle e teste durante 30 dias	59
TABELA 7 - Médias dos índices de alfa-diversidade do microbioma fecal de cães alimentados com as dietas controle e teste durante 30 dias	60
TABELA 8 - Primeira escolha e razão de ingestão das dietas controle e teste	67

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

AGCC	- Ácidos graxos de cadeia curta
AGCR	- Ácidos graxos de cadeia ramificada
BARF	- <i>biologically appropriate raw food</i>
CDA	- Coeficiente de digestibilidade aparente
DHA	- Ácido docosa-hexaenoico
EB	- Energia bruta
EC	- Enteropatias crônicas
ECC	- Escore de condição corporal
EEA	- Extrato etéreo em hidrólise ácida
EM	- Energia metabolizável
EPA	- Ácido ecosapentaenoico
EPP	- Enteropatias perdedoras de proteínas
FB	- Fibra bruta
GALT	- Tecido linfóide associado ao tecido
HPDDG	- Grãos de destilaria secos com alto teor proteico
Ig	- Imunoglobulina
IL	- Interleucina
IPE	- Insuficiência pancreática exócrina
MAPA	- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MM	- Matéria mineral
MS	- Matéria seca
MO	- Matéria orgânica
MOS	- Mananooligossacarídeos
N	- Nitrogênio
NF- κ B	- Fator nuclear kappa β
PB	- Proteína bruta
RI	- Razão de ingestão

LISTA DE SÍMBOLOS

® - marca registrada

β - beta

μ - micro (10^{-6})

SUMÁRIO

CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES GERAIS	16
1 INTRODUÇÃO.....	16
1.1 Objetivos	17
1.2 Objetivos específicos	17
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	18
2.1 Mecanismos de proteção da mucosa intestinal	18
2.2 Distúrbios gastrointestinais em cães e o impacto sobre o trato gastrointestinal	19
2.3 Microbiota sentinela intestinal de cães e produtos de fermentação	21
2.4 Formulação de dietas para cães com doenças gastrointestinais	24
2.4.1 Proteínas dietéticas para cães com distúrbios gastrointestinais	25
2.4.2 Inclusão de lipídios em dietas para cães com distúrbios gastrointestinais	26
2.4.3 Carboidratos amiláceos e fibrosos em dietas gastrointestinais	28
2.5 Efeito da dieta e aditivos alimentares sobre a modulação da microbiota intestinal	29
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	32
4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
CAPÍTULO II - EFEITOS DE UM ALIMENTO COADJUVANTE GASTROINTESTINAL SOBRE A DIGESTIBILIDADE E PALATABILIDADE DA DIETA, METABÓLITOS DE FERMENTAÇÃO E MICROBIOTA FECAL DE CÃES	43
1 INTRODUÇÃO.....	46
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	47
2.1 Animais e instalações.....	47
2.2 Dietas experimentais.....	47
2.3 Ensaio de digestibilidade e características fecais.....	49
2.4 Metabólitos de fermentação e microbiota fecal	50
2.5 Palatabilidade	52
2.6 Cálculos e análise estatística	53
3 RESULTADOS	54
3.1 Digestibilidade das dietas e características fecais.....	54
3.2 Metabólitos de fermentação e microbiota fecal	56

3.3 Palatabilidade	67
4 DISCUSSÃO.....	68
5 CONCLUSÃO.....	72
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	73

CAPÍTULO I: CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

Doenças gastrointestinais estão entre as condições mais frequentes atendidas em clínicas veterinárias (O'Neill et al., 2021), sendo responsáveis por alterações fisiológicas em segmentos do sistema gastrointestinal, como o esôfago, estômago, intestino, pâncreas e o fígado. Tradicionalmente, são utilizados medicamentos como protetores gástricos, prednisona e metronidazol no tratamento de distúrbios gastrointestinais (Jergens et al., 2010; Marks et al., 2018). Entretanto, esses medicamentos podem causar disbiose intestinal, devido às alterações negativas que causam na microbiota intestinal (Ellis et al., 2023). Por isso, realizar um manejo nutricional adequado para cada tipo de distúrbio é essencial para auxiliar no tratamento (Belchik et al., 2024).

Dessa forma, no manejo nutricional para esses distúrbios são utilizadas dietas coadjuvantes, as quais segundo a Portaria n° 3, de 22 de janeiro de 2009, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), são definidas como: “Produto composto por ingredientes ou matérias-primas e aditivos destinado exclusivamente à alimentação de animais de companhia com distúrbios fisiológicos ou metabólicos, cuja formulação é incondicionalmente privada de qualquer agente farmacológico ativo”.

Os alimentos coadjuvantes para distúrbios gastrointestinais visam a combinação de macro e micronutrientes de alta digestibilidade em quantidades adequadas, juntamente com ingredientes funcionais, auxiliando a reduzir os efeitos causados pela doença, assim como o impacto ocasionado pelos medicamentos convencionais (Rossi et al., 2017; Lenox, 2021). Dessa forma, essa dissertação tem por objetivo abordar os tipos de distúrbios gastrointestinais que acometem os cães, assim como demonstrar a importância do manejo nutricional e o impacto da microbiota no auxílio ao tratamento. Além disso, será apresentada uma pesquisa sobre os efeitos de um alimento coadjuvante gastrointestinal em cães.

1.1 Objetivos

Apresentar uma revisão de literatura sobre distúrbios gastrointestinais de cães. Ainda, objetivou-se avaliar a digestibilidade e palatabilidade da dieta, e funcionalidade intestinal de cães saudáveis alimentados com uma dieta coadjuvante gastrointestinal.

1.2 Objetivos específicos

- Avaliar uma dieta coadjuvante formulada para auxiliar em tratamentos gastrointestinais, em cães saudáveis durante um mês, a fim de verificar a digestibilidade da dieta em comparação a uma dieta comercial de manutenção.
- Avaliar as características fecais, microbiota fecal e produtos de fermentação microbiana de cães, e a capacidade da dieta teste de modular a microbiota intestinal.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Mecanismos de proteção da mucosa intestinal

O trato gastrointestinal desempenha diversas funções no organismo, dentre elas a digestão e absorção de nutrientes e conseqüentemente a excreção, além da função de proteção (Cheng et al., 2010).

Enquanto o estômago prepara o alimento para a digestão e absorção pelo intestino (Ramsay e Carr, 2011), o intestino delgado tem como função finalizar a quebra dos nutrientes (proteínas, amido e lipídios, por exemplo) em partículas menores para posterior absorção (Meerveld et al., 2017). Além disso, outra característica do trato gastrointestinal é a presença de mecanismos para a sua proteção.

Internamente, essa proteção se estende à barreira da mucosa intestinal. A mucosa intestinal é composta pelo epitélio, o qual tem a função de barreira física, regulando a permeabilidade intestinal com a seleção das moléculas (Sánchez de Medina et al., 2014).

A barreira intestinal possui mecanismos para defesa do organismo, que inclui mecanismos luminiais, como ácido gástrico e enzimas digestivas, assim como as células epiteliais, que auxiliam no controle da permeabilidade intestinal. Ainda, o sistema imune auxilia na defesa contra antígenos (DeMateo et al., 2002), através do maior órgão do sistema imunológico, o tecido linfoide associado ao intestino (GALT), que compreende 70% do sistema imune, abrigando as imunoglobulinas A (IgA), por exemplo (Vighi et al., 2008). Ademais, o trato gastrointestinal também conta com a proteção da microbiota intestinal (Sánchez de Medina et al., 2014).

Essa ligação entre a integridade do trato gastrointestinal e a microbiota intestinal está correlacionada com a saúde do hospedeiro. Isso porque o impacto desses microrganismos, quando alterados, gera maior permeabilidade na mucosa intestinal, e por conseqüência, essa abertura faz com que microrganismos com potencial patogênico e suas toxinas adentrem no organismo (Ziese e Suchodolski, 2021), podendo gerar diversos distúrbios gastrointestinais. Em contrapartida, quando em equilíbrio, a microbiota intestinal contribui para o desenvolvimento e manutenção do sistema gastrointestinal, proteção, fortalecimento da barreira intestinal, além de

produzir metabólitos que contribuem com a saúde do hospedeiro (Rowland et al., 2017).

Apesar de nem todos os problemas gastrointestinais serem ocasionados especificamente por alterações na microbiota intestinal, como por exemplo o uso indevido de alguns medicamentos (Papich, 2012), ingestão de corpos estranhos (Hayes, 2009) e infestações por parasitos intestinais (Ferreira et al., 2021), é comprovada a ligação entre doenças intestinais e as mudanças na microbiota intestinal (AlShawaqfeh et al., 2017).

2.2 Distúrbios gastrointestinais em cães e o impacto sobre o trato gastrointestinal

Diversos distúrbios gastrointestinais podem acometer os cães. Embora o termo “distúrbios gastrointestinais” compreenda, de forma geral, diferentes enfermidades que podem ocorrer em diversos segmentos do trato gastrointestinal, a diarreia é um dos sintomas mais recorrentes (Cascon et al., 2017). Ainda, a diarreia quando acompanhada por sinais clínicos, pode esclarecer a origem da doença (Tabela 1).

Tabela 1: Características da diarreia e sinais clínicos acompanhantes de acordo com a origem da doença.

Origem	Intestino Delgado	Intestino Grosso	Ambos
Perda de peso	+/-	-	+/-
Disorexia/Náuseas	+/-	-	+/-
Dor	+/-	+/-	+/-
Urgência/Frequência de defecação	Normal	Aumentada	Normal para aumentada
Volume de fezes	Normal para aumentada	Diminuída	Normal para diminuída
Muco	+/-	+ para +++	-/+
Sangue	+/-	-/+	+/-

Melena

Hematoquezia

Melena ou
Hematoquezia

Adaptado de Marks (2013).

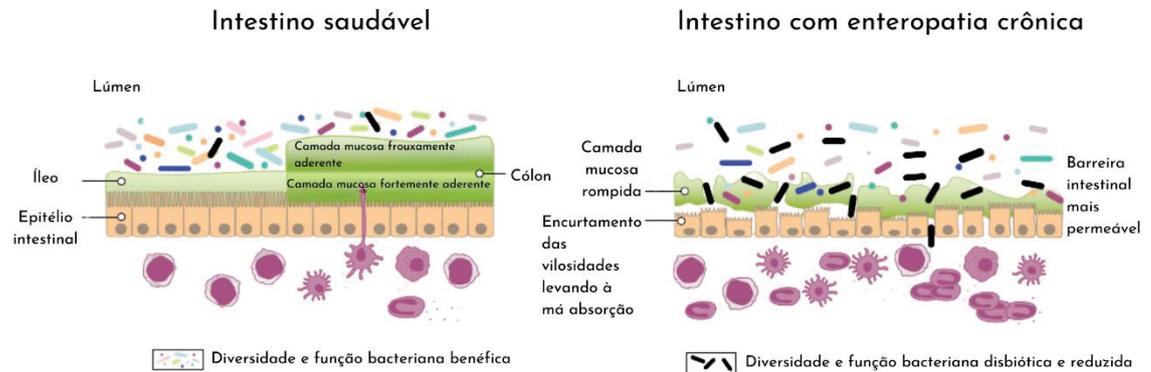
Dessa forma, as enteropatias crônicas (EC) são uma das causas mais comuns de diarreia crônica no intestino (Volkman et al., 2017). Cães que desenvolvem essa doença apresentam perda de peso, vômito e diarreia persistentes com 3 semanas ou mais, após o diagnóstico descartar a possibilidade de outras doenças. As EC podem ser classificadas, de acordo com a resposta dos animais aos tratamentos, em responsivas aos alimentos, responsivas ao uso de antibióticos, responsivas a imunossupressores e não responsivas (Dandrieux, 2016).

Cães que adquirem essa doença possuem a permeabilidade intestinal e a absorção alterada, comprometendo a função da mucosa intestinal (Allenspach et al., 2005). Uma vez que essa função é alterada, pode haver uma ruptura na barreira da mucosa intestinal (Kobayashi et al., 2007), sendo essa uma das possíveis causas das inflamações intestinais.

Apesar da origem da doença ainda não ser bem definida, podendo ter origem genética, fatores ambientais e uma resposta imune da mucosa, estudos recentes passaram a propor mudanças na classificação das enteropatias crônicas em outra categoria: as responsivas à modulação relacionadas e microbiota intestinal, devido ao efeito da microbiota sobre processos inflamatórios na mucosa intestinal (Basson et al., 2016; Dupouy-Manescau et al., 2024).

Assim, mesmo não sendo totalmente compreendido se as alterações sobre a microbiota intestinal são o motivo das doenças ou o resultado, Suchodolski et al. (2012) demonstraram que há correlação entre EC e alterações na microbiota intestinal de cães. Além disso, o desequilíbrio da microbiota intestinal pode ser uma das causas de alterações na barreira intestinal, possibilitando a passagem de microrganismos com potencial patogênico, além de toxinas, comprometendo juntamente o sistema imunológico e agregando processos inflamatórios (Ziese & Suchodolski, 2021) (Figura 1).

FIGURA 1 - INTESTINO SAUDÁVEL E COM ENTEROPATIAS CRÔNICAS.



FONTE: Adaptado de Suchodolski (2023).

Além disso, outras doenças também podem afetar o trato gastrointestinal, como a insuficiência pancreática exócrina (IPE) e a gastrite. A IPE é reconhecida pela deficiência da produção das enzimas digestivas, ocasionando a má absorção dos nutrientes (Isaiah et al., 2017). Já na porção do estômago, a gastrite é comum na rotina clínica, caracterizada por inflamações ou ulcerações na mucosa (Amorim et al., 2016), causadas por medicamentos, agentes infecciosos, úlceras, alimentos e corpos estranhos (Webb & Twedt, 2003). Além disso, pode causar má condição corporal, vômito, diarreia, além de outras anomalias, como hiperemia e descoloração, podendo apresentar em alguns casos edema, erosões ou ulcerações (Faucher et al., 2020).

2.3 Microbiota sentinela intestinal de cães e produtos de fermentação

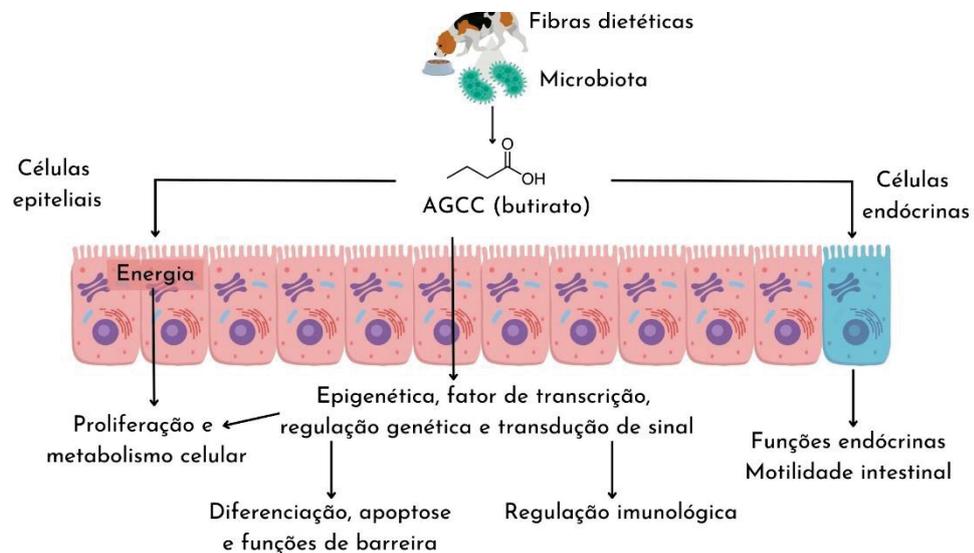
O sistema gastrointestinal dos cães é constituído por uma diversidade de microrganismos, como fungos, vírus, protozoários e principalmente bactérias (Suchodolski, 2021). Cada porção do trato gastrointestinal dos cães é colonizada por diferentes tipos bacterianos predominantes (Suchodolski et al., 2008), os quais convivem em equilíbrio, mas que podem sofrer alterações durante a fase de desenvolvimento dos filhotes, bem como alterações devido às mudanças no ambiente, na dieta ofertada e ao uso de medicamentos (Buddington et al., 2003; Vilson et al., 2018; Schmidt et al., 2018; Pilla et al., 2020). O desequilíbrio que pode ocorrer é denominado como disbiose intestinal, caracterizado por mudanças e redução da

diversidade bacteriana (Barko et al., 2017), e um aumento significativo de bactérias pertencentes à família *Enterobacteriaceae* (Vázquez-Baeza et al., 2016).

Cães com distúrbios gastrointestinais, como as EC, possuem alterações características na microbiota intestinal. O índice de disbiose desenvolvido por AlShawaqfeh et al. (2017) determina a proporção de 7 gêneros bacterianos sentinelas presentes em cães com EC. Animais saudáveis apresentavam aumento de *Faecalibacterium*, *Fusobacterium*, *Turicibacter*, *Blautia* e *Clostridium hiranonis*, e uma diminuição dos gêneros *Streptococcus* e *Escherichia coli* (*E. coli*), enquanto em cães com EC era observado o oposto.

Cães com outras doenças, como por exemplo a linfangiectasia, também apresentam diminuição do gênero *Faecalibacterium* (Nagahara et al., 2023). Da mesma forma, em humanos foi observado que a espécie *Faecalibacterium prausnitzii* quando presente pode auxiliar em doenças gastrointestinais, como a doença de *Crohn* (Sokol et al., 2008). Os benefícios associados a esse gênero também estão na inibição de NF- κ B e de interleucinas (IL-8) (Miquel et al., 2013). Isso porque o *Faecalibacterium* é um importante produtor de butirato, um ácido graxo de cadeia curta (AGCC), que além de fornecer energia para os colonócitos (Martin-Gallausiaux et al., 2021), é capaz de bloquear a sinalização de células T pró-inflamatórias (Zhou et al., 2018; Chen e Vitetta, 2018), agindo como um anti-inflamatório no organismo. Ainda, pode ter efeitos inibitórios sobre células cancerígenas (Donohoe et al., 2012), e apresentar outras funções no organismo (Figura 2).

FIGURA 2 - IMPACTO FUNCIONAL DOS ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA (AGCC) NO HOSPEDEIRO



FONTE: Adaptado de Martin-Gallausiaux et al. (2021).

Assim como o gênero *Faecalibacterium*, o *Fusobacterium* também é um produtor de butirato, produzido através da fermentação proteolítica (Louis e Flint, 2016). Apesar do aumento desse gênero ser retratado em humanos com câncer colorretal (Goradel et al., 2018), em cães o *Fusobacterium* quando aumentado é correlacionado a animais saudáveis, e diminuído em animais com EC (AlShawaqfeh et al., 2017). Em outras doenças relacionadas ao eixo intestino-fígado, como a hepatobiliar crônica com colestase, o *Fusobacterium* também apresentou diminuição em cães acometidos com a doença, assim como uma diminuição de outros gêneros, como *Turicibacter* e a espécie *Clostridium hiranonis*, e aumento do gênero *Escherichia* (Habermaass et al., 2023).

