# CARACTERIZAÇÃO DA MICROBIOTA FECAL DE GATOS SAUDÁVEIS E FIV POSITIVOS COM E SEM SUPLEMENTAÇÃO DE PAREDE CELULAR DE LEVEDURA

PATRÍCIA M. OBA[1], ADRIANA A. AQUINO[1], JOÃO P. F. SANTOS[1], MARIO J. AVILA-CAMPOS[2], ARCHIVALDO R. JUNIOR[1], AULUS C. CARCIOFI[3], JÚLIO C. C. BALIEIRO[1], MÁRCIO A. BRUNETTO[1]

[1]Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ/USP), São Paulo/Pirassununga-SP. E-mail: obamassae@veterinaria.med.br [2]Instituto de Ciências Biomédicas (ICB/USP), São Paulo-SP; [3]Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV/Unesp), Jaboticabal-SP.

**Resumo:** A parede celular de levedura (PCL) parece exercer importante papel na modulação da microbiota intestinal de gatos. O vírus da imunodeficiência felina (FIV) apresenta relativa disseminação ambiental e elevada frequência entre os gatos. Dessa forma, reconhecer alterações de microbiota nos animais acometidos é de grande importância, bem como a busca por aditivos que possam beneficiar estes animais. O presente trabalho objetivou avaliar os efeitos da ingestão de PCL na composição da microbiota fecal de gatos saudáveis e FIV$^+$ pelo emprego da técnica de sequenciamento Illumina. Foram utilizados 19 gatos adultos, distribuídos em dois grupos experimentais: GS (10 animais saudáveis) e GI (9 animais FIV$^+$); e duas dietas experimentais: D0 (dieta controle, sem PCL) e D04 (dieta teste, com 0,4% de PCL), em delineamento inteiramente casualizado (DIC). As abundâncias observadas para cada Filo foram avaliadas por modelo linear generalizado, considerando-se distribuição binomial e emprego da função de ligação logit. Todas as análises foram realizadas no PROC GENMOD, do programa estatístico SAS. Os resultados apresentaram como filos dominantes Firmicutes e Actinobacteria. O GI apresentou menor abundancia em relação o GS para Actinobacteria ($p<0,0001$) e Firmicutes ($p=0,0205$). O GS apresentou menor abundancia de Fusobacteria em relação ao GI ($p=0,0037$). O consumo de PCL (D04) resultou em menor porcentagem de Bacteroidetes em relação ao controle [D0; ($p=0,0421$)], independente do grupo. O GSD0 apresentou menor abundância de Actinobacteria em relação aos demais [GSD04, GID0 e GID04; ($p<0,0001$)] e o GID0 apresentou menor porcentagem de Proteobacteria em relação aos demais [GID04, GSD0 e GSD04; ($p= 0,0005$)]. Animais FIV$^+$ e saudáveis responderam ao consumo de PCL de forma diversa, o que demonstra diferença de resposta entre animais saudáveis e doentes.
**Palavras-chave:** felinos, bactérias intestinais, prebiótico, HIV, nutrição.

# CHARACTERIZATION OF THE FECAL MICROBIOTA OF HEALTHY CATS AND FIV POSITIVE WITH AND WITHOUT SUPPLEMENTATION OF YEAST CELLULAR WALL

**Abstract:** The yeast cell wall (YCW) seems to play an important role in modulating the intestinal microbiota of cats. The feline immunodeficiency virus (FIV) has a relative environmental spread and a high frequency among the cats. In this way, recognizing microbiota changes in the affected animals is of great importance, as well as the search for additives that may benefit these animals. The present study aimed to evaluate the effects of PCL ingestion on fecal microbiota composition of healthy cats and FIV$^+$ by using the Illumina sequencing technique. A total of 19 adult cats were distributed in two experimental groups: GS (10 healthy animals) and GI (9 FIV$^+$ animals); two experimental diets: D0 (control diet, without YCW) and D04 (test diet with 0.4% of YCW), in a completely randomized design. The abundances observed for each Phylum were evaluated by generalized linear model, considering binomial distribution and employment of logit bond function. All analyzes were performed in PROC GENMOD, from the SAS statistical program. The results showed dominant phyla as Firmicutes and Actinobacteria. GI presented the lower abundance in relation to GS for Actinobacteria ($p <0.0001$) and Firmicutes ($p = 0.0205$). GS presented the lower abundance of Fusobacteria in relation to GI ($p = 0.0037$). The consumption of PCL (D04) led to a lower percentage of Bacteroidetes in relation to the control [D0; ($P = 0.0421$)], independent of the group. GSD0 presented lower abundance of Actinobacteria in relation to the others [GSD04, GID0, and GID04; ($P <0.0001$)] and GID0 presented a lower percentage of Proteobacteria than the others [GID04, GSD0 and GSD04; ($P = 0.0005$)]. Both healthy and FIV$^+$ animals responded to PCL consumption differently, which demonstrates a difference in response between healthy and sick animals.

