PATRÍCIA MASSAE OBA

**EFEITOS DA PAREDE CELULAR DE LEVEDURA SOBRE A MICROBIOTA
FECAL DE GATOS SAUDÁVEIS E NATURALMENTE INFECTADOS PELO
VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA FELINA**

Pirassununga - SP

Fevereiro de 2018

PATRÍCIA MASSAE OBA

Efeitos da parede celular de levedura sobre a microbiota fecal de gatos saudáveis e naturalmente infectados pelo vírus da imunodeficiência felina

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Doutora em Ciências

Departamento:

Nutrição e Produção Animal

Área de concentração:

Nutrição e Produção Animal

Orientador:

Prof. Dr. Marcio Antonio Brunetto

Pirassununga - SP

Fevereiro de 2018

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 3610
FMVZ

Oba, Patrícia Massae
Efeitos da parede celular de levedura sobre a microbiota fecal de gatos saudáveis e naturalmente infectados pelo vírus da imunodeficiência felina / Patrícia Massae Oba. – 2018.
107 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, Pirassununga, 2018.

Programa de Pós-Graduação: Nutrição e Produção Animal.

Área de concentração: Nutrição e Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Marcio Antonio Brunetto.

1. Felinos. 2. Bactérias intestinais. 3. Prebiótico. 4. Nutrição. 5. FIV. I. Título.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada **"Efeitos da parede celular de levedura sobre a microbiota fecal de gatos saudáveis e naturalmente infectados pelo vírus da imunodeficiência felina"**, protocolada sob o CEUA nº 9540191017, sob a responsabilidade de **Marcio Antônio Brunetto e equipe; Patricia Massae Oba** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 06/12/2017.

We certify that the proposal **"Effects of yeast cell wall on the fecal microbiota of healthy cats and cats naturally infected by feline immunodeficiency virus"**, utilizing 19 cats (males and females), protocol number CEUA 9540191017, under the responsibility of **Márcio Antônio Brunetto and team; Patricia Massae Oba** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 06/12/2017.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **04/2016** a **02/2018**

Área: **Nutrição Animal**

Origem: **Gatil VCM**

Espécie: **gatos**

sexo: **Machos e Fêmeas**

idade: **4-7 anos**

N: **19**

Linhagem: **Sem raça definida**

Peso: **4 a 6kg**

Resumo: A parede celular de levedura (PCL) parece exercer importante papel na modulação da microbiota intestinal. Sua inclusão pode inibir a colonização por bactérias patogênicas e resultar em possíveis benefícios à saúde intestinal. O vírus da imunodeficiência felina (FIV) apresenta relativa disseminação ambiental e, frente ao crescente número de gatos domiciliados no Brasil, reconhecer alterações microbiológicas dos animais acometidos por este vírus é de grande importância. Neste sentido, o presente trabalho objetiva avaliar os efeitos da ingestão de PCL na composição da microbiota fecal de gatos saudáveis e de gatos com FIV pelo emprego da técnica de sequenciamento Illumina. Serão utilizados 19 gatos adultos, distribuídos em quatro grupos experimentais: GS (10 animais saudáveis) e GI (9 animais infectados naturalmente pelo FIV); e duas dietas experimentais: D0 (dieta controle, sem adição de PCL) e D4 (dieta teste com adição de 0,4% de PCL), em delineamento inteiramente casualizado (DIC). Todos os resultados obtidos serão analisados através do programa computacional Statistical Analysis System (SAS Institute Inc., 2004), sendo previamente verificada a normalidade dos resíduos pelo teste de SHAPIRO-WILK (PROC UNIVARIATE) e as variâncias comparadas pelo teste de HARTLEY. As variáveis que não atenderem as premissas de normalidade serão analisadas por testes não paramétricos.

Local do experimento: Gatil (VCM).

São Paulo, 06 de dezembro de 2017

Profa. Dra. Anneliese de Souza Traldi

Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Roseli da Costa Gomes

Secretária Executiva

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: OBA, Patrícia Massae

Título: Efeitos da parede celular de levedura sobre a microbiota fecal de gatos saudáveis e naturalmente infectados pelo vírus da imunodeficiência felina

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutora em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho,

Aos meus pais, Leonardo Hiroaki Oba e Maria do Vale Oba, que estiveram comigo e incentivaram-me em todos os momentos.

Ensinaram-me a ter responsabilidade, honestidade e outros valores importantes para a vida.

Com carinho, dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço,

- ❖ À Universidade de São Paulo, na pessoa do reitor Prof. Dr. Marco Antonio Zago, à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, na pessoa do Prof. Dr. José Antonio Visintin e ao Departamento de Nutrição e Produção Animal, na pessoa do Prof. Dr. Marcos Veiga dos Santos, pela oportunidade e acolhimento.
- ❖ Ao Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, por meio do Prof. Dr. Welington Luiz de Araújo.
- ❖ Ao Laboratório de Bacteriologia de Anaeróbios do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, por meio do Prof. Dr. Mario Julio de Avila-Campos.
- ❖ À Central de Genômica Funcional da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo (ESALQ/USP) pela realização das análises de sequenciamento.
- ❖ Ao Departamento de Zootecnia da Universidade de Illinois, por meio dos professores Dr. George C. Fahey, Dr. Kelly S. Swanson e Dra. Maria Regina Cattai de Godoy.
- ❖ À Coordenadoria de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, da Universidade de São Paulo, na pessoa do Coordenador Prof. Dr. Alexandre Augusto de Oliveira Gobesso e do secretário João Paulo de Oliveira Barros, pela pronta atenção dispensada.
- ❖ À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela bolsa de doutorado e doutorado sanduíche concedidas.
- ❖ Ao Instituto Premier Pet pelo financiamento do estudo.
- ❖ À todos os funcionários do Departamento de Nutrição e Produção Animal, em especial ao João Paulo de Oliveira Barros, Alessandra de Cassia Terassi da Silva, Fábila Silene Iaderozza, Renata Maria Consentino Conti, Simi Luiza Durante Aflalo, Lucinéia Mestieri e Josane Leão Ferraz.

❖ Aos professores da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, da Universidade de São Paulo, pela positiva participação na minha formação, desde a graduação em Medicina Veterinária.

❖ Aos examinadores que aceitaram compor a banca de dissertação Prof. Dr. Marcio Antonio Brunetto, Prof. Dr. Archivaldo Reche Júnior, Profa. Dra. Maria Regina Cattai de Godoy, Prof. Dr. João Paulo Fernandes Santos e Prof. Dr. Ricardo Vieira Ventura.

❖ Ao Prof. Dr. Marcio Antonio Brunetto, pela orientação e ensinamentos tanto para minha formação acadêmica como pessoal, pela confiança, amizade, paciência, disponibilidade e oportunidade e, por ter se tornado uma grande influência na minha vida.

❖ Aos professores, Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi, Prof. Júlio Cesar de Carvalho Balieiro, Prof. Dr. Archivaldo Reche Júnior, Prof. Dr. Mario Julio de Avila-Campos, Profa Dra. Maria Regina Cattai de Godoy, Prof. Dr. Welington Luiz de Araújo, por tornarem possível a realização do estudo e as análises para sua conclusão.

❖ À professora Dra. Maria Regina Cattai de Godoy, por ter me acolhido, não só como coorientadora do doutorado sanduiche, mas também como uma mãe longe de casa, pelos ensinamentos e orientação e, por ser um exemplo em minha vida.

❖ Às professoras Dra. Márcia de Oliveira Sampaio Gomes e Dra. Catarina de Abdalla Gomide, as quais realizaram valiosas contribuições em minha vida acadêmica e pessoal, e por sempre estarem disponíveis para me auxiliar.

❖ Aos professores Dr. George C. Fahey e Dr. Kelly S. Swanson, por serem exemplos de pesquisadores e pessoas, por dividirem comigo um pouco do conhecimento que possuem e me acolherem na Universidade de Illinois.

❖ Aos meus pais, Leonardo Hiroaki Oba e Maria do Vale Oba, por sempre acreditarem em minha capacidade mesmo quando eu duvidava da mesma, pelo amor, carinho e principalmente compreensão.

❖ Aos meus odichan e obachan, Tutomo Oba e Tiyoco Oba, por serem exemplo de amor e luta, por me fazerem acreditar que quando se quer algo, basta lutar.

❖ Aos meus avós maternos, Manoel Martins do Vale e Maria Aparecida Machado Martins do Vale, por dividirem comigo um pouco da luz que tiveram, pela simplicidade de viver e amor aos animais.

❖ Às minhas irmãs, Clarice Yumi Oba e Marina Kimie Oba, por me fazerem crescer e compreender o quanto é bom dividir a vida com alguém, por serem as primeiras a me ensinarem a compartilhar.

❖ À minha sobrinha Amanda Harumi Oba, por me fazer compreender que uma pessoa pode mudar a vida de toda uma família e que o amor é algo que não tem fim.

❖ Ao Júlio César Mioto por todo carinho, paciência e companheirismo, por aceitar fazer parte desta jornada e caminhar junto comigo.

❖ Às minhas amigas Bruna Padin, Camila Molina, Caroline Bardese e Suzana Enumo, por dividirem comigo momentos únicos que serão parte de mim para todo sempre, por serem meu plástico bolha.

❖ Aos meus amigos João Paulo Fernandes Santos, Adriana Aquino e Almir José Ferreira, por toda paciência e ajuda, sem vocês eu não conseguiria terminar.

❖ Aos amigos que fiz e reencontrei durante esta jornada, Laura Fantucci De Oliveira Matheus, Mariane Ceschin Ernandes, Karine de Melo Santos, Maria Isabel Gonzalez Urrego, Mariana Fragoso Rentas, Andressa do Amaral, Beatriz Kiihl Roque, Hortência Campos Mazzo, Bruna Gomes, Johnny Maciel de Souza, Gabriela Pombo, Janaina Cristina da Silva, Romulo Germano de Rezende, Analia Riso, Juliana Paschoalin De Souza Nogueira, Hans Müller Paul, Amanda Dainton, Lauren Reilly, Zac Traugher, Eiji Iwazaki, Celeste Alexander, Ching-Yen Lin, Ploy Phyngrwatnikul, Anne Lee, Patrick Von Schaumburg, Suma Prabhu, Tássia Mangetti Gonçalves, Rachel Braz Arcanjo, Lídia Sbaraini Arend, Murilo Blasi Duarte, Matteo Cossu, Rogerio Lopes Pereira, Caitlin Patricia Lebel, por terem dividido comigo esta jornada.

❖ Aos membros do GENP (Grupo de Estudos em Nutrição Pet): Mariane Ceschin Ernandes, Andressa do Amaral, Cláudio Galeno Piantino, Thiago Vendramini, Fábio Alves Teixeira, Henrique Tobarro Macedo, Larissa W. Risolia, Mariana Yukari H. Porsani, Vivian Pedrinelli, Paula Boller Bissoli, Matheus Vinícius Macegoza, Rafael V. Zafalon, Mariana P. Perini, Roberta Bueno Rodrigues, pela colaboração, conversas, risadas, conhecimentos compartilhados e convivência.

❖ Aos amigos de Pós-Graduação do VNP que me acompanharam nesta fase, em especial Laura Fantucci De Oliveira Matheus, Mariane Ceschin Ernandes, Karine de Melo Santos, Maria Isabel Gonzalez Urrego e Mariana Fragoso Rentas, por todas as risadas, lágrimas, dificuldades e conquistas compartilhadas.

❖ Aos amigos do Doutorado Sanduíche que me acolheram num país diferente e me fizeram sentir em casa, mesmo longe de casa, Analia Riso, Juliana Paschoalin De Souza Nogueira, Hans Müller Paul, Lauren Reilly, Tássia Mangetti Gonçalves, Lídia Sbaraini Arend e Caitlin Lebel.

❖ Aos meus animais: Linda, Satoru, Maru, Maki e Tama, por me lembrarem que o importante é simples, que o amor vêm em diferentes formas e que a vida é algo muito frágil.

❖ Aos gatos do meu experimento: Brenda, Clara, Giovanni, Gisely, Gorda, Tchesko, Bufa, Fumaça, Linguíça, Yuri, Cocada, Frida, Ipiranga, Marmota, Moleque, Sandy, Lua, Pamonha, Sapopemba, por serem compreensivos e me lembrarem do motivo de continuar nesta jornada.

Meus sinceros agradecimentos.

*“Perhaps it is because cats do not live by human patterns,
do not fit themselves into prescribed behavior,
that they are so united to creative people.”*

Andre Norton

*“Cats know how to obtain food without labor, shelter
without confinement, and love without penalties.”*

W. L. George

*“Authors like cats because they are such quiet, lovable, wise
creatures, and cats like authors for the same reasons.”*

Robertson Davies

RESUMO

OBA, P. M. **Efeitos da parede celular de levedura sobre a microbiota fecal de gatos saudáveis e naturalmente infectados pelo vírus da imunodeficiência felina.** [Effects of yeast cell wall on the fecal microbiota of healthy cats and cats naturally infected by feline immunodeficiency virus]. 2018. 107 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2018.

A parede celular de levedura (PCL) parece exercer importante papel na modulação da microbiota intestinal. Sua inclusão pode inibir a colonização por bactérias patogênicas e resultar em possíveis benefícios à saúde intestinal. O vírus da imunodeficiência felina (FIV) apresenta relativa disseminação ambiental e, frente ao crescente número de gatos domiciliados no Brasil, reconhecer alterações microbiológicas dos animais acometidos por este vírus é de grande importância. Neste sentido, o presente trabalho objetivou avaliar os efeitos da ingestão de PCL na composição da microbiota fecal de gatos saudáveis e de gatos com 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 infectados naturalmente pelo FIV); e duas dietas experimentais: D0 (dieta controle, sem adição de PCL) e D4 (dieta teste com adição de 0,4% de PCL), totalizando quatro tratamentos (GSD0, GSD4, GID0 e GID4), em delineamento inteiramente casualizado (DIC). Os resultados apresentaram como mais abundantes os filos Firmicutes e Actinobacteria; as ordens Clostridiales e Coriobacteriales; a família Veillonellaceae; e o gênero *Megasphaera spp.*. O GS apresentou menor concentração de Fusobacteria ($p=0,0037$), Clostridiales ($p=0,0001$) e Fusobacteriales ($p=0,0330$), maior de Coriobacteriales ($p<0,0001$), *Collinsella spp.* ($p=0,0135$) e *Peptococcus spp.* ($p=0,0265$) em comparação ao GI. O consumo da PCL reduziu a porcentagem de Bacteroidetes ($p=0,0421$) e *Catenibacterium spp.* ($p=0,0252$). No GS, o consumo da PCL aumentou a concentração de Actinobacteria ($p<0,0001$) e *Bifidobacterium spp.* ($p=0,0420$) e, diminuiu a de Firmicutes ($p=0,0205$), Aeromonadales ($p=0,0027$), *Dialister spp.* ($p=0,0137$), *Megasphaera spp.* ($p=0,0005$) e *Anaerobiospirillum spp.* ($p=0,0084$). No GI, o consumo de PCL aumentou Proteobacteria ($p=0,0005$), Lactobacillales ($p=0,0095$), Aeromonadales ($p=0,0027$), *Streptococcus spp.* ($p=0,008$) e *Anaerobiospirillum spp.* ($p=0,0084$) e reduziu *Bifidobacterium spp.* ($p=0,0420$). Com relação aos coeficientes de digestibilidade aparente (CDA), o GI apresentou menor CDA da proteína bruta ($p=0,0305$) e extrativos não-nitrogenados ($p=0,0078$) e, maiores do extrato etéreo em hidrólise ácida ($p<0,0001$), em comparação ao GS. Não houve diferença na concentração de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) ou mesmo de ácido lático entre os tratamentos, grupos e doses. A modulação bacteriana exercida pelo consumo da PCL aparentemente é positiva, porém mais estudos se fazem necessários

para fortalecer esta hipótese na espécie alvo e, principalmente, esclarecer as diferenças existentes em sua resposta entre gatos doentes e saudáveis.

Palavras-chave: Felinos. Bactérias intestinais. Prebiótico. Nutrição. FIV.

ABSTRACT

OBA, P. M. **Effects of yeast cell wall on the fecal microbiota of healthy cats and cats naturally infected by feline immunodeficiency virus.** [Efeitos da parede celular de levedura sobre a microbiota fecal de gatos saudáveis e naturalmente infectados pelo vírus da imunodeficiência felina]. 2018. 107 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2018.

The yeast cell wall (YCW) seems to play an important role on the modulation of the intestinal microbiota. Their inclusion can inhibit pathogenic bacteria colonization and possible result in benefits on intestinal health. The feline immunodeficiency virus (FIV) shows relative environmental dissemination and due to the growth of the population of resident cats in Brazil, knowledge of microbiological changes in the affected FIV + animals are of great importance. Therefore, this study aims to evaluate the effects of YCW intake in the composition of fecal microbiota of healthy cats and cats affected by FIV (FIV⁺), and to evaluate the fecal bacterial composition of cats FIV⁺ and compare it with the fecal microbiota of healthy cats by the use of Illumina sequencing technique. For this we used 19 adult cats, distributed in two experimental groups: GH (10 healthy animals) and GI (9 animals naturally infected by FIV); and two experimental diets: D0 (control diet, without addition of YCW) and D4 (test diet with addition of 0.4% of YCW), total of four treatments (GSD0, GSD4, GID0 and GID4), in a randomized design. The results presented as the most abundant phyla Firmicutes and Actinobacteria; the orders Clostridial and Coriobacterial; the family Veillonellaceae; and the genus *Megasphaera spp.* GH showed lower concentrations of Fusobacteria (p=0.0037), Clostridiales (p=0.0001), and Fusobacteriales (p=0.0330), higher of Coriobacteriales (p<0.0001), *Collinsella spp.* (p=0.0135) and *Peptococcus spp.* (p=0.0265) compared to GI. The consumption of PCL reduced the percentage of Bacteroidetes (p=0.0421) and *Catenibacterium spp.* (p=0.0252). In GH, PCL consumption positively modulated the concentration of Actinobacteria (p<0.0001) and *Bifidobacterium spp.* (p=0.0420), negatively to Firmicutes (p=0.0205), Aeromonadales (p=0.0027), *Dialister spp.* (p=0.0137), *Megasphaera spp.* (p=0.0005) and *Anaerobiospirillum spp.* (p=0.0084). In the GI, PCL consumption positively modulated Proteobacteria (p=0.0005), Lactobacillales (p=0.0095), Aeromonadales (p=0.0027), *Streptococcus spp.* (p=0.008) and *Anaerobiospirillum spp.* (p=0.0084) and negatively *Bifidobacterium spp.* (p=0.0420). In relation to the apparent digestibility coefficients (ADC), the GI present lower ADC of the crude protein (p=0.0305) and extractive non-nitrogenous (p=0.0078) and higher ADC of the ethereal extract in acid hydrolysis (p<0.0001), compared to GS. There was no statistical difference between the concentration of short chain fatty acids (SCFA) or even lactic acid between the treatments, groups or doses. The bacterial modulation exerted by PCL

consumption appears to be positive, but more studies are needed to strengthen this hypothesis in the species and to clarify the differences in its response between sick and healthy cats.

Keywords: Feline. Intestinal bacteria. Prebiotic. Nutrition. FIV.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Animais alojados em gaiolas e soltos nos gatis de convivência.....	46
Figura 2-	Curvas de rarefação construídas com o auxílio do programa QIIME, indicando o efeito do esforço no sequenciamento.....	53
Figura 3-	Estimativas de riqueza por Chao-1 entre os pontos avaliados.....	53
Figura 4-	Estimativas de riqueza correlacionadas ao estado de saúde dos animais.....	54
Figura 5-	Estimativas de riqueza correlacionadas à dieta consumida pelos animais.....	54
Figura 6-	Estimativas de riqueza correlacionadas à dieta consumida pelos animais e seu estado de saúde.....	55
Figura 7-	Análise de coordenadas principais realizada com a matriz de sequenciamento em larga escala.....	56
Figura 8-	Distribuição dos filos bacterianos entre os animais em cada tratamento.....	58
Figura 9-	Distribuição dos filos bacterianos mais prevalentes entre cada tratamento.....	58
Figura 10-	Distribuição das ordens bacterianas entre os animais em cada tratamento.....	59
Figura 11-	Ordens bacterianas mais prevalentes em cada tratamento.....	60
Figura 12-	Distribuição das famílias bacterianas entre os animais em cada tratamento.....	63
Figura 13-	Famílias bacterianas mais prevalentes em cada tratamento.....	64
Figura 14-	Distribuição das famílias bacterianas entre os animais em cada tratamento.....	68
Figura 15-	Gêneros bacterianos mais prevalentes em cada tratamento.....	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Estudos epidemiológicos do vírus da imunodeficiência felina (FIV) no Brasil.....	24
Tabela 2 -	Resumo das principais técnicas empregadas para o estudo da microbiota gastrintestinal e fecal.....	29
Tabela 3 -	Filos mais abundantes na microbiota intestinal e fecal de gatos.....	31
Tabela 4 -	Alterações na microbiota intestinal e fecal de cães e gatos doentes.....	36
Tabela 5 -	Resultados de pesquisas com o uso de prebióticos na digestibilidade dos nutrientes, microbiota e produtos da fermentação de gatos saudáveis.....	42
Tabela 6 -	Resultados de pesquisas com o uso de prebióticos e simbióticos e seus efeitos em pessoas infectadas com o vírus da imunodeficiência humana.....	42
Tabela 7 -	Formulação e composição química das dietas experimentais.....	45
Tabela 8 -	Amostras avaliadas por Illumina e número de sequências após filtragem.....	52
Tabela 9 -	Efeito do estado de saúde sobre as concentrações médias de filos e ordens bacterianas nas fezes de gatos.....	60
Tabela 10 -	Efeito da dose de parede celular de levedura sobre as concentrações médias de filos e ordens bacterianas observadas no estudo.....	61
Tabela 11 -	Concentrações médias de filos e ordens bacterianas encontradas nos diferentes tratamentos.....	61
Tabela 12 -	Efeito do estado de saúde sobre as concentrações médias de famílias bacterianas observadas no estudo.....	64
Tabela 13 -	Efeito da dose de parede celular de levedura sobre as concentrações médias de famílias bacterianas observadas no estudo.....	65
Tabela 14 -	Concentrações médias de famílias bacterianas observadas nos diferentes tratamentos	65
Tabela 15 -	Efeito do estado de saúde sobre as concentrações médias dos gêneros bacterianos observados no estudo.....	70

Tabela 16 - Efeito da dose de parede celular de levedura sobre as concentrações médias dos gêneros bacterianos observados no estudo.....	70
Tabela 17 - Concentrações médias dos gêneros bacterianos observados no estudo.....	71
Tabela 18 - Coeficientes de digestibilidade aparente médios dos nutrientes e concentrações médias de produtos fermentativos observados nos grupos experimentais.....	72
Tabela 19 - Coeficientes de digestibilidade aparente médios dos nutrientes e concentrações médias de produtos fermentativos entre as doses experimentais.....	73
Tabela 20 - Coeficientes de digestibilidade aparente médios e produtos fermentativos entre os tratamentos.....	73
Tabela 21 - Efeitos dos filos e ordens bacterianas nas concentrações médias de ácidos graxos de cadeia curta e ácido láctico nas fezes.....	75
Tabela 22 - Efeitos das famílias bacterianas nas concentrações médias de ácidos graxos de cadeia curta e ácido láctico nas fezes.....	76
Tabela 23 - Efeitos dos gêneros bacterianos nas concentrações médias de ácidos graxos de cadeia curta e ácido láctico nas fezes.....	77

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	20
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	23
2.1	POPULAÇÃO DE GATOS.....	23
2.2	VIRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA FELINA	23
2.3	TÉCNICAS EMPREGADAS PARA CARACTERIZAR OS MICRORGANISMOS.....	27
2.4	MICROBIOTA DE ANIMAIS SAUDÁVEIS.....	29
2.5	MICROBIOTA DE ANIMAIS DOENTES.....	33
2.6	MODULAÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL E FECAL.....	36
3	OBJETIVOS.....	43
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	44
4.1	LOCAL DE CONDUÇÃO DO ENSAIO.....	44
4.2	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANIMAIS.....	44
4.3	DIETAS EXPERIMENTAIS E MANEJO DOS ANIMAIS.....	44
4.4	DETERMINAÇÃO DOS COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDADE APARENTE DOS NUTRIENTES.....	47
4.5	DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA E ÁCIDO LÁTICO NAS FEZES.....	45
4.6	AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DAS FEZES.....	49
4.6.1	Análise das sequências obtidas.....	50
4.7	PROCEDIMENTOS DE CÁLCULOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS.....	51
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
5.1	CARACTERIZAÇÃO DA COMUNIDADE BACTERIANA POR MISEQ ILLUMINA....	52
5.1.1	Filo e Ordem.....	56
5.1.2	Família.....	62
5.1.3	Gênero.....	66
5.2	PRODUTOS FERMENTATIVOS E DIGESTIBILIDADE.....	72
6	CONCLUSÕES.....	78
	REFERÊNCIAS	79

1 INTRODUÇÃO

Quando pensamos na possibilidade da introdução de um novo aditivo no mercado pet food, devemos sempre verificar se este acarretaria um acréscimo no custo do produto final em troca de potencial efeito benéfico ao animal. Portanto, a análise do mercado, bem como a interação tutor-animal é fundamental.