Também, o gênero *Turicibacter* está relacionado ao eixo intestino-cérebro, um dos principais mecanismos que conectam o intestino com outras partes do corpo. Cerca de 90% da serotonina é sintetizada no intestino, e esse gênero desempenha um papel na regulação da serotonina no intestino, auxiliando na motilidade intestinal e possivelmente em casos de distúrbios gastrointestinais (Gershon & Tack, 2007; Vedovato et al., 2015; Fung et al., 2019). Isso demonstra que grande parte da serotonina produzida no organismo está diretamente associada à microbiota intestinal (Yano et al., 2015). O *Turicibacter* também desempenha outras funções, como a

produção de lactato (Bosshard, Zbinden e Altwegg, 2002), importante para a diminuição do pH intestinal e assim criando um ambiente mais ácido, evitando a proliferação de bactérias com potencial patogênico (Miranda et al., 2021). Além disso, pesquisas sugerem que o *Turicibacter* pode auxiliar no equilíbrio de lipídios no organismo (Lynch et al., 2023).

A espécie *Clostridium hiranonis* desempenha um papel maior em relação ao metabolismo de lipídios, através da conversão de ácidos biliares primários em secundários (Blake et al., 2019), promovendo a absorção de lipídios, vitaminas lipossolúveis, solubilização do colesterol, além de estimular o fluxo de secreção da bile (Chiang, 2002). Outra função importante está no auxílio do controle de uma espécie com potencial patogênico, o *Clostridium difficile* (Buffie et al., 2014).

Outro gênero bacteriano também considerado como biomarcador de funcionalidade intestinal é a *Blautia* (Félix et al., 2022). Através da fermentação de fibras e produção de propionato, apresenta efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes, agindo principalmente na inibição da proteína acessória CD14 (Louis e Flint, 2016; Hoyles et al., 2018). Da mesma forma, algumas espécies agem com efeito antibacteriano, e sua diminuição pode estar correlacionada com outras doenças, como diabetes e câncer colorretal (Liu et al., 2020).

2.4 Formulação de dietas para cães com doenças gastrointestinais

Dependendo do tipo de doença, a dieta pode auxiliar no tratamento das doenças gastrointestinais (Ing & Steiner, 2024). No entanto, é necessário realizar uma avaliação nutricional individual previamente detalhada (Baldwin et al., 2010), considerando a variedade de doenças relacionadas ao trato gastrointestinal, que podem levar a deficiências nutricionais dos macros e micronutrientes (Tolbert et al., 2022).

Além disso, é fundamental garantir a digestibilidade adequada desses nutrientes para animais com doenças gastrointestinais, assim como deve apresentar moderada/baixa inclusão de fibras (com exceção de animais com constipação), uma vez que seu excesso pode afetar a digestibilidade dos nutrientes (Lenox, 2021).

Para animais com distúrbios gastrointestinais, a ingestão de uma dieta altamente digestível pode não somente auxiliar na melhor absorção dos nutrientes,

mas também resulta em pouco substrato não digestível para fermentação de bactérias com potencial patogênico no cólon (Ziese e Suchodolski, 2021).

Mais de 50% dos casos de EC em cães são considerados responsivos aos alimentos (Dandrieux, 2016). Assim, a digestibilidade é um ponto importante nas formulações de dietas coadjuvantes gastrointestinais, principalmente quando se refere a digestibilidade de proteínas, lipídios e amido.

De forma geral, os alimentos para manutenção contêm uma digestibilidade em torno de 70 a 85% da matéria seca (MS), enquanto em dietas gastrointestinais é preferível uma digestibilidade alta, acima de 85% da MS.

2.4.1 Proteínas dietéticas para cães com distúrbios gastrointestinais

As proteínas são compostas por aminoácidos. Os aminoácidos são divididos em aminoácidos não essenciais, ou seja, aqueles que o organismo consegue sintetizar, e aminoácidos essenciais, definidos como aqueles em que o organismo não é capaz de sintetizar, necessitando ser incluídos na dieta. Nesse sentido são 10 os aminoácidos essenciais para cães, e 11 para gatos, sendo esses: arginina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano, valina, e a taurina para felinos (NRC, 2006).

Em humanos, um estudo demonstrou a relação entre os aminoácidos e a doença inflamatória intestinal e o auxílio na integridade do intestino, proporcionando benefícios como fornecimento de energia aos enterócitos, diminuição da resposta inflamatória, dentre outros (Liu et al., 2017). Além disso, os aminoácidos são importantes para o funcionamento do organismo, assim como para a cicatrização (Abel et al., 1979).

Doenças como enteropatia perdedora de proteína (EPP) resulta na perda de proteínas no intestino. Assim, animais acometidos pela doença necessitam de maiores teores proteicos na dieta. Kathrani et al. (2018) demonstraram a interação entre aminoácidos e saúde intestinal, com uma diminuição significativa do aminoácido triptofano nos cães acometidos pela doença. Da mesma forma, estudos em roedores mostraram que o uso do aminoácido glutamina proporcionou uma proteção e uma restauração da mucosa intestinal de animais submetidos a indução de lesões por

ácido acético (Swaid et al., 2013), o que demonstra a importância de incluir proteínas com valor biológico apropriado.

Em contrapartida, algumas doenças gastrointestinais, geralmente as que acometem o intestino delgado, podem levar à diarreia osmótica quando expostas a um excesso de proteína, devido à baixa absorção (Tolbert et al., 2022). Além disso, o excesso de proteína pode impactar as secreções pancreáticas, prejudicando animais com pancreatite (Ephraim et al., 2020). Dessa forma, outra importante consideração durante a formulação e fabricação das dietas coadjuvantes gastrointestinais é a utilização de fontes proteicas hidrolisadas ou novas, também chamadas de fontes inéditas, que são comumente incluídas em dietas terapêuticas, especialmente para o controle de hipersensibilidade alimentar (Loeffler et al., 2004; Loeffler et al., 2006; Puigdemont et al., 2006).

Algumas proteínas podem ser consideradas como antígenos devido à sua capacidade de induzir a produção de anticorpos (Cave, 2006). Essas proteínas se ligam a duas imunoglobulinas E (IgE) no sítio de ligação dos mastócitos, desencadeando a própria degranulação e liberando uma cadeia de reações alérgicas (Cromwell, 1997). Assim, ao hidrolisar uma proteína, essa dupla ligação não ocorre, o que impede a degranulação dos mastócitos (Cave, 2006), sendo recomendável o uso de proteínas com peso molecular de até 10.000 Dalton (Lehrer et al., 1996).

Alguns estudos demonstraram a eficácia de fontes proteicas hidrolisadas no tratamento de cães com distúrbios gastrointestinais, como EC, com redução da resposta inflamatória e conseqüentemente uma melhora da mucosa intestinal e redução da disbiose (Ziese e Suchodolski, 2021).

A inclusão de fontes proteicas hidrolisadas, aliada a fontes de fibras, demonstrou efeitos benéficos sobre a microbiota intestinal, proporcionando maior diversidade de gêneros bacterianos (Jackson e Jewell, 2018). Contudo, a composição proteica de diferentes ingredientes varia tanto na composição dos aminoácidos, como também em outros nutrientes que as compõe, e dessa forma, a microbiota intestinal também é modulada (Madsen et al., 2017). Nesse sentido, cães com enteropatia responsiva a alimento obtiveram um aumento da riqueza da microbiota intestinal após consumirem alimento com proteína de origem vegetal, devido a recuperação dos

animais promovido pela dieta, e conseqüentemente essa recuperação proporcionou melhora na modulação da microbiota (Bresciani et al., 2018).

Ademais, o uso de proteína de baixa digestibilidade gera substrato para a fermentação por microrganismos com potencial patogênico, gerando compostos putrefativos, os quais tem efeitos no início e no avanço de doença inflamatória intestinal (Nikolaus et al., 2017; Wernimont et al., 2020).

2.4.2 Inclusão de lipídios em dietas para cães com distúrbios gastrointestinais

As fontes de lipídios são compostas por triglicerídeos, que fornecem ácidos graxos, sendo fonte de energia para os animais. Além disso, os lipídios são importantes para a formação da membrana celular, pois fornecem fosfolipídios (Trevizan e Kessler, 2009).

Estudos realizados em cães saudáveis, com dietas contendo níveis crescentes de lipídios em substituição a fontes de amido, demonstraram efeitos benéficos sobre a digestibilidade e características fecais, além de não afetarem parâmetros sanguíneos (Kilburn et al., 2020). Outros estudos também observaram de forma geral alta digestibilidade dos lipídios em cães, dependendo da fonte e quantidade fornecida na dieta (NRC, 2006).

Contudo, devido a digestão complexa dessa fração nutricional, altos teores de lipídios podem ser prejudiciais em animais com doenças gastrointestinais, devido à má absorção, gerando compostos pró inflamatórios (Zoran, 2003), como ocorre em animais com EC. Animais com essa doença possuem um sistema mais susceptível a redução e absorção dos lipídios, assim, a gordura tende a passar diretamente do intestino delgado para o colón, ocasionando conseqüentemente disbiose, além de outros problemas no intestino (Ramakrishna et al., 1994; Kathrani et al., 2018).

Em cães com linfangiectasia é comum o uso de dietas com baixa inclusão de gordura, pois a doença é uma enteropatia perdedora de proteína, resultante da dilatação dos vasos linfáticos na região intestinal (Peterson e Willard, 2003). Cães com essa enteropatia, alimentados com uma dieta com baixo teor lipídico aliada ao tratamento clínico, obtiveram eficácia no tratamento da doença (Okanishi et al., 2014). Os autores sugerem que poderia haver a diminuição do uso de medicamento com o

uso da dieta em questão, demonstrando a importância do manejo dietético (Okanishi et al., 2014).

Contudo, é importante o adequado balanceamento de dietas com baixo teor de lipídios, pois a deficiência de ácidos graxos essenciais pode ocorrer, o que comprometeria a formação de fosfolipídios e, conseqüentemente, o reparo celular de células do intestino (Zoran, 2003). Além disso, as gorduras melhoram a palatabilidade e aceitação por parte dos animais, como também auxiliam no fornecimento de energia do alimento, proporcionando ao animal a energia necessária em menor quantidade de alimento ingerida (NRC, 2006).

Os ácidos graxos essenciais possuem funções importantes no organismo, como fornecimento de precursores de prostaglandinas e eicosanoides, devendo ser ofertado via dieta (NRC, 2006). Dentre eles, destacam-se os ácidos graxos poli-insaturados ômega-6 e ômega-3.

Os ácidos graxos do grupo ômega 6, são caracterizados como pró-inflamatórios, como o ácido araquidônico (AA), precursor de prostaglandinas e leucotrienos, e possuem funções importantes no organismo, como a reprodução e respostas imunológicas, devido a atuação sobre as prostaglandinas e o metabolismo de eicosanoides (Trevizan & Kessler, 2009). Em contrapartida, o grupo do ômega 3, são classificados como menos inflamatórios. Dentre os ácidos desse grupo, destacam-se o ácido eicosapentaenóico (EPA) e ácido docosa-hexaenóico (DHA). O EPA compete pelas mesmas enzimas para produção de eicosanoides que o AA. Por isso, a inclusão de EPA na dieta pode resultar em menor produção de eicosanóides pró-inflamatórios. Já, o DHA, é precursor de moléculas anti-inflamatórias, como as resolvinas e protectinas. Dessa forma, o uso de fontes de ômega-3 contendo EPA e DHA durante o tratamento de doenças intestinais pode proporcionar uma melhora do quadro inflamatório (Simopoulos, 2002).

2.4.3 Carboidratos amiláceos e fibrosos em dietas gastrointestinais

De modo geral, os carboidratos podem ser classificados em dois grupos: fontes de amido e fontes de fibras. Apesar de não serem considerados nutrientes essenciais, os carboidratos fazem parte da composição da dieta dos cães, e seu valor nutricional deve ser considerado.

As fontes de amido, como milho, arroz e batata, apresentam a função de fornecer energia. Contudo, as fontes amiláceas podem ser determinadas não apenas pela sua origem, mas também pelo seu grau de cozimento, o que pode interferir na digestibilidade do ingrediente e nas características fecais dos cães (Kaelle et al., 2024).

Em relação às fontes de amidos, o uso do amido de arroz é uma alternativa em dietas gastrointestinais, como em dietas hipoalergênicas (Matricoti e Noli, 2018). Isso se deve à sua composição, visto que não possui glúten. O glúten é uma proteína presente no trigo, a qual comumente pode ser a causa de sensibilidade alimentar em algumas raças de cães, como o *Setter* irlandês (Garden et al., 2000). Além disso, o amido do arroz é facilmente digestível. Também, a má absorção de amido pode ocasionar diarreia, flatulência, perda de água e eletrólitos, além de restar substratos suficientes para fermentação excessiva por bactérias com potencial patogênico (Zoran, 2003).

Já as fontes de carboidratos fibrosos, apesar de serem fontes de alimentos classificados como indigestíveis, também são utilizadas na alimentação canina com o propósito de auxiliar na motilidade intestinal e na formação do bolo fecal. Assim, as fibras são classificadas em fibras solúveis e insolúveis. As fontes de fibras solúveis são utilizadas com o intuito de formar um gel, e dessa forma reduzir o esvaziamento gástrico e a resposta glicêmica pós-prandial (Jenkins et al., 2008), sendo comumente utilizada em dietas coadjuvantes para obesidade, auxiliando na saciedade (German et al., 2010). Em contrapartida, as fibras insolúveis têm o intuito de aumentar o peristaltismo e o bolo fecal, além de auxiliar na regulação do intestino (Wenk, 2001).

Além disso, os benefícios se estendem não apenas à regulação metabólica, mas também à melhoria das características fecais, à modulação da microbiota intestinal e no sistema imunológico. Também contribuem para o auxílio no tratamento de doenças gastrintestinais, diminuindo os sintomas como diarreia aguda e crônica, além de ajudar animais com constipação (Moreno et al., 2022).

Apesar das fontes de fibras serem importantes, principalmente para a microbiota intestinal (Pilla e Suchodolski, 2021), vale ressaltar que se deve incorporar em quantidade adequadas, principalmente quando nos referimos a dietas coadjuvantes gastrointestinais, visto que o excesso de fibras tende a diminuir a digestibilidade, além de diluir as calorias da dieta (Fekete et al., 2001).

2.5 Efeito da dieta e aditivos alimentares sobre a modulação da microbiota intestinal

Diversos trabalhos demonstraram o impacto da dieta sobre a modulação da microbiota intestinal de cães (Pilla e Suchodolski, 2020; Wernimont et al., 2020; Pilla e Suchodolski, 2021). Isso porque a microbiota intestinal utiliza substratos, como proteínas e carboidratos, para realizar a fermentação e produção de metabólitos secundários (Suchodolski, 2021), sendo, portanto, impactada diretamente pelo tipo de dieta e composição de macronutrientes e aditivos fornecidos ao hospedeiro (Pilla & Suchodolski, 2021).

Dessa forma, é possível identificar que diferentes segmentos mercadológicos podem alterar a microbiota intestinal. Cães alimentados com dieta crua com ossos (*biologically appropriate raw food* - BARF), rica em proteína e gordura, demonstram diferenças significativas na microbiota fecal. Schmidt et al. (2018) observaram que em cães alimentados com uma dieta BARF, além de diferir os microrganismos predominantes em relação a cães alimentados com dieta comercial, a dieta crua ocasionou um maior índice de disbiose, ocasionado pelo aumento de bactérias como *Streptococcus* e *E. coli*.

Essas diferenças também podem ser encontradas entre as dietas comerciais extrusadas coadjuvantes, como analisado por Mori et al. (2019), comparando a microbiota fecal de cães alimentados com dieta para obesidade, dieta com baixo teor de gordura, para doença renal e hipoalergênica, os quais encontraram diferenças de filos bacterianos entre as dietas.

Entretanto, a microbiota intestinal é adaptável às mudanças de dietas. Um estudo avaliou cães alimentados inicialmente com uma dieta comercial, que depois passaram a se alimentar de uma dieta purificada durante 36 semanas, retornando posteriormente à dieta original. Os resultados mostraram que, apesar da microbiota ser adaptável a mudanças de dieta, é importante o fornecimento da dieta por um período prolongado para a manutenção dos microrganismos desejados, visto que os cães ao retornarem para a dieta comercial, houve um reestabelecimento da microbiota para o estado inicial (Allaway et al., 2020). Esses dados demonstram a importância de seguir dietas prescritas, principalmente quando indicadas para cães com alguma doença gastrointestinal.

No mesmo sentido, essa modulação é afetada diretamente pelos ingredientes utilizados na formulação. Dependendo da fonte proteica utilizada, ocorre um tipo de efeito sobre a modulação da microbiota intestinal. Por exemplo, o uso de grãos de destilaria secos com alto teor proteico (HPDDG) proporcionou efeitos benéficos em cães, como a diminuição do gênero *Streptococcus* (Kaelle et al., 2023). Contudo, a concentração de inclusão proteica também pode ter impacto sobre a modulação da microbiota intestinal. Altas inclusões proteicas (45,77%) podem ocasionar aumento do pH fecal e de processos inflamatórios, o que não foi observado em dietas com níveis baixos e médios (18,99% e 25,34%, respectivamente) proteína bruta (Ephraim et al., 2020).

Dessa forma, assim como a proteína, a gordura pode ocasionar impacto sobre a microbiota intestinal. Apesar das fontes de lipídios apresentarem alta digestibilidade (Cavalari et al., 2006), estudos realizados em humanos verificaram que o excesso de gordura pode ocasionar um aumento demasiado de ácidos biliares secundários, resultando em processos inflamatórios (Zeng et al., 2019). Da mesma forma, em animais silvestres, o aumento de gordura na dieta foi correlacionado à diarreia e um aumento de *Escherichia-Shigella* (Wei et al., 2024).

O uso de fibras dietéticas também é capaz de modular a microbiota intestinal. Dietas com a inclusão de fibra proporcionam mudanças significativas na microbiota intestinal (Middelbos et al., 2010), podendo ser alterada dependendo do tipo de fonte fibrosa utilizada (Souza et al., 2021). Cães alimentados com fontes de cereais e polpa de beterraba, em comparação com cães alimentados com fontes fibrosas compostas principalmente por frutas, apresentam diferenças significativas na microbiota fecal. Aparentemente, uma dieta composta por frutas pode aumentar os níveis de butirato, provavelmente ocasionado pelo aumento de *Faecalibacterium*. Entretanto, fontes de cereais aliadas à polpa de beterraba também auxiliam na modulação intestinal, com aumento dos gêneros *Bifidobacterium*, *Clostridium* e *Fecalibacterium* (Montserrat-Malagarriga et al., 2024).

