AVALIAÇÃO DA MICROBIOTA FECAL DE CÃES ALIMENTADOS COM LEVEDURAS DE DIFERENTES MEIOS DE FERMENTAÇÃO E SUAS FRAÇÕES

TAIS S. BASTOS[1], CAMILLA M. M. SOUZA[1], GISLAINE C. B. KAELLE[1], PAULO G. B. DE CARVALHO[1], MARIANA Q. DO NASCIMENTO[2], JULIANA R. SOUZA[1], ANANDA P. FÉLIX[1]

[1]Departamento de Zootecnia - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brasil.[2]Aleris Nutrição Animal, Brasil.
Contato: tais.sbastoss@gmail.com

Resumo: Leveduras da espécie *Saccharomyces cerevisiae* provenientes de diferentes meios de fermentação podem atuar como ingredientes funcionais, devido aos possíveis benefícios na modulação da microbiota intestinal do hospedeiro. Objetivou-se avaliar a inclusão de leveduras oriundas de diferentes meios de fermentação e suas frações sobre a microbiota fecal de cães. Foram avaliadas quatro dietas: 0% de levedura (CO); 1% de levedura de cerveja (LC); 1% de levedura de cerveja + levedura do milho (LCM); 1% de LCM + frações (extrato e parede celular) (LCMF). Foram utilizados 12 cães adultos, alimentados durante 20 dias por período (2 períodos) com as dietas experimentais (n=6). As dietas LCM e LCMF resultaram em maior abundância de *Bacteroides, Faecalibacterium, Coprococcus* e *Phascolarctobacterium* (P<0,05). Os resultados sugerem que a suplementação de leveduras reflete em alterações importantes na composição da população microbiana intestinal, favorecendo o crescimento de bactérias potencialmente benéficas para a saúde dos cães.
PalavrasChaves: 16S rRNA; modulação intestinal; Saccharomyces cerevisiae.

EVALUATION OF FECAL MICROBIOTA OF DOGS FED WITH YEASTS FROM DIFFERENT FERMENTATION SUBSTRATES AND THEIR FRACTIONS

Abstract: Yeasts of *Saccharomyces cerevisiae* specie from different fermentation substrates may act as a functional ingredient due to the possible benefits in modulating host's intestinal microbiota. The aim was to evaluate the inclusion of yeasts from different fermentation substrates and their fractions on the fecal microbiota of dogs. Four diets were evaluated: 0% yeast (CO); 1% brewer's yeast (BY); 1% BY + corn yeast (BCY); 1% BCY + fractions (extract and cell wall) (BCYF). Twelve adult dogs were used and were fed for 20 days per period (2 periods) with the experimental diets (n=6). The BCY and BCYF diets resulted in a greater abundance of *Bacteroides*, *Faecalibacterium*, *Coprococcus*, and *Phascolarctobacterium* (P<0.05). The results suggest that yeast supplementation reflects in important changes in the composition of gut microbial population, favoring the growth of bacteria potentially beneficial to the health of dogs.
Keywords: 16S rRNA; intestinal modulation; Saccharomyces cerevisiae.

Introdução: A levedura *Saccharomyces cerevisiae* é amplamente utilizada na fermentação de diferentes substratos para a produção de cerveja e etanol. As leveduras de cerveja apresentam espessamento intermediário da parede, estimulado pelo nível médio de etanol no meio de fermentação, enquanto as de fermentação do milho apresentam parede celular mais fina, com isso, possuem proporção de citoplasma e parede celular maior e expressam um perfil de metabólitos diversificado. Assim, as leveduras podem apresentar diferentes concentrações e disponibilidade de suas frações do citoplasma e parede, como beta-glucanos e MOS. Essas frações têm demonstrado efeitos benéficos, como a modulação da microbiota intestinal em cães (LIN et al., 2019). Tendo em vista o potencial efeito das leveduras sobre a modulação das bactérias intestinais, objetivou-se avaliar a microbiota intestinal de cães suplementados com *S. cerevisiae* de diferentes meios de fermentação, com ou sem adição de suas frações.

Material e Métodos: Foram avaliadas quatro dietas: 0% de levedura (CO); 1% de levedura S. cerevisiae inativa de cerveja (LC); 1% de LC + levedura *S. cerevisiae* inativa do milho (LCM); 1% de LCM + frações (extrato e parede celular) (LCMF). Foram utilizados 12 cães da raça Beagle, com peso médio de 12,3 + 1,07 kg e cinco anos de idade, distribuídos em blocos ao acaso (períodos), os quais foram alimentados durante 20 dias com as dietas experimentais por período (n=6). A microbiota fecal foi avaliada pela técnica de sequenciamento do gene 16S rRNA, no qual as fezes frescas foram coletadas de forma asséptica e armazenadas em tubos estéreis a -80 ? até o momento da análise. Foi feita análise do índice de diversidade de Chao 1. Os dados com distribuição normal foram submetidos à análise de variância (P<0,05) e as médias comparadas por contrastes ortogonais (P<0,05), sendo: A) Dieta CO vs. Dietas LC, LCM, LCMF; B) Dieta LC vs. Dietas LCM e LCMF e C) Dieta LCM vs. Dieta LCMF.