A população mundial de gatos é de 625 milhões e se apresenta em franca expansão (WORLD ATLAS, 2017). O estilo de vida da população urbana e a maior independência da espécie felina, provavelmente foram os fatores que colaboraram para o aumento no número de felinos nos lares dos brasileiros, fenômeno similar ao ocorrido nos Estados Unidos e Europa (CFMV, 2014; IBGE, 2014). O Brasil possui a terceira maior população de gatos do mundo, com 22,1 milhões, presentes em 17,7% dos domicílios do país, atrás dos Estados Unidos (76,5 milhões) e China (53 milhões) (IBGE, 2014; WORLD ATLAS, 2017). Porém, apesar da crescente aceitação do felino como animal de companhia, ainda se faz necessária a instrução dos tutores desta espécie sobre os riscos do acesso não supervisionado às ruas, juntamente com uma efetiva campanha de castração e conscientização sobre a disseminação de determinados patógenos, como o vírus da imunodeficiência felina (FIV).

A ocorrência do FIV no estado de São Paulo se apresenta entre 11,0% - 15,0% (RECHE JR; HAGIWARA; LUCAS, 1997; LARA; TANIWAKI; ARAUJO JÚNIOR, 2008). No entanto, os machos são mais infectados pelos vírus do que as fêmeas (RECHE JR; HAGIWARA; LUCAS, 1997; TEIXEIRA et al., 2007; LARA; TANIWAKI; ARAUJO JÚNIOR, 2008). Isso se deve ao fato de que gatos machos inteiros com livre acesso às ruas, frequentemente apresentam comportamento agressivo, por dominância, marcação de território e disputa por fêmeas em fase reprodutiva (LARA; TANIWAKI; ARAUJO JÚNIOR, 2008; LEVY et al., 2008a).

O FIV é um vírus pertencente à família *Retroviridae*, à subfamília *Orthoretrovirinae*, e ao gênero *Lentivirus* e acomete gatos domésticos em todo o mundo. Os animais infectados apresentam sintomas semelhantes aos de humanos infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) (PEDERSEN et al., 1989; BENDINELLI et al., 1995). Sendo que a relação existente entre a imunodeficiência, má nutrição e perda de peso merece destaque. Pessoas portadoras do HIV apresentam redução na digestibilidade aparente dos nutrientes e perda de peso, diminuição da ingestão voluntária de alimento, transtornos do trato gastrointestinal (atrofia parcial das vilosidades, hiperplasia das criptas, disfunção do íleo, má absorção de sais biliares e lipídios, redução na produção de suco gástrico e redução do tempo de trânsito intestinal) e prejuízos da integridade da barreira imune intestinal (GARCIA; QUINTAES; LEANDRO-MERHI, 2000).

O HIV é responsável pela redução da imunidade de seus hospedeiros e com isso predispõe à diversas co-infecções microbianas, onde microrganismos potencialmente patogênicos, como: *Samonella spp.*, *Shigella spp.*, *Campylobacter spp.*, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium xenopi*, *Chlamydia spp.*, *Candida spp.*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, se proliferam e modificam a microbiota intestinal, especialmente os gêneros, mas com poucos efeitos sobre os filos (NELSON et al., 1992; TEE; MIJCH, 1998; KOWNHAR et al., 2007; SAXENA et al., 2012). Com o desequilíbrio da microbiota intestinal, bactérias oportunistas como *Pseudomonas aeruginosa* e *Campylobacter jejuni*, colonizam a mucosa intestinal e desencadeiam infecções severas nestes pacientes, associada à alta morbidade (TEE; MIJCH, 1998; GORI et al., 2008). Adicionalmente, *Clostridium difficile* se apresentam como uma das causas de diarreia observada com frequência em pacientes HIV positivos (BARBUT et al., 1997).

Em gatos FIV negativos, os gêneros bacterianos com potencial patogênico presentes na microbiota intestinal são *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile*, *Campylobacter spp.*, *Enterococcus spp.*, *E. coli*, *Helicobacter spp* e *Salmonela spp.* (HANDL et al., 2011; MINAMOTO et al., 2012). De modo geral, observa-se que as bactérias patogênicas presentes no trato gastrintestinal de felinos são semelhantes às descritas para pacientes humanos HIV positivos.

O estudo do emprego de substâncias prebióticas com o intuito de amenizar os efeitos da doença em humanos apresenta resultados promissores. Com benefícios diretos na função imunológica e modulação da microbiota intestinal; com aumento na produção de ácidos graxos de cadeia curta, especialmente butírico, o que pode promover melhora na saúde de enterócitos e também para a regulação imune local e auxiliar no bem-estar geral dos indivíduos (GONZÁLEZ-HERNÁNDEZ et al., 2012; KLATT et al., 2013; VAN DEN NIEUWBOER et al., 2015).

Isso ocorre pelo papel fundamental da microbiota no estabelecimento da resposta imune. Compostos bacterianos se ligam a receptores nos enterócitos, o que ativa a secreção de fatores antimicrobianos que modulam a população autóctone, desta forma, impedem a proliferação de gêneros alóctones. Além disso, o contato destas bactérias com as células dendríticas estimula a proliferação de linfócitos B (DUERKOP; VAISHNAVA; HOOPER, 2009), os quais são responsáveis pelo desencadeamento da resposta imune local (FERLAZZO et al., 2011), a qual se encontra prejudicada nos indivíduos infectados pelo FIV e HIV.

Dentro deste contexto, o estudo do uso de substâncias moduladoras da microbiota na dieta é importante e pertinente. Com destaque para os prebióticos, os quais são definidos como ingredientes nutricionais não digeríveis, capazes de promover benefícios ao hospedeiro, por proliferação seletiva de bactérias intestinais benéficas (GIBSON; ROBERFROID, 1995). O controle da disbiose bacteriana no trato gastrointestinal é realizado pela indução do crescimento de bactérias benéficas como *Bifidobacterium spp.* e *Lactobacillus spp.*, o que evita a adesão das bactérias patogênicas às células epiteliais (SHOAF et al., 2006). Ademais, são capazes de induzir a proliferação e conservação das células epiteliais e assim, fortalecem a integridade da mucosa gastrointestinal (COMMANE et al., 2005).

Dentre os aditivos disponíveis, a parede celular de levedura (PCL) pode ser uma excelente opção, pois contém mananoligossacarídeo (VICKERS et al., 2001), composto não digerível pelo animal, que age como sítio de ligação para bactérias gram negativas (*E. Coli* e *Salmonella spp.*). Estas bactérias possuem fímbrias específicas (do tipo 1), as quais contém resíduos de D-manose, o que permite a sua adesão às células intestinais. Quando estas bactérias se ligam ao mananoligossacarídeo, sua adesão à mucosa intestinal fica impedida, sendo elas eliminadas com as fezes, o que reduz a sua concentração (FERKET; PARKS; GRIMES, 2002). Estudos demonstraram a efetividade desse prebiótico na modulação da microbiota e produtos fermentativos de cães (STRICKLING et al., 2000; SWANSON et al., 2002; ZENTEK; MARQUART; PIETRZAK, 2002; GRIESHOP et al., 2004; MIDDELBOSS et al., 2007; MIDDELBOSS; FASTINGER; FAHEY, 2007; GOMES, 2009; BELOSHAPKA et al., 2012, 2013; FÉLIX et al., 2013), no entanto, há poucas informações em gatos domésticos saudáveis (AQUINO, 2009; AQUINO et al., 2010; 2013; SANTOS, 2015; MATHEUS, 2016), sendo o presente estudo, o primeiro a avaliar o efeito de prebiótico em animais FIV positivos em comparação com gatos saudáveis.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 POPULAÇÃO DE GATOS

Nos últimos anos, a preferência por felinos como animais de companhia apresentou importante crescimento. No Brasil, a população de gatos cresceu em média 8,0% ao ano (CFMV, 2014). Provavelmente, tal mudança é devida aos hábitos dos felinos, animais independentes e muito higiênicos, associado ao cotidiano da vida moderna nas grandes cidades, como a substituição de casas por apartamentos, longa jornada de trabalho e pouco tempo disponível para os cuidados com o animal de estimação (CFMV, 2014). Levantamentos apontam que a população mundial de gatos é de 625 milhões e este número tende a aumentar (IBGE, 2014; WORLD ATLAS, 2017). Os países com maior população de felinos domiciliados são os Estados Unidos (76,5 milhões), China (53 milhões) e Brasil (22,1 milhões) (IBGE, 2014; WORLD ATLAS, 2017). No entanto, apesar da crescente aceitação do gato como animal de companhia, a instrução da população quanto aos cuidados com os felinos ainda se faz necessária, especialmente no Brasil (CFMV, 2014). Os tutores devem ser responsáveis pela esterilização e controle do acesso à rua de seus animais domésticos (CFMV, 2014), com o intuito de evitar crias indesejadas e disseminação de determinadas doenças, como infecções pelo FIV durante disputas por territórios e/ou fêmeas em cio (ICAMC, 2011).

2.2 VIRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA FELINA

O FIV é um vírus pertencente à família *Retroviridae*, à subfamília *Orthoretrovirinae*, e ao gênero *Lentivirus*; o qual acomete membros da família *Felidae* em todo o mundo e representa importante via de infecção viral para os gatos domésticos (*Felis catus*), apresenta tropismo por linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺, linfócitos B e células do sistema nervoso central (PEDERSEN et al., 1987; BARR et al., 1989; LETCHER; O'CONNER JR; O'CONNOR, 1991; TOMPKINS et al., 1991; HARTMANN, 2011; FILONI et al., 2012).

O primeiro relato de infecção por FIV em gatos no Brasil foi realizado no ano de 1993 (HAGIWARA; RECHE JUNIOR; DAGLI, 1993). Porém, poucos estudos descreveram a incidência, ecologia e aspectos clínicos deste vírus no nosso país, conforme descritos na tabela 1. A incidência da infecção nos Estados Unidos é de 2,0% em gatos saudáveis e próximo de 30,0% em animais de alto risco ou gatos doentes (O'CONNOR JR; TONELLI; SCARLETT, 1991; LEVY et al., 2006). Semelhante, no Brasil, em animais de baixo risco a incidência é de aproximadamente 3,0% e em animais com suspeita clínica de infecção pelo FIV pode chegar até 38,0% (CALDAS et al., 2000;

CAXITO et al., 2006). Estudos conduzidos em outros países demonstraram grande heterogeneidade de incidência da doença. Na Argentina, por exemplo, alguns autores ao avaliarem 26 gatos, constataram que 34,6% deles eram infectados pelo FIV (TOHYA et al., 1994), já no Equador, dos 52 gatos avaliados, nenhum era positivo para o FIV (LEVY et al., 2008b). Na Alemanha, em uma população de 17462 gatos domiciliados, 3,2% eram FIV⁺ (GLEICH; KRIEGER; HARTMANN, 2009). Mais recentemente, no México, amostras de sangue de 227 gatos domiciliados foram coletadas, e 2,5% eram positivas para o FIV (ORTEGA-PACHECO et al., 2014) e na Austrália, amostras de 2151 animais de abrigo foram avaliadas e, 6,0% eram FIV+. Em outro estudo, 2083 gatos domiciliados que apresentavam acesso externo sem supervisão foram avaliados e, 15,0% eram FIV+; e de 169 animais atendidos no Hospital Veterinário - 14,0% eram FIV⁺ (WESTMAN et al., 2016); no Reino Unido, ao avaliarem 726 gatos de abrigos - 9,5% eram FIV⁺ (STAVISKY; DEAN; MOLLOY, 2017).

Tabela 1 - Estudos epidemiológicos do vírus da imunodeficiência felina (FIV) realizados no Brasil.

Ano	Estado	Técnica	"n"	% FIV +	Referência
1997	São Paulo	ELISA	401	11,7	RECHE JR; HAGIWARA; LUCAS (1997)
2000	Rio Grande do Sul	PCR	40	37,5	CALDAS et al. (2000)
2002	Rio de Janeiro	ELISA	126	16,6	SOUZA; TEIXEIRA; GRAÇA (2002)
2006	Minas Gerais	PCR	450	2,66	CAXITO et al. (2006)
2007	Minas Gerais	PCR	145	4,14	TEIXEIRA et al. (2007)
2008	São Paulo	PCR	454	14,7	LARA; TANIWAKI; ARAÚJO JUNIOR (2008)
2011	São Paulo	PCR	302	5,63	SOBRINHO et al. (2011)
2017	Rio Grande do Norte	PCR	159	24,0	BARROS et al. (2017)
2017	Bahia	PCR e ELISA	200	6,0	LACERDA et al. (2017)

Legenda: n = número de animais; ELISA = ensaio de imunoadsorção enzimática; PCR = Reação em cadeia da polimerase.

Os fatores de risco incluem sexo masculino, não ser castrado, idade adulta, agressividade e apresentar acesso sem supervisão ao meio externo (LUTZ, 1990; NORRIS et al., 2007; TEIXEIRA et al., 2007; LARA; TANIWAKI; ARAUJO JÚNIOR, 2008; GLEICH; HARTMANN, 2009; GLEICH; KRIEGER; HARTMANN, 2009; ORTEGA-PACHECO et al., 2014; WESTMAN et al., 2016; STAVISKY; DEAN; MOLLOY, 2017). Dessa forma, gatos adultos machos que disputam por fêmeas ou território e que possuem contato com outros animais são os mais predispostos a se infectarem pelo FIV. Mesmo sem o comportamento agressivo, o contato com outros animais aumenta o risco de infecção. O manejo compartilhado de tigelas de alimentação e água pode ser suficiente para a transmissão do vírus (ADDIE et al., 2000; LACERDA et al., 2017). Outro fator que está correlacionado com o aumento da chance de infecção com o FIV é o animal viver em áreas periurbanas, pois existe a maior probabilidade de contato com outros gatos (LACERDA et al., 2017).

Os felinos infectados apresentam sintomas semelhantes aos de pessoas positivas para o vírus da imunodeficiência humana (HIV) (YAMAMOTO et al., 1988; OLMSTED et al., 1989; PEDERSEN et al., 1989; TOMPKINS et al., 1991; BENDINELLI et al., 1995). A infecção pelo FIV resulta em degeneração progressiva e lenta das funções imunológicas de seu hospedeiro, alterações que aumentam a predisposição à doenças e infecções secundárias; sendo o único lentivírus não primata que desencadeia doença semelhante a síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA) em seres humanos infectados pelo HIV do tipo 1, caracterizada pela depleção progressiva dos linfócitos T CD4⁺ (PEDERSEN et al., 1987; NOVOTNEY et al., 1990; BENDINELLI et al., 1995; LEVY et al., 2008a), também chamada de síndrome da imunodeficiência adquirida felina (SIDAF) (ENGLISH et al., 1994; GOTO et al., 2000). Semelhante ao HIV, os felinos são infectados pelo FIV através da exposição de mucosas, transfusão de sangue e por infecção vertical (pré-natal ou pós-natal) (YAMAMOTO et al., 1988, 1989; HOSIE et al., 2009). Devido a estas semelhanças, o FIV tem se tornado alvo de alguns estudos que objetivam o controle e tratamento desta doença em felinos, bem como no uso de gatos naturalmente infectados pelo FIV como modelo animal para melhor compreensão do HIV/SIDA (YAMAMOTO et al., 1988; OLMSTED et al., 1989; TOMPKINS et al., 1991; BENDINELLI et al., 1995; MEEKER; HUDSON, 2017).

Felinos e humanos apresentam manifestações clínicas relacionadas a transtornos no trato gastrointestinal (TGI) quando infectados pelo vírus da imunodeficiência (FIV ou HIV), tais como diarreia, perda de peso e desnutrição, o que predispõe à infecções por bactérias oportunistas (KOTLER et al., 1984; CHANG et al., 2008; VIJAY-KUMAR et al., 2010; SMITH et al., 2013). Especialmente relacionado às alterações do trato gastrointestinal, pode ocorrer atrofia parcial das vilosidades, hiperplasia das criptas, disfunção do íleo, má absorção de sais biliares e lipídios, redução na produção de suco gástrico e redução do tempo de trânsito intestinal (GARCIA; QUINTAES; LEANDRO-MERHI, 2000; PALUMBO, 2002). Tais transtornos resultam em diminuição na digestibilidade aparente dos nutrientes, perda de peso, redução da ingestão voluntária de alimento e prejuízo da integridade da barreira imune do intestino (GARCIA; QUINTAES; LEANDRO-MERHI, 2000; PALUMBO, 2002).

Porém, deve-se levar em consideração que a microbiota do TGI de felinos e humanos é diferente, em humanos é observada maior concentração de Firmicutes (mais de 70,0%) e Bacteroidetes (mais de 20,0%) (PLÉ et al., 2016). Já em felinos, não são detectadas bactérias gram-negativas e, ocorre maior abundância de Firmicutes (85,0%) e Actinobacteria (15,0%) devido a grande carga de *Bifidobacterium* (PLÉ et al., 2016). Além disso, aproximadamente 50,0% da comunidade bacteriana é composta por *Clostridium*, enquanto que em humanos, este grupo representa apenas 5,0% do total de bactérias (PLÉ et al., 2016).

As principais infecções microbianas em humanos HIV positivos descritas na literatura são: *Samonella spp.*, *Shigella spp.*, *Campylobacter spp.*, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium xenopi*, *Chlamydia spp.*, *Candida spp.*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* (NELSON et al., 1992; TEE; MIJCH, 1998; KOWNHAR et al., 2007; SAXENA et al., 2012). Bactérias oportunistas como *Pseudomonas aeruginosa*, *Campylobacter jejuni* e *Clostridium difficile* também foram associadas à infecções mais severas e com alta morbidade nestes pacientes (BARBUT et al., 1997; TEE; MIJCH, 1998; GORI et al., 2008). Alguns estudos apontaram o aumento dos filos Proteobacteria e Fusobacteria em humanos HIV positivos (VUJKOVIC-CVIJIN et al., 2013; VOLPE et al., 2014; DINH et al., 2015). Na mesma linha, o aumento de Proteobacteria foi encontrado em indivíduos com disbiose ou doentes (KAAKOUSH et al., 2012; SUCHODOLSKI et al., 2012a; KUMP et al., 2013). Outro estudo apontou redução de Roseburia, Coprococcus, Ruminococcus, Eubacterium, Alistipes e Lachnospira na microbiota retal de humanos HIV positivos (MCHARDY et al., 2013).

Um estudo recente avaliou a microbiota de 16 gatos infectados pelo FIV (FIV⁺) e comparou com a microbiota de 15 gatos FIV negativos (FIV⁻), utilizando a técnica Illumina. Animais sem alterações gastrintestinais foram utilizados para coleta da amostra fecal (swab retal). Entre os filos encontrados, os mais frequentes foram Firmicutes, seguido por Proteobacteria e Actinobacteria, sem diferença entre os grupos. Com relação às ordens, os animais FIV⁺ apresentaram maior abundância de Bifidobacteriales, Lactobacillales e Aeromonadales. Porém, não foi observada diferença nos gêneros bacterianos entre os grupos (WEESE et al., 2015). O fato dos animais FIV⁺ apresentarem maior abundância de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* foi surpreendente, pois são gêneros desejáveis, podendo desempenhar papel positivo em animais com doença do trato gastrintestinal, especialmente em casos de diarreia induzida pelo estresse e principalmente por reduzir o tempo para a melhora clínica em comparação à terapias tradicionais (JUGAN et al., 2017).

Algumas condições clínicas foram associadas ao aumento de Lactobacilos, como o diabetes do tipo 2 em pessoas, com esta condição associada à inflamações crônicas (SATO et al., 2014). No entanto, a inflamação intestinal foi associada à redução de Lactobacilos em cães (SAUTER et al., 2005). Outro achado interessante foi a menor frequência dos membros da ordem *Clostridiales*, principalmente os *Ruminococcaceae* e *Lachnospiraceae*, em gatos FIV⁺. Adicionalmente, foi observado aumento de *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae* e *Blautia* nos animais saudáveis (WEESE et al., 2015). As ordens *Ruminococcaceae* e *Lachnospiraceae* foram associadas como benéficas ao TGI e sua redução pode resultar em alterações gástricas em diferentes espécies (ANTHARAM et al., 2013; RAMADAN et al., 2014; WEESE et al., 2015). Com base na revisão levantada, pôde-se constatar que existem poucas informações sobre a microbiota do TGI de felinos FIV⁺ e sobre o seu papel na saúde destes pacientes.