A fibra também exerce um efeito na modulação da microbiota intestinal quando utilizada como fonte prebiótica. Os prebióticos são definidos por Gibson et al. (2017) como sendo “*um substrato que é utilizado seletivamente por microrganismos conferindo um benefício a saúde do hospedeiro*”. Exemplos de prebióticos incluem, os mananooligossacarídeos (MOS), provenientes da parede celular de leveduras como

Saccharomyces cerevisiae, juntamente com outros compostos, como β -glucanos (Jana et al., 2021). Esses compostos são fontes prebióticas que podem auxiliar na eficácia do tratamento de cães com gastroenterite (Gouveia et al., 2006).

O prebiótico também pode ser associado a outros aditivos alimentares, como os óleos essenciais. Óleos essenciais são compostos derivados das plantas, com diversos benefícios para a saúde animal (Windisch et al., 2008). O uso de óleo essencial de orégano associado a parede celular de levedura pode melhorar a diversidade da microbiota intestinal, além de diminuir compostos putrefativos, como fenóis, e conseqüentemente reduzir o odor das fezes dos cães (Soares et al. 2023).

Souza et al. (2023) avaliaram o uso de um blend de óleos funcionais, composto por óleo de copaíba, castanha de caju e espécies de pimenteiras, sobre a microbiota fecal e a resposta inflamatória e oxidativa em cães após passarem por um estresse cirúrgico. Os resultados mostraram que a diversidade de alguns microrganismos pode ser semelhante ao grupo controle antes de uma situação de estresse, com efeitos positivos ao reduzir a variação de fatores de receptores inflamatórios como NF- κ B nos cães suplementados com o blend de óleos.

Ademais, pode-se fazer o uso de probióticos para contribuir com a funcionalidade intestinal. Segundo Kim et al. (2019), a Organização da Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) define os probióticos como “*microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro*”. Dentre os probióticos utilizados, destaca-se a espécie *Bacillus subtilis*. O uso desse probiótico resulta em aumento na diversidade de gêneros com potencial benéfico, como *Faecalibacterium*, nas fezes de cães. Além disso, mostrou efeitos significativos sobre produtos de fermentação em cães suplementados com o microrganismo, como maior teor de ácido propiônico, além de menor odor fecal (Lima et al., 2020). Resultados positivos utilizando *Bacillus subtilis* também foram encontrados por Bastos et al. (2020), como menor odor fecal e diminuição de aminas biogênicas nas fezes dos cães suplementados.

A suplementação com *Saccharomyces cerevisiae* como fonte probiótica também proporciona auxílio e proteção para a microbiota fecal, como apresentado por Bastos et al. (2023). O uso dessa levedura demonstra efeitos positivos em cães com mudanças abruptas da dieta, como redução de *E. coli* no grupo suplementado, principalmente quando aliado a uma dieta com maior teor de fibra e proteína de alta

digestibilidade. Isso demonstra ser interessante principalmente quando há necessidade de trocas abruptas de dieta em cães com distúrbios gastrointestinais, diminuindo o impacto sobre o organismo.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os cães podem ser acometidos por diversas doenças gastrointestinais, e apesar do trato gastrointestinal possuir diversos mecanismos de proteção, é essencial que os animais recebam uma dieta adequada e balanceada para o auxílio no tratamento em casos de enfermidade. Além disso, o uso de ingredientes funcionais que podem modular a microbiota intestinal contribui com o tratamento e a recuperação dos animais.

4. REFERÊNCIAS

- ABEL, R. M. et al. Adverse hemodynamic and ultrastructural changes in dog hearts subjected to protein-calorie malnutrition. **American Heart Journal**, v. 97, n. 6, p. 733–744, 1 jun. 1979.
- ALLAWAY, D. et al. Rapid Reconstitution of the Fecal Microbiome after Extended Diet-Induced Changes Indicates a Stable Gut Microbiome in Healthy Adult Dogs. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 86, n. 13, 17 abr. 2020.
- ALLENSPACH, K. et al. Evaluation of gastrointestinal permeability and mucosal absorptive capacity in dogs with chronic enteropathy. **American Journal of Veterinary Research**, v. 67, n. 3, p. 479–483, mar. 2006.
- ALSHAWAQFEH, M. et al. A dysbiosis index to assess microbial changes in fecal samples of dogs with chronic inflammatory enteropathy. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 93, n. 11, 11 out. 2017.
- AMORIM, I. et al. Canine Gastric Pathology: A Review. **Journal of Comparative Pathology**, v. 154, n. 1, p. 9–37, 1 jan. 2016.
- BALDWIN, K. et al. AAHA Nutritional Assessment Guidelines for Dogs and Cats. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 46, n. 4, p. 285–296, jul. 2010.
- BARKO, P. C. et al. The Gastrointestinal Microbiome: A Review. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 32, n. 1, p. 9–25, 24 nov. 2017.

- BASSON, A. et al. Mucosal Interactions between Genetics, Diet, and Microbiome in Inflammatory Bowel Disease. **Frontiers in Immunology**, v. 7, 2 ago. 2016.
- BASTOS, T. S. et al. Bacillus subtilis and Bacillus licheniformis reduce faecal protein catabolites concentration and odour in dogs. **BMC Veterinary Research**, v. 16, p. 116, 19 abr. 2020.
- BASTOS, T.S.; et al. Effect of Yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a Probiotic on Diet Digestibility, Fermentative Metabolites, and Composition and Functional Potential of the Fecal Microbiota of Dogs Submitted to an Abrupt Dietary Change. **Microorganisms** **2023**, 11,506.<https://doi.org/10.3390/microorganisms11020506>
- BAUER, J. E. The essential nature of dietary omega-3 fatty acids in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 249, n. 11, p. 1267–1272, dez. 2016.
- BELCHIK, S. E. et al. Effects of a veterinary gastrointestinal diet on fecal characteristics, metabolites, and microbiota concentrations of adult cats treated with metronidazole. **Journal of animal science**, v. 102, p. skae274, mar. 2024.
- BLAKE, A. B. et al. Altered microbiota, fecal lactate, and fecal bile acids in dogs with gastrointestinal disease. **PLOS ONE**, v. 14, n. 10, p. e0224454, 31 out. 2019.
- BOSSHARD, P. P.; ZBINDEN, R.; ALTWEGG, M. Turicibacter sanguinis gen. nov., sp. nov., a novel anaerobic, Gram-positive bacterium. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 52, n. 4, p. 1263–1266, 1 jul. 2002.
- BRESCIANI, F. et al. Effect of an extruded animal protein-free diet on fecal microbiota of dogs with food-responsive enteropathy. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 32, n. 6, p. 1903–1910, 23 out. 2018.
- BUDDINGTON, R. K. Postnatal changes in bacterial populations in the gastrointestinal tract of dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 64, n. 5, p. 646–651, 1 maio 2003.
- BUFFIE, C. G. et al. Precision microbiome reconstitution restores bile acid mediated resistance to Clostridium difficile. **Nature**, v. 517, n. 7533, p. 205–208, 22 out. 2014.
- CASCON, C. M. et al. Avaliação clínica, endoscópica e histopatológica de cães com doença inflamatória intestinal. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, p. 1287–1291, 1 nov. 2017.
- CAVALARI, A. P. DE M. et al. Determinação do valor nutritivo de alimentos energéticos e protéicos utilizados em rações para cães adultos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, p. 1985–1991, 1 out. 2006.
- CAVE, N. J. Hydrolyzed Protein Diets for Dogs and Cats. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 36, n. 6, p. 1251–1268, nov. 2006.

CHEN, J.; VITETTA, L. Inflammation-Modulating Effect of Butyrate in the Prevention of Colon Cancer by Dietary Fiber. **Clinical Colorectal Cancer**, v. 17, n. 3, p. e541–e544, set. 2018.

CHENG, L. K. et al. Gastrointestinal system. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine**, v. 2, n. 1, p. 65–79, jan. 2010.

CHIANG, J. Y. L. Bile Acid Regulation of Gene Expression: Roles of Nuclear Hormone Receptors. **Endocrine Reviews**, v. 23, n. 4, p. 443–463, 1 ago. 2002.

CROMWELL O. Biochemistry of allergens. In: Kay AB, editor. **Allergy and allergic diseases**, vol. 2. 1st edition. Oxford: Blackwell Science; 1997. p. 797–811.

DANDRIEUX, J. R. S. Inflammatory bowel disease versus chronic enteropathy in dogs: are they one and the same? **Journal of Small Animal Practice**, v. 57, n. 11, p. 589–599, 16 out. 2016.

DEMEO, M. T.; et al. Intestinal Permeation and Gastrointestinal Disease. **Journal of Clinical Gastroenterology** 34(4):p 385-396, April 2002.

DONOHUE, D. R. et al. The Warburg Effect Dictates the Mechanism of Butyrate-Mediated Histone Acetylation and Cell Proliferation. **Molecular Cell**, v. 48, n. 4, p. 612–626, nov. 2012.

DUPOUY-MANESCAU, N. et al. Updating the Classification of Chronic Inflammatory Enteropathies in Dogs. **Animals**, v. 14, n. 5, p. 681–681, 21 fev. 2024.

ELLIS, C.; ODUNAYO, A.; TOLBERT, M. K. The Use of Metronidazole in Acute Diarrhea in Dogs: A Narrative Review. **Topics in Companion Animal Medicine**, v. 56-57, p. 100824–100824, 1 set. 2023.

EPHRAIM, E.; COCHRANE, C.-Y.; JEWELL, D. E. Varying Protein Levels Influence Metabolomics and the Gut Microbiome in Healthy Adult Dogs. **Toxins**, v. 12, n. 8, p. 517, 12 ago. 2020.

FAUCHER, M. R. et al. Comparison of clinical, endoscopic, and histologic features between dogs with chronic gastritis with and without lymphofollicular hyperplasia. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 256, n. 8, p. 906–913, 15 abr. 2020.

FEKETE, S. et al. Reduction of the energy density of cat foods by increasing their fibre content with a view to nutrients' digestibility. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 85, n. 7-8, p. 200–204, 1 ago. 2001.

FÉLIX, A. P.; SOUZA, C. M. M.; DE OLIVEIRA, S. G. Biomarkers of gastrointestinal functionality in dogs: A systematic review and meta-analysis. **Animal Feed Science and Technology**, v. 283, p. 115183, jan. 2022.

FERREIRA, D. F.; FERNANDES, C. C.; DIAS, A. S. Levantamento das alterações do trato gastrointestinal em cães submetidos a necropsia na Universidade Presidente Antônio Carlos, em Uberlândia-MG. **Scientific Electronic Archives**, v. 14, n. 3, p. 94–98, 26 fev. 2021.

FUNG, T. C. et al. Intestinal serotonin and fluoxetine exposure modulate bacterial colonization in the gut. **Nature Microbiology**, 2 set. 2019.

GARDEN, O. A. et al. Inheritance of gluten-sensitive enteropathy in Irish Setters. **American Journal of Veterinary Research**, v. 61, n. 4, p. 462–468, 1 abr. 2000.

GERMAN, A. J. et al. A high protein high fibre diet improves weight loss in obese dogs. **The Veterinary Journal**, v. 183, n. 3, p. 294–297, mar. 2010.

GERSHON, M. D.; TACK, J. The Serotonin Signaling System: From Basic Understanding To Drug Development for Functional GI Disorders. **Gastroenterology**, v. 132, n. 1, p. 397–414, jan. 2007.

GIBSON, G. R. et al. 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, p. 491–502, 2017.

GOUVEIA, E. M. F. et al. Use of mannanoligosaccharides as an adjuvant treatment for gastrointestinal diseases and their effects on E.coli inactivated in dogs. **Acta cirurgica brasileira** vol. 21 Suppl 4 (2006): 23-6. doi:10.1590/s0102-86502006001000006

GORADEL, N. H. et al. Fusobacterium nucleatum and colorectal cancer: A mechanistic overview. **Journal of Cellular Physiology**, v. 234, n. 3, p. 2337–2344, 7 set. 2018.

HABERMAASS, V. et al. Intestinal Microbiome in Dogs with Chronic Hepatobiliary Disease: Can We Talk about the Gut–Liver Axis? **ProQuest**, p. 3174, 2023.

HAYES, G. Gastrointestinal foreign bodies in dogs and cats: a retrospective study of 208 cases. **Journal of Small Animal Practice**, v. 50, n. 11, p. 576–583, 8 out. 2009.

HOYLES, L. et al. Microbiome–host systems interactions: protective effects of propionate upon the blood–brain barrier. **Microbiome**, v. 6, n. 1, 21 mar. 2018.

ING, N. H.; STEINER, J. M. The Use of Diets in the Diagnosis and Treatment of Common Gastrointestinal Diseases in Dogs and Cats. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, p. 39–53, 2024.

ISAIAH, A. et al. The fecal microbiome of dogs with exocrine pancreatic insufficiency. **Anaerobe**, v. 45, p. 50–58, jun. 2017.

JACKSON, M. I.; JEWELL, D. E. Balance of saccharolysis and proteolysis underpins improvements in stool quality induced by adding a fiber bundle containing bound

polyphenols to either hydrolyzed meat or grain-rich foods. *Gut Microbes*, v. 10, n. 3, p. 298–320, 30 out. 2018.

JANA, U. K. et al. Prebiotic manooligosaccharides: Synthesis, characterization and bioactive properties. *Food Chemistry*, v. 342, p. 128328, abr. 2021.

JENKINS, A. L. et al. Comparable Postprandial Glucose Reductions with Viscous Fiber Blend Enriched Biscuits in Healthy Subjects and Patients with Diabetes Mellitus: Acute Randomized Controlled Clinical Trial. *Croatian Medical Journal*, v. 49, n. 6, p. 772–782, 1 dez. 2008.

JERGENS, A. E. et al. Comparison of Oral Prednisone and Prednisone Combined with Metronidazole for Induction Therapy of Canine Inflammatory Bowel Disease: A Randomized-Controlled Trial. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 24, n. 2, p. 269–277, mar. 2010.

KAELLE, G. C. B. et al. High-protein dried distillers grains in dog diets: diet digestibility and palatability, intestinal fermentation products, and fecal microbiota. *Journal of Animal Science*, v. 101, 1 jan. 2023.

KAELLE, G. C. B. et al. Starch sources and their influence on extrusion parameters, kibble characteristics and palatability of dog diets. *Italian Journal of Animal Science/Italian journal of animal science*, v. 23, n. 1, p. 388–396, 25 fev. 2024.

KIM, S.-K. et al. Role of Probiotics in Human Gut Microbiome-Associated Diseases. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 29, n. 9, p. 1335–1340, 28 set. 2019.

KATHRANI, A. et al. Alterations in serum amino acid concentrations in dogs with protein-losing enteropathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 32, n. 3, p. 1026–1032, 2018.

KILBURN, L. R. et al. Apparent total tract digestibility, fecal characteristics, and blood parameters of healthy adult dogs fed high-fat diets. *Journal of Animal Science*, v. 98, n. 3, 12 fev. 2020.

KOBAYASHI, S. et al. Measurement of Intestinal Mucosal Permeability in Dogs with Lymphocytic-Plasmacytic Enteritis. *Journal of Veterinary Medical Science*, v. 69, n. 7, p. 745–749, 2007.

LEHRER, S. B. et al. Why are some proteins allergenic? Implications for biotechnology. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 36, n. 6, p. 553–564, jul. 1996.

LENOX, C. E. Nutritional Management for Dogs and Cats with Gastrointestinal Diseases. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, fev. 2021.

LIMA, D. C. et al. Dietary supplementation with *Bacillus subtilis* C-3102 improves gut health indicators and fecal microbiota of dogs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 270, p. 114672, dez. 2020.

LIU, X. et al. *Blautia*—a new functional genus with potential probiotic properties? **Gut Microbes**, v. 13, n. 1, p. 1–21, 1 jan. 2021.

LIU, Y.; WANG, X.; HU, C.-A. Therapeutic Potential of Amino Acids in Inflammatory Bowel Disease. **Nutrients**, v. 9, n. 9, p. 920, 23 ago. 2017.

LOEFFLER, A. et al. A retrospective analysis of case series using home-prepared and chicken hydrolysate diets in the diagnosis of adverse food reactions in 181 pruritic dogs. **Veterinary Dermatology**, v. 17, n. 4, p. 273–279, ago. 2006.

LOEFFLER, A. et al. Dietary trials with a commercial chicken hydrolysate diet in 63 pruritic dogs. **Veterinary Record**, v. 154, n. 17, p. 519–522, 24 abr. 2004.

LOUIS, P.; FLINT, H. J. Formation of propionate and butyrate by the human colonic microbiota. **Environmental Microbiology**, v. 19, n. 1, p. 29–41, 8 dez. 2016.

LYNCH, J. B. et al. Gut microbiota *Turicibacter* strains differentially modify bile acids and host lipids. **Nature Communications**, v. 14, n. 1, p. 3669, 20 jun. 2023.

MADSEN, L. et al. Links between Dietary Protein Sources, the Gut Microbiota, and Obesity. **Frontiers in Physiology**, v. 8, 19 dez. 2017.

MARKS, S.L. Diarrhea. In *Canine and Feline Gastroenterology*; **Elsevier**, 2013; pp. 99–108

MARKS, S. L. et al. ACVIM consensus statement: Support for rational administration of gastrointestinal protectants to dogs and cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 32, n. 6, p. 1823–1840, 31 out. 2018.

MARTIN-GALLAUSIAUX, C. et al. SCFA: mechanisms and functional importance in the gut. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 80, n. 1, p. 37–49, 2 abr. 2020.

MATRICOTI, I.; NOLI, C. An open label clinical trial to evaluate the utility of a hydrolysed fish and rice starch elimination diet for the diagnosis of adverse food reactions in dogs. **Veterinary Dermatology**, v. 29, n. 5, p. 408-e134, 23 ago. 2018.

MEERVELD, B. G. V.; JOHNSON, A. C.; GRUNDY, D. Gastrointestinal Physiology and Function. **Gastrointestinal Pharmacology**, p. 1–16, 2017.

MIDDELBOS, I. S. et al. Phylogenetic Characterization of Fecal Microbial Communities of Dogs Fed Diets with or without Supplemental Dietary Fiber Using 454 Pyrosequencing. **PLoS ONE**, v. 5, n. 3, p. e9768, 22 mar. 2010.

MIQUEL, S. et al. *Faecalibacterium prausnitzii* and human intestinal health. **Current Opinion in Microbiology**, v. 16, n. 3, p. 255–261, jun. 2013.

MIRANDA, C. et al. Role of Exposure to Lactic Acid Bacteria from Foods of Animal Origin in Human Health. **Foods**, v. 10, n. 9, p. 2092, 4 set. 2021.