Resultado e Discussão: Dos 141 gêneros identificados, foram encontradas nove bactérias com abundância diferente (P<0,05, Tabela 1) entre os tratamentos. Os resultados demonstram um interessante efeito modulador das leveduras sobre a composição da microbiota intestinal dos cães, principalmente das LCM e LCMF, provavelmente devido à presença de MOS mais disponível e dos metabólitos do milho. Os cães alimentados com as leveduras apresentaram aumento na concentração de *Prevotella, Fusobacterium, Bacteroides, Faecalibacterium, Coprococcus* e *Phascolarctobacterium*, em relação ao CO (P<0,05). Os gêneros *Bacteroides* e *Phascolarctobacterium* são produtores de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e estão associados a potenciais efeitos benéficos na redução de processos inflamatórios (NEEF & SANZ, 2013; GEBRESELASSIE et al., 2018). *Faecalibacterium* e *Coprococcus* também são produtores de AGCC, em destaque, butirato, o qual é importante fonte de energia aos colonócitos (BJERRUM et al., 2006). A redução na abundância relativa de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* nas fezes dos cães alimentados com LCM e LCMF está de acordo com estudos recentes, que observaram redução desses gêneros com o aumento de outros microrganismos considerados benéficos em animais saudáveis (MINAMOTO et al., 2014). Em contrapartida, os autores relataram maior concentração relativa de *Lactobacillus* e

Bifidobacterium nas fezes de cães com distúrbios gastrintestinais e disbiose, em relação aos animais saudáveis. Não houve efeito dos tratamentos sobre a diversidade bacteriana (P>0,05, não apresentado).

Tabela 1 – Frequência média dos gêneros bacterianos que diferiram estatisticamente encontrados nas fezes de cães alimentados com dieta controle e contendo leveduras*.

Gênero (%)	CO	LC	LCM	LCMF	EPM
Prevotella[ABC]	4,38	5,48	6,82	10,78	0,50
Fusobacterium[ABC]	1,07	1,07	2,69	1,39	0,17
Bacteroides[ABC]	0,89	1,39	3,38	2,28	0,22
Faecalibacterium[AB]	1,73	1,94	3,81	2,98	0,25
Phascolarctobacterium[A]	0,15	0,25	0,32	0,31	0,02
Coprococcus[A]	0,07	0,19	0,11	0,14	0,01
Bifidobacterium[B]	26,97	26,82	16,92	14,26	1,88
Allobaculum[B]	0,84	0,44	0,78	0,66	0,05
Lactobacillus[B]	27,60	29,15	18,64	20,74	1,36

*CO (0% de levedura); LC (1% de levedura de cerveja); LCM (1% LC + levedura do milho); LCMF (1% LCM + frações extrato e parede celular).
EPM= erro padrão da média.
[A]Dieta CO vs. Dietas LC, LCM, LCMF (P<0,05).
[B]Dieta LC vs. Dietas LCM e LCMF (P<0,05).
[C]Dieta LCM vs. Dieta LCMF (P<0,05).

Conclusão: Leveduras de diferentes substratos resultam em alterações importantes na modulação da microbiota intestinal de cães, com aumento de *Bacteroides*, *Faecalibacterium*, *Coprococcus* e *Phascolarctobacterium*, em relação à dieta CO. As LCM e LCMF parecem apresentar maior capacidade de modulação da microbiota, que apenas a LC em cães.

Agradecimentos: A Aleris Nutrição Animal pelo suporte à pesquisa.

Referências Bibliográficas: BJERRUM, L., ENGBERG, R. M., LESER, T. D., JENSEN, B. B., FINSTER, K., PEDERSEN, K. Microbial community composition of the ileum and cecum of broiler chickens as revealed by molecular and culture-based techniques. **Poultry Science**. v. 85, n. 7, p. 1151-1164, 2006.GEBRESELASSIE, E. E., JACKSON, M .I., YERRAMILLI, M., JEWELL, D. E. Anti-aging food that improves markers of health in senior dogs by modulating gut microbiota and metabolite profiles. **BioRxiv**, p. 1-34, 2018.LIN, C. Y., ALEXANDER, C., STEELMAN, A. J., WAEZECHA, C. M., DE GODOY, M. R., SWANSON, K. S. Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on fecal characteristics, nutrient digestibility, fecal fermentative end-products, fecal microbial populations, immune function, and diet palatability in adult dogs. **Journal of Animal Science**, v. 97, n. 4, p. 1586-1599, 2019.MINAMOTO, Y., DHANANI, N., MARKEL, M. E., STEINER, J. M., SUCHODOLSKI, J. S. Prevalência de *Clostridium perfringens*, enterotoxina de *Clostridium perfringens* e disbiose em amostras fecais de cães com diarreia. **Microbiologia Veterinária**, v. 174, n. 3-4, p. 463-473, 2014. NEEF A., SANZ, Y. Future for probiotic science in functional food and dietary supplement development. **Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care**, v. 16, n. 6, p. 679-687, 2013.