2.3 TÉCNICAS EMPREGADAS PARA CARACTERIZAR OS MICRORGANISMOS

Para se investigar o microbioma intestinal e fecal dos gatos, diversas técnicas foram utilizadas ao longo do tempo. Como exemplos, pode-se citar o plaqueamento, hibridização fluorescente *in situ* (FISH) e reação em cadeia da polimerase quantitativa (qPCR). A partir das análises por estes métodos constatou-se que o felino doméstico abriga uma grande proporção de espécies clostridiais, como também de *Lactobacillus spp.* e *Escherichia spp.* e, ocasionalmente bifidobactérias (SPARKES et al., 1998; INNESS et al., 2007). Porém, é importante destacar que cerca de 99,0% das bactérias intestinais não podem ser cultivadas por técnicas padrões de plaqueamento (GERMAN et al., 2003; TAP et al., 2009). Dessa forma, esta técnica acaba não sendo adequada para a caracterização detalhada de ambientes complexos, como o TGI dos mamíferos (SUCHODOLSKI, 2016). Portanto, a utilização de outras técnicas de sequenciamento são importantes para se determinar um panorama geral da microbiota intestinal e fecal. As razões para a incapacidade de se cultivar a maioria das bactérias intestinais se deve ao fato do desconhecimento dos requisitos para o ótimo crescimento das mesmas. Adicionalmente, a maioria das bactérias do TGI de cães e gatos é anaeróbica, sendo muito frágeis ao manuseio e, estima-se que apenas 20,0% das bactérias intestinais sejam passíveis de serem cultivadas por técnicas laboratoriais padrões (SUCHODOLSKI, 2016).

As técnicas moleculares, por outro lado, buscam identificar os microrganismos por identificação de substâncias específicas dentro da célula (ex.: DNA ou RNA) (ZUCKERKANDL; PAULING, 1965). O uso do PCR foi bastante empregado para caracterizar a microbiota do TGI. No entanto, apenas fornece informações de presença ou ausência dos genes alvos. A técnica de qPCR permite a quantificação das bactérias, por meio de uma reação de fluorescência que mapeia o crescimento da quantidade de DNA em proporção ao aumento do sinal de fluorescência, o que gera informações de quantidade (GARCIA-MAZCORRO; MINAMOTO, 2013). Além disso, é importante se levar em consideração que os filótipos bacterianos podem possuir múltiplas cópias do gene 16S rRNA, e podem variar entre as espécies bacterianas, com presença entre 1 à 15 cópias do gene 16S rRNA. Sendo assim, deve-se tomar cautela ao se utilizar os resultados de qPCR, pois eles não devem ser diretamente correlacionados à contagem absoluta de células bacterianas (ACINAS et al., 2004; LEE et al., 2008; SUCHODOLSKI, 2016). No entanto, o uso desta técnica é amplamente realizado para identificação da abundância de certas bactérias em estudos conduzidos com cães e gatos (GRØNVOLD et al., 2010; GARCIA-MAZCORRO et al., 2011). Outra técnica utilizada é o FISH, através da qual é possível se quantificar as células bacterianas por identificação direta do 16S rRNA, pelo emprego de oligonucleotídeos marcados com fluorescência. Dessa forma, pode-se teoricamente desenvolver marcadores capazes de detectar microrganismos em todos os níveis taxonômicos (isto é,

Filo, Classe, Ordem, Família, Gênero). No entanto, devido a grande semelhança na composição do gene 16S rRNA entre microrganismos, essa possibilidade se torna praticamente inviável (GARCIA-MAZCORRO; MINAMOTO, 2013). Porém, uma vantagem é a capacidade de fornecer informações importantes sobre a morfologia e distribuição espacial de microrganismos no TGI (SIMPSON et al., 2006).

Tecnologias de sequenciamento buscam identificar cada amplicon do gene 16S rRNA, estimando a ordem dos pares de base, ou seja o sequenciamento. No entanto, quando se trabalha com ecossistemas complexos, como o TGI, onde milhares de microrganismos interagem entre si, faz-se necessária a clonagem e sequenciamento de milhares de amplicons individuais para se obter uma visão realmente representativa da composição microbiana a ser estudada (GARCIA-MAZCORRO; MINAMOTO, 2013). Com o uso da técnica de pirosequenciamento e Illumina é possível sequenciar milhões de pares de base em pouco tempo (MARGULIES et al., 2005; GARCIA-MAZCORRO; MINAMOTO, 2013) e, estudos em cães e gatos demonstraram o uso destes métodos com sucesso (SUCHODOLSKI et al., 2009; MIDDELBOSS et al., 2010; GARCIA-MAZCORRO et al., 2011; HANDL et al., 2011; DEUSCH et al., 2014). Além disso, diversas plataformas foram desenvolvidas, como a QIIME (Quantitative Insights in Microbial Ecology¹), as quais são capazes de analisar milhares de sequências em curto espaço de tempo e oferecem guias completos gratuitos para iniciantes e conselhos de especialistas para usuários mais avançados (GARCIA-MAZCORRO; MINAMOTO, 2013). Por este motivo, ferramentas moleculares como técnicas de sequenciamento de última geração (NGS) são mais recomendadas, pois permitem uma visão mais ampla da comunidade bacteriana (TUN et al., 2012). Porém, é importante ressaltar que a proporção de bactérias pode variar de acordo com espécie, dieta, idade, ambiente e métodos analíticos, como coleta e manipulação da amostra, método de extração do DNA e RNA, *primers* e técnica empregada (MINAMOTO et al., 2012; GARCIA-MAZCORRO; MINAMOTO, 2013; KERR; DOWD; SWANSON, 2014; DENG; SWANSON, 2015; GRZEŚKOWIAK et al., 2015). Na tabela 2 está apresentado um resumo das principais vantagens e desvantagens das técnicas mais empregadas para identificação da microbiota gastrointestinal e fecal.

Tabela 2 - Resumo das principais técnicas empregadas para o estudo da microbiota gastrointestinal e fecal.

Técnica	Alvo	Vantagens	Desvantagens	Referência
Cultura	Microrganismos	Baixo custo, permite caracterização fenotípica	Tempo demorado, não representativo, dificuldade de cultivar a maioria das bactérias intestinais	GERMAN et al. (2003); RITZ (2007); GOODMAN et al. (2011)
PCR	Genes específicos	Baixo custo	Avaliação qualitativa (presença ou ausência do gene)	RÅDSTRÖM et al. (2004)
qPCR	Genes específicos	Permite quantificação	É impreciso extrapolar cópias de genes para números de células bacterianas	KLEIN (2002); MACKAY (2004); SUCHODOLSKI (2016)
Pirosequenciamento	Genes específicos	Alto rendimento com precisão superior a 99,9%	Baixo rendimento	RONAGHI et al. (1996); MARGULIES et al. (2005); KUNIN et al. (2010)
Illumina	Genes específicos	Rendimento mais alto do que o pirosequenciamento e com precisão similar e de menor custo	Os erros durante o procedimento de sequenciamento podem aumentar artificialmente a diversidade	PETTERSSON et al. (2009); CAPORASO et al. (2012); LUO et al. (2012); KOZICH et al. (2013)

Legenda: PCR = Reação em cadeia da polimerase; qPCR = PCR quantitativo.

2.4 MICROBIOTA DE ANIMAIS SAUDÁVEIS

Pelo uso da técnica de análise do gene 16S rRNA foi encontrado que o filo predominante em gatos adultos é o Firmicute (RITCHIE; STEINER; SUCHODOLSKI, 2008; HANDL et al., 2011) e que mais de 98,0% da microbiota do TGI de felinos é composta por Firmicutes, Bacteroidetes e Actinobacteria (BELL et al., 2014). HANDL et al. (2011) enfatizaram que o filo Firmicutes é constituído em sua maioria por: *Clostridium* (clusters XIVa e XI), *Ruminococcus*, *Erysipelotrichi* e *Bacilli*; sendo eles relevantes por serem quase que exclusivamente constituídos pela ordem *Lactobacillales*, principalmente os gêneros *Enterococcus spp.* e *Lactobacillus spp.* De forma semelhante, RITCHIE et al. (2010) destacaram que o filo Firmicutes é quase que exclusivamente composto por: *Clostridium* cluster XI, I, XIVa e IV; os quais são importantes produtores de butirato e outros ácidos graxos de cadeia curta (AGCC).

Em animais com diferentes faixas etárias com uso da técnica de cultura, foi possível se verificar que a microbiota altera com o envelhecimento e, este implica em redução de *Enterococcus* em gatos na faixa de idade dos 16 aos 19 anos. Além disso, os autores encontraram dificuldade na identificação de *Bifidobacteria* em animais idosos (10-14 anos) ou senis e *Lactobacilos* em todas as faixas etárias (12 dias – 19 anos). Animais em pré-desmame (12-13 dias) apresentaram maior número de *Enterobacteriaceae* em comparação aos demais e, maior número de *Eubacteria* em comparação aos desmamados e gatos jovens (2-3 anos). Enquanto que, animais desmamados (7-8 semanas) apresentaram maior número de *Bacteroidaceae* em comparação aos demais. Os gêneros *Megasphaera*

e *Straphylococcus* foram identificados somente em gatos jovens e senis, com taxa de detecção de *Megasphaera* maior em gatos jovens e *Straphylococcus* maior em gatos jovens e senis em comparação aos demais grupos. Com relação a quantidade total de bactérias, em gatos desmamados o seu número foi superior aos demais. Neste mesmo estudo, com o uso do qPCR foi possível identificar que animais em pré-desmame e jovens apresentaram *L.Reuteri*, enquanto animais idosos e senis apresentaram *L. animalis*. Sendo que, o grupo senil foi o que apresentou maior diversidade de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*: *B. Longum* subsp. *suis*, *B. pseudocatenulatum*, *L. fermentum*, *L. johnsonii* e *L. mucosae*, enquanto que os animais idosos apresentaram *B. Longum* subsp. *longum*. *Lactobacillus* foi identificado em todas as faixas etárias e *Bifidobacterium* apenas em 35 amostras de 50, sendo que os animais senis apresentaram maior número de cópias que os animais jovens e idosos. Foi possível verificar neste estudo que com o método de cultura foi difícil a identificação de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, no entanto, ao se utilizar o qPCR, *Bifidobacterium* foi detectado em 70,0% dos gatos e *Lactobacillus* em todos os grupos, mesmo que em baixa contagem, sendo considerado pelos autores como um dos menores componentes da microbiota intestinal de gatos (MASUOKA et al., 2017).

Através do emprego do sequenciamento por cpn 60 (chaperonina 60kDa), foi possível se determinar filos predominantes nas fezes de felinos - o Actinobacteria (com maior concentração de *Bifidobacterium spp.*) e Firmicutes (com maior concentração de *Lactobacilli spp.*), enquanto a população de Proteobacteria foi a que apresentou o menor número de clones (DESAI et al., 2009). Com o uso da técnica FISH, em gatos adultos, encontrou-se altas concentrações de Bacteroidetes (*Bacteroides spp.*), Actinobacteria (*Bifidobacterium spp.*), Firmicutes (*Clostridium histolyticum* e *Lactobacillus-Enterococcus*), e Proteobacteria (*Desulfovibrio spp*) (INNESS et al., 2007). De forma contrária, em gatos adultos foi encontrada maior concentração de Atopobium (38,1%) e Bifidobacteria (29,8%) (ABECIA et al., 2010). Já em gatos idosos, foi constatado que as bactérias mais predominantes foram Actinobacteria (*Coriobacteriaceae* e *Bifidobacterium*) e Firmicutes (*Clostridium* cluster XIV e bactérias ácidos lácticas) (JIA et al., 2011a); em filhotes, também foi encontrada maior concentração de *Clostridium* cluster XIV, Bifidobacteria e bactérias ácido-láticas e, adicionalmente, bactérias do gênero Atopobium (JIA et al., 2011b). As espécies que pertencem ao gênero Atopobium são *Lactobacillus minutus*, *Lactobacillus rimae* e *Streptococcus paarvulus* (COLLINS; WALLBANKS, 1992).

Através do emprego do pirosequenciamento 454, foi constatado que os filos mais abundantes nos gatos adultos foram: Firmicutes (92,0-95,0%) e Actinobacteria (4,0-7,0%) (GARCIA-MAZCORRO et al., 2011); porém, outro estudo encontrou os filos Firmicutes (36,0-50,0%), Bacteroidetes (24,0-36,0%) e Proteobacteria (11,0-12,0%) como mais abundantes (BARRY et al., 2012). Outro trabalho corroborou os achados de BARRY et al. (2012), onde também foram

encontrados como filos predominantes Bacteroidetes/Chlorobi (67,5%), seguido por Firmicutes (13,0%), Proteobacteria (5,9%) e Actinobacteria (1,2%) (TUN et al., 2012). Em gatos filhotes, os mais abundantes foram: Firmicutes (72,6-80,1%), Actinobacteria (4,5-28,4%), Fusobacteria (0,07-12,9%) e Proteobacteria (0,08-3,6%) (HOODA et al., 2013). Com o uso do Illumina, semelhante ao trabalho anterior, também em gatos filhotes, o filo Firmicutes (46,0-61,8%) foi o predominante, seguido por Bacteroidetes (17,1-36,0%), Actinobacteria (4,2-17,7%), Proteobacteria (2,0-5,9%) e Fusobacteria (0,2-2,4%) (DEUSCH et al., 2014).

Deve-se levar em consideração que bactérias potencialmente benéficas, como *Bifidobacterium spp.* e *Lactobacillus spp.*, foram observadas em baixa porcentagem (13,3%) entre os gêneros encontrados nas fezes avaliadas através de *primer* universal. Porém, com o uso de *primers* específicos, foi verificado que 92,0% dos animais apresentavam *Lactobacillus spp.* e 100% *Bifidobacterium spp.* (RITCHIE et al., 2010). Da mesma forma, outros autores não encontraram a presença de *Bifidobacterium spp.* e observaram baixíssima porcentagem de *Lactobacillus spp.* nas fezes de cães através da avaliação com *primers* universais (BELOSHAPKA et al., 2013). Na tabela 3 está apresentado um compilado de estudos que avaliaram a microbiota do TGI de felinos e a abundância dos filos bacterianos presentes nestes animais.

Tabela 3 - Filos mais abundantes na microbiota do trato gastrointestinal de gatos.

Animais	Filos bacterianos	Referência
Gatos saudáveis	Firmicutes e Actinobacteria	PLÉ et al. (2016)
Gatos saudáveis	Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria, Fusobacteria e Actinobacteria	DENG; SWANSON (2015)
Gatos saudáveis	Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Proteobacteria e Fusobacteria	DEUSCH et al. (2014)
Gatos saudáveis	Firmicutes, Bacteroidetes e Actinobacteria	BELL et al. (2014)
Gatos filhotes saudáveis	Firmicutes, Actinobacteria, Fusobacteria e Proteobacteria	HOODA et al. (2013)
Gatos saudáveis	Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria e Proteobacteria	MINAMOTO et al. (2012)
Gatos saudáveis	Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria, Actinobacteria	BARRY et al. (2012)
Gatos saudáveis	Bacteroidetes/Chlorobi, Firmicutes, Proteobacteria, Actinobacteria, Fusobacteria, Chlamydiae/Verrucomicrobia	TUN et al. (2012)
Gatos saudáveis	Firmicutes e Actinobacteria	HANDL et al. (2011)
Gatos idosos saudáveis	Actinobacteria e Firmicutes	JIA et al. (2011a)
Gatos filhotes saudáveis	Actinobacteria e Firmicutes	JIA et al. (2011b)
Gatos saudáveis	Firmicutes e Actinobacteria	GARCIA-MAZCORRO et al. (2011)
Gatos saudáveis	Firmicutes, Proteobacteria, Bacteroidetes, Actinobacteria e Fusobacteria	RITCHIE et al. (2010)
Gatos saudáveis	Actinobacteria	ABECIA et al. (2010)
Gatos saudáveis	Actinobacteria e Firmicutes	DESAI et al. (2009)
Gatos saudáveis	Firmicutes, Proteobacteria, Bacteroidetes, Fusobacteria e Actinobacteria	RITCHIE et al. (2008)
Gatos saudáveis	Bacteroidetes, Actinobacteria, Firmicutes e Proteobacteria	(INNESS et al. 2007)

Com relação às famílias mais abundantes na microbiota intestinal de gatos filhotes, um estudo avaliou por meio da técnica de pirosequenciamento 454 e encontrou Firmicutes, Veillonellaceae, Ruminococcaceae, Clostridiaceae, Erysipelotrichaceae, Lachnospiraceae, Lactobacillaceae e Eubacteriaceae (HOODA et al., 2013).

Dentre as bactérias com potencial benefício à saúde intestinal, as do gênero *Lactobacillus* e *Streptococcus* são consideradas importantes, pois o produto final de seu metabolismo sacarolítico é o ácido lático (TORTORA; FUNKE; CASE, 2015). O ácido lático tem capacidade de reduzir o pH e, por consequência, promover a modulação das bactérias, com redução das que são potencialmente patogênicas (CARBONERA; SANTO, 2010). Além disso, as bactérias do gênero *Bifidobacteria* são capazes de produzir ácido acético e lático como produtos finais de seu metabolismo (LOUIS et al., 2007). No entanto, apesar de não possuírem a capacidade de produzir butirato, apresentam metabolismo cruzado com as bactérias butíricas, o que pode promover aumento da concentração deste ácido graxo de cadeia curta (DUNCAN; LOUIS; FLINT, 2004; BELENGUER et al., 2006). Outra bactéria com potencial efeito benéfico é a *Eubacterium spp.*, a qual está envolvida na produção de butirato, lactato e acetato (LOUIS et al., 2007).

A microbiota intestinal é um ecossistema complexo e dinâmico, o que faz com que seja necessária a associação de técnicas moleculares para avaliação e diagnóstico de disbiose em animais, entre as recomendadas estão: amplificação de genes 16S rRNA e avaliação de primers bacterianos universais com PCR, seguido por sequenciamento de última geração (NGS), quantificação direta de bactérias específicas por qPCR e o uso de FISH para visualizar a translocação de bactérias pela mucosa intestinal. Adicionalmente, recomenda-se a avaliação dos metabólitos bacterianos, como ácidos biliares fecais e/ou AGCC, para se determinar a função microbiana além de correlacionar com mudanças no sistema imunológico do hospedeiro (SUCHODOLSKI, 2016).

2.5 MICROBIOTA DE ANIMAIS DOENTES

A alteração na comunidade microbiana pode contribuir para distúrbios intestinais em animais e humanos, não somente por aumento dos enteropatógenos no TGI, mas também devido a função que a microbiota saudável exerce em muitos processos metabólicos no hospedeiro (ex.: metabolismo do ácido biliar e fermentação de carboidratos e proteínas não digeríveis) (DENG; SWANSON, 2015).

Os gêneros potencialmente patogênicos encontrados em felinos saudáveis foram *Clostridium perfringens*, *Enterococcus spp.*, *E. coli* e *Helicobacter spp.* (HANDL et al., 2011). Além destes, outros autores encontraram os gêneros *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Listeria*, *Clostridium*, *Salmonella*, *E. coli*, *Yersinia*, *Shigella*, *Vibrio*, *Campylobacter* e *Helicobacter* (TUN et al., 2012). Em revisão de literatura foi apontado que os felinos apresentaram diversos gêneros relacionados à enteropatias em humanos, como *Salmonella spp.*, *Clostridium difficile*, *Clostridium perfringens*, *Campylobacter spp.*, *E. coli* e *Helicobacter spp.*, porém, sem relação com alterações do TGI, como diarreia, pois a patogenicidade depende da virulência das cepas e a taxa de incidência destes microrganismos no TGI, *status* imunológico dos animais e equilíbrio da microbiota (MINAMOTO et al., 2012).

Baseado nos achados de literatura, as principais bactérias avaliadas com potencial patogenicidade são *E. coli*, *Salmonella spp.* e *Clostridium perfringens*. Isso se deve ao fato da bactéria *E. coli* (filo Proteobacteria e família Enterobacteriaceae) estar associada à lesões histopatológicas, diarreia, hemorragia, edema e liberação de citocinas (NATARO; KAPER, 1998); *Salmonella spp.* (filo Proteobacteria e família Enterobacteriaceae) estar associada à alterações no TGI, como diarreia, descamação de enterócito, alteração de transportadores de mucosa intestinal e anorexia (APANAVICIUS et al., 2007; KERR; DOWD; SWANSON, 2014); *Campylobacter spp.* (filo Proteobacteria, família Campylobacteraceae) estar associada à alterações no TGI (MAUKONEN, 2012; TORTORA; FUNKE; CASE, 2015); e *Clostridium perfringens* (filo Firmicutes e família Clostridiaceae) estar relacionado à diversas alterações gastrintestinais e à gangrena gasosa em seres humanos (TORTORA; FUNKE; CASE, 2015).

Porém, em cães e gatos, a patogenicidade do *C. perfringens* ainda é incerta (SILVA; LOBATO, 2015), bem como dos diversos gêneros relacionados à enteropatias - *Salmonella spp.*, *Clostridium difficile*, *Campylobacter spp.*, *E. coli* e *Helicobacter spp.* (MINAMOTO et al., 2012). Outro potencial patógeno é a *Chlamydia* (filo Chlamydiae e família Chlamydiaceae) (LONGBOTTOM; COULTER, 2003), a qual está associada à conjuntivite, febre, letargia, claudicação e redução de peso corporal (TERWEE et al., 1998). Apesar dos estudos sobre esta bactéria em felinos focarem na conjuntivite, ela também apresenta capacidade de colonizar a mucosa gástrica de gatos (HARGIS; PRIEUR;

GAILLARD, 1983; GAILLARD et al., 1984). Os principais sinais de infecção observados são lesões de conjuntivite, rinite e gastrite após a inoculação do aerossol oral do microrganismo (GAILLARD et al., 1984). Portanto, todas as bactérias supracitadas podem potencialmente promover a disbiose no intestino grosso, a qual está associada à redução de bactérias produtoras de AGCC, indóis e outros metabólitos imunomoduladores [ex.: *Blautia spp.*, *Faecalibacterium spp.*, Ruminococcaceae e *Turicibacter spp.* (SUCHODOLSKI, 2016)]. Complementar, a redução de Ruminococcaceae e *Faecalibacterium spp.* está relacionada com menor concentração de propionato fecal e aumento de butirato fecal em cães com diarreia aguda (GUARD et al., 2015) e doença intestinal inflamatória idiopática (DII) (MINAMOTO et al., 2015).

Cães com diarreia apresentaram maiores concentrações de *Clostridium perfringens*, *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium* (BELL et al., 2008), e baixa abundância de Bacteroidetes (*Bacteroides vulgatus*) (CHABAN; LINKS; HILL, 2012). Cães com diarreia crônica apresentaram maiores concentrações de *Bacteroides spp.* e baixa abundância de *Lactobacillus-Enterococcus* em comparação aos saudáveis (JIA et al., 2010). Em estudo que comparou cães com diarreia hemorrágica (DH) e não hemorrágica (DNH), foi relatado que animais com DH apresentaram baixa abundância de *Blautia* e Ruminococcaceae (*Faecalibacterium* e *Turicibacter*) e alta de *Sutterella* e *Clostridium perfringens*, enquanto que cães com DNH, apresentaram alta abundância de *Clostridium* (SUCHODOLSKI et al., 2012b).

