EFEITO DE DIETA E IDADE NA MICROBIOTA ADERIDA A MUCOSA DO CÓLON DE CÃES

ANA P. J. MARIA[1], PING DENG[2], HANNAH D. HOLSCHER[2], FRANZ N. YOSHITOSHI[2], THAILA C. PUTAROV[1], KELLY S. SWANSON[3], AULUS C. CARCIOFI[1]

[1]Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, FCAV – Unesp, Jaboticabal – SP, Brasil; [2]Endoscopet – Endoscopia e Cirurgia, São Paulo, SP, Brazil; [3]Departament of Animal Science, UIUC, Urbana-Champaign – IL, EUA; email: anapjmaria@gmail.com

Resumo: O objetivo desse estudo foi identificar os efeitos de idade e dieta, com o foco em particular nas fontes de carboidrato e proteína, sobre a microbiota da mucosa do cólon de cães. Os cães foram separados em dois grupos etários, adultos jovens e idosos, e em grupos de três dietas isonutritivas, dieta com fibra insolúvel não fermentável (FI), dieta com fibra fermentável (FF) e dieta com farelo de soja (FS). Após 30 dias de adaptação a dieta, foi realizada a coleta de biópsias da mucosa do cólon. O DNA dessas amostras foi extraído e a região V4 do gene 16rRNA foi amplificada e submetida ao sequenciamento por Miseq Illumina. A abundância de Slackia, Bacteriodes e Plesiomonas foi menor (P<0,05) nos cães idosos em relação aos adultos jovens. Os generos Peptococcus e Slackia estavam em maior abundância (P<0,05) em cães alimentados com as dietas FI e FF do que nos cães alimentados com a dieta SM. Os cães alimentados com a dieta FI tiveram menor abundância (P<0,05) de Megamonas e Suturella na mucosa do cólon quando comparado aos cães alimentados com as dietas FF e SM.
Palavra Chave: microbiota, idade, carboidrato, proteína.

EFFECTS OF AGE AND DIET ON COLONIC MUCOSA MICROBIOTA OF DOGS

Abstract: The objective of this study was to identify the effects of age and diet, with particular focus on carbohydrate and protein sources, on the colonic mucosa microbiota of dogs. Thirty-six healthy beagles were used in a 3x2 factorial design. Dogs were separated in two age groups, young adult (2.6±0.9 year) and geriatric (10.2±1.1 year), and were assigned to three isonutritive kibble dietary groups containing: a non-fermentable insoluble fiber (IF); a fermentable fiber (FF); and soybean meal (SM). After 30 days of diet adaptation mucosal biopsies from the colon were performed. DNA was extracted and the V4 region of the 16S rRNA gene was amplified and subjected to Miseq Illumina sequencing. Data analysis was performed using QIIME 1.8.0. The abundance of Slackia, Bacteriodes and Plesiomonas were lower (P<0.05) in geriatric dogs compared to the young adult dogs. Peptococcus and Slackia genus were in a higher (P < 0.05) abundance in dogs fed the IF and FF diets than those fed the SM diet. Dogs fed the IF diet had lower (P < 0.05) colonic mucosa Megamonas and Suturella abundance when compared with the dogs fed FF and SM diets.
Keyword: microbiota, age, carbohydrates, protein.

Introdução: Os componentes da dieta desempenham uma papel importante na determinação da composição e equilíbrio dos microorganismos no cólon. O envelhecimento também pode afetar as populações da microbiota intestinal e é importante no que diz respeito à saúde gastrointestinal de cães idosos. Estudos moleculares recentes revelaram uma complexa comunidade bacteriana, fúngica, archaea e viral no trato gastrointestinal de cães e gatos[1]. Porém pouca informação relacionada com a microbiota aderida à mucosa do cólon está disponível para cães. Portanto, o objetivo da presente pesquisa foi identificar os efeitos da idade e dieta, com particular destaque para as fontes de carboidratos e proteínas na dieta, sobre a microbiota aderida à mucosa do cólon de cães saudáveis.