Keywords: feline, intestinal bacteria, prebiotic, HIV, nutrition.

**Introdução:** O FIV é um vírus que acomete gatos domésticos do mundo todo e os animais podem apresentar imunodeficiência, redução na digestiblidade, má nutrição, perda de peso, diminuição da ingestão voluntária de alimentos, transtornos do trato gastrintestinal e alterações da integridade da barreira intestinal. O uso de substâncias prebióticas pode resultar em benefícios na modulação da microbiota e saúde intestinal (BARRY et al., 2012). Dentro deste contexto, o uso da PCL pode ser interessante tanto para gatos saudáveis como para animais $FIV^+$, devido a sua composição em mananoligossacarídeos. O presente estudo objetivou avaliar os efeitos da ingestão de PCL na composição da microbiota fecal de gatos saudáveis e $FIV^+$ pelo emprego da técnica de sequenciamento Illumina.

**Material e métodos:** Foram incluídos no estudo 19 gatos adultos, com idade média de 7±2,29 anos, peso corporal médio de 4,9±1,37kg, machos e fêmeas, todos castrados. Os animais foram distribuídos em quatro grupos experimentais: GS [animais saudáveis; (n=10)] e GI (animais infectados naturalmente pelo vírus; (n=9)] os quais foram combinados com duas dietas: D0 (dieta controle, sem PCL) e D04 (dieta com 0,4% de PCL) em esquema fatorial 2x2, instalado segundo delineamento em blocos casualizados. A quantidade de alimento fornecida aos animais foi baseada na equação: 100 x $(PC)^{0,67}$= Kcal/dia. Para a determinação da microbiota intestinal, 9g de fezes foram coletadas de forma asséptica. Para extração do DNA foi utilizado o kit comercial QIAamp DNA STOLL Mini Kit. A microbiota fecal foi determinada pela técnica de sequenciamento Illumina, realizado no MiSeq, com o "Kit MiSeq Reagent kit v2". O produto final foi analisado pelo software MiSeq Reporter, com a opção Metagenomics. Os filtros de qualidade e análises foram realizadas com o auxílio do programa *Quantitative Insights Into Microbial Ecology* 1.8.0 e USEARCH 7. As abundâncias observadas para cada Filo foram avaliadas por modelo linear generalizado, considerando distribuição binomial e função de ligação logit. O modelo incluiu efeitos fixos de período-sexo-classe de idade (como blocos), grupos (GS vs GI), níveis (0,0 vs 0,4) e interação grupo x nível. Todas as análises foram realizadas pelo procedimento PROC GENMOD, do programa SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA).

**Resultados e discussão:** os resultados apresentaram como filos dominantes Firmicutes, seguido por Actinobacteria. Resultado já relatado em literatura para esta espécie (DESAI et al., 2009). Porém, a modulação da micorbiota fecal foi diferente entre os grupos (GS e GI), dose da PCL (D0 e D04) e interação entre grupo e dose (GSD0, GSD04, GID0 e GID04). Os filos bacterianos que apresentaram efeito de grupo foram o Actinobacteria, Firmicutes e Fusobacteria. O GI apresentou menor abundância em relação o GS para Actinobacteria ($p<0,0001$) e Firmicutes ($p=0,0205$). A redução da porcentagem do filo Firmicutes foi relacionada com a ocorrência de diarreia em gatos (SUCHODOLSKI et al., 2015), o que pode indicar que animais com disbiose possivelmente reduzem a população bacteriana de Firmicutes. Para o filo Fusobacteria, o GS apresentou menor abundancia em relação ao GI ($p = 0,0037$). O filo Bacteroidetes foi o único que apresentou efeito de dose: o consumo de PCL (D04) resultou em menor porcentagem em relação ao controle (D0) ($p = 0,0421$). Com relação às interações grupo e dose, para o filo Actinobacteria, animais GSD0 apresentaram menor abundância em relação aos demais [GSD04, GID0 e GID04; ($p<0,0001$)]. Em contraste, animais GID0 apresentaram menor porcentagem do filo Proteobacteria em relação aos demais [GID04, GSD0 e GSD04; ($p= 0,0005$)].

**Conclusão:** Animais $FIV^+$ e saudáveis respondem ao consumo de PCL de forma diversa, o que demonstra que a extrapolação de resultados encontrados com o uso de prebióticos em animais saudáveis para animais doentes pode não resultar nos benefícios esperados.

**Referências:** BARRY, K. A. et al. Effects of dietary fiber on the feline gastrointestinal metagenome. **Journal of Proteome Research**, v. 11, n. 12, p. 5924–5933, 2012. - DESAI, A. R. et al. Characterization and quantification of feline fecal microbiota using cpn 60 sequence-based methods and investigation of animal-to-animal variation in microbial population structure. **Veterinary Microbiology journal**, v. 137, p. 120–128, 2009. SUCHODOLSKI, J. S. et al. The fecal microbiome in cats with diarrhea. **PLoS ONE**, v. 10, n. 5, p. 1–12, 2015.