Gatos com DII apresentaram menor contagem de *Bifidobacterium spp.* e *Bacteroides spp.* e aumento de *Desulfovibrio spp.* (INNESS et al., 2007) e, Enterobacteriaceae (JANECZKO et al., 2008), em comparação à animais saudáveis. Cães com DII apresentaram baixa abundância de Bacteroidetes e alta de Enterobacteriaceae e Clostridiaceae (XENOULIS et al., 2008). Adicionalmente, alta abundância de Proteobacteria e baixa de Clostridia, alta contagem de *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Conchiformibious*, *Achromobacter*, *Brucella* e *Brevundimonas* (SUCHODOLSKI et al., 2010). Complementar, outro estudo, através do emprego da técnica de pirosequenciamento, encontrou menor abundância de Fusobacteria, Bacteroidetes (Bacteroidaceae e Prevotellaceae) e Firmicutes (Clostridiales) e, alta concentração de Proteobacteria (*Diaphorobacter* e *Acinetobacter*) (SUCHODOLSKI et al., 2012a).

Ao se comparar animais em sobrepeso/obesos e magros foi possível identificar que os animais obesos apresentaram menor contagem de *Clostridium* cluster XIVa, Bacteroidetes, Fusobacteria e Epsilonproteobacteria e maior de *Clostridium* cluster IV e *Enterobacteriaceae* em comparação aos gatos magros (KIELER et al., 2016). Complementar, outros autores avaliaram a diferença da microbiota do TGI de gatos magros e obesos, castrados e inteiros, os filos mais abundantes eram Firmicutes (65,8%), Bacteroidetes (25,2%), Proteobacteria (3,5%), Actinobacteria (2,2%) e

Fusobacteria (0,3%); gatos magros castrados apresentaram maior proporção de Firmicutes (Peptostreptococcaceae) e menor de Bacteroidetes (Prevotellaceae) em comparação aos gatos obesos castrados; maior abundância de *Prevotella*, *Acidominococcus*, *Bulleidia* e *Phascolarctobacterium* e menor de *Blautia* e *Clostridium* foi observada nos gatos obesos castrados; após a perda de peso houve redução de *Acidominococcus* e aumento de *Staphylococcus* (FISCHER et al., 2017). Os membros do filo Firmicutes, em especial os dos gênero *Clostridium* estão correlacionados de forma positiva com a oxidação de carboidratos e negativa à oxidação de gorduras (KELDER et al., 2014). O aumento de Preptostreptococcaceae foi correlacionado de forma negativa com a expectativa de vida de ratos e com o aumento do gasto energético (ZHANG et al., 2013). A presença de *Roseburia* e *Clostridium* cluster XIVa foram correlacionadas de forma negativa com hiperglicemia de jejum, intolerância à glicose, acúmulo de triglicerídeos no fígado e hipercolesterolemia (NEYRINCK et al., 2012), além de serem produtoras de butirato (DUNCAN et al., 2002), o qual está associado a diversos benefícios à saúde, incluindo redução do ganho de peso corporal e aumento da sensibilidade à insulina e aos hormônios de saciedade (CANANI et al., 2011; TOLHURST et al., 2012). Portanto, animais obesos apresentam uma população microbiana que pode afetar pontos de regulação da entrada de energia para as células, metabolização de nutrientes e saciedade. Na tabela 4 encontra-se apresentado um compilado de estudos que apontam as principais alterações na microbiota do TGI de cães e gatos implicadas por diferentes afecções.

Em gatos infectados pelo FIV, foi encontrada maior abundância de *Bifidobacteriales*, *Lactobacillales* e *Aeromonadales*, menor de Clostridiales (principalmente os *Ruminococcaceae* e *Lachnospiraceae* (WEESE et al., 2015). Vale destacar que esse foi o primeiro estudo em animais domésticos que encontrou maiores concentrações de grupos bacterianos que até então eram considerados benéficos e desejáveis (como o *Bifidobacterium* e *Lactobacilos*) em animais doentes, quando comparado com gatos saudáveis. De forma semelhante, em estudo com cães diagnosticados com insuficiência pancreática exócrina (IPE), foi encontrada maior abundância de Bifidobacteriaceae, Enterococcaceae e Lactobacillaceae (ISAIAH et al., 2017). Deste modo, é importante ressaltar que ainda não se sabe ao certo o real papel destas bactérias nestas doenças, bem como se seu aumento é desejável ou não.

Tabela 4 - Alterações na microbiota intestinal e fecal de cães e gatos doentes.

Animais	Filos bacterianos	Referência
Gatos com DII	Menor abundância de <i>Bifidobacterium spp.</i> e <i>Bacteroides spp.</i> e maior de <i>Desulfovibrio spp.</i>	INNESS et al. (2007)
Gatos com DII	Maior abundância de Enterobacteriaceae	JANECZKO et al. (2008)
Cães com DII	Menor abundância de Bacteroidetes e maior de Enterobacteriaceae e Clostridiaceae	XENOULIS et al. (2008)
Cães com diarreia	Maior abundância de <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> e <i>Enterococcus faecium</i>	BELL et al. (2008)
Cães com diarreia crônica	Maior abundância de <i>Bacteroides spp.</i> e menor de <i>Lactobacillus-Enterococcus</i>	JIA et al. (2010)
Cães com DII	Maior abundância de Proteobacteria e menor de Clostridia; alta contagem de <i>Pseudomonas</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Conchiformibious</i> , <i>Achromobacter</i> , <i>Brucella</i> e <i>Brevundimonas</i>	SUCHODOLSKI et al. (2010)
Cães com diarreia	Baixa abundância de Bacteroidetes (<i>Bacteroides vulgatus</i>)	CHABAN; LINKS; HILL (2012)
Cães com DII	Menor abundância de Fusobacteria, Bacteroidetes (Bacteroidaceae e Prevotellaceae) e Firmicutes (Clostridiales) e, maior de Proteobacteria (<i>Diaphorobacter</i> e <i>Acinetobacter</i>)	SUCHODOLSKI et al. (2012a)
Cães com diarreia hemorrágica e não hemorrágica	Cães com diarreia hemorrágica: menor abundância de Blautia e Ruminococcaceae (<i>Faecalibacterium</i> e <i>Turicibacter</i>) e maior de <i>Sutterella</i> e <i>Clostridium perfringens</i>	SUCHODOLSKI et al. (2012b)
Gatos FIV ⁺	Cães com diarreia não hemorrágica: maior abundância de <i>Clostridium</i> , Maior abundância de <i>Bifidobacteriales</i> , <i>Lactobacillales</i> e <i>Aeromonadales</i> , Menor de Clostridiales (principalmente os <i>Ruminococcaceae</i> e <i>Lachnospiraceae</i>)	WEESE et al. (2015)
Gatos em sobrepeso/obesos	Menor abundância de <i>Clostridium</i> cluster XIVa, <i>Bacteroidetes</i> , Fusobacteria e Epsilonproteobacteria e maior de <i>Clostridium</i> cluster IV e <i>Enterobacteriaceae</i>	KIELER et al. (2016)
Gatos obesos	Menor abundância de Firmicutes e maior de Bacteroidetes Maior abundância de <i>Prevotella</i> , <i>Acidominococcus</i> , <i>Bulleidia</i> e <i>Phascolarctobacterium</i> e menor de <i>Blautia</i> e <i>Clostridium</i>	FISCHER et al. (2017)
Cães com IPE	Maior abundância de Bifidobacteriaceae, Enterococcaceae e Lactobacillaceae	ISAIAH et al. (2017)

Legenda: FIV⁺: gatos infectados pelo vírus da imunodeficiência felina; DII: doença intestinal inflamatória; IPE: insuficiência pancreática exócrina.

2.6 MODULAÇÃO DA MICROBIOTA INTESTINAL E FECAL

O equilíbrio do ecossistema microbiano é fundamental para a saúde do hospedeiro, pois estimula o sistema imunológico, controla a proliferação de enteropatógenos e promove benefícios nutricionais. Os efeitos imunológicos da presença de bactérias benéficas se deve ao seu contato direto com o sistema imune nato ou através de metabólitos microbianos. A modulação imunológica ocorre pelo aumento de imunoglobulinas intestinais e regulação auto-imune pelas interleucinas e, redução de interleucinas pró-inflamatórias (WILSON; WHELAN, 2017). Adicionalmente, podem promover a produção de metabólitos pelas bactérias (vitaminas e AGCC) ou a quebra de metabólitos do hospedeiro, através de enzimas bacterianas em metabólitos secundários (conversão de ácidos biliares primários e secundários) (SUCHODOLSKI, 2016). O aumento da produção de AGCC (acetato, propionato, butirato e lactato) promove a prevenção da colonização de enteropatógenos sensíveis ao

pH mais ácido. O acetato contribui para a produção de butirato, o qual é utilizado como fonte primária de energia para os colonócitos, o que contribui para a manutenção da integridade epitelial (ROBERFROID et al., 2010). Além disso, podem apresentar propriedades antiinflamatórias, por induzirem células T imunoreguladoras (ARPAIA et al., 2013). É importante ressaltar que apenas as bactérias intestinais podem converter os ácidos biliares primários que entram no cólon em ácidos biliares secundários. Os ácidos biliares secundários e os indóis são fundamentais para a manutenção da homeostase intestinal, pois reduzem a inflamação, mantêm a homeostase imune e fortalecem a barreira intestinal, além dos ácidos biliares secundários modularem o metabolismo da insulina e da glicose por meio da ativação do peptídeo semelhante ao glucagon-1 (GLP-1) (BANSAL et al., 2010; DUBOC et al., 2012; PAVLIDIS et al., 2015).

A dieta pode ser capaz de modular a microbiota intestinal (BERMINGHAM et al., 2011; GARCIA-MAZCORRO et al., 2011; JIA et al., 2011b; BARRY et al., 2012). Um estudo que empregou o sequenciamento Illumina, encontrou que gatos filhotes alimentados com dieta com alta proteína e com baixo carboidrato (APBC) apresentaram menor concentração de Firmicutes e Actinobacteria e, maior concentração de Fusobacteria e Proteobacteria em comparação a animais alimentados com moderada proteína e moderado carboidrato (MPMC) (DEUSCH et al., 2014). De forma semelhante, Hooda et al. (2013) empregaram a técnica de pirosequenciamento 454 e também avaliaram o efeito de duas dietas (APBC e MPMC) em gatos filhotes. Estes autores encontraram maior concentração de Actinobacteria e menor de Fusobacteria em animais que consumiram a dieta com MPMC. A maior concentração de Fusobacteria em animais alimentados com dieta APBC era esperada, visto que este grupo bacteriano é capaz de fermentar vários aminoácidos (LOESCHE; GIBBONS, 1968; POTRYKUS; WHITE; BEARNE, 2008).

Além disso, os animais alimentados com a dieta MPMC apresentaram maior concentração de *Megasphaera* em comparação aos que consumiram a dieta APBC (HOODA et al., 2013; DEUSCH et al., 2014). Foi constatado que em ruminantes o gênero *Megasphaera* é predominante e possui papel importante na fermentação de lactato e produção de diversos AGCC, incluindo o butirato (RUSSELL; BALDWIN, 1978; COUNOTTE et al., 1981). Um estudo com ratos demonstrou que o gênero *Megasphaera* foi associado à melhora na saúde gastrointestinal (HASHIZUME et al., 2003) e redução da atrofia de mucosa do intestino de porcos desmamados (YOSHIDA; TSUKAHARA; USHIDA, 2009). Como dietas com MPMC possuem mais fibra em comparação à dietas com APBC, é esperado que a fibra seja fermentada e sirva como substrato para a proliferação de bactérias benéficas e produtoras de AGCC. Outros gêneros encontrados em maior concentração em gatos alimentados com dieta com MPMC foi o *Bifidobacterium* e *Acidominococcus* (HOODA et al., 2013; DEUSCH et al., 2014). Lubbs et al. (2009) por meio da técnica de qPCR, também encontraram maiores concentrações

de *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, em gatos adultos e filhotes que receberam dieta com MPMC. Conforme já citado, gênero *Bifidobacterium* está associado à melhora da saúde intestinal em gatos (INNESS et al., 2007) e o *Lactobacillus* melhora o desenvolvimento do sistema imunológico, integridade intestinal e reduz alterações na colonização de patógenos (SCHAREK et al., 2005), além de melhorar a saúde intestinal de forma geral (SPENCER; CHESSON, 1994; HACIN; ROGELJ; MATIJAŠIĆ, 2008).

Ao se avaliar o efeito da concentração de proteína na dieta com uso da técnica Illumina, foram encontradas maiores concentrações de *Selenomonas* e *Prevotella* em animais que consumiram uma dieta com MPMC (DEUSCH et al., 2014) e com uso do pirosequenciamento 454, foram constatadas maiores concentrações de *Dialister*, *Mitsukella* (HOODA et al., 2013). O gênero *Selenomonas* é importante quando se estuda nutrição ruminal, pois é capaz de fermentar lactato, além de diversos compostos nitrogenados e substratos de carbono (HISHINUMA; KANEGASAKI; TAKAHASHI, 1968). Em contrapartida, nos que consumiram a dieta com APBC foram encontradas maiores concentrações de *Clostridium*, *Eubacterium* e *Ruminococcus* (HOODA et al., 2013; DEUSCH et al., 2014). De modo semelhante, com o emprego do Illumina também foi possível constatar maiores concentrações de *Fusobacterium*, *Bacteroides* e *Desulfovibrio* (DEUSCH et al., 2014) e, pelo uso do pirosequenciamento 454 maiores concentrações de *Faecalibacterium* e *Blautia* (HOODA et al., 2013). Os gêneros *Fusobacterium*, *Clostridium* e *Desulfovibrio* são associados com doenças gastrintestinais (WARREN et al., 2006; INNESS et al., 2007; SWIDSINSKI et al., 2011).

Esta associação demonstra que a inclusão de produtos potencialmente fermentáveis pelas bactérias é desejável para o melhor equilíbrio da microbiota intestinal destes animais. Com relação à modulação das famílias, gatos filhotes que receberam dieta com MPMC apresentaram maior abundância de Veillonellaceae e, nos animais que receberam dieta com APBC, as famílias Clostridiaceae, Eubacteriaceae e Lachnospiraceae foram mais abundantes (DEUSCH et al., 2014). Os animais que foram alimentados com a dieta MPMC apresentaram maiores abundâncias de genes associados a biossíntese de aminoácidos, vitaminas, ácidos graxos e peptidioglicanos; as vias glicolíticas do ciclo do ácido cítrico e pentoses fosfato; a fosforilação oxidativa; e ao metabolismo de purinas, pirimidinas e açúcares (DEUSCH et al., 2014).

Vistos os benefícios de se modular a microbiota intestinal (HESTA et al., 2001), a pesquisa dos possíveis efeitos de aditivos funcionais, como os prebióticos, é muito interessante, especialmente para os indivíduos imunocomprometidos. Prebióticos são compostos não digeridos pelo organismo, com capacidade de ser fermentado por microrganismos do TGI e assim, promover o crescimento e/ou aumento da atividade fermentativa de alguns destes microrganismos capazes de gerar benefícios ao hospedeiro (ROBERFROID et al., 2010). Um aditivo para ser classificado como prebiótico deve

possuir a capacidade de não ser digerido pelo hospedeiro, não ser absorvido no intestino delgado, ser fracamente fermentável pelas bactérias da microbiota intestinal e patogênicas do TGI e fermentável pelos microrganismos benéficos (LEE; SALMINEN, 2009).

As fibras dietéticas e oligossacarídeos não digeríveis são os principais substratos de crescimento dos microrganismos intestinais. Estes compostos estimulam o crescimento da população microbiana, como as *Bifidobacterias* e os *Lactobacillus* que são considerados benéficos à saúde humana (BLAUT, 2002). Os possíveis efeitos benéficos incluem modulação de funções fisiológicas, como a absorção de cálcio, o metabolismo lipídico, a modulação da composição da microbiota intestinal, a qual exerce papel fundamental na fisiologia gastrointestinal e na redução do risco de câncer de cólon (ROBERFROID, 2002).

Com a utilização dos prebióticos, cepas de bactérias benéficas podem se proliferar e assim, afetar o crescimento de microrganismos patogênicos pela competição por nutrientes, produção de compostos com efeito inibitório, produção de vitaminas e substratos que irão otimizar o crescimento de outras bactérias benéficas; produção de bacteriocinas e enzimas; competição por sítios de ligação; redução da inflamação e estímulo do sistema imune do hospedeiro (O'TOOLE; COONEY, 2008). Como exemplo, *Salmonella* e *Escherichia coli*, microrganismos gram negativos, não possuem a capacidade de fermentação dos frutoligossacarídeos (FOS) e mananoligossacarídeos (MOS), portanto, na presença desses compostos, o seu crescimento pode ser afetado (FLEMMING, 2005; GOMES, 2009). Adicionalmente, as bactérias benéficas possuem a capacidade de induzir a transdução de sinal, o qual leva ao fortalecimento das junções intercelulares e assim, reduzem o transporte paracelular de antígenos causadores de inflamação (LU; WALKER, 2001). Sendo assim, os prebióticos são adicionados à dieta com o objetivo de estimular o crescimento e a estabilidade das populações microbianas produtoras de ácidos orgânicos (AGCC e ácido láctico), em relação aos demais. Os produtos da fermentação são os responsáveis por reduzir o pH luminal e, juntamente com outras substâncias antibacterianas e enzimas produzidas por esta mesma microbiota, podem inibir a proliferação dos microrganismos patogênicos, tais como *Escherichia coli*, *Clostridium* sp. e *Salmonella*.

A vantagem principal da utilização de prebiótico aos probióticos é a sua estabilidade, o que garante longos períodos de *shelf life*, mesmo em diferentes faixas de pH e temperaturas; mantendo as propriedades físico-químicas em alimentos, evitando alteração de textura e sabor; resistência à acidez, proteases e bile durante a passagem pelo TGI; estímulo à atividade fermentativa da microbiota comensal, e assim evita a compatibilidade hospedeiro/cepa e a necessidade de competir com uma microbiota já estabelecida (LEE; SALMINEN, 2009).

Um estudo avaliou os efeitos da pectina, FOS e comparou-os com a celulose (BARRY et al., 2012). Pelos resultados foi possível constatar que gatos que receberam a pectina apresentaram maiores porcentagens de Firmicutes, Chlorabi, Elusimicrobia, Proteobacteria e bactéria total, enquanto que animais que consumiram FOS apresentaram maior concentração de Actinobacteria. Deve-se lembrar que *Bifidobacterium spp.* é um membro do filo Actinobacteria e, portanto, o aumento deste filo é esperado com o uso de FOS. Devido a sua capacidade de modular a microbiota do TGI, atualmente o FOS é considerado um prebiótico verdadeiro (ROBERFROID, 2008), com capacidade de aumentar *Bifidobacterium spp.* em diversas espécies animais (HOWARD et al., 1995; ESTRADA; DREW; VAN KESSEL, 2001; XU et al., 2002, 2003; MIDDELBOSS et al., 2007). Adicionalmente, os autores mencionaram aumento da abundância de genes associados ao metabolismo de aminoácidos com o consumo de FOS; aumento da abundância de genes associados com o metabolismo de nitrogênio com o consumo de pectina; e ambos aumentaram a abundância de genes associados às hidrolases de glicosídeos, glicosiltransferases e moléculas de ligação a hidratos de carbono (BARRY et al., 2012).

Ao avaliar os efeitos de frutoligossacarídeos (FOS; 0,5%) e galactoligossacarídeos (GOS; 0,5%) sobre a microbiota do TGI de gatos, foi observado aumento em *Bifidobacterium spp.* nas fezes, em comparação ao grupo controle (KANAKUPT et al., 2011). De modo semelhante, alta dose de FOS (4,0%), pectina (4,0%) e celulose (4,0%), foi capaz de modular a população bacteriana intestinal, com aumento de *Bifidobacterium spp.* e redução de *E. coli*. nos animais que receberam FOS em comparação aos tratamentos celulose e pectina (BARRY et al., 2010). Além disso, doses reduzidas de FOS (0,75%) para gatos, levaram ao aumento de 164 vezes no número de *Lactobacillus spp.*, redução de 75,0% no número de *E. coli* e 98,0% em *Clostridium perfringens*, em comparação ao período sem suplementação (SPARKES et al., 1998). Porém, outros autores avaliaram um simbiótico contendo FOS, arabinogalactanos e uma mistura de diversas espécies bacterianas (*E. faecium*, *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei ssp. rhamnosus*, *Lactobacillus plantarum* e *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*), não foi observada modulação dos filos bacterianos presentes nas fezes de cães e gatos (GARCIA-MAZCORRO et al., 2011).

Leveduras *Saccharomyces cerevisiae* são eucariotos unicelulares utilizados em diversos processos industriais, como na panificação, indústria sucroalcooleira e na produção de bebidas. Devido ao seu grande número de aplicações e uso em larga escala, os resíduos procedentes destes processos levaram a necessidade de se utilizar de forma produtiva os excedentes da biomassa microbiana, sendo os principais produtos: levedura inativa íntegra ou autolisada, extrato de levedura, parede celular de levedura (PCL) e mais recentemente as mananoproteínas purificadas (SANTOS, 2015). Na nutrição animal, as leveduras secas de cervejaria e de cana de açúcar, principalmente *Saccharomyces cerevisiae*,

são matérias primas interessantes devido ao seu alto conteúdo proteico, sendo caracterizada como importante fonte de proteína para diversas espécies animais (PEREIRA et al., 2001; MOREIRA et al., 2002; CASTILLO et al., 2004; MARTINS, 2009), fonte de vitaminas do complexo B (B1, B2, B6, ácido pantotênico, niacina, ácido fólico e biotina), fonte de minerais e de componentes com potencial prebiótico (MIDDELBOS; FASTINGER; FAHEY, 2007; GOMES, 2009; SANTOS, 2015), o que a caracteriza como um alimento funcional. Portanto, atualmente as leveduras e seus componentes não são mais consideradas subprodutos, pois o mercado cada vez mais exigente demanda alta produção deste aditivo, com plantas industriais projetadas exclusivamente para sua produção e beneficiamento, com a proposta de inclusão em alimentos para seres humanos e animais (SANTOS, 2015).

