# EFEITOS DA MICROBIOTA NAS CONCENTRAÇÕES FECAIS DE ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA E ÁCIDO LÁTICO DE GATOS ADULTOS

ANDRESSA R. AMARAL[1], PATRÍCIA M. OBA[1], JOÃO P. F. SANTOS[2], ADRIANA AQUINO[1], ALMIR J. FERREIRA[1], MARIO J. DE AVILA-CAMPOS[1], WELINGTON L. DE ARAÚJO[1], JÚLIO C. C. BALIEIRO[1], ARCHIVALDO R. JÚNIOR[1], MARCIO A. BRUNETTO[1]

[1]Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - FMVZ/USP, São Paulo e Pirassununga-SP, Brasil; Faculdade Max Planck, Indaiatuba-SP, Brasil
Contato: andressa.rodrigues.amaral@usp.br

**Resumo:** O conhecimento dos produtos fermentativos da microbiota intestinal é de suma importância para as pesquisas na área de nutrição, uma vez que estes contribuem para a manutenção de saúde e prevenção de doenças em humanos, cães e gatos e podem ser modulados por meio da dieta. Este estudo objetivou determinar a influência da abundância de determinados filos, ordens, famílias e gêneros bacterianos na produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) totais, ácido lático, propionato, butirato e acetato. Para este fim, alíquotas de fezes foram coletadas de 19 gatos adultos sem raça definida a fim de determinar a concentração de AGCC e a composição da microbiota fecal por meio da técnica Illumina. Os resultados foram analisados por meio de Modelo Linear Misto e foi utilizado o procedimento PROC MIXED do programa SAS. O aumento de Fusobacteria, Erysipelotrichales, Fusobacteriales, Peptostreptococcaceae, Catenibacterium, Bifidobacterium e Fusobacterium favoreceram a produção de AGCC totais e ácido lático. Conclui-se, portanto que a modulação da microbiota em favor do crescimento dos microrganismos supracitados seja potencialmente desejável.
**Palavras Chave:** ácidos graxos de cadeia curta, felinos, microbiota, produtos de fermentação

# EFFECTS OF FECAL MICROBIOTA ON FECAL CONCENTRATIONS OF SHORT-CHAIN FATTY ACIDS AND LACTIC ACID IN ADULT CAT

**Abstract:** The acknowledgment of the intestinal microbiota fermentative products is of major importance for research in the field of nutrition, since these contribute to the maintenance of health, prevention of diseases in humans, dogs and cats and can be modulated through diet. This study aimed to determine the influence of the abundance of certain phyla, orders, families and bacterial genera on the production of total short chain fatty acids (SCFA), lactic acid, propionate, butyrate and acetate. For this purpose, faecal aliquots were collected from 19 adult mongrel cats in order to determine the concentration of SCFA and fecal microbiota composition by means of the Illumina technique. The results were evaluated through the Mixed Linear Model and the PROC MIXED procedure of SAS. The increase of Fusobacteria, Erysipelotrichales, Fusobacteriales, Peptostreptococcaceae, Catenibacterium, Bifidobacterium and Fusobacterium favored production of total SCFA and lactic acid. It is concluded that the modulation of the microbiota in favor of growth of the abovementioned microorganisms is potentially desirable.
**Keywords:** cats, fermentation products, microbiota, short chain fatty acids

**Introdução:** O estudo da microbiota intestinal ganhou representatividade na comunidade científica na última década (DENG; SWANSON, 2015). Animais de companhia, não dependem da microbiota intestinal para a obtenção de energia, porém a sua estabilidade e as relações ecológicas com o hospedeiro são relevantes na manutenção da saúde, visto que são responsáveis pela produção de metabólitos potencialmente nocivos ou benéficos ao animal (DENG; SWANSON, 2015; SUCHODOLSKI et al., 2016). Uma vez que a microbiota é influenciada pelos nutrientes alimentares (LI et al., 2017), o estudo desta e de suas respectivas contribuições na produção de determinados metabólitos é de grande importância visto que viabilizam os estudos com foco na modulação do seu crescimento através da dieta. Este estudo objetivou determinar a influência da abundância de determinados filos, ordens, famílias e gêneros bacterianos na produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) totais, ácido lático, propionato, butirato e acetato.

**Material e Métodos:** Foram incluídos 19 gatos adultos sem raça definida (SRD), machos e fêmeas, com idade média de 6,2 ± 0,54 anos. Para a determinação da concentração de ácidos graxos de cadeia curta as amostras de fezes foram coletadas em no máximo 15 minutos após a defecação e analisadas por meio do método descrito por GETACHEW et al. (2002). O ácido lático foi mensurado através de espectrofotometria a 565nm segundo metodologia descrita por PRYCE (1969). Já a determinação da microbiota fecal foi realizada pela técnica de sequenciamento Illumina. Para extração do DNA, foi utilizado o kit comercial QIAamp DNA STOLL Mini Kit (QIAGEN, Alemanha). O sequenciamento foi realizado no MiSeq (Illumina Inc., EUA), com o “Kit MiSeq Reagent kit v2 (500 ciclos)”. O produto final foi analisado pelo software MiSeq Reporter, com a opção Metagenomics. A caracterização da comunidade microbiana por meio da análise do sequenciamento por MiSeq Illumina foi realizada de acordo com PYLRO et al. (2014). A influência das abundâncias observadas nos diferentes Filos, Ordens, Famílias e Gêneros de cada animal nas concentrações dos AGCC foram avaliadas por meio de Modelo Linear Misto com a co-variável sendo a porcentagem observada do microrganismo, além dos efeitos aleatórios de sexo, classe de idade (utilizado como critério de blocos) e resíduo. Para essas análises foi utilizado o procedimento PROC MIXED do

programa Statistical Analysis System, versão 9.4 (SAS, 2011).