Material e Métodos: Trinta e seis beagles foram utilizados em esquema factorial 3x2. Os cães foram separados em dois grupos de idade, jovens adultos (2.6±0.9 anos) e idosos (10.2±1.1 anos), e foram destribuidos entre três grupos de dietas extrusadas isonutritivas, sendo: dieta com fibra inslúvel e não fermentável (FI; 34% farinha de vísceras de aves; 10% fibra de cana); dieta com fibra fermentével (FF;

34% farinha de vísceras de aves; 10% polpa de beterraba); e dieta com farelo de soja (FS; 30% farelo de soja; 11% farinha de vísceras de aves; e sem fonte de fibra adicional). Os cães foram alimentados individualmente, com o montante calculado de acordo com a estimativa do teor de energia metabolizável dos alimentos e da necessidade energética do animal[2]. Após 30 dias de consumo das dietas, duas amostras da mucosa do cólon de cada cão foram coletadas através do procedimento de colonoscopia com os animais sob anestesia. As amostras das mucosas foram armazenadas em freezer -80ºC. O DNA genomico das amostras da mucosa foram extraídos utilizando o kit PowerLyzer PowerSoil DNA Isolation (MO BIO Laboratories, Inc., Carlsbad, CA). A região V4 do gene 16S rRNA foi amplificada e submetida ao sequenciamento MI-Seq Illumina. Os dados derivados do processo de sequenciamento foram processados utilizando QIIME 1.8.0 (Quantitative Insights Into Microbial Ecology). As unidades taxonômicas operacionais (OTU) resultantes foram alinhadas a base de dados Greengenes 13_8 (97% de similaridade). Os dados foram analisados utilizando o procedimento MIXED do Statistical Analysis System 9.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC). Foram analisados os principais efeitos da idade e da dieta e da interação dieta x idade. A probabilidade de $P < 0,05$ foi considerado significativo e $P < 0,10$ foi considerado uma tendência.

Resultados e Discussão: Firmicutes (44,1%), Bacteroidetes (39,2%), Fusobacteria (6,5%), Proteobacteria (5,6%), Actinobacteria (4,3%) e Deferribateres (0,2%) foram os filos bacterianos predominantemente encontrados no cólon, resultado similar aos estudos em humanos e cães[3]. Foi observado efeito de interação entre idade e dieta em algumas famílias e gêneros, incluindo o gênero Prevotella, família Mogibacteriaceae, família Alcaligenaceae e gênero *Suterella.* Os cães idosos alimentados com a dieta FI apresentaram menor concentração da família Mogibacteriaceae na mucosa do cólon quando comparados aos cães adultos alimentados com a dieta FI ($P<0,05$). Cães adultos alimentados com a dieta FI apresentaram maior concentração da família Mogibacteriaceae em relação aos cães adultos alimentados com as dietas FF e FS ($P<0,05$). As concentrações da família Paraprevotallaceae e do gênero *Prevotella* na mucosa do cólon foram maiores ($P<0,05$) para os cães idosos alimentados com dieta FS quando comparado aos cães adultos alimentados com a mesma dieta, e os cães idosos alimentados com as dietas FS e FI apresentaram maiores concentraçòes ($P<0,05$) na mucosa do cólon da família Paraprevotallaceae e do gênero *Prevotella* em relação aos cães idosos alimentados com a dieta FF. Efeitos de idade e dieta sem interação também foram observados. A abundância dos gêneros *Slackia*, *Bacteroides*, *Plesiomonas* e de um gênero indefinido da família Paraprevotallaceae foram menores ($P <0,05$) no grupo de cães idosos em comparação com o grupo de cães adultos jovens. Os gêneros *Peptococcus* e *Slackia* foram encontrados em maior concentração ($P <0,05$) na mucosa do cólon dos cães alimentados com as dietas FI e FF do que aqueles alimentados com a dieta FS. Cães alimentados com a dieta FI apresentaram menor concentração dos gêneros *Megamonas* e *Suturella* na mucosa do cólon quando comparados com os cães alimentados com dietas FF e FS ($P <0,05$).

Conclusão: A fermentabilidade da fibra, assim como a idade, podem causar um impacto nas comunidades bacterianas presentes na mucosa do cólon de cães. É necessário um maior número de pesquisas, para identificar e entender a relevância desses achados em relação à saúde intestinal.

Agradecimentos: À Mogiana Alimentos S/A, à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – Fapesp, à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pesssoal de Nível Superior – CAPES.

Referências Bibliográficas: [1]J. S. Suchodolski, Companion Animals Symposium: Microbes and gastrointestinal health of dogs and cats. Journal of Animal Science 89:1520–1530, 2011; [2]NRC - National Research Council (US) Ad Hoc Committee on Dog and Cat Nutrition: Nutrient Requirements of Dogs and Cats, Rev. National Academies Press, Washington, DC. 2006; [3]Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M et al. Diversity of the human intestinal microbial flora. Science 308: 1635–1638, 2005.