MONTSERRAT-MALAGARRIGA, M. et al. The Impact of Fiber Source on Digestive Function, Fecal Microbiota, and Immune Response in Adult Dogs. **Animals**, v. 14, n. 2, p. 196–196, 7 jan. 2024.

MORENO, A. A. et al. Dietary fiber aids in the management of canine and feline gastrointestinal disease. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, p. 1–13, 26 out. 2022.

MORI, A. et al. Comparison of the effects of four commercially available prescription diet regimens on the fecal microbiome in healthy dogs. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 81, n. 12, p. 1783–1790, 2019.

NAGAHARA, T. et al. Analysis of fecal microbial profiles in dogs with intestinal lymphangiectasia. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 85, n. 2, p. 199–206, 1 jan. 2023.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). AD HOC COMMITTEE ON DOG AND CAT NUTRITION et al. Nutrient requirements of dogs and cats. Washington: The National Academies Press, 2006.

NIKOLAUS, S. et al. Increased Tryptophan Metabolism Is Associated With Activity of Inflammatory Bowel Diseases. **Gastroenterology**, v. 153, n. 6, p. 1504-1516.e2, dez. 2017.

OKANISHI, H. et al. The Clinical Efficacy of Dietary Fat Restriction in Treatment of Dogs with Intestinal Lymphangiectasia. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 28, n. 3, p. 809–817, 27 mar. 2014.

O'NEILL, D. G. et al. Prevalence of commonly diagnosed disorders in UK dogs under primary veterinary care: results and applications. **BMC Veterinary Research**, v. 17, n. 1, 17 fev. 2021.

PAPICH, M. G. Manual saunders terapia veterinária pequenos e grandes animais. 3. ed. **North Carolina: Elsevier**, 2012.

PETERSON, P. B.; WILLARD, M. D. Protein-losing enteropathies. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 33, n. 5, p. 1061–1082, set. 2003.

PILLA, R. et al. Effects of metronidazole on the fecal microbiome and metabolome in healthy dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 34, n. 5, p. 1853–1866, 28 ago. 2020.

PILLA, R.; SUCHODOLSKI, J. S. The Gut Microbiome of Dogs and Cats, and the Influence of Diet. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 51, n. 3, p. 605–621, 1 maio 2021.

PUIGDEMONT, A. et al. Immunologic responses against hydrolyzed soy protein in dogs with experimentally induced soy hypersensitivity. **American Journal of Veterinary Research**, v. 67, n. 3, p. 484–488, mar. 2006.

RAMAKRISHNA, B. S.; MATHAN, M.; MATHAN, V. I. Alteration of Colonic Absorption by Long-Chain Unsaturated Fatty Acids: Influence of Hydroxylation and Degree of Unsaturation. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v. 29, n. 1, p. 54–58, jan. 1994.

RAMSAY, P. T.; CARR, A. Gastric acid and digestive physiology. **The Surgical Clinics of North America**, v. 91, n. 5, p. 977–982, 1 out. 2011.

ROSSI, G. et al. 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. **PLoS ONE**, v. 9, n. 4, p. e94699, 10 abr. 2014.

ROWLAND, I. et al. Gut microbiota functions: metabolism of nutrients and other food components. **European Journal of Nutrition**, v. 57, n. 1, p. 1–24, 9 abr. 2017.

SÁNCHEZ DE MEDINA, F. et al. Intestinal Inflammation and Mucosal Barrier Function. **Inflammatory Bowel Diseases**, v. 20, n. 12, p. 2394–2404, dez. 2014.

SCHMIDT, M. et al. The fecal microbiome and metabolome differs between dogs fed Bones and Raw Food (BARF) diets and dogs fed commercial diets. **PLOS ONE**, v. 13, n. 8, p. e0201279, 15 ago. 2018.

SIMOPOULOS, A. P. Omega-3 Fatty Acids in Inflammation and Autoimmune Diseases. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 21, n. 6, p. 495–505, dez. 2002.

Sistema Integrado de Legislação. Disponível em: <<https://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis/action/detalhaAto.do?method=visualizarAtoPortalMapa&chave=764311575>>. Acesso em: 29 nov. 2024.

SOARES, N. M. M. et al. Digestibility and Palatability of the Diet and Intestinal Functionality of Dogs Fed a Blend of Yeast Cell Wall and Oregano Essential Oil. **Animals**, v. 13, n. 15, p. 2527–2527, 5 ago. 2023.

SOKOL, H. et al. Faecalibacterium prausnitzii is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, n. 43, p. 16731–16736, 20 out. 2008.

SOUZA, C. M. M. et al. Comparison of cassava fiber with conventional fiber sources on diet digestibility, fecal characteristics, intestinal fermentation products, and fecal microbiota of dogs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 281, p. 115092, nov. 2021.

SOUZA, R. B. M. S. et al. Effects of dietary supplementation with a blend of functional oils to fecal microbiota, and inflammatory and oxidative responses, of dogs submitted to a periodontal surgical challenge. **Animal Feed Science and Technology**, v. 295, p. 115527–115527, 1 jan. 2023.

SUCHODOLSKI, J. S. Analysis of the gut microbiome in dogs and cats. **Veterinary Clinical Pathology**, 12 set. 2021.

SUCHODOLSKI, J. S. Assessing and Managing the Gut Microbiome in Canine and Feline Practice. In **Purina Institute - Canine and Feline Clinical Nutrition Handbook**. Edição 2023.

SUCHODOLSKI, J. S. et al. 16S rRNA Gene Pyrosequencing Reveals Bacterial Dysbiosis in the Duodenum of Dogs with Idiopathic Inflammatory Bowel Disease. **PLoS ONE**, v. 7, n. 6, p. e39333, 15 jun. 2012.

SUCHODOLSKI, J. S.; CAMACHO, J.; STEINER, J. M. Analysis of bacterial diversity in the canine duodenum, jejunum, ileum, and colon by comparative 16S rRNA gene analysis. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 66, n. 3, p. 567–578, dez. 2008.

SWAID, F. et al. Dietary glutamine supplementation prevents mucosal injury and modulates intestinal epithelial restitution following acetic acid induced intestinal injury in rats. **Nutrition & Metabolism**, v. 10, n. 1, 7 ago. 2013.

TOLBERT, M. K. et al. Dietary management of chronic enteropathy in dogs. **Journal of Small Animal Practice**, v. 63, n. 6, p. 425–434, 6 jan. 2022.

TREVIZAN, L.; KESSLER, A. DE M. Lipídeos na nutrição de cães e gatos: metabolismo, fontes e uso em dietas práticas e terapêuticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. spe, p. 15–25, jul. 2009.

VÁZQUEZ-BAEZA, Y. et al. Dog and human inflammatory bowel disease rely on overlapping yet distinct dysbiosis networks. **Nature Microbiology**, v. 1, n. 12, 3 out. 2016.

VEDOVATO, K. et al. O eixo intestino-cérebro e o papel da serotonina. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 18, n. 1, 9 jul. 2015.

VIGHI, G. et al. Allergy and the gastrointestinal system. **Clinical & Experimental Immunology**, v. 153, p. 3–6, set. 2008.

VILSON, Å. et al. Disentangling factors that shape the gut microbiota in German Shepherd dogs. **PLOS ONE**, v. 13, n. 3, p. e0193507, 23 mar. 2018.

VOLKMANN, M. et al. Chronic Diarrhea in Dogs - Retrospective Study in 136 Cases. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 31, n. 4, p. 1043–1055, jul. 2017.

WEBB, C.; TWEDT, D. C. Canine gastritis. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 33, n. 5, p. 969–985, set. 2003.

WENK, C. The role of dietary fibre in the digestive physiology of the pig. **Animal Feed Science and Technology**, v. 90, n. 1-2, p. 21–33, mar. 2001.

WEI, C. et al. High-fat diet disrupts the gut microbiome, leading to inflammation, damage to tight junctions, and apoptosis and necrosis in *Nyctereutes procyonoides* intestines. **Microbiology spectrum** vol. 12,4 (2024): e0418223. doi:10.1128/spectrum.04182-23

WERNIMONT, S. M. et al. The Effects of Nutrition on the Gastrointestinal Microbiome of Cats and Dogs: Impact on Health and Disease. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, 25 jun. 2020.

WINDISCH, W. et al. Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. **Journal of Animal Science**, v. 86, n. suppl_14, p. E140–E148, 1 abr. 2008.

YANO, J. M. et al. Indigenous Bacteria from the Gut Microbiota Regulate Host Serotonin Biosynthesis. **Cell**, v. 161, n. 2, p. 264–76, 2015.

ZENG, H. et al. Secondary Bile Acids and Short Chain Fatty Acids in the Colon: A Focus on Colonic Microbiome, Cell Proliferation, Inflammation, and Cancer. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 5, p. 1214, 11 mar. 2019.

ZHOU, L. et al. *Faecalibacterium prausnitzii* Produces Butyrate to Maintain Th17/Treg Balance and to Ameliorate Colorectal Colitis by Inhibiting Histone Deacetylase. **Inflammatory Bowel Diseases**, v. 24, n. 9, p. 1926–1940, 16 ago. 2018.

ZIESE, A.-L.; SUCHODOLSKI, J. S. Impact of Changes in Gastrointestinal Microbiota in Canine and Feline Digestive Diseases. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 51, n. 1, p. 155–169, jan. 2021.

ZORAN, D. Nutritional management of gastrointestinal disease. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 18, n. 4, p. 211–217, nov. 2003.

CAPÍTULO II: EFEITOS DE UM ALIMENTO COADJUVANTE GASTROINTESTINAL SOBRE A DIGESTIBILIDADE E PALATABILIDADE DA DIETA, METABÓLITOS DE FERMENTAÇÃO E MICROBIOTA FECAL DE CÃES

Lorena Nicole Araújo Santos¹, Renata Bacila Morais dos Santos de Souza¹, Eduarda Lorena Fernandes¹, Laiane da Silva Lima¹, Heloísa Lara Silva¹, Lara Mantovani Volpe², Simone Gisele de Oliveira¹, Ananda Portella Félix¹.

¹Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil.

² Adimax Indústria e Comércio de Alimentos LTDA, Salto de Pirapora, Brasil.

Resumo

Os distúrbios gastrointestinais incluem uma diversidade de enfermidades, como as enteropatias agudas e crônicas. O tratamento desses distúrbios inclui dietas específicas que, além de proporcionar alta digestibilidade dos nutrientes e palatabilidade, deve também auxiliar na modulação positiva da microbiota intestinal. Dessa forma, o objetivo do estudo foi avaliar a digestibilidade e palatabilidade da dieta, bem como os metabólitos de fermentação e microbiota fecal de cães saudáveis alimentados com uma dieta coadjuvante formulada para distúrbios gastrointestinais. Foram utilizados 16 cães adultos da raça beagle (8 machos e 8 fêmeas), alimentados com uma dieta controle para manutenção de cães saudáveis por 20 dias, como período pré-experimental. Posteriormente, os cães foram divididos em dois grupos, distribuídos inteiramente ao acaso, nos quais 8 dos cães continuaram a ser alimentados com a dieta controle, e os outros 8 foram transicionados de forma abrupta para uma dieta gastrointestinal (Teste) por 35 dias de período experimental. Fezes frescas foram coletadas nos dias 0, 3, 15 e 30 do período experimental para análises de matéria seca, pH, metabólitos de fermentação e microbiota fecal. A coleta de fezes para a digestibilidade foi realizada nos dias 31 a 36. A dieta teste apresentou maior digestibilidade e palatabilidade em comparação a dieta controle ($P < 0,05$). Foi observada redução no pH e aumento nas concentrações fecais de butirato, amônia, serotonina, cadaverina, putrescina e aminas totais no grupo teste ($P < 0,05$). As dietas resultaram em clara diferenciação no perfil geral do microbioma fecal dos cães a partir do dia 3 ($P < 0,05$).

Ainda, foi observado aumento de *Streptococcus* nas fezes do grupo controle e aumento de *Turicibacter* e *Faecalibacterium* nas fezes do grupo teste ($P < 0,05$). Dessa forma, a dieta teste apresenta alta digestibilidade dos nutrientes e melhor palatabilidade, altera os metabólitos de fermentação e modula benéficamente o microbioma fecal de cães saudáveis, demonstrando ser um alimento com potencial de recomendação para animais com distúrbios gastrointestinais.

Palavras Chaves: Butirato; enteropatias crônicas, *Faecalibacterium*, *Turicibacter*.

EFFECT OF A GASTROINTESTINAL DIET ON THE DIGESTIBILITY AND PALATABILITY OF THE DIET, FERMENTATION METABOLITES AND FECAL MICROBIOTA OF DOGS

ABSTRACT

Gastrointestinal disorders include a variety of diseases, such as acute and chronic enteropathies. The treatment of these disorders includes specific diets which, in addition to providing high nutrient digestibility and palatability, should also help to positively modulate the intestinal microbiota. The aim of this study was to evaluate the digestibility of the diet, the fermentation metabolites and the fecal microbiota of healthy dogs fed a coadjuvant diet formulated for gastrointestinal disorders. Sixteen adult beagle dogs (8 males and 8 females) were fed a control diet for the maintenance of healthy dogs for 20 days as a pre-experimental period. Subsequently, the dogs were divided into two groups, distributed entirely at random, in which 8 of the dogs continued to be fed the control diet, and the other 8 were abruptly transitioned to a gastrointestinal diet (Test) for 35 days of the experimental period. Fresh fecal matter was collected on days 0, 3, 15 and 30 of the experimental period for analysis of dry matter, pH, fermentation metabolites and fecal microbiota. Feces was collected for digestibility on days 31 to 36. The test diet showed greater digestibility and palatability compared to the control diet ($P < 0.05$). There was a reduction in pH and an increase in fecal concentrations of butyrate, ammonia, serotonin, cadaverine, putrescine and total amines in the test group ($P < 0.05$). The diets resulted in a clear differentiation in the general profile of the dogs' fecal microbiome from day 3 onwards ($P < 0.05$). There was also an increase in *Streptococcus* in the feces of the control group and an increase in

Turicibacter and *Faecalibacterium* in the feces of the test group ($P < 0.05$). Thus, the test diet shows high nutrient digestibility and palatability, alters fermentation metabolites and beneficially modulates the fecal microbiome of healthy dogs, demonstrating that it is a food with potential for recommendation for animals with gastrointestinal disorders.

Key words: Butyrate; chronic enteropathies; *Faecalibacterium*, *Turicibacter*

1. INTRODUÇÃO

As formulações de dietas coadjuvantes para cães visam suprir não apenas necessidades energéticas e nutricionais, mas também fazem parte do tratamento clínico de diversos distúrbios fisiológicos, como obesidade, doença renal crônica, hipersensibilidade alimentar e distúrbios gastrointestinais. Dentre essas dietas, as formuladas para distúrbios gastrointestinais recebem atenção especial devido à necessidade de atender a uma variedade de doenças com diferentes etiologias (Gualtieri, 2001; Verlinden et al., 2006; Kathrani, 2020).

De forma geral, cães com distúrbios gastrointestinais, podem apresentar sinais clínicos semelhantes, como diarreia, vômito e perda de peso (Cascon et al., 2017). Esses sinais são frequentemente atribuídos a disfunções que comprometem a digestão e absorção de nutrientes (Gaschen e Merchant, 2011). Portanto, a formulação de dietas coadjuvantes geralmente deve assegurar alta palatabilidade e densidade nutricional (Anthony et al., 2023), aliadas a alta digestibilidade de proteínas, lipídios e amido (Zoran, 2003). Ainda, devem contribuir para o reestabelecimento da motilidade normal e da eubiose da microbiota intestinal (Lenox, 2021).

Estudos demonstram que cães com distúrbios gastrointestinais apresentam alterações na microbiota intestinal características de disbiose, como redução na diversidade e no *Clostridium hiranonis* e aumento de *Streptococcus* e *Escherichia coli* (AlShawaqfeh et al., 2017; Blake et al., 2019; Pilla e Suchodolski, 2020). Essas alterações podem agravar a inflamação intestinal em cães (Cave, 2003). Além da alta digestibilidade da dieta, o uso de fibras solúveis moderadamente fermentáveis, probióticos, posbóticos e prebióticos podem colaborar com o reestabelecimento da eubiose da microbiota intestinal (Ziese e Suchodolski, 2021, Bastos et al., 2023). Outros aditivos que apresentam ação anti-inflamatória e antioxidante, como alguns óleos essenciais, também podem melhorar aspectos importantes, como a função da barreira intestinal em cães (Souza et al., 2023).

Portanto, espera-se que a combinação de ingredientes de alta digestibilidade, aliados a aditivos funcionais, module benéficamente a microbiota intestinal e seus metabólitos e contribua para a recuperação de cães com distúrbios gastrointestinais. Nesse sentido, foi encontrado apenas um estudo que avaliou os efeitos de uma dieta para distúrbios gastrointestinais em cães com colite aguda. Os autores observaram

que a dieta foi superior ao uso de metronidazol na recuperação dos cães, sendo que o antibiótico inclusive causou disbiose nos animais (Rudinsky et al., 2022). No entanto, não foi avaliada a digestibilidade da dieta e os metabólitos de fermentação intestinal, havendo escassez de estudos para comprovar seus efeitos em cães. Dessa forma, esse estudo tem como objetivo avaliar a digestibilidade e a palatabilidade de uma dieta formulada para distúrbios gastrointestinais, bem como o perfil da microbiota fecal e seus metabólitos de fermentação em cães saudáveis, com a finalidade de estudar seus possíveis efeitos para futuras aplicações em cães doentes.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Animais e instalações

O experimento foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná (UFPR), sob protocolo de número 014/2023.

A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Estudos em Nutrição Canina (LENUCAN) da UFPR, em Curitiba, Paraná, Brasil (25º 25' 40" S, 49º 16' 23" W). Foram utilizados 16 cães adultos castrados da raça Beagle (8 machos e 8 fêmeas) com 1 ano de idade, peso médio de $10,3 \pm 0,86$ kg e escore de condição corporal (ECC) 4, em uma escala de 1 a 9 (Laflamme, 1997). Todos os cães estavam clinicamente saudáveis. Os animais foram alojados individualmente para as coletas e ensaio de digestibilidade em baias de alvenaria (5 metros de comprimento x 2 metros de largura) com abrigo e solário, com uma cama e acesso livre a água fresca. As instalações tinham barras nas paredes laterais que permitiam interação visual com os cães vizinhos, além de receberem enriquecimento ambiental dentro do canil durante esse período. 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 Dietas experimentais

Foram avaliadas duas dietas, controle (dieta seca extrusada para cães adultos) e teste (dieta seca extrusada formulada para distúrbios gastrointestinais para cães adultos). A composição química analisada das dietas experimentais está apresentada na tabela 1.

