

## AVALIAÇÃO DA MICROBIOTA FECAL DE GATOS FRENTE À INCLUSÃO DE PREBIÓTICOS NA DIETA

FRANCIANE C. DE FIGUEIREDO<sup>1</sup>, JULIANA B. DA SILVA<sup>1</sup>, VERÔNICA L. SANTOS<sup>2</sup>, ISABELA DE O. MARTINS<sup>3</sup>, RICARDO S. VASCONCELLOS<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento, OLMIX, <sup>2</sup>Departamento Técnico, OLMIX, <sup>3</sup>Departamento de Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá

Contato: ffigueiredo@olmix.com / Apresentador: FRANCIANE CRISTINA DE FIGUEIREDO

**Resumo:** A microbiota intestinal de felinos desempenha papel fundamental na digestão e absorção de nutrientes, influenciando sua saúde e bem-estar. O objetivo deste estudo foi avaliar o impacto da inclusão de prebióticos na dieta de gatos. Foram analisadas 34 amostras fecais, oriundas de seis grupos experimentais suplementados com diferentes prebióticos: controle (sem prebiótico), Fruto-oligossacarídeos (FOS) de cadeia-longa, Galacto-oligossacarídeos (GOS), inulina, FOS cadeia-curta e inulina + FOS cadeia-longa. A diversidade microbiana foi analisada através da plataforma QIIME2. Os resultados indicaram que, embora a diversidade alfa dos grupos não tenha sido alterada significativamente pelos tratamentos, houve alterações na diversidade beta proporcionadas pelo tratamento com GOS. Em relação a diferenças na abundância relativa de gêneros, o tratamento com GOS apresentou diferenças significativas em gêneros como *Blautia*, *Collinsella*, *Megasphaera*, *Helicobacter* e *Bifidobacterium* em relação aos demais prebióticos. Estudos futuros são necessários para compreender os impactos a longo prazo dessas modificações na funcionalidade intestinal e na saúde geral dos animais e como prebióticos podem influenciar seletivamente populações bacterianas específicas.

**PalavrasChaves:** Galacto-oligossacarídeos; Felinos; Diversidade microbiana; Nutrição, Fruto-oligossacarídeos.

## EVALUATION OF FELINE FECAL MICROBIOTA IN RESPONSE TO PREBIOTIC INCLUSION IN DIET

**Abstract:** The intestinal microbiota of felines plays a fundamental role in digestion and nutrient absorption, influencing their health and well-being. The aim of this study was to evaluate the impact of including prebiotics in the diet of cats. A total of 34 fecal samples were analyzed, originating from six experimental groups supplemented with different prebiotics: control (no prebiotic), long-chain Fructooligosaccharides (FOS), Galactooligosaccharides (GOS), inulin, short-chain FOS, and inulin + long-chain FOS. Microbial diversity was analyzed using the QIIME2 platform. The results indicated that although alpha diversity among groups was not significantly altered by the treatments, beta diversity changes were observed with GOS supplementation. Regarding differences in the relative abundance of genera, the GOS treatment showed significant differences in genera such as *Blautia*, *Collinsella*, *Megasphaera*, *Helicobacter*, and *Bifidobacterium* compared to the other prebiotics. Future studies are needed to understand the long-term impacts of these modifications on intestinal functionality and overall animal health. However, the findings of this study reinforce the relevance of microbiota in feline intestinal health and how prebiotics can selectively influence specific bacterial populations.

**Keywords:** Galactooligosaccharides; Felines; Microbial diversity; Nutrition, Fructooligosaccharides.

**Introdução:** A microbiota intestinal desempenha papel essencial na digestão, metabolismo e saúde dos felinos, sendo influenciada por fatores como dieta, idade e condição fisiológica (Duda-Chodak et al., 2015). A inclusão de prebióticos na alimentação é uma estratégia amplamente estudada para promover a modulação positiva dessa comunidade microbiana, favorecendo o equilíbrio intestinal e a saúde geral dos animais (Ishaq et al., 2024). Prebióticos podem afetar seletivamente a abundância de determinados grupos bacterianos, alterando sua funcionalidade no trato digestório (Kumar & Sharma, 2024). Este estudo teve como objetivo avaliar a composição da microbiota fecal de gatos submetidos a dietas suplementadas com prebióticos, verificando possíveis alterações na diversidade microbiana e na composição taxonômica da microbiota fecal, contribuindo para um melhor entendimento dos efeitos da suplementação prebiótica na saúde intestinal felina.