**Resultado e Discussão:** Os grupos Fusobacteria, Fusobacteriales, Catenibacterium e Fusobacterium apresentaram efeito positivo na produção de acetato, propionato e ácido lático; o gênero Bifidobacterium apresentou efeito positivo na concentração de propionato; a ordem Erysipelotrichales e a família Peptostreptococcaceae apresentaram efeito positivo na concentração de ácido lático. De acordo com ROBERFROID et al. (2010) o aumento de AGCC (acetato, propionato e butirato) e ácido lático, desfavorece a colonização de patógenos intestinais sensíveis ao pH mais ácido. O butirato, de acordo com OREL et al. (2014), desempenha papel importante na nutrição dos enterócitos e é imprescindível para a manutenção dos mecanismos de correção de injúria tecidual e redução da inflamação. Os grupos bacterianos que, por sua vez, apresentaram efeito negativo e indesejável foram: Peptococcus - efeito negativo na concentração de acetato e AGCC totais; Dialister e Eubacterium resultaram em efeito negativo na produção de butirato; Rhizobiales, Sphingomonadales e Actinomycetales - efeito negativo sobre o propionato; Parapreevotellaceae, Leuconostocaceae e Succinivibrionaceae - efeito negativo na produção de ácido lático; Actinobacteria, Propionibacteriaceae e Moraxellaceae com efeito negativo na produção de acetato, propionato e AGCC totais (Tabela 1).

**Tabela 1.** Efeito dos grupos bacterianos na produção de acetato, propionato, butirato, ácido lático e ácidos graxos de cadeia curta totais