Todos os cães foram alimentados apenas com a dieta controle por 20 dias (período pré-experimental). No dia 21, 8 cães (4 machos e 4 fêmeas) foram transicionados de forma abrupta para a dieta teste e os outros 8 cães (4 machos e 4 fêmeas) permaneceram consumindo a dieta controle por 35 dias (período experimental). Os cães foram alimentados duas vezes ao dia (às 8:00 h e às 16:00 h), com quantidade de alimento suficiente para suprir suas necessidades de energia metabolizável (EM) para manutenção, segundo o NRC (2006): $EM \text{ (Kcal/dia)} = 110-140 \times \text{peso corporal (kg)}^{0.75}$. Os cães foram pesados semanalmente e as quantidades de alimento foram ajustadas caso necessário para manutenção do peso e ECC.

A dieta controle era composta principalmente por milho, farelo de trigo, farinha de carne e ossos de bovino, farelo de soja, farinha de penas hidrolisada, óleo de aves, hidrolisado de fígado de aves e suíno, além de premix vitamínico-mineral e antioxidantes sintéticos. A dieta teste foi formulada contendo carne mecanicamente separa de aves, fígado de aves, proteína hidrolisada de aves, farinha de vísceras de aves, óleo essencial de copaíba (*copaifera officinalis*), líquido da casca da castanha de cajú, oleoresina de pimenta, polpa de beterraba, fibra de cana-de-açúcar, quirera de arroz, semente de psyllium, zeólita, casca de acácia nilótica, parede celular de levedura, frutooligossacarídeos, galactooligossacarídeos, levedura de cana de açúcar hidrolisada, biomassa de microalgas (*Schizochytrium sp.*), antioxidantes naturais, probiótico (*Bacillus subtilis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lacticaseibacillus casei* e *Lactobacillus lactis*), metionina, triptofano e premix vitamínico-mineral.

Tabela 1. Composição química analisada das dietas experimentais (% na matéria seca).

Item	Controle	Teste
Matéria seca	93,64	91,49
Matéria orgânica	90,81	90,03
Proteína bruta	24,18	31,30
Extrato etéreo em hidrólise ácida	10,40	18,55
Fibra bruta	3,81	2,09
Matéria mineral	9,19	9,97
Cálcio	2,74	1,14
Fósforo	1,14	0,78
Energia bruta (Kcal/kg)	4438,4	5148,9

Controle = alimento completo seco extrusado para a manutenção de cães adultos; Teste = alimento coadjuvante seco extrusado para cães com distúrbios gastrointestinais.

2.3 Ensaio de digestibilidade e características fecais

O ensaio de digestibilidade seguiu o método de coleta total de fezes recomendado pela Association of American Feed Control Officials (AAFCO, 2016). As fezes foram coletadas pelo menos duas vezes ao dia entre os dias 31 a 36, totalizando 5 dias de coleta total de fezes. As fezes foram armazenadas em embalagens plásticas individuais previamente identificadas, tampadas e congeladas em freezer (-14°C) para serem analisadas posteriormente. Ao final do período de coleta, as fezes foram descongeladas à temperatura ambiente e homogeneizadas separadamente, formando uma amostra composta de cada animal.

As fezes foram secas em estufa de ventilação forçada (320-SE, Fanem, São Paulo, Brasil) a 55°C por 72 h ou até atingir peso constante. Após a secagem, as fezes e dietas experimentais foram moídas a 1 mm em moinho (Arthur H. 149 Thomas Co., Filadélfia, PA, EUA) e analisadas quanto à matéria seca (MS) a 105°C, por 12 horas, fibra bruta (FB, método 994.13), matéria mineral (MM, método 942.05) e extrato etéreo em hidrólise ácida (EEA, método 942.05). O nitrogênio (N) foi analisado (método 954.01) e a proteína bruta (PB) calculada através de $N \times 6.25$. Todas as análises seguiram as recomendações da Association of the Official Analytical Chemists (AOAC,

1995). A energia bruta (EB) foi determinada em bomba de calorimetria (IKA C2000 Basic, IKA-Werke, Staufen, Germany).

As características fecais foram avaliadas durante o período de coleta total, para avaliação da matéria seca (MSf), produção fecal e consistência por escore.

O escore fecal foi avaliado sempre pelo mesmo pesquisador, atribuindo-se notas de 1 a 5, sendo: 1 = fezes pastosas e sem forma; 2 = fezes macias e malformadas; 3 = fezes macias, formadas e úmidas; 4 = fezes bem formadas e consistentes; 5 = fezes bem formadas, duras e secas, de acordo com Carciofi et al. (2009).

2.4 Metabólitos de fermentação e microbiota fecal

Nos dias 0, 3, 15 e 30 do experimento, uma amostra de fezes frescas de cada cão foi coletada após no máximo 15 min de defecação para análise de amônia, pH, ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e de cadeia ramificada (AGCR), aminas biogênicas, fenóis, indóis e microbiota. O escore de consistência e a MSf também foram avaliados nesses dias.

A concentração de amônia nas fezes foi determinada de acordo com Brito et al. (2010). O pH fecal foi mensurado utilizando um pHmêtro digital (331, Politeste Instrumentos de Teste Ltda, São Paulo, SP, Brasil) em 3,0 g de fezes frescas diluídas com 30 mL de água destilada.

Para a determinação dos AGCC e AGCR, 10 g de amostra de fezes foram pesadas e misturadas com 30 ml de ácido fórmico 16%. Esta mistura foi homogeneizada e armazenada em geladeira a 4°C por um período de 3 a 5 dias. Após isso, estas soluções foram centrifugadas a 2.500 RCF (força centrífuga relativa) (2K15, Sigma, Osterodeam Hans, Alemanha) por 15 min. Ao final da centrifugação o sobrenadante foi separado e submetido a nova centrifugação. Cada amostra passou por três centrifugações e ao final da última, parte do sobrenadante foi transferida para um eppendorff devidamente identificado para posterior congelamento. Posteriormente, as amostras foram descongeladas e passaram por uma nova centrifugação a 18.000 RCF por 15 min (Rotanta 460 Robotic, Hettich, Tuttlingen, Alemanha). Os AGCC e AGCR fecais foram analisados por cromatografia gasosa (SHIMADZU, modelo GC-2014, Quioto, Japão), juntamente com um detector FID e um sistema de injeção de amostra de coluna capilar de sílica fundida, a qual é mantida em 250°C por 10,29

minutos. Foi utilizado gás hidrogênio de $1,2 \text{ mL min}^{-1}$ para produção da chama com fluxo constante de 40 mL min^{-1} , além de ar sintético, com fluxo de 400 mL min^{-1} . A razão de injeção foi de 1:80 e volume de $1,0 \mu\text{L}$. Dessa forma, os compostos foram identificados por meio de uma curva analítica padrão para cada amostra.

Para as análises de aminas biogênicas, 5 g de cada amostra foi pesada em duplicata e diluídas em 15 mL de ácido tricloroacético a 5% e refrigeradas. Sequencialmente, cada amostra foi centrifugada a 10.000 RCF por 20 minutos a uma temperatura de 4°C e, assim, o sobrenadante foi filtrado. As aminas foram identificadas através da comparação do tempo de retenção dos picos encontrados entre as amostras e as amostras da solução padrão (Figueiredo, 2008).

Os fenóis e indóis foram analisados por cromatografia, com um cromatógrafo de gás GCMS2010 Plus (Shimadzu®), acoplado a um espectrômetro de massa TQ8040 com um auto-amplificador AC 5000 e um injetor sem fendas. As separações cromatográficas foram obtidas na coluna SH-Rtx-5MS ($30 \text{ m} \times 0,25 \text{ mm} \times 0,25 \mu\text{m}$ - Shimadzu®) com um caudal de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$, e hélio como gás de arrastamento a $5,0$ de velocidade. A linha de transferência e as temperaturas da fonte de ionização foram mantidas a 40°C e 220°C , respectivamente, o volume de injeção de 1 L foi mantido no modo split (taxa 1:10). A temperatura do forno GC foi mantida a 220°C (5 min), com o aumento de $40^\circ\text{C min}^{-1}$ para 280°C (5 min). O tempo total de análise foi de 31 minutos e o espectrômetro de massa funcionou nos modos de varrimento total ($m/z = 40$ a 400) e monitoramento seletivo de íons (SIM), ionização eletrônica a 70 eV. O software utilizado na análise de dados foi o GCMSsolution®.

Para avaliação da microbiota fecal, aproximadamente 2 g de amostra foram retiradas do interior das fezes recém-colhidas, colocadas em um tubo eppendorf estéril e acondicionadas em freezer a -80°C até o momento da análise.

Para a análise de microbiota, o DNA das amostras foi extraído. Para isso, foi empregado o kit comercial ZR Fecal DNA MiniPrep® (Zymo Research, Irvine, CA) seguindo-se o protocolo recomendado pelo fabricante. O DNA extraído foi quantificado por espectrofotometria a 260nm utilizando-se o espectrofotômetro NanoDrop® 2000 (ThermoScientific). Para avaliar a integridade do DNA extraído, todas as amostras foram corridas por eletroforese em gel de agarose 1%, coradas com uma solução de brometo de etídeo 1% e visualizadas com luz ultravioleta em transiluminador. Foi amplificado um segmento de 460 bases da região hipervariável V3V4 do gene

ribossomal 16S rRNA utilizando-se os primers 375F/805R e as seguintes condições de PCR: 95°C por 3 min; 25 ciclos de 95°C por 30 seg, 55°C por 30 seg e 72°C por 30 seg; seguido de 72°C por 5 min. A partir destes amplificados foi construída a biblioteca metagenômica utilizando-se o kit comercial “Nextera DNA Library Preparation Kit” da Illumina®. Os amplificados foram reunidos em pools e posteriormente sequenciados no sequenciador “MiSeq” da Illumina® (DEGNAN & OCHMAN, 2012) em *paired-end* de 300 bases. As leituras ou “reads” obtidos no sequenciador foram analisadas na plataforma QIIME2 (Quantitative Insights Into Microbial Ecology) (CAPORASO et al., 2010, 2011), seguindo-se um fluxo de trabalho de utilização das sequências *forward* e *reverse* (R1 e R2) na análise microbiana, remoção de sequências de baixa qualidade, filtração, remoção de quimeras e classificação taxonômica. As sequências foram classificadas em gêneros bacterianos através do reconhecimento de variantes de sequências de amplicons (ASVs), nesse caso a homologia das sequências quando comparadas contra uma base de dados. Para comparar as sequências foi utilizada a atualização GTDB 207 do ano de 2022 do banco de dados de sequencias ribossomais Genome Taxonomy Database (Parks et al., 2022).

Para gerar a classificação das comunidades bacterianas por identificação de ASVs, foram utilizadas 53.104 leituras por amostra, com a finalidade de normalizar os dados e não comparar amostras com diferente número de leituras.

2.5 Palatabilidade

Após o período experimental de 35 dias, foi realizado o teste de palatabilidade, com os mesmos 16 cães, para comparação das dietas controle x teste. A cada animal foi oferecido os dois alimentos simultaneamente. Os alimentos ficaram à disposição dos animais durante 30 minutos ou até consumirem totalmente um dos alimentos. O teste foi realizado em dois dias consecutivos, sendo que a posição relativa dos comedouros foi alternada no segundo dia para evitar lateralidade. A palatabilidade foi determinada usando a primeira escolha e a razão de ingestão entre as dietas oferecidas aos cães. A primeira escolha foi definida observando-se o primeiro comedouro que o animal se aproximou. Para determinação da razão de ingestão (RI) foram quantificadas as porções oferecidas aos animais e as sobras, segundo a seguinte equação:

RI = consumo dieta A ou B/ consumo A + B

2.6 Cálculos e análises estatísticas

A matéria orgânica (MO%) foi calculada por: $100 - MM\%$ e a MSf foi obtida por: $(MS55 \times MS105)/100$. A EM foi estimada segundo a AAFCO (2016): $EM \text{ (kcal g}^{-1}) = \{ \text{kcal g}^{-1} \text{ EB ingerida} - \text{kcal g}^{-1} \text{ EB das fezes} - [(\text{g PB ingerida} - \text{g PB das fezes}) \times 1,25 \text{kcal g}^{-1}] \} / \text{g ração ingerida}$. Com base nos resultados laboratoriais obtidos, foram calculados os Coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) dos nutrientes, conforme equação: $CDA (\%) = [(\text{nutriente ingerido} - \text{nutriente excretado}) / \text{nutriente ingerido}] \times 100$.

Os dados foram analisados quanto à normalidade pelo teste Shapiro Wilk. Os dados com efeito de tempo (características e metabólitos fecais e alfa-diversidade) e distribuição normal foram submetidos à Análise de variância (ANOVA) considerando delineamento inteiramente ao acaso com medidas repetidas no tempo. Quando o teste F da ANOVA indicou efeito de dia ou interação dietas x dias ($P < 0,05$), as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($P < 0,05$). Os dados de digestibilidade foram analisados pelo teste t-Student ($P < 0,05$). Os dados não-paramétricos foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis ($P < 0,05$). Cada cão foi considerado uma unidade experimental, totalizando oito repetições por tratamento. Valores de $P > 0,05$ e $< 0,10$ foram considerados tendência.

Os dados de microbioma foram submetidos à análise discriminante linear (LDA) do tamanho do efeito (LEfSe), para verificar os gêneros bacterianos com maior poder discriminatório entre os tratamentos em cada período. Foram considerados escores acima de 2 e valores de P ajustados para *false discovery rate* ($P < 0,05$). A beta-diversidade foi aferida pela análise das coordenadas principais (PCoA), utilizando o método de dissimilaridade de Bray-curtis. As diferenças entre o perfil geral da microbiota entre os tratamentos foram analisadas pelo teste de PERMANOVA, considerando $P < 0,05$.

Os dados de primeira escolha foram analisados pelo teste de McNemar ($P < 0,05$) e os dados de razão de ingestão foram analisados pelo teste t-Student pareado ($P < 0,05$), com um total de 32 repetições.

3 RESULTADOS

3.1 Digestibilidade das dietas e características fecais

Os cães consumiram totalmente a quantidade das dietas ofertadas. Não houve episódios de vômito, diarreia ou recusa a se alimentar e não houve presença de sobras para nenhuma das dietas durante o experimento. Não houve variação de peso e ECC entre os grupos experimentais e entre os dias ($P>0,05$).

Cães do grupo teste apresentaram menor consumo de MS e maior de PB e EEA, em relação ao grupo controle ($P<0,05$, Tabela 2). A dieta teste apresentou maior CDA de todas as frações nutricionais e maior EM, em relação à dieta controle ($P<0,001$). Ainda, a dieta teste resultou em maior MSf e menor produção de fezes por dia ($P<0,05$), no entanto não houve diferença no escore fecal dos cães alimentados com as diferentes dietas ($P>0,05$).

Tabela 2. Médias do consumo, coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) dos nutrientes e energia metabolizável (EM) das dietas e características fecais dos cães.

Item	Controle	Teste	EPM	P
Consumo (g matéria seca/animal/dia)				
Matéria seca	247,2	209,9	7,50	0,004
Proteína bruta	59,76	65,70	1,65	0,043
EEA	21,83	45,85	1,91	<0,001
CDA (%)				
Matéria seca	70,7	82,6	0,64	<0,001
Matéria orgânica	75,2	86,5	0,56	<0,001
Proteína bruta	78,2	84,8	1,10	<0,001
EEA	89,0	93,8	0,70	<0,001
Energia bruta	74,1	86,8	0,64	<0,001
EM (kcal/kg)	3265,9	4437,8	28,00	<0,001
Características fecais				
Matéria seca (%)	29,42	31,49	0,86	0,046
Produção (g/dia)	249,4	117,8	16,00	<0,001
Escore	3,3	3,3	0,15	0,972

Controle = alimento completo seco extrusado para manutenção de cães adultos; Teste = alimento coadjuvante seco extrusado para cães com distúrbios gastrointestinais; EEA = extrato etéreo em hidrólise ácida; Escore fecal: 1 = fezes líquidas a 5 = fezes secas. Produção fecal na matéria natural; EPM = erro padrão da média; P= probabilidade pelo teste t-Student ($P<0,05$)

Do mesmo modo que durante o ensaio de digestibilidade, os cães do grupo teste apresentaram maior MSf que o grupo controle, quando avaliado nos dias 3, 15 e 30 ($P < 0,05$, Tabela 3). Ainda, cães do grupo teste apresentaram menor pH (independentemente do dia) e maior interação da concentração fecal de amônia nos dias 15 e 30, que o grupo controle ($P < 0,05$, Tabela 3). Não houve efeito das dietas sobre o escore fecal ($P > 0,05$). No entanto, houve aumento do escore fecal de todos os grupos nos dias 15 e 30, em relação ao dia zero ($P < 0,05$, Tabela 3).

Tabela 3. Médias das características fecais de cães alimentados com as dietas controle e teste durante 30 dias.

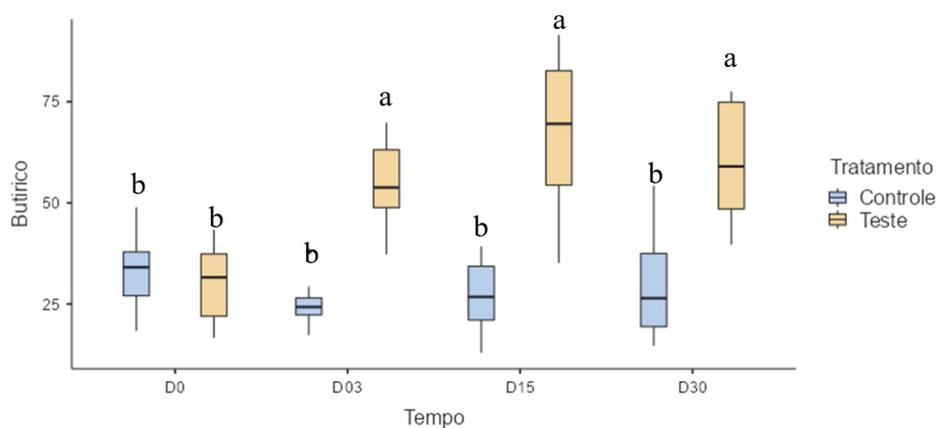
Dieta (D)	Dia	Matéria seca (%)	pH	Amônia (%)	Escore
Médias dos efeitos principais					
Controle		29,98	6,68	0,108	3,0
Teste		31,20	6,45	0,182	3,3
	0	30,85	6,80	0,109	2,7 ^b
	3	31,33	6,43	0,143	2,9 ^{ab}
	15	30,26	6,57	0,156	3,4 ^a
	30	29,90	6,47	0,173	3,5 ^a
Médias desdobradas					
	0	30,65	6,71	0,106 ^c	2,8
Controle	3	30,72	6,56	0,109 ^c	2,8
	15	29,96	6,73	0,096 ^c	3,3
	30	28,62	6,75	0,121 ^{bc}	3,3
	0	31,05	6,90	0,111 ^c	2,8
Teste	3	31,96	6,30	0,176 ^{ab}	3,0
	15	30,55	6,42	0,217 ^a	3,6
	30	31,19	6,21	0,226 ^a	3,7
EPM		0,251	0,058	0,008	0,090
P-D		0,014	0,036	<0,001	0,137
P-Dia		0,155	0,078	<0,001	0,006
P-D x Dia		0,365	0,116	<0,001	0,809

Controle = alimento completo seco extrusado para manutenção de cães adultos; Teste = alimento coadjuvante seco extrusado para cães com distúrbios gastrointestinais; EPM = erro padrão da média; P = probabilidade pelo teste F da ANOVA ($P < 0,05$).