**Material e Métodos:** Foram analisadas 34 amostras de fezes de gatos submetidos a 6 diferentes tratamentos: T1 -controle (sem prebiótico), T2- Fruto-oligossacarídeos (FOS) de cadeia-longa (GF1, GF2, GF3, GF4, GF5, GF6), T3- Galacto-oligossacarídeos (GOS), T4- inulina, T5- FOS cadeia-curta (GF1, GF2, GF3 e GF4) e T6- inulina + FOS cadeia-longa. As dietas foram formuladas com inclusão de 0,8% dos diferentes prebióticos, passando pelo processo de extrusão antes da fase experimental e seguindo as recomendações do FEDIAF (2018). O período experimental foi de cinco dias de adaptação às dietas, seguido de seis dias de coleta. Os gatos foram alimentados duas vezes ao dia, com a quantidade de alimento ajustada individualmente para atender às exigências energéticas. As fezes foram coletadas duas vezes ao dia, armazenadas em freezer. Ao final do experimento, as amostras foram descongeladas e analisadas. A determinação do ácido graxo volátil (AGV) nas fezes foi determinada por cromatografia gasosa. O DNA bacteriano foi extraído utilizando o kit ZR Fecal DNA MiniPrep® e quantificado por espectrofotometria a 260 nm. A região hipervariável V3V4 do gene 16S rRNA foi amplificada e sequenciada na plataforma MiSeq da Illumina® (Degnan e Ochman, 2012). As sequências foram processadas na plataforma QIIME2 (Caporaso et al., 2010), com filtros de qualidade para remoção de sequências de baixa fidelidade e identificação taxonômica com base no banco de dados SILVA 138. Para as análises estatísticas foram utilizados os testes de Wilcoxon para diversidade alfa e perMANOVA para diversidade beta (Wilcoxon, 1992).

**Resultado e Discussão:** Os resultados mostraram que a diversidade alfa não sofreu alterações significativas entre os tratamentos (Fig. 1). No entanto, mesmo em curto período, o GOS modulou a microbiota, promovendo mudanças na beta

diversidade em relação ao controle (Fig. 2), reforçando seu potencial prebiótico em animais saudáveis. Os demais compostos, derivados de oligossacarídeos de frutose, não apresentaram diferenças significativas. Tal classe de prebióticos tem como principal papel a manutenção da eubiose, contribuindo para o equilíbrio da microbiota. A modulação pelo GOS ocorreu, em parte, pela maior produção de ácidos graxos de cadeia curta (Tabela 1). O GOS alterou a razão Firmicutes/Bacteroidetes em relação ao controle ( $P=0,052$ ), evidenciando sua influência na microbiota além dos benefícios dos produtos da fermentação. Entre os gêneros modulados, *Bifidobacterium*, *Blautia* e *Collinsella* aumentaram significativamente com GOS, enquanto *Megasphaera* e *Helicobacter* reduziram (Fig. 3). *Blautia* e *Bifidobacterium* são amplamente reconhecidos como benéficos, contribuindo para a produção de ácidos graxos de cadeia curta, como o butirato, essencial para a manutenção da integridade da barreira intestinal (Liu et al., 2021; El-Sharkawy et al., 2020). *Collinsella* está associada à produção de metabólitos fermentativos e pode indicar a regulação metabólica da microbiota por prebióticos (Lyu et al., 2020). Essas alterações sugerem que a inclusão de prebióticos na dieta pode modular seletivamente a microbiota intestinal, promovendo ajustes na estrutura bacteriana sem comprometer sua diversidade global.

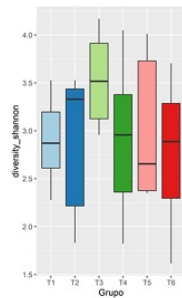


Figura 1. Diversidade alfa, estimada pelos parâmetros Entropia de Shannon (A). T1: Controle. T2: FOS cadeia-longa, T3: GOS. T4: Inulina. T5: FOS cadeia-curta. T6: Inulina + FOS cadeia-longa. Os testes estatísticos foram realizados pelo teste de Wilcoxon. As diferenças que apresentaram valor de p inferior a 0,05 foram consideradas estatisticamente significativas.