| | Acetato | | | Propionato | | | Butirato | | | Ácido lático | | | AGCC totais | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Filo** | **Efeito** | **EP** | **Prob.** | **Efeito** | **EP** | **Prob.** | **Efeito** | **EP** | **Prob.** | **Efeito** | **EP** | **Prob.** | **Efeito** | **EP** | **Prob.** |
| Actinobacteria | -4,97 | 1,95 | 0,0386 | -2,84 | 1,06 | 0,0321 | -0,27 | 0,89 | 0,7693 | -1,00 | 1,21 | 0,4453 | -8,08 | 3,35 | 0,0466 |
| Fusobacteria | 21,30 | 8,56 | 0,0418 | 12,93 | 4,37 | 0,0213 | -1,69 | 3,85 | 0,6726 | 16,35 | 1,62 | 0,0002 | 32,54 | 15,35 | 0,0717 |
| **Ordem** | **Efeito** | **EP** | **Prob.** | **Efeito** | **EP** | **Prob.** | **Efeito** | **EP** | **Prob.** | **Efeito** | **EP** | **Prob.** | **Efeito** | **EP** | **Prob.** |
| Actinomycetales | -123,94 | 54,07 | 0,056 | -63,66 | 23,17 | 0,029 | -13,99 | 28,38 | 0,637 | -3,00 | 27,77 | 0,918 | -199,39 | 95,55 | 0,075 |
| Erysipelotrichales | 4,08 | 3,58 | 0,293 | 2,52 | 1,43 | 0,120 | -2,69 | 1,35 | 0,088 | 5,96 | 2,08 | 0,036 | 4,40 | 6,21 | 0,502 |
| Fusobacteriales | 20,38 | 7,76 | 0,034 | 11,69 | 2,95 | 0,006 | -0,59 | 4,08 | 0,889 | 16,68 | 1,01 | <.0001 | 31,16 | 13,98 | 0,061 |
| Rhizobiales | -363,20 | 161,04 | 0,059 | -169,43 | 70,04 | 0,046 | -59,79 | 83,37 | 0,497 | -9,91 | 82,08 | 0,909 | -596,45 | 283,02 | 0,073 |
| Sphingomonadales | -1420,28 | 602,52 | 0,051 | -695,04 | 259,78 | 0,032 | -224,93 | 319,77 | 0,505 | -69,40 | 314,49 | 0,834 | -2333,11 | 1065,79 | 0,065 |
| **Família** | **Efeito** | **EP** | **Prob.** | **Efeito** | **EP** | **Prob.** | **Efeito** | **EP** | **Prob.** | **Efeito** | **EP** | **Prob.** | **Efeito** | **EP** | **Prob.** |
| Leuconostocaceae | 142,79 | 276,65 | 0,657 | 80,22 | 91,68 | 0,474 | 92,02 | 201,71 | 0,693 | -61,06 | 0,67 | 0,007 | 315,02 | 538,92 | 0,618 |
| Moraxellaceae | -142,35 | 25,28 | 0,030 | -75,39 | 16,80 | 0,046 | -22,65 | 9,04 | 0,129 | -6,81 | 9,13 | 0,534 | -240,39 | 33,45 | 0,019 |
| Parapreevotellaceae | 87,67 | 917,19 | 0,928 | -4,11 | 501,77 | 0,994 | 9,30 | 277,97 | 0,975 | -1517,71 | 201,14 | 0,005 | 92,80 | 1518,76 | 0,954 |
| Peptostreptococcaceae | 7,02 | 5,96 | 0,488 | 3,97 | 2,72 | 0,383 | 1,16 | 1,38 | 0,556 | 0,82 | 0,13 | 0,025 | 12,14 | 10,06 | 0,441 |
| Propionibacteriaceae | -250,97 | 86,45 | 0,027 | -150,19 | 41,99 | 0,012 | . | . | . | -78,46 | 65,26 | 0,316 | -426,24 | 142,19 | 0,025 |
| Succinivibrionaceae | -5,77 | 11,70 | 0,643 | -3,84 | 7,00 | 0,607 | 0,35 | 2,47 | 0,892 | -13,17 | 3,60 | 0,019 | -9,26 | 19,14 | 0,649 |
| **Gênero** | **Efeito** | **EP** | **Prob.** | **Efeito** | **EP** | **Prob.** | **Efeito** | **EP** | **Prob.** | **Efeito** | **EP** | **Prob.** | **Efeito** | **EP** | **Prob.** |
| Bifidobacterium | -15,78 | 10,04 | 0,160 | 0,05 | 0,05 | 0,046 | -0,04 | 4,78 | 0,993 | -2,74 | 4,73 | 0,588 | -24,14 | 17,63 | 0,213 |
| Catenibacterium | 17,56 | 6,93 | 0,039 | 9,19 | 2,59 | 0,009 | -0,88 | 3,36 | 0,800 | 25,34 | 2,43 | 0,0001 | 26,48 | 12,19 | 0,066 |
| Dialister | -15,67 | 9,44 | 0,141 | -3,93 | 4,25 | 0,386 | -8,75 | 3,02 | 0,023 | -6,02 | 6,54 | 0,399 | -30,95 | 15,55 | 0,087 |
| Eubacterium | 1,82 | 5,55 | 0,752 | 1,57 | 2,28 | 0,514 | -5,35 | 1,37 | 0,006 | 5,77 | 3,73 | 0,182 | -0,14 | 9,48 | 0,989 |
| Fusobacterium | 103,06 | 38,07 | 0,030 | 60,15 | 15,82 | 0,007 | -3,02 | 20,60 | 0,888 | 67,63 | 17,14 | 0,011 | 156,75 | 70,01 | 0,060 |
| Leuconostoc | -85,91 | 85,49 | 0,348 | -18,31 | 42,26 | 0,678 | -32,97 | 24,95 | 0,228 | 41,29 | 43,06 | 0,382 | -138,19 | 134,51 | 0,338 |
| Peptococcus | -35,22 | 14,36 | 0,044 | -14,06 | 6,14 | 0,056 | -15,49 | 7,50 | 0,078 | -1,40 | 6,82 | 0,846 | -63,76 | 24,18 | 0,034 |

EP = erro padrão; Prob. = probabilidade; AGCC = ácidos graxos de cadeia curta

**Conclusão:** A presença de Fusobacteria, Erysipelotrichales, Fusobacteriales, Peptostreptococcaceae, Catenibacterium e Bifidobacterium e Fusobacterium influenciaram de forma positiva na concentração de AGCC totais e ácido lático. Tais achados evidenciam o aumento desejável destes microrganismos.

**Referências Bibliográficas:** DENG, P.; SWANSON, K. S. Gut microbiota of humans, dogs and cats: current knowledge and future opportunities and challenges. British Journal of Nutrition, v. 113, pp. S6-S17, 2015.

GETACHEW, G.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Tropical browses: Contents of phenolic compounds, in vitro gas production and stoichiometric relationship between short chain fatty acid and in vitro gas production. Journal of Agricultural Science, v. 139, n.3, pp. 341–352, 2002.

OREL, R.; TROP, T.K. Intestinal microbiota, probiotics and prebiotics in inflammatory bowel disease. World Journal of Gastroenterology, v. 20 (33), pp. 11505-11524, 2014.

PRYCE, J. D. A modification of the Barker-Summerson method for the determination of lactic acid. The Analyst, v. 94, n. 125, pp. 1151–1152, 1969.

ROBERFROID, M. Functional food concept and its application to prebiotics. Digestive and Liver Disease, v. 34, pp.105-110, 2002.

SUCHODOLSKI, J. S. Diagnosis and interpretation of intestinal dysbiosis in dogs and cats. The Veterinary Journal, v. 215, pp. 30-37, 2016.