^{a,b}Médias seguidas por letras distintas diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

3.2 Metabólitos de fermentação e microbiota fecal

Houve aumento na concentração de butirato nas fezes dos cães alimentados com a dieta teste a partir do dia 3 ($P < 0,05$, Figura 1, Tabela 4). Entretanto, a concentração fecal de acetato e propionato não diferiu entre as dietas ou entre os dias ($P > 0,05$). Houve aumento na concentração fecal de valerato e dos AGCR totais, bem como do ácido isovalérico e hexanoico nos cães alimentados com a dieta teste, em relação à controle, independente do dia ($P < 0,05$, Tabela 4).



^{a,b}Médias seguidas por letras distintas diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Figura 1. Concentração fecal de butirato (mmol/g de matéria seca) de cães do grupo controle e teste nos dias (D) 0, 3, 15 e 30 ($P < 0,05$).

Em relação as aminas biogênicas, houve aumento ($P < 0,05$) nas concentrações fecais de serotonina, cadaverina, putrescina e aminas totais e tendência a redução na histamina ($P = 0,077$) nos cães do grupo teste (Tabela 5).

Tabela 4. Médias das concentrações fecais de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC, mmol/g de matéria seca) e ramificada (AGCR, mmol/g de matéria seca) de cães alimentados com as dietas controle e teste durante 30 dias.

Dieta (D)	Dia	Acético	Propiônico	Butírico	Valérico	Iso-butírico	Isovalérico	4-metil valérico	Hexanoico	Heptanoico	AGCC	AGCR
Médias dos efeitos principais												
Controle		266,23	115,56	28,91	5,25	7,39	7,27	0,58	0,80	5,02	410,70	14,66
Teste		278,58	120,02	53,27	5,71	8,08	7,91	0,60	0,91	4,9	451,87	15,98
	0	288,53	110,50	31,65b	5,17b	7,00	7,23	0,58	0,85	4,89	430,68	14,22
	3	270,42	113,44	40,11ab	5,44ab	7,99	7,6	0,59	0,89	4,88	423,96	15,59
	15	245,12	119,69	47,32a	5,69a	8,15	7,79	0,59	0,85	5,05	412,13	15,94
	30	285,54	127,52	45,29a	5,62a	7,79	7,75	0,59	0,83	5,01	458,36	15,54
Médias desdobradas												
	0	287,59	113,84	32,98b	5,22	6,89	7,27	0,59	0,87	4,95	434,41	14,16
Controle	3	264,1	113,14	25,27b	5,22	7,93	7,37	0,58	0,79	4,99	402,51	15,3
	15	243,35	113,99	27,2b	5,27	7,37	7,25	0,57	0,75	5,03	384,53	14,62
	30	269,87	121,28	30,21b	5,30	7,37	7,21	0,57	0,79	5,09	421,36	14,58
	0	289,48	107,15	30,32b	5,11	7,10	7,19	0,58	0,83	4,83	426,95	14,29
Teste	3	276,73	113,75	54,95a	5,66	8,06	7,83	0,60	0,98	4,76	445,42	15,89
	15	246,89	125,4	67,45a	6,11	8,93	8,32	0,62	0,95	5,07	439,73	17,26
	30	301,22	133,77	60,37a	5,94	8,21	8,29	0,61	0,87	4,94	495,36	16,49
EPM		10,300	4,660	2,470	0,070	0,189	0,136	0,006	0,026	0,046	15,000	0,299
P-D		0,562	0,646	<0,001	<0,001	0,065	0,019	0,061	0,049	0,215	0,186	0,024
P-Dia		0,458	0,611	0,003	0,010	0,128	0,424	0,959	0,909	0,468	0,749	0,164
P-D x Dia		0,959	0,878	<0,001	0,052	0,482	0,352	0,378	0,348	0,772	0,810	0,384

Controle = alimento completo seco extrusado para manutenção de cães adultos; Teste = alimento coadjuvante seco extrusado para cães com distúrbios gastrointestinais; AGCC = acético + propiônico + butírico; AGCR = iso-butírico + iso-valérico; EPM = erro padrão da média; P = probabilidade pelo teste F da ANOVA ($P < 0,05$).

^{a,b,c}Médias seguidas por letras distintas diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Tabela 5. Médias das concentrações fecais de aminas biogênicas (mg/kg de matéria seca) de cães alimentados com as dietas controle e teste durante 30 dias.

Dieta (D)	Dia	Serotoni na	Tiramin a	Espermid na	Cadaveri na	Histami na	Putresci na	Total
Médias								
Controle		46,8	433	575	130	168	252	1606
Teste		62,3	519	602	250	147	375	1956
	0	26,2b	348b	597ab	62,2c	175	178c	1386c
	3	55,9a	303b	479b	72,3c	126	171c	1208c
	15	58,9a	596ab	589ab	171b	142	305b	1904b
	30	77,4a	658a	689a	455a	187	600a	2889 ^a
Médias desdobradas								
		23,0	345	614	53,5c	171	178	1386,0 c
Controle	0							
	3	43,6	308	517	47,6c	164	104	1184,0c
	15	45,4	550	520	137,0bc	141	231	1625,0 bc
	30	75,3	528	650	283,0b	196	496	2228,0 b
Teste	0	29,4	350	580	71,0c	178	178	1386,0 c
	3	68,2	298	442	97,1c	88,5	239	1233,0 c
	15	72,4	641	657	204,0b	143	379	2097,0 b
	30	79,5	788	728	627,0a	177	706	3105,0 a
EPM		3,83	40,2	20,4	24,0	9,39	28,8	94,4
P-D		0,012	0,236	0,473	<0,001	0,240	0,001	0,003
P-Dia		<0,001	0,001	0,002	<0,001	0,077	<0,001	<0,001
P-D x Dia		0,401	0,536	0,159	<0,001	0,362	0,190	0,003

Controle = alimento completo seco extrusado para manutenção de cães adultos; Teste = alimento coadjuvante seco extrusado para cães com distúrbios gastrointestinais; EPM = erro padrão da média; P = probabilidade pelo teste F da ANOVA ($P < 0,05$).

^{a,b,c}Médias seguidas por letras distintas diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Houve maior porcentagem de área de picos de fenóis nas fezes dos cães alimentados com a dieta teste no dia 30 ($P < 0,05$). Já, os cães alimentados com a dieta controle apresentaram maior porcentagem de área de pico de indóis nas fezes nos dias 0 e 30, em relação aos dias 3 (cães do grupo teste) e 15 (cães do grupo controle) ($P < 0,05$). Não houve efeito das dietas sobre as porcentagens de área de pico de p-cresol ($P > 0,05$, Tabela 6).

Tabela 6. Medianas (mínimo e máximo) das % das áreas de picos de fenóis, indóis e p-cresol de cães alimentados com as dietas controle e teste durante 30 dias.

Dieta	Dia	Fenóis	Indóis	P-cresol
Controle	0	0,00b (0,00-0,43)	10,10ab (0,09-26,60)	1,29 (0,19-2,32)
	3	0,00b (0,00-0,84)	4,82abc (0,00-17,90)	0,71 (0,25-2,00)
	15	0,00b (0,00-0,48)	0,00c (0,00-0,00)	0,93 (0,00-1,69)
	30	0,00b (0,00-0,53)	15,40a (4,54-56,60)	1,46 (0,84-1,88)
Teste	0	0,00b (0,00-1,00)	8,18ab (0,00-30,30)	0,97 (0,21-1,60)
	3	0,00b (0,00-0,50)	0,00bc (0,00-10,30)	0,70 (0,35-1,02)
	15	0,20ab (0,00-0,58)	6,41abc (0,83-12,40)	0,93 (0,47-1,41)
	30	0,71a (0,00-2,57)	5,30abc (1,93-9,90)	0,96 (0,71-1,74)
P		0,019	0,001	0,063

Controle = alimento completo seco extrusado para manutenção de cães adultos; Teste = alimento coadjuvante seco extrusado para cães com distúrbios gastrointestinais;

^{a,b,c}Medianas seguidas por letras distintas diferem pelo teste de Kruskal-Wallis ($P < 0,05$).

Não houve efeito de dieta ou de dia nos índices de alfa-diversidade do microbioma fecal dos cães ($P < 0,05$, Tabela 7). Entretanto, a análise da beta-diversidade revelou clara diferenciação progressiva no perfil geral do microbioma fecal após 3, 15 e 30 dias de consumo da dieta teste, em relação à controle ($P < 0,05$, Figura 2).

Tabela 7. Médias dos índices de alfa-diversidade do microbioma fecal de cães alimentados com as dietas controle e teste durante 30 dias.

Dieta (D)	Dia	N. ASVs	Chao1	Shannon
Médias				
Controle		326	356	4,15
Teste		321	342	4,06
	0	331	359	4,12
	3	326	354	4,06
	15	323	347	4,09
	30	313	336	4,16
Médias desdobradas				
Controle	0	327	356	4,16
	3	347	383	4,17
	15	315	341	4,15
	30	314	345	4,13
Teste	0	336	361	4,08
	3	305	324	3,95
	15	330	354	4,02
	30	313	327	4,19
EPM		5,3	6,7	0,029
P-D		0,648	0,287	0,114
P-Dia		0,697	0,652	0,672
P-D x Dia		0,256	0,230	0,374

Controle = alimento completo seco extrusado para a manutenção de cães adultos;

Teste = alimento coadjuvante seco extrusado para cães com distúrbios gastrointestinais; EPM = erro padrão da média; P = probabilidade pelo teste F da ANOVA ($P < 0,05$).

N. ASVs: número de variantes das sequências de amplicons.

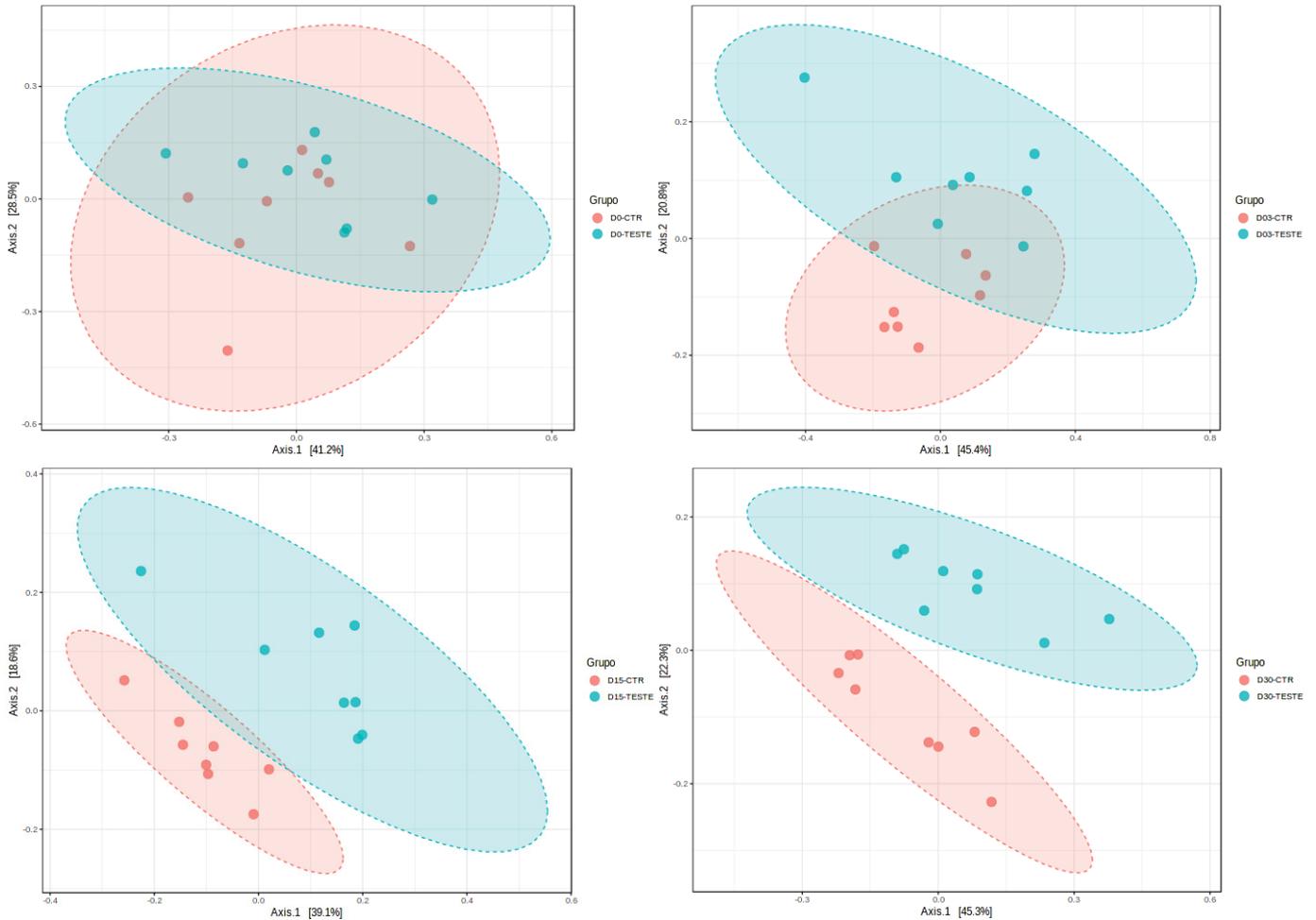


Figura 2. Beta-diversidade por dissimilaridade de Bray-Curtis dos gêneros do microbioma fecal de cães alimentados com as dietas controle (CTR) e teste nos dias (D) 0, 3, 15 e 30. O teste PERMANOVA indicou diferença no perfil geral do microbioma entre os grupos nos dias 3, 15 e 30 ($P < 0,05$). $P = 0,450$ entre os grupos no dia 0. Nota-se clara progressão no distanciamento entre os grupos dos dias 0 ao 30.

A figura 3 representa a abundância relativa dos principais filos bacterianos encontrados nas amostras de fezes dos animais alimentados com a dieta controle e teste. Os principais filos bacterianos observados foram *Bacteroidota*, *Firmicutes*, *Fusobacteriota*, *Proteobacteria* e *Actinobacteriota*, os quais são comumente predominantes em cães.

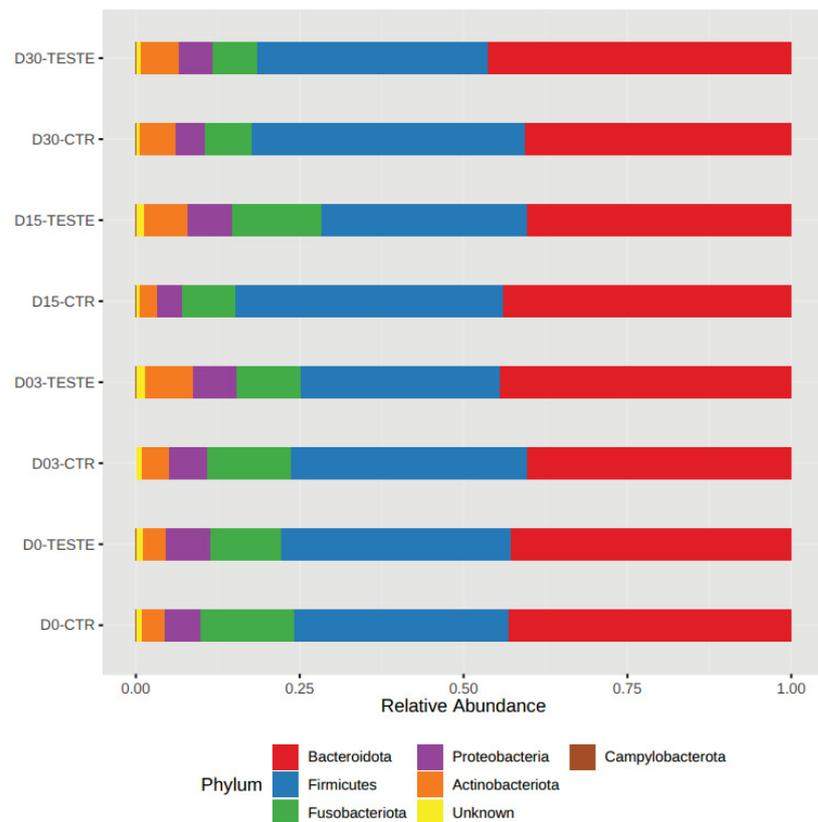


Figura 3. Abundância relativa dos filos bacterianos dos cães alimentados com as dietas controle (CTR) e teste durante os dias (D) 0, 3, 15 e 30.

De modo geral, observou-se redução ($P < 0,05$) dos gêneros *Streptococcus*, *Ligilactobacillus*, *Veillonella*, *Anaerobiospirillum* e *Megamonas* nos cães do grupo teste, quando comparado ao grupo controle nos dias 3, 15 e 30 ($P < 0,05$, Figuras 5 a 7). Outros gêneros (*Pseudomonas*, *Enterococcus* e *Odoribacter*) também reduziram no grupo teste, quando comparado ao longo dos dias 0, 3, 15 e 30 e em relação ao controle nos dias 3 e 15 (*Blautia*) ($P < 0,05$, Figura 4). Ainda, houve aumento ($P < 0,05$) nos gêneros bacterianos *Collinsella*, *Clostridium*, *Erysipelatoclostridium*, *Emergencia* e *Lachnospira* nos cães do grupo teste, nos dias 3, 15 e 30 e nos gêneros *Faecalibacterium* (dia 30) e *Turicibacter* (dias 15 e 30), em relação ao grupo controle (Figuras 5 a 7). A abundância dos gêneros *Streptococcus*, *Turicibacter*, *Faecalibacterium* e *Blautia* nas fezes de cães alimentados com as dietas controle (CTR) e teste nos dias (D) 0, 3, 15 e 30 estão representadas na figura 8 ($P < 0,05$).