Um dos potenciais ingredientes prebióticos da levedura *Saccharomyces cerevisiae* é a PCL, isso se deve a sua composição química, formada por quitina, 1,3 e 1,6 beta-glucanos e mananoproteínas (OSUMI, 1998), sendo incapaz de ser digerida pelos mamíferos e por ser utilizada apenas por determinados grupos bacterianos. A porcentagem de PCL depende do processamento, mas de forma geral corresponde entre 15,0-45,0% do peso da célula em base da matéria seca (KOLLÁR et al., 1997; ALVIM et al., 1999). Adicionalmente, sua composição centesimal é variável, a PCL pode possuir entre 30,0 a 60,0% de glucanos, 25,0 a 50,0% de mananos, 13,0 a 15,0% de proteína, 2,0 a 14,0% de lipídios e 1,0 a 2,0% de quitina (ROSE; HARRISON, 2012).

Os trabalhos publicados até o momento que empregaram a PCL como prebiótico concentraram-se principalmente em cães. Na tabela 5 estão apresentados os estudos localizados na literatura, que avaliaram diferentes prebióticos para gatos. A suplementação de PCL (2g/dia) para cães, resultou em tendência à redução na contagem de bactérias aeróbias no grupo suplementado com PCL em comparação ao tratamento controle, mas sem efeitos sobre os gêneros bacterianos avaliados isoladamente (*Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*, *C. perfringens* e *E. coli*) (SWANSON et al., 2002). A inclusão de teores crescentes de PCL (0%; 0,05%; 0,25%; 0,45% e 0,65%) em dietas para cães resultaram em tendência ao comportamento cúbico, com número mais elevado para contagem de *Lactobacillus spp* no tratamento 0,45% e *E. coli* reduzida com 0,25%, via técnica molecular. Ademais, com o uso de plaquemanto, *Clostridium perfringens* apresentou tendência cúbica e *E. coli* apresentou redução linear, possivelmente pela afinidade do MOS à bactéria, o que levou à ligação ao aditivo, com posterior eliminação fecal e redução da carga microbiana (MIDDELBOS et al., 2007). Cães suplementados com PCL (1,4%) apresentaram elevação de *Bifidobacterium spp.*, no entanto não foi observado redução de *E. coli* em relação ao grupo controle (BELOSHAPKA et al., 2013). Em gatos, teores crescentes de PCL (0%; 0,2%; 0,4% e 0,6%) resultaram em aumento linear em *Bifidobacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*, ácidos graxos de cadeia curta e ramificada e aminas biogênicas fecais, bem como redução linear em *C. perfringens* (SANTOS, 2015).

Tabela 5 - Resultados de pesquisas com o uso de prebióticos na digestibilidade dos nutrientes, microbiota e produtos da fermentação fecal de gatos saudáveis.

Prebiótico	Principais resultados	Referência
FOS	Aumento em <i>Lactobacillus spp.</i> e <i>Bacteroides spp.</i> , seguido de redução em <i>E. coli</i> e tendência em <i>C. perfringens</i>	SPARKES et al. (1998)
Oligofrutose e inulina	Ambos aditivos reduziram a digestibilidade aparente da proteína bruta e gordura	HESTA et al. (2001)
PCL	Inulina: aumento na concentração fecal de AGCC	AQUINO (2009)
	Aumento linear na digestibilidade aparente da matéria seca	
Celulose, FOS e pectina	As fibras fermentáveis apresentaram elevação na concentração de ácidos graxos de cadeia curta e ramificada, amônia, aminas biogênicas, <i>Bifidobacterium spp.</i> , <i>Lactobacillus spp.</i> , <i>E. coli</i> , <i>Clostridium perfringens</i> e redução na digestibilidade aparente da proteína bruta e gordura, com comportamento variável dependendo da fonte de fibra quando comparadas à celulose	BARRY et al. (2010)
GOS	Tendência de aumento na concentração de <i>Bifidobacterium spp.</i>	ABECIA et al. (2010)
FOS, GOS, FOS+GOS	FOS + GOS: aumento em ácidos graxos de cadeia curta e ramificada e redução na digestibilidade aparente da proteína bruta. FOS, GOS e FOS + GOS: aumento na contagem fecal de <i>Bifidobacterium spp.</i>	KANAKUPT et al. (2011)
Polpa de beterraba, fibra de cana de açúcar e farelo de trigo	Todas as fontes reduziram a digestibilidade aparente dos nutrientes. Farelo de trigo: aumento em ácido propiônico. Polpa de beterraba: aumento em AGCC e ácido láctico	FISCHER et al. (2012)
PCL	Aumento linear de <i>Bifidobacterium spp.</i> , <i>Lactobacillus spp.</i> , ácido butírico e aminas biogênicas. Redução linear em <i>Clostridium perfringens</i> e quadrática no grupo <i>E. coli</i> - <i>Hafnia alvei</i> - <i>Shigella spp.</i>	SANTOS (2015)
PCL	Redução em <i>Clostridium perfringens</i> (inclusão de 0,3% e 0,6%) e ácido isovalérico (inclusão de 0,3%)	MATHEUS (2016)

Legenda: FOS = frutoligossacarídeos; XOS = xiloligossacarídeos; PCL= parede celular de levedura; MOS = mananoligossacarídeos; AAGC = ácidos graxos de cadeia curta; GOS = galactoligossacarídeos; TGOS = transgalactoligossacarídeo; GGMO = galactoglucomanana.

Em humanos, o uso de prebióticos e simbióticos (prebióticos e probióticos em conjunto) tem demonstrado efeitos positivos em estudos clínicos em pacientes HIV⁺ (GORI et al., 2011; SCHUNTER et al., 2012), conforme demonstrado na tabela 6. O consumo destas substâncias podem potencialmente favorecer a reconstrução da mucosa intestinal, o que retarda a progressão da SIDA (FERIA et al., 2017). Porém, pode-se observar que de forma semelhante à espécie felina, existe deficiência de estudos em pacientes doentes.

Tabela 6 - Resultados de pesquisas com o uso de prebióticos e simbióticos e seus efeitos em pessoas infectadas com o vírus da imunodeficiência humana.

Prebiótico	Principais resultados	Referência
GOS + FOS + Oligossacarídeos (total de 15-30g/dia)	Redução de <i>Clostridium coccooides</i> , <i>Eubacterium rectale</i> , <i>Clostridium lituseburense</i> e <i>Clostridium histolyticum</i>	GORI et al. (2011)
	Redução da ativação de células T CD4 ⁺ e aumento das células natural killer (CNK)	
Betaglucano + Inulina + Pectina +Amido resistente + <i>Pedococcus pentosaceus</i> + <i>Leuconostoc mesenteroides</i> + <i>Lactobacillus paracasei</i> + <i>Lactobacillus plantarum</i> (2,5g de cada prebiótico e 10 ¹⁰ de cada probiótico/ dia)	Redução da ativação de células T CD4 ⁺	SCHUNTER et al. (2012)

Com base na revisão de literatura apresentada fica clara a deficiência de estudos que avaliaram a utilização de PCL na dieta de gatos e seus possíveis efeitos na microbiota do TGI (AQUINO et al., 2013; SANTOS, 2015; MATHEUS, 2016) e a não utilização de técnicas moleculares de última geração para realização desta avaliação ou mesmo estudos que tenham comparado seus efeitos em animais doentes e saudáveis. Dessa forma, mais pesquisas que avaliem a capacidade de modulação da microbiota com a utilização da PCL são necessárias, principalmente com o intuito de comparar sua eficácia em animais saudáveis e imunocomprometidos, com emprego de técnicas moleculares avançadas para determinação da microbiota do TGI, tendo em vista que várias avaliações de diferentes pesquisadores são requeridas para definir o efeito prebiótico de um determinado composto (GIBSON et al., 2010).

3 OBJETIVOS

Avaliar os efeitos da ingestão de parede celular de levedura (PCL) na composição da microbiota fecal de gatos saudáveis e infectados pelo FIV e verificar possíveis diferenças nas populações bacterianas pelo emprego da técnica Illumina (sequenciamento de última geração). Adicionalmente, identificar possíveis alterações nas concentrações de ácidos graxos de cadeia curta e na digestibilidade dos nutrientes com a suplementação da PCL ou entre o estado de saúde dos animais.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 LOCAL DE CONDUÇÃO DO ENSAIO

O presente estudo foi realizado no gatil Experimental do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, localizado na cidade universitária “Armando de Salles Oliveira”, município de São Paulo, SP. Todo o protocolo experimental foi conduzido de acordo com os princípios éticos de experimentação animal e sob aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ/USP) (protocolo CEUA N° 9540191017).

4.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANIMAIS

Foram utilizados 19 gatos adultos sem raça definida (SRD), machos e fêmeas, idade média de $6,2 \pm 0,54$ anos, provenientes do Gatil Experimental do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ/USP). Do total, 10 gatos eram saudáveis, avaliados através de exame físico e hemograma, com peso corporal médio de $4,40 \pm 1,05$ kg e 9 gatos eram naturalmente infectados pelo vírus da imunodeficiência felina (avaliados pelo kit de ELISA), com peso corporal médio de $4,42 \pm 1,32$ kg. Os animais foram distribuídos em dois grupos experimentais: GS (animais saudáveis) e GI (animais infectados naturalmente pelo FIV) e duas dietas: D0 (dieta controle, sem adição de parede celular de levedura) e D4 (dieta teste com adição de 0,4% de parede celular de levedura), com 4 tratamentos ao todo (GSD0, GSD4, GID0 e GID4), totalizando 6 amostras GSD0; 7 amostras GSD4; 8 amostras GID0; 8 amostras GID4, em delineamento inteiramente casualizado (DIC).

Cada período experimental teve duração de trinta e quatro dias, sendo cinco períodos no total, dividido nas seguintes fases: adaptação às dietas experimentais (1° ao 29° dia); coleta de fezes e urina (30° ao 34° dia). Foi utilizado intervalo de trinta dias entre os períodos experimentais, com o objetivo de eliminar efeitos residuais dos tratamentos anteriores sobre o próximo período.

4.3 DIETAS EXPERIMENTAIS E MANEJO DOS ANIMAIS

As dietas experimentais foram produzidas na Fábrica de Ração da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (Jaboticabal, Brasil). Foi formulada uma dieta controle, de modo a atender as recomendações da *Association of*

American Feed Control Officials (2009) para felinos em manutenção, e a partir da mesma as inclusões de PCL seca (Bio-MOS[®], Alltech do Brasil Agroindustrial Ltda., Curitiba, Brasil).

Na Tabela 7 estão apresentadas as formulações e a composição química analisada das duas dietas experimentais.

Tabela 7 - Formulação e composição química das dietas experimentais.

Ingredientes (%)	D0	D4
Amido de milho	1,00	0,60
Parede celular de levedura*	0,00	0,40
Milho grão	45,35	45,35
Farinha de vísceras de frango	30,08	30,08
Glúten de milho 60	9,39	9,39
Gordura de aves	9,21	9,21
Palatabilizante líquido	2,00	2,00
Palatabilizante em pó	0,50	0,50
Cloreto de potássio	0,43	0,43
Sal comum	0,35	0,35
Calcário	0,40	0,40
Premix min/vit ¹	0,50	0,50
Cloreto de colina 60%	0,40	0,40
Antifúngico	0,20	0,20
Antioxidante	0,04	0,04
Taurina	0,15	0,15
Nutrientes	D0	D4
Matérica seca (%)	94,08	94,33
Valores corrigidos para matéria seca		
Proteína bruta (%)	32,42	32,26
Extrato etéreo em hidrólise ácida (%)	12,18	12,56
Fibra bruta (%)	1,50	1,44
Matéria mineral (%)	10,98	11,10
Cálcio (%)	2,27	2,19
Fósforo (%)	1,45	1,42
Magnésio (%)	0,17	0,16
Sódio (%)	0,29	0,28
Potássio (%)	0,64	0,70
Ferro (mg/kg)	818,98	785,54
Manganês (mg/kg)	76,03	81,73
Zinco (mg/kg)	573,98	602,14
Cobre (mg/kg)	38,27	34,98
Energia bruta (kcal/kg)	4720	4724

Legenda: ¹Adição por quilograma de produto: Ferro 100mg, Cobre 10mg, Manganês 10mg, Zinco 150mg, Iodo 2mg, Selênio 0,3mg, Vitamina A 18000UI, Vit. D 1200UI, Vit. E 200UI, Tiamina 6mg, Riboflavina 10mg, Ácido pantotênico 40mg, Niacina 60mg, Piroxidina 6mg, Ácido fólico 0,30mg, Vit. B12 0,1mg. *conteúdo mínimo de 25% de proteína bruta e 12% de mananas, incluída em substituição ao amido de milho.

Durante todas as fases experimentais os animais foram mantidos em gaiolas de aço inox (56 x 58 x 115cm) com aparato para coleta de fezes e urina (figura 1). O manejo foi iniciado todos os dias às 8h da manhã, quando as gaiolas eram lavadas e os animais alimentados.

A energia da dieta foi calculada em base de equação de predição (NRC, 2006) e a quantidade de alimento fornecida aos animais baseada na equação de necessidade energética de gatos adultos em manutenção, calculada pela fórmula: $100 \times (PC)^{0,67} = \text{Kcal/dia}$ (NRC, 2006). O alimento foi disponibilizado aos animais por 24 horas, o consumo monitorado diariamente. A água foi fornecida *ad libitum*.

No intervalo de 30 dias entre os períodos experimentais, os animais permaneceram soltos em grupos previamente formados nos gatis de convivência. Os gatis possuíam as seguintes dimensões: 3,4m x 8,9m; 3,0m x 9,2m; e 3,0m x 6,3m, conforme figura 1.

Figura 1 - Animais alojados em gaiolas e soltos nos gatis de convivência

Legenda: A – Animais alojados nas gaiolas; B – Animais soltos em um dos gatis de convivência.

Fonte: (SANTOS, 2015)

No período de intervalo, os animais receberam alimento comercial isento de prebióticos e probióticos para gatos adultos em manutenção (Mars Brasil, Guararema, Brasil), a qual possuía os seguintes teores nutricionais: 12,0% de umidade, 30,0% de proteína bruta, 9,0% de extrato etéreo, 4,0% de fibra bruta e 8,5% de matéria mineral, com a seguinte composição: farinha de carne e ossos, farinha de subprodutos de frango, glúten de milho, glúten de trigo, quirera de arroz, milho integral moído, sorgo em grão, gordura de frango, óleo de milho, gordura bovina, farinha de trigo, taurina, metionina, hidrolisado de fígado de frango, premix vitamínico e mineral, BHT e corantes.

4.4 DETERMINAÇÃO DOS COEFICIENTES DE DIGESTIBILIDADE APARENTE DOS NUTRIENTES

Para a realização do ensaio de digestibilidade foi utilizado o método de coleta total de fezes e urina. O consumo de alimento foi registrado diariamente, bem como a quantidade oferecida e de sobras registrada em cada refeição. Fezes e urina total foram coletadas por 24 horas, durante oito dias. As amostras de fezes foram pesadas e mantidas em sacos plásticos individuais, identificados, fechados e armazenados em freezer (-15°C) para posterior análise. A urina foi coletada em recipiente plástico contendo um mililitro de ácido sulfúrico 1N, com o intuito de se evitar perdas de nitrogênio e proliferação de bactérias. Após a coleta, as amostras de urina foram armazenadas diariamente em freezer (-15°C) e o volume total foi mensurado ao final de cada período de coleta.

Ao final de cada período de coleta das fezes dos animais, as amostras foram descongeladas e homogeneizadas, compondo-se uma amostra total de cada animal e período, pesadas e secas em estufa de ventilação forçada (320 SE, Fanem, São Paulo, Brasil) a 55°C por 72 horas. Após esta etapa, as fezes e as rações foram moídas em moinho tipo faca, com peneira de 16 mesh para proceder-se as análises laboratoriais. A urina total de cada animal por período foi homogeneizada e então foi retirada uma amostra de 30mL, a qual foi colocada em placas de petri e, posteriormente, levada a estufa de ventilação forçada (320 SE, Fanem, São Paulo, Brasil) a 55°C por 24 horas, sendo este procedimento repetido três vezes, totalizando a secagem de 90mL da amostra total.

Para as determinações dos teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), extrato etéreo em hidrólise ácida (EEHA), matéria mineral (MM) e fibra bruta (FB) das fezes e alimentos foi utilizado o protocolo segundo a AOAC, (2007). As análises foram realizadas no Laboratório Multiusuário de Nutrição Animal e Bromatologia do Departamento de Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (Pirassununga, Brasil). A determinação da energia bruta dos alimentos, das fezes e das urinas foi realizada em bomba calorimétrica (1281, PAAR Instrument Company, Illinois, EUA) no Laboratório de Nutrição Animal (LANA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (Jaboticabal, Brasil). As análises dos minerais nas dietas foram realizadas em espectrofotômetro de absorção atômica (SpectrAA 220, Varian, Palo Alto, EUA), de acordo com a metodologia de Cantle (1986), no Laboratório de Nutrição Animal do Instituto Mineiro de Agropecuária (Belo Horizonte, Brasil). Todas as amostras foram analisadas em duplicata e repetidas quando o desvio padrão foi superior a 5,0%. Os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) dos nutrientes foram determinados de acordo com a fórmula proposta por Church e Pond (1988).

4.5 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA E ÁCIDO LÁTICO NAS FEZES

Para a determinação da concentração de AGCC, as amostras de fezes foram coletadas em no máximo 15 minutos após a defecação, sendo homogeneizadas e pesadas. Para a quantificação dos AGCC foram utilizados três gramas das fezes diluídas em 9mL de solução de ácido fórmico a 16,0% e para a determinação do ácido lático, utilizou-se mais três gramas das fezes diluídas em 9mL de água destilada.

As amostras diluídas foram mantidas por sete dias em refrigerador (7°C), e na sequência, centrifugadas por 15 minutos à 15°C em 5.000rpm,. Em seguida, coletou-se o sobrenadante e desprezou-se o sedimento, sendo este procedimento repetido por três vezes. Após a extração, os sobrenadantes foram identificados e armazenados em freezer (-20°C).

As concentrações de AGCC foram mesuradas no Laboratório de Fermentabilidade Ruminal da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (Pirassununga, Brasil) através de cromatografia em fase gasosa (Shimadzu Corporation, Kioto, Japão), com coluna capilar (Stabilwax[®], Restek, Bellefonte, EUA) a 145°C (isotérmica) e um injetor split/splitless e detector dual FID a 250°C, utilizando o método descrito por Getachew, Makkar e Becker (2002).

O gás de arraste foi o hélio, o comburente foi o ar sintético e o combustível foi o gás hidrogênio. As amostras foram descongeladas até atingir a temperatura ambiente, de forma lenta e gradual e, centrifugadas a 14.500g por 10 minutos. O sobrenadante (800µL) foi transferido para um frasco seco e limpo com 200µL de ácido fórmico 98-100% PA ACS e 100µL do padrão interno (ácido 2-etil-butírico 100mM, Chemservice, West Chester, EUA). O padrão externo foi preparado com ácido acético, propiônico, isobutírico, butírico, isovalérico e valérico (Chemservice, West Chester, EUA). O software GCSolution[®] (Shimadzu Corporation, Kioto, Japão) foi utilizado para os cálculos.

O ácido lático foi mensurado no Laboratório Multiusuário de Nutrição Animal e Bromatologia do Departamento de Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (Pirassununga, Brasil), segundo metodologia descrita por Pryce, (1969) através de espectrofotometria a 565nm (500 a 570nm; Nova 2000UV, Nova Instruments, Piracicaba, Brasil).

4.6 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DAS FEZES

Todas as etapas de desenho de *primers*, construção de curvas padrão, extração de DNA e quantificação de DNA para determinação do número de cópias das bactérias de interesse nas fezes foram realizadas no Laboratório de Bacteriologia de Anaeróbios do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (São Paulo, Brasil).

Para a determinação da microbiota fecal por esta técnica, nove gramas de fezes foram coletadas de forma asséptica (higienização das gaiolas com água e sabão e posteriormente com álcool 70% e uso de luvas estéreis pelos coletores) em até 30 minutos após a defecação dos animais, divididas em três tubos plásticos estéreis de tampa rosqueável, vedados com parafilme, os quais foram mantidos a -15°C, durante o período em que se aguardava que todos os animais defecassem. Passado este período, as fezes foram então mantidas a -80°C. Para extração do DNA foi utilizado o kit comercial QIAamp DNA STOLL Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Alemanha), seguindo recomendações do fabricante, o qual serviu de molde na etapa seguinte de quantificação do DNA bacteriano. Todas as amostras de DNA foram verificadas quanto a sua pureza e integridade, sendo estocada a -80°C até seu uso.

Para avaliação da microbiota fecal pela técnica de sequenciamento Illumina, inicialmente foi realizada a construção das bibliotecas. Para este procedimento, o DNA previamente extraído foi amplificado via PCR na região V3 e V4 do gene 16S rDNA, pelo emprego de primers (Forward 5'-TCG TCG GCA GCG TCA GAT GTG TAT AAG AGA CAG AYT GGG YDT AAA GNG -3' e Reverse 5'-TCG TCG GCA GCG TCA GAT GTG TAT AAG AGA CAG AYT GGG YDT AAA GNG -3'). Sendo realizada desnaturação a 95° por 3 minutos, e os ciclos: 95° por 3 minutos, 25 ciclos de 95° por 30 segundos, 55°C por 30 segundos, 72°C por 30 segundos e extensão final a 72°C por 5 minutos. Após a amplificação, o produto da reação foi purificado e a segunda amplificação com PCR foi utilizada para integração dos adaptadores, seguindo os ciclos: 95°C por 3 minutos, 8 ciclos de 95° por 30 segundos, 55°C por 30 segundos, 72°C por 30 segundos e 72°C por 5 minutos. O produto final foi mantido então a -20°C até o momento do sequenciamento. 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 construção das bibliotecas, validação e sequenciamento foi realizada na Central de Genômica Funcional da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo (ESALQ/USP).

4.6.1. Análise das sequências obtidas

A caracterização da comunidade microbiana por meio da análise do sequenciamento por MiSeq Illumina foi realizada de acordo com o método previamente descrito (PYLRO et al., 2014). Os filtros de qualidade e análises foram realizadas com o auxílio do programa *Quantitative Insights Into Microbial Ecology* (QIIME) 1.8.0 e USEARCH 7 (<http://drive5.com/uparse/>). Primeiramente, os arquivos *forward* e *reverse* gerados pelo sequenciamento *paired-end* foram alinhados e montado os contigs com o auxílio da ferramenta “fasq-join”, pertencente ao QIIME 1.8.0. Sequências que não apresentaram um alinhamento mínimo foram descartadas e as sequências aprovadas foram separadas de acordo com o tratamento, pelo uso da ferramenta “split_libraries_fastq.py” por meio da lista de barcodes. Em etapa seguinte, no programa USEARCH 7, as amostras foram submetidas ao filtro Phred, no qual foram selecionadas apenas sequências com bases de pontuação superior a 20, ou seja, bases com a probabilidade máxima de 1,0% de erro (EWING et al., 1998). Além disso, as sequências que não apresentaram tamanho mínimo de 240 nucleotídeos foram descartadas.