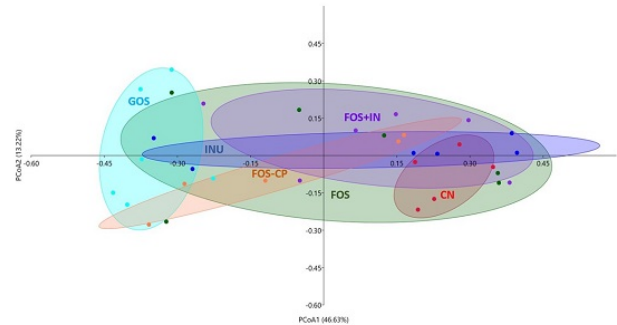


Figura 2. Diversidade beta, estimada pelos parâmetros Bray-Curtis. CN: Controle. FOS: FOS cadeia-longa. GOS: Galacto-oligosacarídeo. INU: Inulina. FOS-CP: FOS cadeia-curta. FOS+IN: Inulina + FOS cadeia-longa.

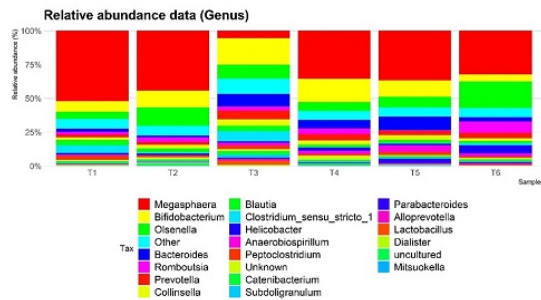


Figura 3: Gráfico de barras da abundância relativa dos gêneros presentes em cada um dos grupos testados. T1: Controle. T2: FOS cadeia-longa. T3: GOS. T4: Inulina. T5: FOS cadeia-curta. T6: Inulina + FOS cadeia-longa.

Tabela 1: Análise de Ácido Graxos Voláteis (AGV).

AGCC (mmol/Kg MS fecal)	T1- C	T2- FOS CL	T3 GOS	T4- FOS CC	T5- INU
Acético	268	261	281	171	204
Propiônico	79,8	69,7	91,2	59,6	51,7
Butírico	44,4	44,8	40,6	41	27
<b>AGV totais</b>	<b>392</b>	<b>376</b>	<b>413</b>	<b>271</b>	<b>285</b>

**Conclusão:** Os prebióticos testados não alteraram significativamente a diversidade global da microbiota fecal. O tratamento com GOS se destacou pelas alterações na composição bacteriana, indicando possíveis efeitos seletivos dos prebióticos. Esses achados ressaltam a importância de estudos adicionais para compreender melhor a interação entre prebióticos e microbiota intestinal em felinos,

**Agradecimentos:** Os autores agradecem a Yessinergy do Brasil Agroindustrial Ltda pelo fornecimento dos produtos e a Imunova Análises Biológicas pela execução das análises.

**Referências Bibliográficas:** CAPORASO, J.G., et. al. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 108, 4516–4522, 2011. DEGNAN, P.H., OCHMAN, H. Illumina-based analysis of microbial community diversity. *ISME J.* 6, 183–194, 2012. DUDA-CHODAK, A., et. al. Interaction of dietary compounds, especially polyphenols, with the intestinal microbiota: a review. *Eur. J. Nutr.* 54, 325–341, 2015. EL-SHARKAWY, H.; et. al. Evaluation of *Bifidobacteria* and *Lactobacillus* Probiotics as Alternative Therapy for *Salmonella typhimurium* Infection in Broiler Chickens. *Animals*, 10, 1023, 2020. FEDIAF, European Pet Food Industry Federation. Guide to Good Practice for the Manufacturing of Safe Pet Foods, 2020. ISHAQ, M.; et. al. Role of prebiotics and probiotics in regulating gut health and maintaining healthy normal flora of animals. *Indus Journal of Bioscience Research*, 2, 646-653, 2024. KUMAR, R.; SHARMA, A. Prebiotic-driven Gut Microbiota Dynamics: Enhancing Canine Health via Pet Food Formulation. *IJBSM*, 15, 6, 1-15, 2024. LIU, X., et al. *Blautia*—a new functional genus with potential probiotic properties?. *Gut Microbes*, 13, 1, 2021. LYU, Y., et al. Dose-Dependent Effects of Dietary Xylooligosaccharides Supplementation on Microbiota, Fermentation and Metabolism in Healthy Adult Cats. *Molecules*, 25, 5030, 2020. WILCOXON, F. Individual comparisons by ranking methods. In: *Breakthroughs in statistics*. Springer, New York, NY. 196-202, 1992.