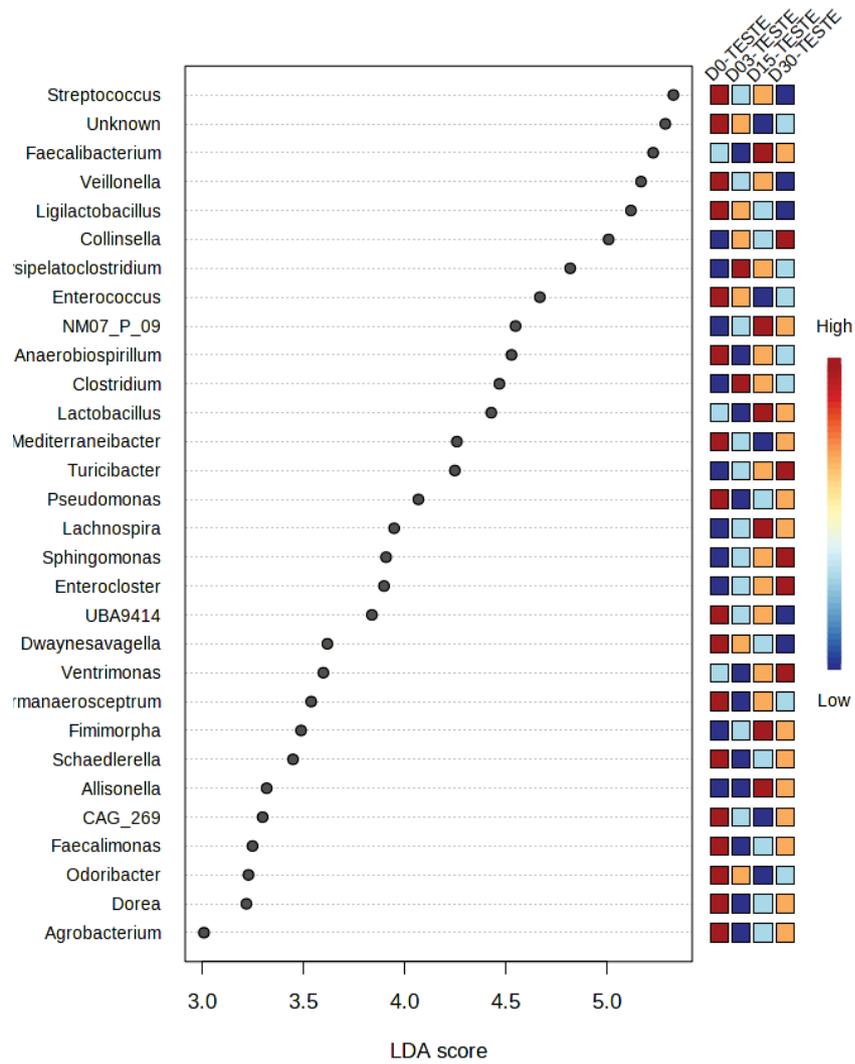


Figura 4. Análise discriminante linear do tamanho do efeito (LEfSe) dos gêneros bacterianos das fezes de cães alimentados com a dieta teste nos dias (D) 0, 3, 15 e 30. $P < 0,05$ corrigido para *false discovery rate*.

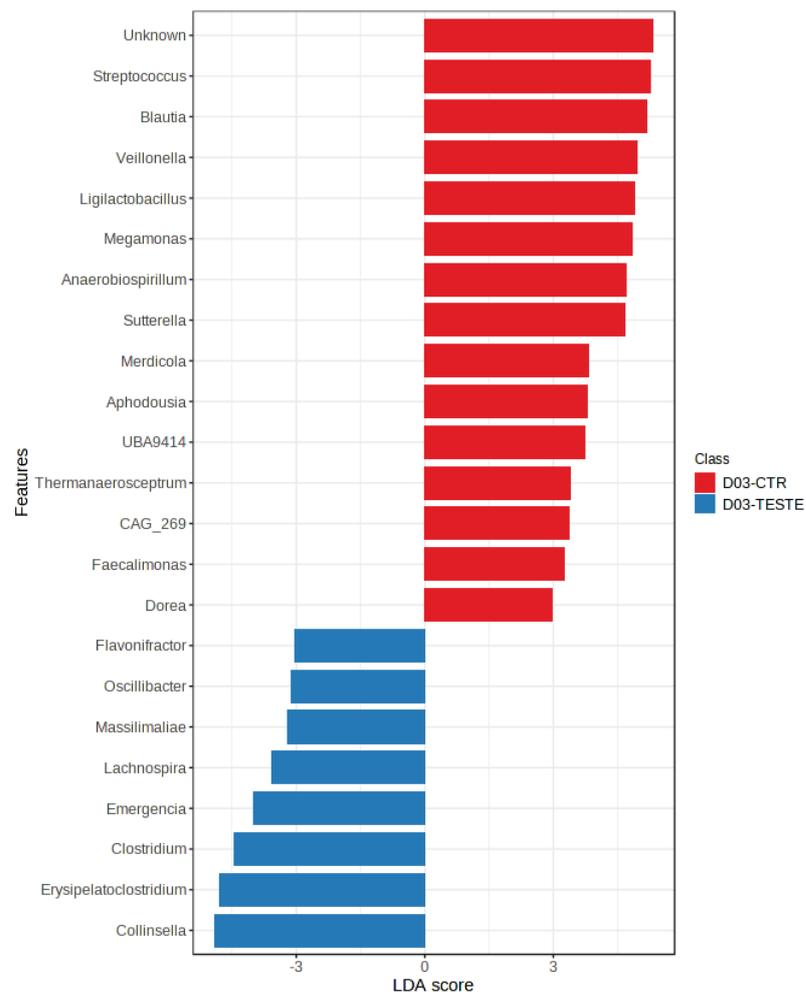


Figura 5. Análise discriminante linear do tamanho do efeito (LEfSe) dos gêneros bacterianos enriquecidos nas fezes de cães alimentados com as dietas controle (CTR) e teste no dia 3 (D03). $P < 0,05$ corrigido para *false discovery rate*.

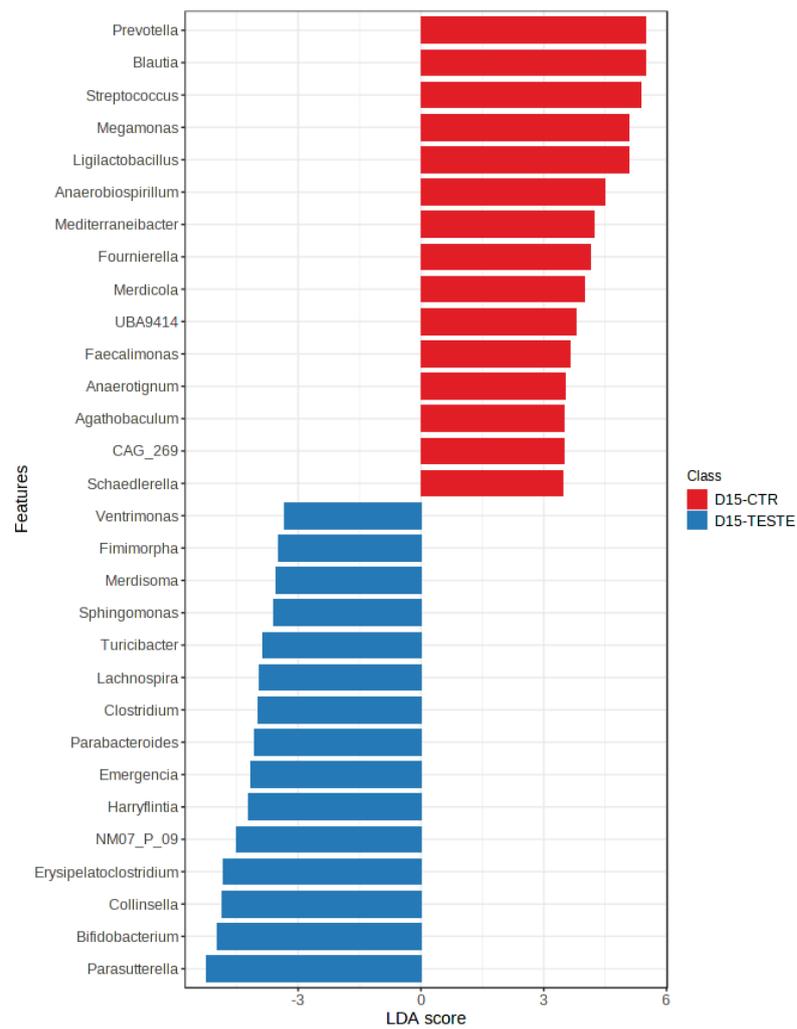


Figura 6. Análise discriminante linear do tamanho do efeito (LEfSe) dos gêneros bacterianos enriquecidos nas fezes de cães alimentados com as dietas controle (CTR) e teste no dia 15 (D15). $P < 0,05$ corrigido para *false discovery rate*.

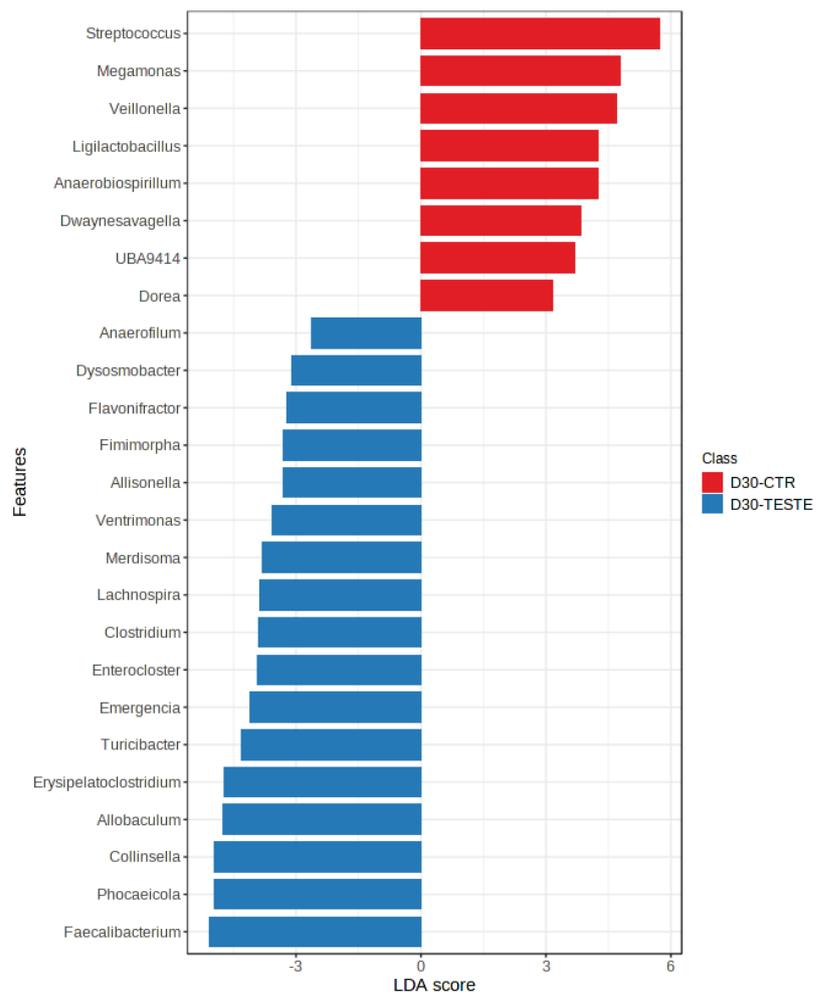


Figura 7. Análise discriminante linear do tamanho do efeito (LEfSe) dos gêneros bacterianos enriquecidos nas fezes de cães alimentados com as dietas controle (CTR) e teste no dia 30 (D30). $P < 0,05$ corrigido para *false discovery rate*.

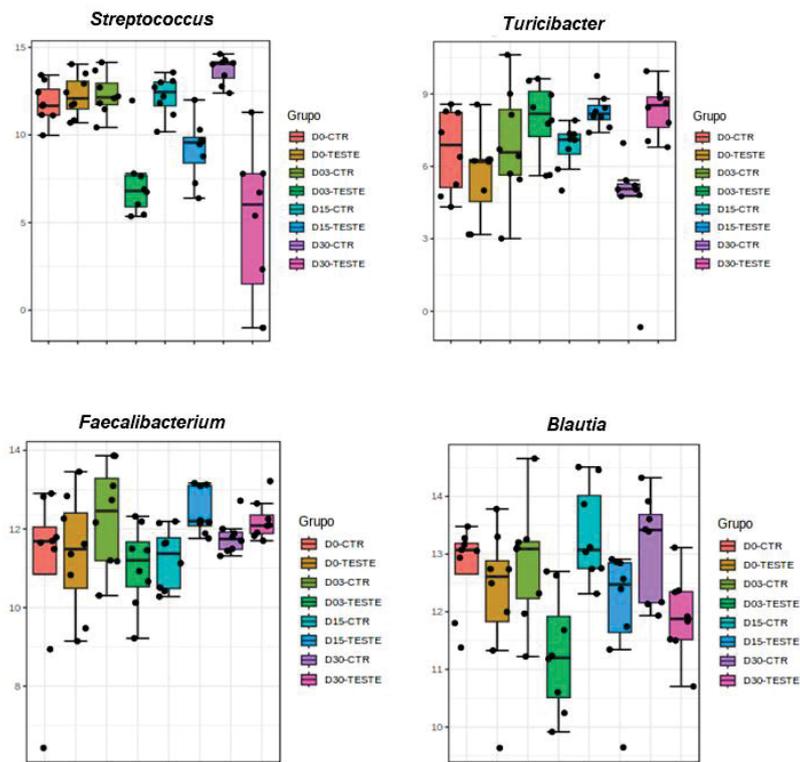


Figura 8. Abundância (log) dos gêneros *Streptococcus*, *Turicibacter*, *Faecalibacterium* e *Blautia* nas fezes de cães alimentados com as dietas controle (CTR) e teste nos dias (D) 0, 3, 15 e 30.

3.3 Palatabilidade

Não houve diferença na primeira escolha ($P = 0,376$) entre as dietas (Tabela 8). A razão de ingestão foi maior para a dieta teste em relação à controle ($P < 0,001$, Tabela 8).

Tabela 8. Primeira escolha e razão de ingestão das dietas controle e teste.

Item	Controle	Teste	P-valor
^a Primeira escolha	19	13	0,376
^b Razão de ingestão	0,22	0,78	<0,001

^a Primeira escolha pelo teste McNemar ($P < 0,005$)

^b Razão de ingestão pelo teste t-pareado ($P < 0,05$)

4 DISCUSSÃO

Compreender os efeitos dos distúrbios gastrointestinais em cães e como a composição química e a digestibilidade dos nutrientes, assim como a inclusão de aditivos interagem no sistema gastrointestinal, pode auxiliar no tratamento convencional dessas doenças. Isso é importante considerando que cães com doenças gastrointestinais podem apresentar disfunções absorptivas e de motilidade. Portanto, um manejo dietético que promova alta digestibilidade dos nutrientes é importante para reestabelecimento das funções gastrointestinais (Gouvêa et al., 2020).

Dessa forma, a dieta teste apresenta maior digestibilidade dos nutrientes que a dieta controle. Os resultados de maior digestibilidade dos nutrientes observada na dieta teste foram possíveis devido à presença de ingredientes de alta digestibilidade na dieta teste, como a farinha de vísceras de aves hidrolisada, a qual apresenta um CDA da PB de 89% (Scarpim et al., 2024) e a carne mecanicamente separada de aves, com CDA da PB de 83,3% (Meineri et al., 2021). Apesar de não terem sido encontrados estudos avaliando a digestibilidade de uma dieta formulada especificamente para cães com distúrbios gastrointestinais, estudos utilizando proteína hidrolisada de soja para cães e gatos com enteropatias crônicas observou que a longo prazo esses animais se beneficiaram do alimento ao resolver os sinais gastrointestinais (Mandigers et al., 2010ab). Além disso, um estudo combinando proteína hidrolisada de frango a aditivos prebióticos na dieta observou aumento da proteção da mucosa intestinal em cães com doença inflamatória intestinal (Ambrosini et al., 2020).

Embora a inclusão de lipídios na dieta teste tenha sido relativamente alta, o EEA também apresentou alta digestibilidade. Cães possuem alta digestibilidade dos lipídios durante todas as fases de vida (Zanatta et al., 2011). Além disso, as fontes lipídicas usualmente utilizadas nas dietas, como óleo de aves, óleo de peixe e óleo de soja, são altamente digestíveis, sendo a maioria com CDA superior a 90% (Sabchuk et al., 2019). A gordura é responsável pelo aumento da densidade energética do alimento, resultando em menor consumo em g/kg de peso corporal. Dietas com maior EM, além de contribuírem para o reestabelecimento da condição corporal ou reduzir a perda de peso dos cães com distúrbios gastrointestinais, diminuem a sobrecarga do sistema digestório, devido ao menor volume de alimento ingerido (Lenox, 2021).

Desse modo, geralmente é recomendado formulações com maior concentração de EEA e, conseqüentemente, de EM para cães com distúrbios gastrointestinais, com exceção de animais com linfangiectasia, para evitar aumento da pressão linfática (Okanishi et al., 2014).

Os resultados da digestibilidade dos nutrientes refletem diretamente sobre as características fecais. Geralmente, o melhor aproveitamento dos nutrientes proporciona maior concentração de MSf e redução do volume das fezes, o que pode contribuir para a recuperação da diarreia. Além disso, observamos redução do pH fecal dos animais alimentados com a dieta teste. Essa redução do pH reflete uma característica importante do ambiente intestinal, já que a sua redução pode contribuir para a funcionalidade intestinal ao inibir a proliferação de bactérias potencialmente patogênicas. O pH fecal pode ser considerado um biomarcador da atividade fermentativa da microbiota intestinal, e nesse estudo pode ser relacionado com a maior concentração de butirato nas fezes.

Dentre os metabólitos de fermentação, o butirato é reconhecido como uma das principais moléculas com efeito anti-inflamatório no intestino (Anshory et al., 2023). O butirato regula processos inflamatórios ao inibir a sinalização de NF- κ B (Chen e Vitetta, 2018), uma proteína de transcrição ativada em cães com enteropatias crônicas (Luckschander et al., 2010). Isso é particularmente interessante para cães com distúrbios gastrointestinais, uma vez que a maioria dessas enteropatias está associada à inflamação crônica no intestino (Pilla e Suchodolski, 2021). Podemos atribuir o aumento na concentração fecal de butirato e redução no pH fecal dos cães à presença de fibras solúveis e aditivos prebióticos, assim como os óleos funcionais, presentes no alimento teste avaliado (Perini et al., 2023; Souza et al., 2023). Inclusive, uma dieta hipoalergênica, de alta digestibilidade, formulada com uma combinação de fibras (7,8% FB) e probióticos (*Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum*, *L. paracasei*, *L. helveticus*, *L. brevis*, *Streptococcus thermophilus* e *B. lactis*) demonstrou auxiliar na redução dos sinais clínicos de cães com colite crônica (Rossi et al., 2020).