Após os filtros de qualidade, as sequências foram convertidas em formato compatível com USEARCH 7 com o uso do BMP PERL SCRIPT (PYLRO et al., 2014). Em seguida, com o auxílio do USEARCH 7 as amostras foram isentadas dos barcodes, singletons e chimeras [através do banco de sequências do RDP Project (<http://rdp.cme.msu.edu/>)]. Foram criados clusters e uma tabela de UTOs foi construída, a qual pôde ser relacionada aos possíveis táxons correspondentes até o nível de 97,0%, através da ferramenta “assign_taxonomy.py” do QIIME 1.8.0 que associa as sequências taxonomicamente classificadas pelo RDP. Após a determinação taxonômica, foi utilizada a ferramenta “align_seqs.py” (QIIME 1.8.0) para a realização do alinhamento das amostras utilizando sequências modelo presentes no banco de sequências do RDP. As regiões altamente variáveis foram removidas com a ferramenta “filter_alignment.py” (QIIME 1.8.0). Enquanto a relação filogenética foi realizada pelo emprego da ferramenta “make_phylogeny.py”.

Por meio da ferramenta “summarize-table” (Biom-<http://biom-format.org/index.html>) foi determinada a profundidade das análises de diversidade e riqueza. As análises subsequentes foram realizadas no programa QIIME 1.8.0. Primeiramente, as réplicas foram agrupadas com a ferramenta “collapse_samples.py”. Em seguida, com a ferramenta “core_diversity_analyses.py”, foram criadas as curvas de rarefação, as tabelas de frequência, gráficos de classificação e análise de PCoA. Os índices de riqueza Chao1 e de diversidade Shannon e Simpson foram calculados com “alpha_diversity.py”.

4.7 PROCEDIMENTOS DE CÁLCULOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS

Os AGCC, ácido láctico e os coeficientes de digestibilidade aparente observados foram avaliados em um Modelo Linear Misto que contemplou os efeitos fixos de Grupos (GS vs GI), Níveis (0,0 vs 0,4) e interação Grupo x Nível, além dos efeitos aleatórios de período-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).

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 que contemplou os efeitos fixos de Grupos (GS vs GI), Níveis (0,0 vs 0,4), interação Grupo x Nível e a co-variável porcentagem observada do microrganismo, além dos efeitos aleatórios de período-sexo-classe de idade (utilizado como critério de blocos) e resíduo. Para essas análises também foi utilizado o procedimento PROC MIXED do SAS.

As abundâncias observadas para cada Filo e em cada animal foram avaliadas segundo um Modelo Linear Generalizado, considerando distribuição binomial e uso da função de ligação *logit*. O modelo incluiu efeitos fixos de Grupos (GS vs GI), Níveis (0,0 vs 0,4) e interação Grupo x Nível, além dos efeitos aleatórios de período-sexo-classe de idade (utilizado como critério de blocos) e resíduo. Para essas análises foi utilizado o procedimento PROC GLIMMIX, também do SAS.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. CARACTERIZAÇÃO DA COMUNIDADE BACTERIANA POR MISEQ ILLUMINA

Com base nos IQAs e resultados obtidos pela técnica de T-RFLP (diversidade e riqueza), 29 amostras fecais, sendo 13 amostras de animais saudáveis (6 de animais que consumiram D0 e 7 de animais que consumiram D4) e 16 amostras de animais FIV positivos (8 de animais que consumiram D0 e 8 de animais que consumiram D4), foram escolhidas para a caracterização da comunidade bacteriana, as quais foram sequenciadas em “multiplexing” na plataforma MiSeq Illumina.

Foram geradas 577.182 sequências, embora nem todas apresentaram qualidade e tamanho necessários para serem utilizados nas análises taxonômicas e ecológicas. Devido a estes fatores, foram excluídas duas amostras (Amostra 6 GSD4 e Amostra 8 GID0). O mínimo de sequências geradas por amostra foi de 3.966 e o máximo de 55.728, com média de 15.446 e desvio padrão de 12.771.334, conforme demonstrado na tabela 8.

Tabela 8 - Amostras avaliadas por Illumina e número de sequências obtidas após filtragem.

Animal	Contagem de sequências
Amstra 1 GSD0	29.773
Amostra 2 GSD0	18.945
Amostra 3 GSD0	11.335
Amostra 4 GSD0	9.530
Amostra 5 GSD0	37.111
Amostra 6 GSD0	12.965
Amostra 1 GSD4	55.728
Amostra 2 GSD4	32.156
Amostra 3 GSD4	24.186
Amostra 4 GSD4	10.655
Amostra 5 GSD4	35.437
Amostra 6 GSD4	3.966
Amostra 7 GSD4	21.066
Amostra 1 GID0	12.366
Amostra 2 GID0	32.183
Amostra 3 GID0	17.695
Amostra 4 GID0	16.244
Amostra 5 GID0	29.773
Amostra 6 GID0	44.527
Amostra 7 GID0	8.139
Amostra 8 GID0	4.009
Amostra 1 GID4	6.420
Amostra 2 GID4	15.446
Amostra 3 GID4	14.932
Amostra 4 GID4	15.209
Amostra 5 GID4	8.399
Amostra 6 GID4	29.764
Amostra 7 GID4	6.145
Amostra 8 GID4	12.010

As curvas de rarefação foram construídas ao nível de 97,0% de similaridade e apresentaram tendência à estabilização. Embora as amostras 5 GID4 e 6 GID4, tenham apresentado menor estabilização de sequências, os demais pontos avaliados apresentaram estabilização próxima, o que indica que o esforço amostral foi suficiente para avaliação da comunidade bacteriana dos pontos amostrados (figura 2). A figura 3 ilustra os valores estimados de riqueza de acordo com Chao-1. Os pontos que apresentaram maior riqueza foram 1 GSD0 e 7 GID4 e os com menor riqueza foram 5 GID4 e 6 GID4.

Figura 2 - Curvas de rarefação construídas com o auxílio do programa QIIME, indicando o efeito do esforço no sequenciamento.

Figura 3 - Estimativas de riqueza por Chao-1 entre os pontos avaliados.

Os valores para os parâmetros dieta e condição de saúde avaliados no presente trabalho foram divididos em categorias e suas influências sobre a riqueza das comunidades foi avaliada com o auxílio do programa QIIME. O parâmetro dieta apresentou maior influência sobre a riqueza das comunidades avaliadas, sendo esta mais observada nas amostras dos animais que não consumiram dieta contendo parede celular de levedura (figura 5). Já o parâmetro estado de saúde dos animais não apresentou relação tão clara com a riqueza dos pontos avaliados (figura 4). Foi observado que os animais que receberam a dieta contendo parede celular de levedura apresentaram menor riqueza, independente do seu estado de saúde (figura 6).

Figura 4 - Estimativas de riquezas correlacionadas ao estado de saúde dos animais.

Legenda: GI = grupo de animais naturalmente infectados pelos vírus da imunodeficiência felina; GS = grupo de animais saudáveis.

Figura 5 - Estimativas de riquezas correlacionadas à dieta consumida pelos animais.

Legenda: D0 = dieta controle sem adição de parede celular de levedura; D4 = dieta teste com adição de 0,4% de parede celular de levedura.

Figura 6 - Estimativas de riqueza correlacionadas à dieta consumida pelos animais e seu estado de saúde.

Legenda: GID0 = grupo de animais naturalmente infectados pelo FIV que consumiram a dieta controle sem adição de parede celular de levedura; GID4 grupo de animais naturalmente infectados pelo FIV que consumiram a dieta teste com adição de 0,4% de parede celular de levedura; GSD0 = grupo de animais saudáveis que consumiram a dieta controle sem adição de parede celular de levedura; GSD4 grupo de animais saudáveis que consumiram a dieta teste com adição de 0,4% de parede celular de levedura.

A análise de coordenadas principais (PCoA) 3D realizada por meio do programa QIIME demonstrou agrupamento das amostras de acordo com a dieta (D0 e D4) e estado de saúde dos animais (GS e GI). Foram apresentados 2 agrupamentos principais, sendo o primeiro representativo das comunidades presentes nos animais naturalmente infectados pelo FIV que consumiram a dieta teste com adição de 0,4% de parede celular de levedura (GI04) e, o segundo, composto por pontos com animais saudáveis que consumiram a dieta controle sem adição de parede celular de levedura e que consumiram a dieta teste com adição de 0,4% de parede celular de levedura (GSD0 e GSD4), conforme demonstrado na figura 7.

Figura 7 - Análise de coordenadas principais realizada com a matriz de sequenciamento em larga escala.

Legenda: GID0 = grupo de animais naturalmente infectados pelo FIV que consumiram a dieta controle sem adição de parede celular de levedura; GID4 grupo de animais naturalmente infectados pelo FIV que consumiram a dieta teste com adição de 0,4% de parede celular de levedura; GSD0 = grupo de animais saudáveis que consumiram a dieta controle sem adição de parede celular de levedura; GSD4 grupo de animais saudáveis que consumiram a dieta teste com adição de 0,4% de parede celular de levedura.

5.1.1. Filo e Ordem

Com relação ao Filo bacteriano, na figura 8 é possível verificar a distribuição individual dos filos bacterianos, onde é notável a heterogeneidade destas bactérias em cada animal. Os Filos mais predominantes em todos os grupos foram Firmicutes (62,83% - 80,99%) e Actinobacteria (35,38% - 11,30%), conforme demonstrado na figura 9. Esses resultados corroboram estudos anteriores que avaliaram a microbiota de gatos adultos saudáveis (GARCIA-MAZCORRO et al., 2011; HANDL et al., 2011; HOODA et al., 2013; PLÉ et al., 2016). Adicionalmente, no único estudo conduzido com gatos FIV⁺, também foram encontrados como filos predominantes o Firmicutes e Actinobacteria (WEESE et al., 2015). Animais saudáveis apresentaram menor concentração de Fusobacteria em comparação aos doentes (0,03% - 0,46%), como demonstrado na tabela 9. De forma semelhante, humanos HIV⁺ também apresentam maiores concentrações de Fusobacteria em relação aos pacientes saudáveis (VUJKOVIC-CVIJIN et al., 2013; VOLPE et al., 2014; DINH et al., 2015). Contrário a este achado, em estudo prévio com gatos, não foi possível identificar diferenças em filos bacterianos entre animais saudáveis e FIV⁺ (WEESE et al., 2015).

Além disso, o consumo da PCL reduziu a concentração de Bacteroidetes (tabela 10). Nenhum achado semelhante foi encontrado com o uso deste aditivos em gatos. Somente nos animais saudáveis

o consumo da PCL aumentou a concentração de Actinobacteria (21,2% - 35,4%, GSD0 – GSD4) e reduziu a abundância de Firmicutes (71,5% - 62,8%, GSD0 – GSD4), conforme demonstrado na tabela 11. De forma semelhante, com o consumo do prebiótico FOS ocorreu aumento da abundância de Actinobacteria em gatos saudáveis (BARRY et al., 2012). A redução de Firmicutes não foi relatada em estudos prévios com o uso de PCL. Nos animais FIV⁺ o consumo de PCL modulou de forma positiva o filo Proteobacteria (1,0% - 3,0%, GID0 – GID4; tabela 11). Semelhante, o consumo de pectina levou ao aumento de Proteobacteria em gatos saudáveis (BARRY et al., 2012).

Com relação à Ordem bacteriana, na figura 10 é possível verificar uma distribuição heterogênea dos grupos bacterianos entre os animais do experimento. Com destaque para as ordens Clostridiales (74,68-55,74%) e Coriobacteriales (31,14-7,83%), conforme demonstrado na figura 11. Os animais FIV⁺ apresentaram maior abundância de Clostridiales e Fusobacteriales, e menor de Coriobacteriales em relação aos saudáveis (tabela 9). De forma contrária, em estudo anterior, gatos FIV⁺ apresentaram menor abundância de Clostridiales em relação aos saudáveis (WEESE et al., 2015). Alterações de abundância de Fusobacteriales e Coriobacteriales não foram mencionadas em estudos anteriores com gatos imunocomprometidos.

Em animais saudáveis, o consumo da PCL levou a redução de Aeromonadales (tabela 11). Alterações em Aeromonadales não foram relatadas em estudos com o consumo de prebióticos na espécie. No entanto, em animais FIV⁺ o seu consumo aumentou as populações de Lactobacillales e Aeromonadales (tabela 11). De forma semelhante, em estudos anteriores o consumo de prebiótico (FOS, Pectina e PCL) levou ao aumento de *Lactobacilles spp.* em gatos (SPARKES et al., 1998; BARRY et al., 2010; SANTOS, 2015). O aumento de *Lactobacillus* é desejável, uma vez que este grupo bacteriano possui capacidade probiótica, com possível melhora na saúde do hospedeiro (JUGAN et al., 2017). O consumo da PCL pode favorecer a multiplicação de bactérias láticas, como os Lactobacillales, uma vez que as mananoproteínas presentes na PCL são fermentadas pelas bactérias deste grupo (GANAN et al., 2012).

Figura 8 - Distribuição dos filos bacterianos entre os animais em cada tratamento.

Legenda: GID0 = grupo de animais naturalmente infectados pelo FIV que consumiram a dieta controle sem adição de parede celular de levedura; GID4 = grupo de animais naturalmente infectados pelo FIV que consumiram a dieta teste com adição de 0,4% de parede celular de levedura; GSD0 = grupo de animais saudáveis que consumiram a dieta controle sem adição de parede celular de levedura; GSD4 = grupo de animais saudáveis que consumiram a dieta teste com adição de 0,4% de parede celular de levedura.

Figura 9 - Distribuição dos filos bacterianos mais prevalentes entre cada tratamento.

Legenda: GID0 = grupo de animais naturalmente infectados pelo FIV que consumiram a dieta controle sem adição de parede celular de levedura; GID4 = grupo de animais naturalmente infectados pelo FIV que consumiram a dieta teste com adição de 0,4% de parede celular de levedura; GSD0 = grupo de animais saudáveis que consumiram a dieta controle sem adição de parede celular de levedura; GSD4 = grupo de animais saudáveis que consumiram a dieta teste com adição de 0,4% de parede celular de levedura.

Figura 10 - Distribuição das ordens bacterianas entre os animais em cada tratamento.

Legenda: GID0 = grupo de animais naturalmente infectados pelo FIV que consumiram a dieta controle sem adição de parede celular de levedura; GID4 = grupo de animais naturalmente infectados pelo FIV que consumiram a dieta teste com adição de 0,4% de parede celular de levedura; GSD0 = grupo de animais saudáveis que consumiram a dieta controle sem adição de parede celular de levedura; GSD4 = grupo de animais saudáveis que consumiram a dieta teste com adição de 0,4% de parede celular de levedura.

Figura 11 - Ordens bacterianas mais prevalentes em cada tratamento.

Legenda: GID0 = grupo de animais naturalmente infectados pelo FIV que consumiram a dieta controle sem adição de parede celular de levedura; GID4 = grupo de animais naturalmente infectados pelo FIV que consumiram a dieta teste com adição de 0,4% de parede celular de levedura; GSD0 = grupo de animais saudáveis que consumiram a dieta controle sem adição de parede celular de levedura; GSD4 = grupo de animais saudáveis que consumiram a dieta teste com adição de 0,4% de parede celular de levedura.

Tabela 9 - Efeito do estado de saúde sobre as concentrações médias de filos e ordens bacterianas nas fezes de gatos.

Filo	Grupos	
	FIV ⁻	FIV ⁺
Actinobacteria	27,73 ± 2,257	13,34 ± 1,132
Bacteroidetes	1,43 ± 0,876	0,34 ± 0,188
Firmicutes	67,30 ± 2,179	80,22 ± 1,306
Fusobacteria	0,03 ± 0,035 ^B	0,46 ± 0,371 ^A
Proteobacteria	2,26 ± 0,633	1,75 ± 0,425
Ordem	FIV ⁻	FIV ⁺
Aeromonadales	1,05 ± 0,429	1,77 ± 0,594
Bacteroidales	1,00 ± 0,381	0,63 ± 0,231
Bifidobacteriales	1,62 ± 0,508	0,94 ± 0,294
Clostridiales	56,01 ± 5,297 ^b	74,09 ± 4,008 ^a
Coriobacteriales	31,08 ± 6,499 ^a	9,57 ± 2,592 ^b
Erysipelotrichales	5,37 ± 1,119	7,32 ± 1,377
Fusobacteriales	0,09 ± 0,070 ^B	0,62 ± 0,325 ^A
Lactobacillales	0,66 ± 0,316	0,68 ± 0,308
Pseudomonadales	0,32 ± 0,167	0,21 ± 0,126

Legenda: FIV⁻: Animais não infectados pelo vírus da imunodeficiência felina; FIV⁺: Animais infectados pelo vírus da imunodeficiência felina; ^{A,B}- médias na mesma linha sem uma letra em comum diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$); ^{a,b}- médias na mesma linha sem uma letra em comum diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,001$).

Tabela 10 - Efeito da dose de parede celular de levedura sobre as concentrações médias de filos e ordens bacterianas observadas no estudo.

Filo	Dose	
	0% PCL	0,4% PCL
Actinobacteria	18,29 ± 1,476	20,89 ± 1,589
Bacteroidetes	1,369 ± 0,530 ^A	0,36 ± 0,178 ^B
Firmicutes	75,67 ± 1,564	72,85 ± 1,654
Fusobacteria	0,15 ± 0,131	0,09 ± 0,105
Proteobacteria	1,92 ± 0,475	2,05 ± 0,515
Ordem	0% PCL	0,4% PCL
Aeromonadales	1,68 ± 0,569	1,10 ± 0,434
Bacteroidales	1,30 ± 0,410	0,48 ± 0,197
Bifidobacteriales	1,12 ± 0,348	1,36 ± 0,413
Clostridiales	65,13 ± 4,752	66,09 ± 4,691
Coriobacteriales	19,62 ± 4,703	16,34 ± 4,082
Erysipelotrichales	6,41 ± 1,236	6,14 ± 1,185
Fusobacteriales	0,25 ± 0,149	0,22 ± 0,166
Lactobacillales	0,58 ± 0,263	0,77 ± 0,342
Pseudomonadales	0,17 ± 0,116	0,38 ± 0,166

Legenda: PCL: Parede celular de levedura; ^{A,B} - médias na mesma linha sem uma letra em comum diferem pelo teste de Tukey (p<0,05).

Tabela 11 - Concentrações médias de filos e ordens bacterianas encontradas nos diferentes tratamentos.

Filo	Tratamentos			
	FIV ⁻		FIV ⁺	
	0% PCL	0,4% PCL	0% PCL	0,4% PCL
Actinobacteria	21,2 ± 2,524 ^a	35,38 ± 3,029 ^b	15,70 ± 1,758 ^a	11,30 ± 1,353 ^a
Bacteroidetes	5,05 ± 3,790	0,39 ± 0,320	0,361 ± 0,003	0,32 ± 0,002
Firmicutes	71,48 ± 2,747 ^A	62,83 ± 2,794 ^B	79,43 ± 1,940 ^A	80,99 ± 1,761 ^A
Fusobacteria	0,08 ± 0,075	0,01 ± 0,022	0,30 ± 0,337	0,71 ± 0,646
Proteobacteria	3,66 ± 1,457 ^A	1,38 ± 0,496 ^A	1,00 ± 0,355 ^B	3,04 ± 0,872 ^A
Ordem	0% PCL	0,4% PCL	0% PCL	0,4% PCL
Aeromonadales	2,85 ± 1,260 ^A	0,38 ± 0,230 ^B	0,99 ± 0,427 ^B	3,14 ± 1,118 ^A
Bacteroidales	2,19 ± 0,833	0,45 ± 0,273	0,77 ± 0,374	0,51 ± 0,260
Bifidobacteriales	1,00 ± 0,452	2,62 ± 0,856	1,26 ± 0,483	0,70 ± 0,309
Clostridiales	55,74 ± 5,688	56,29 ± 5,551	73,48 ± 4,315	74,68 ± 4,151
Coriobacteriales	31,14 ± 6,962	31,01 ± 6,692	11,64 ± 3,203	7,83 ± 2,265
Erysipelotrichales	5,10 ± 1,222	5,65 ± 1,345	8,02 ± 1,693	6,67 ± 1,441
Fusobacteriales	0,17 ± 0,122	0,05 ± 0,059	0,39 ± 0,300	1,00 ± 0,565
Lactobacillales	1,23 ± 0,675 ^A	0,35 ± 0,224 ^A	0,27 ± 0,178 ^B	1,67 ± 0,737 ^A
Pseudomonadales	0,23 ± 0,196	0,44 ± 0,270	0,13 ± 0,135	0,34 ± 0,204

Legenda: FIV⁻: Animais não infectados pelo vírus da imunodeficiência felina; FIV⁺: Animais infectados pelo vírus da imunodeficiência felina; PCL: Parede celular de levedura; ^{A,B} - médias na mesma linha sem uma letra em comum diferem pelo teste de Tukey (p<0,05); ^{a,b} - médias na mesma linha sem uma letra em comum diferem pelo teste de Tukey (p<0,001).

5.1.2. Família

Na figura 12 é possível verificar o padrão de distribuição das famílias nos animais deste experimento, sendo possível observar grande heterogeneidade entre eles. As famílias mais predominantes, independente do estado de saúde e dieta, foram Veillonellaceae (68,39% - 17,73%; figura 13). Em estudo com gatos filhotes saudáveis, também foram encontradas entre as famílias mais abundantes Veillonellaceae e Coriobacteriaceae (HOODA et al., 2013). Animais doentes (FIV⁺) apresentaram menor concentração de Veillonellaceae em comparação aos animais saudáveis (32,4% - 51,6%, GI – GS), conforme demonstrado na tabela 12. Adicionalmente, o consumo da PCL reduziu esta mesma família em comparação aos animais não suplementados (21,2% - 60,3%, D4 – D0), conforme tabela 13. Informações sobre a modulação de Veillonellaceae pelo FIV ou pelo consumo de prebióticos não foram encontradas em literatura, o que dificultou a discussão dos resultados encontrados no presente estudo.

Em animais saudáveis, a PCL reduziu as famílias Prevotellaceae e Succinivibrionaceae, e aumentou, as famílias Coriobacteriaceae e Preptostreptococcaceae. Em animais FIV⁺ o consumo da PCL reduziu as famílias Clostridiaceae e Preptostreptococcaceae e, aumentou a família Erysipelotrichaceae, conforme a tabela 14. Para a espécie felina ainda é incerto se a redução de Clostridiales é benéfica. No entanto, membros desta família são considerados como potenciais agentes patogênicos (BARBUT et al., 1997; TEE; MIJCH, 1998; GORI et al., 2008; HANDL et al., 2011; MINAMOTO et al., 2012). Portanto, pode-se considerar como efeito positivo a redução de Clostridiaceae em gatos FIV⁺. A redução de Preptostreptococcaceae é potencialmente desejável, uma vez que esta família bacteriana está correlacionada com menor expectativa de vida em ratos (ZHANG et al., 2013). No entanto, nenhum estudo conduzido com avaliações em gatos demonstrou este efeito. Alterações em Prevotellaceae, Succinivibrionaceae, Coriobacteriaceae e Erysipelotrichaceae não foram relatadas em literatura, sendo incerto o seu efeito no hospedeiro.