Em relação aos metabólitos oriundos de fermentação nitrogenada, foi observada maior concentração fecal de amônia, AGCR, aminas biogênicas e fenóis no grupo alimentado com a dieta gastrointestinal. Esse resultado provavelmente está relacionado ao maior consumo de PB no grupo teste (em média 66 g na MS por animal por dia), em relação ao grupo controle (em média 60 g na MS por animal por dia).

Embora a digestibilidade da PB da dieta teste seja superior à da dieta controle, a sua maior concentração proteica, mesmo que mais digestível, resultou em maior disponibilidade de proteína no cólon dos cães (concentração fecal média de PB = 17,9% nos cães do grupo controle vs. 27,44% no grupo teste). Os efeitos da maior ingestão de PB sobre o aumento nas concentrações fecais desses metabólitos (amônia, AGCR, aminas biogênicas e fenóis) já estão bem documentados na literatura em cães (Hang et al., 2013). No entanto, ainda não está estabelecido quais concentrações desses metabólitos podem ser tóxicos à mucosa intestinal dos cães. Inclusive, estudos em humanos observaram a importância das poliaminas sobre a maturação e diferenciação celular na mucosa intestinal (Matsumoto et al., 2011; Gao et al., 2013; Tofalo et al., 2019); e que cães obesos alimentados com dieta com maior teor de PB apresentaram maior concentração fecal de ácidos biliares secundários (Lyu et al., 2023), os quais são correlacionados à eubiose e saúde intestinal (Alshawaqfeh et al., 2017). Desse modo, é possível que esses resultados não indiquem efeitos adversos à funcionalidade intestinal dos cães, principalmente quando associados aos demais resultados obtidos de aumento do butirato e da MSf e modulação da microbiota fecal observada.

A modulação da microbiota fecal pode ser observada a partir do terceiro dia após a troca para a dieta teste, com diferenciação progressiva até 30 dias. A rápida modulação na microbiota intestinal pode ser interessante para contribuir com melhora mais rápida dos sinais clínicos dos distúrbios gastrointestinais, como a diarreia, principalmente em cães com enteropatias crônicas, os quais apresentam sinais clínicos por mais de 3 semanas (Dandrieux, 2016). Mesmo com poucas informações encontradas na literatura sobre alguns dos gêneros bacterianos identificados, alguns estudos observaram redução do *Erysipelatoclostridium*, *Allobaculum*, *Collinsella* e *Lachnospira* em cães com diarreia (Soonthornsit et al., 2021; Herstad et al., 2021; Yang et al., 2022), indicando que o seu aumento pode ser indicativo de um microbioma em eubiose, como encontrado no grupo teste. Além disso, os gêneros *Turicibacter* e *Faecalibacterium*, encontrados em maior abundância no grupo teste, estão correlacionados positivamente à eubiose, enquanto o *Streptococcus*, aumentado no grupo controle, está correlacionado positivamente à disbiose intestinal em cães (Alshawaqfeh et al., 2017).

Devido à função do gênero *Turicibacter* estar relacionada principalmente com a regulação da motilidade intestinal, por meio da produção de serotonina no intestino (Vedovato et al., 2015; Alshawaqfeh et al., 2017; Fung et al., 2019), o aumento dessa bactéria é particularmente interessante para cães com diarreia. Ainda, o aumento no *Turicibacter* pode estar relacionado ao aumento observado na concentração fecal de serotonina no grupo teste. Similarmente, o gênero *Faecalibacterium*, um dos principais produtores de butirato, pode contribuir para a redução de processos inflamatórios no intestino (Zhou et al., 2018; Chen e Vitetta, 2018), estando seu aumento de acordo com a maior concentração fecal de butirato observada no grupo teste. Essa modulação da composição da microbiota intestinal por meio do aumento de *Faecalibacterium* e *Turicibacter* é especificamente importante, já que cães com enteropatias crônicas apresentam redução desses microrganismos (Alshawaqfeh et al., 2017; Nagahara et al., 2023).

O grupo controle apresentou maior abundância do gênero *Blautia*, o qual também é considerado um biomarcador de eubiose intestinal quando aumentado em cães (Alshawaqfeh et al., 2017). Apesar da dieta controle ser de baixa digestibilidade e ter apresentado potenciais efeitos negativos sobre a microbiota intestinal. Ainda, o método de sequenciamento da microbiota utilizado (sequenciamento do gene 16s rRNA) resulta em resultados relativos e não absolutos. Portanto, a menor abundância relativa da *Blautia* no grupo teste pode ter sido influenciada pelo aumento de outras bactérias.

Outro efeito benéfico observado na dieta teste, foi a sua maior palatabilidade, em relação à dieta controle. Não foram encontradas pesquisas que avaliassem o efeito da palatabilidade de dietas gastrointestinais para cães. Contudo, Anthony et al. (2023) observaram maior ingestão voluntária do alimento e entusiasmo para se alimentar quando fornecido uma dieta com maior densidade energética para cães com câncer. Isso demonstra que dietas altamente palatáveis são muito importantes para estimular o consumo em cães doentes, contribuindo para a ingestão de nutrientes e calorias e para manutenção ou recuperação do peso corporal.

A principal limitação do nosso estudo foi o número de animais utilizados, o que diminuiu o poder estatístico de algumas variáveis avaliadas. Assim como seria interessante avaliar esses resultados em animais com distúrbios gastrointestinais, a fim de validar esses resultados em cães doentes.

5 CONCLUSÃO

A dieta formulada para distúrbios gastrointestinais apresenta maior digestibilidade das frações nutricionais, em comparação à dieta controle, resultando em redução do volume de fezes excretado e aumento na MSf. Além disso, a dieta gastrointestinal é capaz de modular benéficamente a microbiota fecal e seus metabólitos a partir do terceiro dia de consumo, como demonstrado pelo aumento nos gêneros *Turicibacter* e *Faecalibacterium* e redução do *Streptococcus* e pela maior concentração de butirato fecal. Esses resultados sugerem que a dieta gastrointestinal oferece benefícios para cães saudáveis, evidenciando seu potencial como coadjuvante no tratamento de doenças gastrointestinais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

AGERGAARD et al. Two Serious Cases of Infection with *Clostridium celatum* after 40 Years in Hiding? **Journal of Clinical Microbiology**, v. 54, n. 1, p. 236–238, 1 jan. 2016.

ALLENSPACH K., et al. Evaluation of mucosal bacteria and histopathology, clinical disease activity and expression of Toll-like receptors in German shepherd dogs with chronic enteropathies. **Vet Microbiol.** 2010 Dec 15;146(3-4):326-35. doi: 10.1016/j.vetmic.2010.05.025. Epub 2010 May 27. PMID: 20615633.

ALSHAWAQFEH M.K., et al. A dysbiosis index to assess microbial changes in fecal samples of dogs with chronic inflammatory enteropathy. **FEMS Microbiol Ecol.** 2017 Nov 1;93(11). doi: 10.1093/femsec/fix136. PMID: 29040443.

AMBROSINI, Y. M. et al. Treatment With Hydrolyzed Diet Supplemented With Prebiotics and Glycosaminoglycans Alters Lipid Metabolism in Canine Inflammatory Bowel Disease. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 7, 30 jul. 2020.

ANSHORY, M. et al. Butyrate Properties in Immune-Related Diseases: Friend or Foe? **Fermentation**, v. 9, n. 3, p. 205, 21 fev. 2023.

ANTHONY, R. M. et al. Acceptance of a Novel, Highly Palatable, Calorically Dense, and Nutritionally Complete Diet in Dogs with Benign and Malignant Tumors. **Veterinary Sciences**, v. 10, n. 2, p. 148, 1 fev. 2023.

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

BASTOS, T. S., et al. Diet supplemented with *Saccharomyces cerevisiae* from different fermentation media modulates the faecal microbiota and the intestinal fermentative products in dogs. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 107, n. S1, p. 30–40, 1 maio 2023.

BASTOS, T.S. et al. Effect of Yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a Probiotic on Diet Digestibility, Fermentative Metabolites, and Composition and Functional Potential of the Fecal Microbiota of Dogs Submitted to an Abrupt Dietary Change. **Microorganisms** **2023**, 11,506. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020506>

BLAKE, A. B. et al. Altered microbiota, fecal lactate, and fecal bile acids in dogs with gastrointestinal disease. **PLOS ONE**, v. 14, n. 10, p. e0224454, 31 out. 2019.

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.

CAPORASO, J. G. et al. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, n. supplement_1, p. 4516–4522, 15 mar. 2011.

CAPORASO, J. G. et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. **Nature Methods**, v. 7, n. 5, p. 335–336, 11 maio 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.

CASCON, C. M. et al. Avaliação clínica, endoscópica e histopatológica de cães com doença inflamatória intestinal. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, p. 1287–1291, 1 nov. 2017.

CAVE, N. Chronic inflammatory disorders of the gastrointestinal tract of companion animals. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 51, n. 6, p. 262–274, dez. 2003.

CHEN, J.; VITETTA, L. Inflammation-Modulating Effect of Butyrate in the Prevention of Colon Cancer by Dietary Fiber. **Clinical Colorectal Cancer**, v. 17, n. 3, p. e541–e544, set. 2018.

DANDRIEUX, J. R. S. Inflammatory bowel disease versus chronic enteropathy in dogs: are they one and the same? **Journal of Small Animal Practice**, v. 57, n. 11, p. 589–599, 16 out. 2016.

DEGNAN, P.H., OCHMAN, H. Illumina-based analysis of microbial community diversity. **ISME J.** 6, 183–194, 2012.

FEDIAF. (2021) European Pet Food Industry Federation. Nutritional Guidelines: for complete and complementary pet food for cats and dogs.

FUNG, T. C. et al. Intestinal serotonin and fluoxetine exposure modulate bacterial colonization in the gut. **Nature Microbiology**, 2 set. 2019.

GAO, J.H. et al. Roles of cellular polyamines in mucosal healing in the gastrointestinal tract. **PubMed**, v. 64, n. 6, p. 681–93, 1 dez. 2013.

GASCHEN, F. P.; MERCHANT, S. R. Adverse Food Reactions in Dogs and Cats. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 41, n. 2, p. 361–379, mar. 2011.

GOUVÊA, F. N. et al. Doença inflamatória intestinal em cães – relato de casos. **Ars Veterinaria**, v. 36, n. 4, p. 332–336, 23 dez. 2020.

GUALTIERI, M. Esophagoscopy. **Veterinary Clinics of North America-small Animal Practice**, v. 31, n. 4, p. 605–630, 1 jul. 2001.

HANG, I. et al. Impact of diets with a high content of greaves-meal protein or carbohydrates on faecal characteristics, volatile fatty acids and faecal calprotectin concentrations in healthy dogs. **BMC Veterinary Research**, v. 9, p. 201, 9 out. 2013.

HERSTAD, K.M.V., et al. Changes in the fecal microbiota in dogs with acute hemorrhagic diarrhea during an outbreak in Norway. *J Vet Intern Med.* 35(5): 2177–2186, 2021.

KATHRANI, A. Dietary and Nutritional Approaches to the Management of Chronic Enteropathy in Dogs and Cats. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, out. 2020.

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

LENOX, C. E. Nutritional Management for Dogs and Cats with Gastrointestinal Diseases. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, fev. 2021

LUCKSCHANDER, N. et al. Activation of nuclear factor- κ B in dogs with chronic enteropathies. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 133, n. 2-4, p. 228–236, fev. 2010.

LYU, Y. et al. Faecal metabolome responses to an altered dietary protein:carbohydrate ratio in adult dogs. **Veterinary Quarterly**, v. 43, n. 1, p. 1–10, 28 out. 2023.

MANDIGERS, P. J.; BIOURGE, V.; GERMAN, A. J. Efficacy of a commercial hydrolysate diet in eight cats suffering from inflammatory bowel disease or adverse reaction to food. *Tijdschr Diergeneeskd.* 2010 Sep 15;135(18):668-72. PMID: 20939411a.

MANDIGERS, P. J. J. et al. A Randomized, Open-Label, Positively-Controlled Field Trial of a Hydrolyzed Protein Diet in Dogs with Chronic Small Bowel Enteropathy. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 24, n. 6, p. 1350–1357, nov. 2010b.

MATSUMOTO, M. et al. Longevity in Mice Is Promoted by Probiotic-Induced Suppression of Colonic Senescence Dependent on Upregulation of Gut Bacterial Polyamine Production. **PLoS ONE**, v. 6, n. 8, p. e23652, 16 ago. 2011.

MEINERI, G. et al. Effects of “fresh mechanically deboned meat” inclusion on nutritional value, palatability, shelf-life microbiological risk and digestibility in dry dog food. **PLOS ONE**, v. 16, n. 4, p. e0250351, 22 abr. 2021.

NAGAHARA et al. Analysis of fecal microbial profiles in dogs with intestinal lymphangiectasia. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 85, n. 2, p. 199–206, 1 jan. 2023.

1.1 NAMYSL, S; PELLUCHI, M; HERBINET, O; FRASSOLDATI, A; FARAVELLI, T; LECLERC, B. A FIRST EVALUATION OF BUTANOIC AND PENTANOIC ACID OXIDATION KINETICS. **CHEMICAL ENGINEERING JOURNAL**. [VOLUME 373](#), 1, 2019, 973-984.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). AD HOC COMMITTEE ON DOG AND CAT NUTRITION et al. Nutrient requirements of dogs and cats. Washington: The National Academies Press, 2006.

OKANISHI et al. The Clinical Efficacy of Dietary Fat Restriction in Treatment of Dogs with Intestinal Lymphangiectasia. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 28, n. 3, p. 809–817, 27 mar. 2014.

PARKS, D.H., et al. An ongoing census of bacterial and archaeal diversity through a phylogenetically consistent, rank normalized and complete genome-based taxonomy. **Nucleic Acids Res.** 50, D785–D794, 2022. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab776>

PERINI, M. P. et al. Potential Effects of Prebiotics on Gastrointestinal and Immunological Modulation in the Feeding of Healthy Dogs: A Review. **Fermentation**, v. 9, n. 7, p. 693, 1 jul. 2023.

PILLA, R.; SUCHODOLSKI, J. S. The Role of the Canine Gut Microbiome and Metabolome in Health and Gastrointestinal Disease. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 6, 14 jan. 2020.

PILLA, R.; SUCHODOLSKI, J. S. The Gut Microbiome of Dogs and Cats, and the Influence of Diet. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 51, n. 3, p. 605–621, maio 2021

ROSSI, G. et al. Rapid Resolution of Large Bowel Diarrhea after the Administration of a Combination of a High-Fiber Diet and a Probiotic Mixture in 30 Dogs. **Veterinary Sciences**, v. 7, n. 1, p. 21, 10 fev. 2020.

RUDINSKY, A. J.; ROWE, J. C.; PARKER, V. J. Nutritional management of chronic enteropathies in dogs and cats. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 253, n. 5, p. 570–578, set. 2018.

RUDINSKY, A. J. et al. Randomized controlled trial demonstrates nutritional management is superior to metronidazole for treatment of acute colitis in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, p. 1–10, 6 out. 2022.

SABCHUK, T. T. et al. Endogenous fat losses and true and apparent fat digestibility in adult and growing dogs fed diets containing poultry offal fat. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 104, n. 6, p. 1927–1937, 10 dez. 2019.

SCARPIM, L. B. et al. Hydrolysed poultry byproduct meal in extruded diets for cats. **Archives of animal nutrition**, p. 1–15, 12 fev. 2024.

SIMPSON, K. W.; JERGENS, A. E. Pitfalls and Progress in the Diagnosis and Management of Canine Inflammatory Bowel Disease. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 41, n. 2, p. 381–398, mar. 2011.

SKOUFOS et al. Use of an Innovative Silage of Agro-Industrial Waste By-Products in Pig Nutrition: A Pilot Study of Its Effects on the Pig Gastrointestinal Microbiota. **Microorganisms**. 2023 Jun 30;11(7):1723. doi: 10.3390/microorganisms11071723. PMID: 37512895; PMCID: PMC10384456

ŠLAPETA J, et al. Differences in the faecal microbiome of non-diarrhoeic clinically healthy dogs and cats associated with *Giardia duodenalis* infection: impact of hookworms and coccidia. **Int J Parasitol**. 2015 Aug;45(9-10):585-94. doi: 10.1016/j.ijpara.2015.04.001. Epub 2015 Apr 29. PMID: 25934152.

SCHMIDT, M. et al. The fecal microbiome and metabolome differs between dogs fed Bones and Raw Food (BARF) diets and dogs fed commercial diets. **PLOS ONE**, v. 13, n. 8, p. e0201279, 15 ago. 2018.

SOONTHORNSIT, J., NGAMWONGSATIT, N., SANGSURIYA, P., ARYA, N. The alterations of fecal microbiota in dogs with acute diarrhea, **Thailand**. 51:4, 683-690, 2021.

SOUZA, R. B. M. S., et al. Effects of dietary supplementation with a blend of functional oils to fecal microbiota, and inflammatory and oxidative responses, of dogs submitted to a periodontal surgical challenge. **Animal Feed Science and Technology**, v. 295, p. 115527–115527, 1 jan. 2023.

SUCHODOLSKI, J. S., et al. (2012) The Fecal Microbiome in Dogs with Acute Diarrhea and Idiopathic Inflammatory Bowel Disease. **PLoS ONE** 7(12): e51907. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051907>

TOFALO, R., et al. Polyamines and Gut Microbiota. **Frontiers in Nutrition**, v. 6, 25 fev. 2019.

VEDOVATO, K. et al. O eixo intestino-cérebro e o papel da serotonina. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 18, n. 1, 9 jul. 2015.

VERLINDEN, A. et al. Food Allergy in Dogs and Cats: A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 46, n. 3, p. 259–273, abr. 2006.

YANG, K., et al. Gallnut tannic acid exerts anti-stress effects on stress-induced inflammatory response, dysbiotic gut microbiota, and alterations of serum metabolic profile in beagle dogs. **Frontiers in Nutrition**. 9, 2022.

ZANATTA, C. P. et al. Digestibility of dry extruded food in adult dogs and puppies. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 3, p. 784–787, jun. 2011.

ZHOU, L. et al. Faecalibacterium prausnitzii Produces Butyrate to Maintain Th17/Treg Balance and to Ameliorate Colorectal Colitis by Inhibiting Histone Deacetylase. **Inflammatory Bowel Diseases**, v. 24, n. 9, p. 1926–1940, 16 ago. 2018.

ZIESE, A.-L.; SUCHODOLSKI, J. S. Impact of Changes in Gastrointestinal Microbiota in Canine and Feline Digestive Diseases. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 51, n. 1, p. 155–169, jan. 2021.

ZORAN, D. Nutritional management of gastrointestinal disease. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 18, n. 4, p. 211–217, nov. 2003.