Figura 12 - Distribuição das famílias bacterianas entre os animais em cada tratamento.

Legenda: GID0 = grupo de animais naturalmente infectados pelo FIV que consumiram a dieta controle sem adição de parede celular de levedura; GID4 = grupo de animais naturalmente infectados pelo FIV que consumiram a dieta teste com adição de 0,4% de parede celular de levedura; GSD0 = grupo de animais saudáveis que consumiram a dieta controle sem adição de parede celular de levedura; GSD4 = grupo de animais saudáveis que consumiram a dieta teste com adição de 0,4% de parede celular de levedura.

Figura 13 - Famílias bacterianas mais prevalentes em cada tratamento.

Legenda: GID0 = grupo de animais naturalmente infectados pelo FIV que consumiram a dieta controle sem adição de parede celular de levedura; GID4 = grupo de animais naturalmente infectados pelo FIV que consumiram a dieta teste com adição de 0,4% de parede celular de levedura; GSD0 = grupo de animais saudáveis que consumiram a dieta controle sem adição de parede celular de levedura; GSD4 = grupo de animais saudáveis que consumiram a dieta teste com adição de 0,4% de parede celular de levedura.

Tabela 12 - Efeito do estado de saúde sobre as concentrações médias de famílias bacterianas observadas no estudo.

Família	Grupos	
	FIV ⁻	FIV ⁺
Bifidobacteriaceae	0,53 ± 0,307	1,24 ± 0,523
Clostridiaceae	1,36 ± 0,429	1,863 ± 0,5203
Coriobacteriaceae	25,24 ± 2,207	12,2 ± 1,094
Erysipelotrichaceae	2,55 ± 0,674	7,026 ± 1,385
Lachnospiraceae	0,84 ± 0,531	0,30 ± 0,194
Leuconostocaceae	0,04 ± 2,425	0,01 ± 0,424
Peptococcaceae	1,05 ± 1,192	0,17 ± 0,176
Peptostreptococcaceae	11,32 ± 2,593	9,99 ± 1,635
Prevotellaceae	2,57 ± 2,857	0,25 ± 0,257
Ruminococcaceae	0,92 ± 0,527	0,74 ± 0,372
Succinivibrionaceae	1,22 ± 0,468	1,00 ± 0,378
Veillonellaceae	51,57 ± 5,218 ^A	32,39 ± 4,126 ^B

Legenda: FIV⁻: Animais não infectados pelo vírus da imunodeficiência felina; FIV⁺: Animais infectados pelo vírus da imunodeficiência felina; ^{A,B}- médias na mesma linha sem uma letra em comum diferem pelo teste de Tukey (p<0,05).

Tabela 13 - Efeito da dose de parede celular de levedura sobre as concentrações médias de famílias bacterianas observadas no estudo.

Família	Doses	
	0% PCL	0,4% PCL
Bifidobacteriaceae	0,54 ± 0,217	1,209 ± 0,447
Clostridiaceae	1,58 ± 0,452	1,61 ± 0,538
Coriobacteriaceae	17,16 ± 1,456	18,46 ± 1,504
Erysipelotrichaceae	3,94 ± 0,900	4,60 ± 0,988
Lachnospiraceae	0,42 ± 0,227	0,60 ± 0,334
Leuconostocaceae	0,02 ± 1,131	0,02 ± 0,908
Peptococcaceae	0,18 ± 1,175	0,95 ± 0,764
Peptostreptococcaceae	15,34 ± 3,488	7,25 ± 1,128
Prevotellaceae	1,77 ± 1,233	0,36 ± 0,240
Ruminococcaceae	0,74 ± 0,423	0,92 ± 0,500
Succinivibrionaceae	1,41 ± 0,463	0,86 ± 0,334
Veillonellaceae	60,29 ± 4,443 ^a	25,15 ± 3,099 ^b

Legenda: PCL: Parede celular de levedura; ^{a,b}- médias na mesma linha sem uma letra em comum diferem pelo teste de Tukey (p<0,001).

Tabela 14 - Concentrações médias de famílias bacterianas observadas nos diferentes tratamentos.

Família	Tratamentos			
	FIV ⁻		FIV ⁺	
	0% PCL	0,4% PCL	0% PCL	0,4% PCL
Bifidobacteriaceae	0,266 ± 0,189	1,06 ± 0,584	1,11 ± 0,610	1,39 ± 0,742
Clostridiaceae	0,54 ± 0,217 ^a	1,21 ± 0,447 ^a	1,24 ± 0,523 ^b	0,53 ± 0,307 ^a
Coriobacteriaceae	20,2 ± 2,527 ^b	21,04 ± 2,942 ^a	14,49 ± 1,691 ^a	10,22 ± 1,290 ^a
Erysipelotrichaceae	3,47 ± 0,998 ^A	1,87 ± 0,673 ^A	4,46 ± 1,217 ^B	10,89 ± 3,477 ^A
Lachnospiraceae	0,62 ± 0,473	1,14 ± 0,854	0,28 ± 0,258	0,31 ± 0,267
Leuconostocaceae	0,04 ± 2,283	0,04 ± 2,577	0,01 ± 0,561	0,01 ± 0,321
Peptococcaceae	0,52 ± 0,582	2,08 ± 2,974	0,07 ± 0,077	0,43 ± 0,755
Peptostreptococcaceae	5,16 ± 1,573 ^b	23,04 ± 4,735 ^a	37,65 ± 6,583 ^a	2,00 ± 0,827 ^b
Prevotellaceae	13,32 ± 17,130 ^A	0,45 ± 0,665 ^B	0,21 ± 0,290 ^A	0,29 ± 0,309 ^A
Ruminococcaceae	0,71 ± 0,508	1,20 ± 0,832	0,78 ± 0,539	0,70 ± 0,626
Succinivibrionaceae	3,78 ± 2,245 ^a	0,38 ± 0,211 ^b	0,52 ± 0,259 ^a	1,92 ± 0,768 ^a
Veillonellaceae	68,39 ± 5,880	34,39 ± 5,786	51,58 ± 6,572	17,73 ± 5,218

Legenda: FIV⁻: Animais não infectados pelo vírus da imunodeficiência felina; FIV⁺: Animais infectados pelo vírus da imunodeficiência felina; PCL: Parede celular de levedura; ^{A,B}- médias na mesma linha sem uma letra em comum diferem pelo teste de Tukey (p<0,05); ^{a,b}- médias na mesma linha sem uma letra em comum diferem pelo teste de Tukey (p<0,001).

5.1.3. Gênero

Na figura 14 é possível verificar o padrão de distribuição dos gêneros nos animais deste experimento e pode-se verificar grande heterogeneidade entre eles. O gênero predominante, independente do estado de saúde e dieta foi *Megasphaera spp.* (59,12-34,26%) conforme ilustrado na figura 15. Animais doentes (FIV⁺) apresentaram menor abundância de *Collinsella spp.* e *Peptococcus spp.*, conforme tabela 15. A PCL foi capaz de reduzir a concentração de *Catenibacterium spp.*, apresentado na tabela 16. Nos animais saudáveis o consumo da PCL aumentou a abundância de *Bifidobacterium spp.* e reduziu de *Dialister spp.*, *Megasphaera spp.* e *Anaerobiospirillum spp.*

Membros do gênero *Megasphaera* apresentaram capacidade de fermentar lactato em diversos AGCC (RUSSELL; BALDWIN, 1978; COUNOTTE et al., 1981). Além disso, estudos em ratos demonstraram que a sua presença foi associada à melhora da saúde do TGI (HASHIZUME et al., 2003) e também promoveu redução na atrofia de mucosa do intestino de porcos desmamados (YOSHIDA; TSUKAHARA; USHIDA, 2009). Portanto, a sua redução pode ser potencialmente indesejável, no entanto, marcadores que comprovem seu prejuízo não foram avaliados no presente estudo.

Com a utilização de outros prebióticos também foi possível encontrar aumento da concentração de *Bifidobacterium spp.* em cães e gatos saudáveis (BARRY et al., 2010; KANAKUPT et al., 2011; BELOSHAPKA et al., 2013; SANTOS, 2015). A inclusão de 4,0% de FOS foi capaz de aumentar a quantidade de *Bifidobacterium spp.* em gatos saudáveis (BARRY et al., 2010). De forma complementar, mesmo com a redução da suplementação de FOS (0,5%) ou com o uso de GOS (0,5%) também foi possível aumentar a abundância deste gênero bacteriano em gatos saudáveis (KANAKUPT et al., 2011). Em cães saudáveis, o consumo de PCL (1,4%) aumentou este gênero bacteriano (BELOSHAPKA et al., 2013). Resultado semelhante também foi encontrado com o uso da PCL em teores crescentes (0,2 – 0,4 -0,6%) em gatos saudáveis, com aumento linear de *Bifidobacterium spp.* (SANTOS, 2015). Todos estes autores comentaram que o aumento deste grupo bacteriano é benéfico e desejável quando se utiliza um prebiótico (BARRY et al., 2010; KANAKUPT et al., 2011; BELOSHAPKA et al., 2013; SANTOS, 2015). Portanto, apesar do presente estudo não ter avaliado parâmetros imunológicos ou marcadores de saúde intestinal, o aumento de *Bifidobacterium spp.* pode ser considerado como efeito positivo nos animais saudáveis.

Já nos animais FIV⁺ o seu consumo levou ao aumento de *Streptococcus spp.* e *Anaerobiospirillum spp.*, e redução de *Bifidobacterium spp.*, conforme demonstrado na tabela 17. O aumento de *Streptococcus spp.* é desejável, uma vez que possui como produto final do seu metabolismo o ácido láctico (TORTORA; FUNKE; CASE, 2015). Este, por sua vez, é capaz de reduzir o pH e assim propiciar ambiente desejável para a proliferação de bactérias benéficas e redução de grupos com potencial patogenicidade (CARBONERA; SANTO, 2010). Um estudo anterior avaliou a microbiota de gatos FIV⁺ e comparou-a com a de gatos saudáveis (WEESE et al., 2015). Os resultados demonstraram que gatos doentes possuíam maiores concentrações de *Bifidobacteriales* do que os saudáveis. De forma complementar, cães com insuficiência pancreática exócrina também apresentaram maior abundância de Bifidobacteriaceae do que os saudáveis (ISAIAH et al., 2017). Estes achados levantam a hipótese de que a redução deste grupo bacteriano em animais doentes pode indicar melhora no *status* de saúde dos animais. Porém, avaliações de parâmetros imunológicos ou marcadores de saúde se fazem necessários para a confirmação de tal teoria. Com relação ao papel dos grupos *Anaerobiospirillum*, *Collinsella*, *Catenibacterium*, *Peptococcus* e *Dialister* na saúde de gatos, não foram encontrados estudos até o momento para discussão dos resultados encontrados no presente trabalho. Aparentemente, a PCL foi capaz de modular populações bacterianas consideráveis e interessantes tanto em gatos saudáveis como FIV⁺.

Figura 14 - Distribuição das famílias bacterianas entre os animais em cada tratamento.

Legenda: GID0 = grupo de animais naturalmente infectados pelo FIV que consumiram a dieta controle sem adição de parede celular de levedura; GID4 = grupo de animais naturalmente infectados pelo FIV que consumiram a dieta teste com adição de 0,4% de parede celular de levedura; GSD0 = grupo de animais saudáveis que consumiram a dieta controle sem adição de parede celular de levedura; GSD4 = grupo de animais saudáveis que consumiram a dieta teste com adição de 0,4% de parede celular de levedura.

Figura 15 - Gêneros bacterianos mais prevalentes em cada tratamento.

Legenda: GID0 = grupo de animais naturalmente infectados pelo FIV que consumiram a dieta controle sem adição de parede celular de levedura; GID4 = grupo de animais naturalmente infectados pelo FIV que consumiram a dieta teste com adição de 0,4% de parede celular de levedura; GSD0 = grupo de animais saudáveis que consumiram a dieta controle sem adição de parede celular de levedura; GSD4 = grupo de animais saudáveis que consumiram a dieta teste com adição de 0,4% de parede celular de levedura.

Tabela 15 - Efeito do estado de saúde sobre as concentrações médias dos gêneros bacterianos observados no estudo.

Genero	Grupos	
	FIV ⁻	FIV ⁺
Adlercreutzia	0,59 ± 0,247	0,43 ± 0,174
Anaerobiospirillum	0,82 ± 0,357	0,80 ± 0,339
Bifidobacterium	1,62 ± 0,503	0,99 ± 0,307
Blautia	0,61 ± 0,349	0,10 ± 0,076
Bulleidia	1,77 ± 0,474	1,05 ± 0,309
Catenibacterium	0,90 ± 0,332	2,13 ± 0,600
Clostridium	0,33 ± 0,166	0,31 ± 0,144
Collinsella	2,76 ± 0,841 ^A	1,02 ± 0,332 ^B
Dialister	1,81 ± 0,553	1,68 ± 0,450
Eubacterium	2,40 ± 0,615	3,84 ± 0,848
Fusobacterium	0,12 ± 0,136	0,27 ± 0,135
Lactobacillus	0,21 ± 0,133	0,15 ± 0,102
Leuconostoc	0,24 ± 0,148	0,11 ± 0,090
Megasphaera	46,66 ± 8,531	37,16 ± 7,825
Oscillospira	0,09 ± 0,096	0,04 ± 0,056
Peptococcus	1,46 ± 0,499 ^A	0,39 ± 0,171 ^B
Prevotella	0,98 ± 0,385	0,55 ± 0,218
Roseburia	0,12 ± 0,110	0,09 ± 0,079
Slackia	0,71 ± 0,354	0,17 ± 0,109
Streptococcus	0,22 ± 0,180	0,39 ± 0,268
Succinivibrio	0,39 ± 0,266	0,56 ± 0,292

Legenda: FIV⁻: Animais não infectados pelo vírus da imunodeficiência felina; FIV⁺: Animais infectados pelo vírus da imunodeficiência felina; ^{A,B} - médias na mesma linha sem uma letra em comum diferem pelo teste de Tukey (p<0,05).

Tabela 16 - Efeito da dose de parede celular de levedura sobre as concentrações médias dos gêneros bacterianos observados no estudo.

Gênero	Doses	
	0% PCL	0,4% PCL
Adlercreutzia	0,59 ± 0,227	0,43 ± 0,187
Anaerobiospirillum	0,91 ± 0,370	0,73 ± 0,324
Bifidobacterium	1,12 ± 0,344	1,43 ± 0,427
Blautia	0,29 ± 0,196	0,20 ± 0,151
Bulleidia	0,29 ± 0,196	0,20 ± 0,151
Catenibacterium	2,18 ± 0,615 ^A	0,88 ± 0,300 ^B
Clostridium	0,30 ± 0,155	0,33 ± 0,155
Collinsella	1,55 ± 0,502	1,82 ± 0,586
Dialister	1,88 ± 0,495	1,62 ± 0,449
Eubacterium	2,97 ± 0,707	3,11 ± 0,735
Fusobacterium	0,35 ± 0,163	0,09 ± 0,109
Lactobacillus	0,15 ± 0,107	0,20 ± 0,126
Leuconostoc	0,14 ± 0,112	0,19 ± 0,121
Megasphaera	46,47 ± 8,233	37,34 ± 7,757
Oscillospira	0,10 ± 0,093	0,04 ± 0,056
Peptococcus	0,70 ± 0,272	0,82 ± 0,303
Prevotella	1,22 ± 0,405	0,44 ± 0,189
Roseburia	0,14 ± 0,109	0,07 ± 0,075
Slackia	0,30 ± 0,187	0,40 ± 0,235
Streptococcus	0,30 ± 0,196	0,28 ± 0,220
Succinivibrio	0,54 ± 0,292	0,41 ± 0,249

Legenda: PCL: Parede celular de levedura; ^{A,B} - médias na mesma linha sem uma letra em comum diferem pelo teste de Tukey (p<0,05).

Tabela 17 - Concentrações médias dos gêneros bacterianos observados no estudo.

Genero	Tratamentos			
	FIV ⁻		FIV ⁺	
	0% PCL	0,4% PCL	0% PCL	0,4% PCL
Adlercreutzia	0,98 ± 0,424	0,35 ± 0,250	0,36 ± 0,222	0,51 ± 0,260
Anaerobiospirillum	1,80 ± 0,967 ^A	0,37 ± 0,213 ^B	0,45 ± 0,233 ^B	1,43 ± 0,642 ^A
Bifidobacterium	0,94 ± 0,425 ^B	2,76 ± 0,883 ^A	1,33 ± 0,508 ^A	0,73 ± 0,323 ^B
Blautia	0,96 ± 0,607	0,38 ± 0,329	0,09 ± 0,088	0,11 ± 0,123
Bulleidia	1,97 ± 0,659	1,59 ± 0,562	1,12 ± 0,429	0,99 ± 0,404
Catenibacterium	1,37 ± 0,554	0,59 ± 0,302	3,43 ± 1,107	1,32 ± 0,460
Clostridium	0,26 ± 0,210	0,40 ± 0,258	0,35 ± 0,223	0,28 ± 0,187
Collinsella	2,56 ± 0,928	2,98 ± 1,081	0,93 ± 0,371	1,11 ± 0,481
Dialister	3,19 ± 1,037 ^A	1,03 ± 0,459 ^B	1,11 ± 0,434 ^A	2,55 ± 0,732 ^A
Eubacterium	2,42 ± 0,746	2,39 ± 0,778	3,65 ± 0,951	4,04 ± 1,028
Fusobacterium	0,41 ± 0,262	0,03 ± 0,075	0,29 ± 0,203	0,26 ± 0,180
Lactobacillus	0,16 ± 0,164	0,27 ± 0,210	0,14 ± 0,139	0,15 ± 0,148
Leuconostoc	0,22 ± 0,210	0,25 ± 0,205	0,09 ± 0,115	0,14 ± 0,139
Megasphaera	59,12 ± 8,674 ^A	34,60 ± 7,893 ^B	34,26 ± 7,902 ^A	40,17 ± 8,181 ^A
Oscillospira	0,18 ± 0,172	0,04 ± 0,086	0,05 ± 0,087	0,04 ± 0,086
Peptococcus	1,39 ± 0,550	1,53 ± 0,615	0,35 ± 0,216	0,44 ± 0,258
Prevotella	2,11 ± 0,845	0,45 ± 0,074	0,70 ± 0,360	0,44 ± 0,240
Roseburia	0,23 ± 0,196	0,06 ± 0,100	0,09 ± 0,112	0,09 ± 0,110
Slackia	0,83 ± 0,499	0,61 ± 0,412	0,11 ± 0,098	0,26 ± 0,223
Streptococcus	0,81 ± 0,633 ^A	0,06 ± 0,071 ^A	0,11 ± 0,104 ^B	1,38 ± 0,909 ^A
Succinivibrio	0,81 ± 0,553	0,19 ± 0,198	0,36 ± 0,282	0,87 ± 0,478

Legenda: FIV⁻: Animais não infectados pelo vírus da imunodeficiência felina; FIV⁺: Animais infectados pelo vírus da imunodeficiência felina; PCL: Parede celular de levedura; ^{A,B} - médias na mesma linha sem uma letra em comum diferem pelo teste Tukey (p<0,05).

5.2. PRODUTOS FERMENTATIVOS E DIGESTIBILIDADE

Com realação aos coeficientes de digestibilidade aparente (CDA), não houve diferença entre o consumo de PCL nas diferentes doses (0% e 0,4%). Houve diferença entre os grupos de animais (saudáveis e infectados pelo FIV). Animais FIV⁺ apresentaram menor CDA da proteína bruta (PB) e dos extrativos não-nitrogenados (ENN) e, maiores CDA do extrato etéreo em hidrólise ácida (EEHA) e da energia metabolizável (EM) em comparação aos animais saudáveis, conforme descrito na tabela 19. Não foi possível verificar diferença em relação aos produtos fermentativos e os CDA entre as diferentes doses (D0 x D4), grupos (GS x GI) ou mesmo nos diferentes tratamentos (GSD0, GSD4, GID0 e GID4), conforme demonstrado nas tabelas 18 e 20. O menor CDA para PB, ENN em gatos FIV⁺ é esperado, uma vez que esta doença desencadeia transtornos no TGI; como diarreia, predisposição à infecções por bactérias oportunistas, atrofia das vilosidades, hiperplasia das criptas, disfunção do íleo, má absorção de sais biliares e lipídios, redução na produção de suco gástrico e

redução do tempo de trânsito intestinal (KOTLER et al., 1984; GARCIA; QUINTAES; LEANDRO-MERHI, 2000; CHANG et al., 2008; VIJAY-KUMAR et al., 2010; SMITH et al., 2013); o que resulta na redução da digestibilidade aparente dos nutrientes (GARCIA; QUINTAES; LEANDRO-MERHI, 2000). No entanto, o aumento da digestibilidade do EEHA e da EM não eram resultados esperados e, não existem relatos em literatura com esse tipo de avaliação em gatos FIV⁺. Em humanos HIV⁺ também foi encontrada redução da digestibilidade aparente dos nutrientes, mas não foi relatado o aumento (GARCIA; QUINTAES; LEANDRO-MERHI, 2000). Estudos que avaliem a digestibilidade em animais e pessoas doentes se fazem necessários, devido ao impacto que este fator pode acarretar na terapia nutricional, bem como na melhor compreensão dos mecanismos da doença envolvida.

Tabela 18 - Coeficientes de digestibilidade aparente médios dos nutrientes e concentrações médias de produtos fermentativos observados nos grupos experimentais.

Variáveis	Grupos	
	FIV ⁻	FIV ⁺
CDAPB	82,75 ± 0,675 ^A	80,43 ± 0,605 ^B
CDAMO	83,30 ± 0,899	81,12 ± 0,857
CDAMM	26,50 ± 2,258	25,41 ± 2,258
CDAEEHA	85,10 ± 0,933 ^B	95,60 ± 0,835 ^A
CDAFB	26,34 ± 3,170	35,18 ± 2,841
CDAENN	86,68 ± 2,339 ^a	75,98 ± 2,097 ^b
CDAEB	83,04 ± 0,873	80,56 ± 0,783
CDAEM	73,11 ± 1,123 ^B	79,18 ± 1,006 ^A
Acetato	236,38 ± 37,189	279,61 ± 30,457
Propionato	82,64 ± 15,286	123,31 ± 12,509
Butirato	84,64 ± 20,444	76,95 ± 17,584
Ácido láctico	5,98 ± 14,380	37,98 ± 16,708
AGCC totais	400,83 ± 61,717	476,32 ± 51,322

Legenda: FIV⁻: Animais não infectados pelo vírus da imunodeficiência felina; FIV⁺: Animais infectados pelo vírus da imunodeficiência felina; CDA = Coeficiente de digestibilidade aparente; PB = Proteína bruta; MO = Matéria orgânica; MM = Matéria mineral; EEHA= Extrato etéreo em hidrólise ácida; FB = Fibra bruta; ENN = Extrativos não- nitrogenados; EB = Energia bruta; EM = Energia metabolizável; ^{A,B}- médias na mesma linha sem uma letra em comum diferem pelo teste de Tukey (p<0,05); ^{a,b}- médias na mesma linha sem uma letra em comum diferem pelo teste de Tukey (p<0,001).

Tabela 19 - Coeficientes de digestibilidade aparente médios dos nutrientes e concentrações médias de produtos fermentativos entre as doses experimentais.

Variáveis	Dose	
	0% PCL	0,4% PCL
CDAPB	81,88 ± 0,650	81,30 ± 0,631
CDAMO	82,07 ± 0,857	82,35 ± 0,889
CDAMM	24,71 ± 2,256	27,21 ± 2,256
CDAEEHA	89,39 ± 0,880	91,31 ± 0,862
CDAFB	28,94 ± 3,054	32,58 ± 2,965
CDAENN	82,33 ± 2,254	80,33 ± 2,188
CDAEB	81,84 ± 0,842	81,77 ± 0,817
CDAEM	77,35 ± 1,092	74,95 ± 1,050
Acetato	244,27 ± 34,412	271,72 ± 33,503
Propionato	90,79 ± 14,152	115,15 ± 13,779
Butirato	81,43 ± 18,939	80,15 ± 18,691
Ácido láctico	10,89 ± 16,078	33,06 ± 15,082
AGCC totais	414,37 ± 58,065	462,78 ± 56,532

Legenda: PCL: Parede celular de levedura; CDA = Coeficiente de digestibilidade aparente; PB = Proteína bruta; MO = Matéria orgânica; MM = Matéria mineral; EEHA= Extrato etéreo em hidrólise ácida; FB = Fibra bruta; ENN = Extrativos não nitrogenados; EB = Energia bruta; EM = Energia metabolizável.

Tabela 20 - Coeficientes de digestibilidade aparente médios dos nutrientes e concentrações médias dos produtos fermentativos observados nos diferentes tratamentos.

Variáveis	Tratamentos			
	FIV ⁻		FIV ⁺	
	0% PCL	0,4% PCL	0% PCL	0,4% PCL
CDAPB	82,79 ± 0,955	82,71 ± 0,955	80,97 ± 0,884	79,88 ± 0,827
CDAMO	83,02 ± 1,257	83,57 ± 1,257	81,11 ± 1,164	81,13 ± 1,257
CDAMM	23,54 ± 3,188	29,46 ± 3,184	25,87 ± 3,184	24,95 ± 3,188
CDAEEHA	83,31 ± 1,260	86,90 ± 1,223	95,47 ± 1,136	95,72 ± 1,987
CDAFB	23,31 ± 4,483	29,37 ± 4,483	34,57 ± 4,150	35,79 ± 3,882
CDAENN	86,50 ± 3,308	86,86 ± 3,308	78,16 ± 3,063	73,81 ± 2,865
CDAEB	82,49 ± 1,235	83,59 ± 1,235	81,18 ± 1,144	79,94 ± 1,079
CDAEM	74,40 ± 1,588	71,82 ± 1,588	80,30 ± 1,470	78,07 ± 1,375
Acetato	254,57 ± 52,429	218,19 ± 51,127	233,97 ± 44,060	325,25 ± 41,364
Propionato	83,96 ± 221,617	81,31 ± 21,617	97,63 ± 18,270	148,99 ± 17,090
Butirato	94,60 ± 26,075	74,67 ± 24,666	68,26 ± 21,656	85,64 ± 21,075
Ácido láctico	5,75 ± 20,337	6,21 ± 20,337	16,03 ± 24,907	59,92 ± 22,278
AGCC totais	436,65 ± 88,695	365,00 ± 88,695	392,08 ± 74,961	560,56 ± 70,120

Legenda: FIV⁻: Animais não infectados pelo vírus da imunodeficiência felina; FIV⁺: Animais infectados pelo vírus da imunodeficiência felina; PCL: Parede celular de levedura; CDA = Coeficiente de digestibilidade aparente; PB = Proteína bruta; MO = Matéria orgânica; MM = Matéria mineral; EEHA= Extrato etéreo em hidrólise ácida; FB = Fibra bruta; ENN = Extrativos não-nitrogenados; EB = Energia bruta; EM = Energia metabolizável.

Com relação aos efeitos das bactérias nas concentrações de AGCC e ácido lático, no presente estudo foi possível constatar que a redução do filo Actinobacteria e o aumento de Fusobacteria apresentaram efeito positivo na concentração de acetato e propionato. O aumento dos gêneros *Catenibacterium* e *Fusobacterium* resultaram em efeito positivo na concentração de acetato e propionato, em contrapartida, o aumento do gênero *Peptococcus* apresentou efeito negativo na concentração de acetato nas fezes, conforme demonstrado na tabela 23. Já o aumento de *Bifidobacterium* apresentou efeito positivo na concentração de propionato, demonstrado na tabela 23. Adicionalmente, o aumento da família Propionibacteriaceae e Moraxellaceae resultou em efeito negativo sobre acetato e propionato, conforme demonstrado nas tabelas 22. *Dialister* e *Eubacterium* apresentaram efeito negativo na produção de butirato, conforme demonstrado na tabela 23. Para o ácido lático, Fusobacteria e Peptostreptococcaceae apresentaram efeito positivo e, Paraprevotellaceae, Leuconostocaceae e Succinivibrionaceae demonstraram efeito negativo (tabelas 21 e 22). Os gêneros *Catenibacterium* e *Fusobacterium* apresentaram efeito positivo, conforme demonstrado na tabela 23. O filo Actinobacteria e o gênero *Peptococcus* resultaram em efeito positivo sobre os AGCC totais e a família Moraxellaceae em efeito negativo, conforme demonstrado na tabela 21, 22 e 23. Estudos com este tipo de análise também não foram encontrados na literatura, a qual pode ser bastante interessante, uma vez que já reflete os possíveis efeitos da modulação no crescimento de determinados grupos bacterianos nos produtos de fermentação fecal.

Ao se correlacionar os resultados encontrados com as modulações na população de bactérias, a redução do filo Actinobacteria nos animais saudáveis que consumiram a PCL (GSD4) aparentemente é positiva, uma vez que a sua presença pode afetar de forma negativa as concentrações de acetato, propionato e AGCC totais. De forma semelhante, a redução da ordem Aeromonadales no tratamento GSD4 também pode ser positiva, pois este grupo apresentou efeito negativo na concentração de propionato nas fezes. Nos animais FIV⁺ que consumiram a PCL (GID4) a redução da abundância de Peptostreptococcaceae se mostrou positiva, uma vez que esta família bacteriana exerceu efeito negativo na concentração de acetato e propionato. O aumento de *Bifidobacterium* no tratamento GSD4 é potencialmente positivo, devido a sua capacidade de modular de forma positiva o propionato. A redução do gênero *Dialister* no GSD4 pode ser positiva, uma vez que este gênero exerceu efeito negativo sobre a concentração de butirato. Deste modo, é possível que o consumo da PCL exerça efeitos positivos tanto em animais saudáveis como em animais FIV⁺. No entanto, mais estudos que empreguem o sequenciamento são necessários para a confirmação dos resultados ora encontrados.

Tabela 21 - Efeitos dos filos e ordens bacterianas nas concentrações de ácidos graxos de cadeia curta e ácido láctico nas fezes.

	Acetato			Propionato			Butirato			Ácido láctico			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
Bacteroidetes	-3,56	27,89	0,9020	-1,98	15,57	0,9023	5,63	9,03	0,5521	-14,14	14,98	0,3887	0,09	46,72	0,9984
Firmicutes	4,30	2,16	0,0872	2,47	1,18	0,0758	0,31	0,89	0,7363	0,95	1,24	0,4756	7,09	3,65	0,0935
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
Proteobacteria	-7,39	10,37	0,4988	-4,95	5,69	0,4137	-0,15	3,56	0,9661	-9,52	5,84	0,1643	-12,50	17,34	0,4942
Ordem	Efeito	EP	Prob.	Efeito	EP	Prob.	Efeito	EP	Prob.	Efeito	EP	Prob.	Efeito	EP	Prob.
Bifidobacteriales	-13,07	10,26	0,244	-7,49	4,29	0,124	0,18	4,76	0,971	-2,31	4,67	0,642	-19,03	17,91	0,323
Coriobacteriales	0,08	1,30	0,956	-0,27	0,53	0,630	0,20	0,67	0,774	-0,47	0,77	0,569	0,18	2,20	0,936
Bacteroidales	-12,66	18,90	0,524	1,45	7,90	0,860	-6,88	8,72	0,456	-4,17	7,83	0,617	-19,58	32,26	0,563
Lactobacillales	-3,92	10,10	0,710	-3,95	4,15	0,372	1,69	4,13	0,695	-2,98	5,24	0,594	-7,50	17,24	0,677
Clostridiales	-0,40	1,35	0,775	0,02	0,56	0,976	0,35	0,63	0,594	-0,14	0,69	0,843	0,18	2,20	0,936
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
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
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
Aeromonadales	-7,22	6,73	0,319	-3,40	2,75	0,257	-2,51	3,17	0,455	-4,73	2,97	0,172	-13,60	11,34	0,270
Pseudomonadales	-46,56	50,66	0,389	-14,44	21,32	0,520	-9,03	22,65	0,702	-14,08	27,48	0,630	-79,02	86,67	0,392

Legenda: AGCC totais: total de ácidos graxos de cadeia curta.

Tabela 22 - Efeitos das famílias bacterianas nas concentrações de ácidos graxos de cadeia curta e ácido láctico nas fezes.

Família	Acetato			Propionato			Butirato			Ácido láctico			AGCC totais		
	Efeito	EP	Prob.	Efeito	EP	Prob.	Efeito	EP	Prob.	Efeito	EP	Prob.	Efeito	EP	Prob.
Bifidobacteriaceae	-14,57	12,55	0,298	-10,25	5,75	0,135	-1,44	6,65	0,837	-0,49	1,57	0,776	-26,26	22,64	0,299
Coriobacteriaceae	-5,09	2,53	0,085	-2,82	1,42	0,088	-0,37	1,05	0,737	-0,72	1,33	0,611	-8,27	4,30	0,096
Prevotellaceae	-13,10	36,24	0,736	-7,68	19,79	0,718	3,07	11,15	0,797	359,21	365,28	0,505	-17,71	60,18	0,783
Paraprevotellaceae	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
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
Clostridiaceae	1,39	5,09	0,798	0,93	3,18	0,785	-0,80	1,08	0,500	0,55	3,79	0,893	1,51	8,28	0,864
Lachnospiraceae	-80,00	65,27	0,288	-61,82	31,05	0,117	22,24	28,82	0,483	-56,37	50,57	0,381	-119,57	112,08	0,346
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
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
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
Erysipelotrichaceae	-23,06	18,71	0,434	-10,96	10,96	0,500	-5,07	2,85	0,326	-0,28	2,25	0,913	-39,09	32,52	0,442
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

Legenda: AGCC totais: total de ácidos graxos de cadeia curta.

Tabela 23 - Efeitos dos gêneros bacterianos nas concentrações de ácidos graxos de cadeia curta e ácido láctico nas fezes.

Gênero	Acetato			Propionato			Butirato			Ácido láctico			AGCC totais		
	Efeito	EP	Prob.	Efeito	EP	Prob.	Efeito	EP	Prob.	Efeito	EP	Prob.	Efeito	EP	Prob.
Adlercreutzia	-43,73	20,13	0,066	-17,07	9,15	0,105	-15,03	8,54	0,122	-3,32	10,67	0,768	-79,19	34,37	0,055
Anaerobiospirillum	-2,85	7,96	0,730	-2,05	3,22	0,546	-0,91	3,81	0,818	-2,52	3,44	0,496	-6,62	13,38	0,636
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
Blautia	0,33	9,04	0,972	1,51	3,74	0,698	-1,00	3,89	0,804	-0,06	3,81	0,987	-1,69	15,42	0,916
Bulleidia	-13,16	16,78	0,459	-2,59	7,04	0,723	-12,75	8,03	0,156	-2,56	7,29	0,740	-28,88	28,24	0,341
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
Clostridium	-37,27	61,03	0,561	-4,79	25,50	0,857	-36,02	29,58	0,263	20,49	29,08	0,513	-76,80	103,43	0,482
Collinsella	-12,65	7,11	0,119	-4,32	2,96	0,187	-7,43	3,35	0,062	-0,18	3,09	0,957	-24,07	11,58	0,076
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
Lactobacillus	-59,86	120,25	0,636	-30,12	43,33	0,513	1,04	63,80	0,988	6,63	11,59	0,598	-105,39	209,92	0,634
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
Megasphaera	-0,27	1,01	0,799	-0,18	0,41	0,671	0,70	0,51	0,217	-0,69	0,39	0,133	0,20	1,70	0,910
Oscillospira	-235,09	182,40	0,245	-73,66	74,99	0,364	-148,32	77,99	0,106	-7,90	79,94	0,926	-493,03	308,77	0,161
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
Prevotella	-11,63	18,73	0,554	1,95	7,81	0,810	-6,79	8,63	0,457	-3,50	7,81	0,673	-17,77	31,96	0,595
Roseburia	-219,18	167,74	0,239	-64,58	69,92	0,391	-111,23	80,17	0,215	-49,57	72,37	0,531	-411,16	286,34	0,201
Slackia	-17,06	10,31	0,149	-6,64	4,31	0,174	-7,03	5,05	0,213	0,05	4,56	0,991	-31,63	17,39	0,119
Streptococcus	-4,40	10,82	0,696	-4,85	4,42	0,308	2,09	4,35	0,646	-5,53	5,40	0,353	-8,71	18,46	0,652
Succinivibrio	-12,63	11,36	0,303	-4,18	4,77	0,409	-8,47	6,18	0,213	-6,40	4,98	0,255	-21,70	19,32	0,298

Legenda: AGCC totais: total de ácidos graxos de cadeia curta.

Com base nos resultados apresentados foi possível identificar que o consumo da PCL foi capaz de modular a população bacteriana nos dois grupos de animais testados (GS e GI). No entanto, animais saudáveis e FIV⁺ que consumiram o prebiótico apresentaram modulações antagônicas para alguns grupos bacterianos. Nesse caso, a PCL foi capaz de exercer efeito somente em um grupo de animais (GS ou GI), não em ambos. Também foram observadas diferenças na composição de microrganismos entre animais saudáveis e infectados pelo FIV, o que levanta a hipótese de que a extrapolação de resultados encontrados em animais saudáveis para animais doentes pode ser equivocada. Um ponto importante a ser levantado como uma das falhas do presente estudo foi o fato de não ter sido avaliado o escore de condição corporal dos animais. Conforme já discutido, a obesidade pode influenciar na composição da microbiota de gatos (KIELER et al., 2016). Portanto, é possível que os animais FIV⁺ apresentassem escore de condição corporal inferior aos saudáveis, apesar de apresentarem peso corporal médio semelhante. Cabe destacar que o único estudo que avaliou a microbiota de gatos FIV⁺ publicado até o momento também não determinou a condição corporal dos animais (WEESE et al., 2015) ou mesmo em alguns estudos com gatos saudáveis que avaliaram microbiota, essa aferição não foi realizada (VESTER et al., 2009; JIA et al., 2011a; 2011b; BIAGI et al., 2013; MASUOKA et al., 2017). Vistos estes pontos, mais estudos que empreguem diferentes prebióticos e análise da microbiota em animais doentes, para promover a melhor compreensão do papel destes microrganismos na saúde intestinal dos animais em diferentes estados de saúde e o efeito de aditivos na saúde em animais debilitados são necessários.

5 CONCLUSÕES

Com base nas condições experimentais em que o presente estudo foi realizado, pode-se concluir que:

- O consumo de 0,4% de parede celular de levedura reduziu a porcentagem de Bacteroidetes e *Catenibacterium spp* nas fezes de gatos saudáveis e FIV⁺.
- Nos gatos saudáveis, a ingestão da parede celular de levedura resultou no aumento da concentração de Actinobacteria e *Bifidobacterium spp*. nas fezes e, reduziu a de Firmicutes, Aeromonadales, *Dialister spp.*, *Megasphaera spp.* e *Anaerobiospirillum spp*.
- Nos gatos FIV⁺, o consumo de parede celular de levedura aumentou a concentração fecal de Proteobacteria, Lactobacillales, Aeromonadales, *Streptococcus spp* e *Anaerobiospirillum spp*. e reduziu a de *Bifidobacterium spp*.
- Nos gatos saudáveis, independente do consumo ou não do prebiótico, observou-se menor

concentração fecal de Fusobacteria, Clostridiales e Fusobacteriales e, maior de Coriobacteriales, *Collinsella spp.* e *Peptococcus spp.* em comparação ao gatos FIV⁺.

- Os gatos FIV⁺, apresentaram menor digestibilidade da proteína bruta e carboidratos e, maior aproveitamento da gordura, em comparação aos gatos saudáveis.
- Não houve diferença nas concentrações de ácidos graxos de cadeia curta e de ácido láctico entre os tratamentos, grupos e doses.
- Com relação aos possíveis efeitos da modulação bacteriana e sua associação com a produção de ácidos graxos de cadeia curta, observou-se que a redução de Actinobacteria, Propionibacteriaceae e Moraxellaceae e, o aumento de Fusobacteria, *Catenibacterium* e *Fusobacterium* apresentaram efeito positivo na concentração de acetato e propionato. O aumento de *Peptococcus* apresentou efeito negativo na concentração de acetato. O aumento de *Bifidobacterium* apresentou efeito positivo na concentração de propionato. O aumento de *Dialister* e *Eubacterium* apresentaram efeito negativo na produção de butirato. O aumento de Fusobacteria, Peptostreptococcaceae, *Catenibacterium* e *Fusobacterium* e, a redução de Paraprevotellaceae, Leuconostocaceae e Succinivibrionaceae apresentaram efeito positivo na produção de ácido láctico. Por último, o aumento de Actinobacteria e *Peptococcus* e, a redução de Moraxellaceae resultaram em efeito positivo nas concentrações de ácidos graxos de cadeia curta totais .

REFERÊNCIAS

ABECIA, L.; HOYLES, L.; KHOO, C.; FRANTZ, N.; MCCARTNEY, A. L. Effects of a novel galactooligosaccharide on the faecal microbiota of healthy and inflammatory bowel disease cats during a randomized, double-blind, cross-over feeding study. **International Journal of Probiotics and Prebiotics**, v. 5, n. 2, p. 61–68, 2010.

ACINAS, S. G.; MARCELINO, L. A.; KLEPAC-CERAJ, V.; POLZ, M. F. Divergence and Redundancy of 16S rRNA Sequences in Genomes with Multiple *rrn* Operons. **Journal of Bacteriology**, v. 186, n. 9, p. 2629–2635, 2004.

ADDIE, D. D.; DENNIS, J. M.; TOTH, S.; CALLANAN, J. J.; REID, S.; JARRETT, O. Long-term impact on a closed household of pet cats of natural infection with feline coronavirus, feline leukaemia virus and feline immunodeficiency virus. **The Veterinary Record**, v. 146, n. 15, p. 419–424, 2000.

ALVIM, I. D.; VILELA, E. S. D.; BALDINI, V. L. S.; BRAGAGNOLO, N.; SGARBIERI, V. C. Produção piloto de derivados de levedura (*Saccharomyces* sp.) para uso como ingrediente na formulação de alimentos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 2, n. 1, 2, p. 119, 1999.

ANTHARAM, V. C.; LI, E. C.; ISHMAEL, A.; SHARMA, A.; MAI, V.; RAND, K. H.; WANG, G. P. Intestinal dysbiosis and depletion of butyrogenic bacteria in *Clostridium difficile* infection and nosocomial diarrhea. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 51, n. 9, p. 2884–2892, 2013.

AOAC. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 17. ed. Washington, DC, USA: Association of Official Analysis Chemists International, 2007.

APANAVICIUS, C. J.; POWELL, K. L.; VESTER, B. M.; KARR-LILIENTHAL, L. K.; POPE, L. L.; FASTINGER, N. D.; WALLIG, M. a; TAPPENDEN, K. a; SWANSON, K. S. Fructan supplementation and infection affect food intake, fever, and epithelial sloughing from *Salmonella* challenge in weanling puppies. **The Journal of Nutrition**, v. 137, n. 8, p. 1923–1930, 2007.

AQUINO, A. A. **Extrato seco de parede de levedura em dietas para gatos adultos**. 2009. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras (UFLA), 2009.

AQUINO, A. A.; SAAD, F. M. O. B.; SANTOS, J. P. F.; ALVES, M. P.; FERRAZZA, R. A.; MIRANDA, M. C. M. G. Efeitos do extrato da parede de levedura na digestibilidade, no escore fecal e na palatabilidade de dietas para gatos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 3, p. 622–630, 2010.

AQUINO, A. A.; SAAD, F. M. O. B.; SANTOS, J. P. F.; LEITE, C. A. L.; SAMPAIO, G. R.; FELICIANO, M. A. R. Efeitos da parede de levedura em dieta úmida na microbiota fecal, na produção de gás e na morfologia intestinal de gatos adultos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n. 6, p. 1673–1680, 2013.

ARPAIA, N.; CAMPBELL, C.; FAN, X.; DIKIY, S.; VAN DER VEEKEN, J.; DEROOS, P.; LIU, H.; CROSS, J. R.; PFEFFER, K.; COFFER, P. J.; RUDENSKY, A. Y. Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T-cell generation. **Nature**, v. 504, n. 7480, p. 451–455, 2013.

BANSAL, T.; ALANIZ, R. C.; WOOD, T. K.; JAYARAMAN, A. The bacterial signal indole increases epithelial-cell tight-junction resistance and attenuates indicators of inflammation. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 1, p. 228–233, 2010.

BARBUT, F.; MEYNARD, J.-L.; GUIGUET, M.; AVESANI, V.; BOCHET, M.-V.; MEYOHAS, M.-C.; DELMÉE, M.; TILLEUL, P.; FROTTIER, J.; PETIT, J.-C. Clostridium difficile-associated diarrhea in HIV-infected patients: epidemiology and risk factors. **JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 16, n. 3, p. 176–181, 1997.

BARR, M. C.; CALLE, P. P.; ROELKE, M. E.; SCOTT, F. W. Feline immunodeficiency virus infection in nondomestic felids. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 20, n. 3, p. 265–272, 1989.

BARROS, V. R.; BEZERRA, A. B.; BOCHNAKIAN, M. S.; FILGUEIRA, K. D. Epidemiology of feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus in a veterinary teaching hospital. **Brazilian Journal of Hygiene and Animal Sanitary**, v. 11, n. 2, p. 151–160, 2017.

BARRY, K. A.; MIDDELBOSS, I. S.; VESTER BOLER, B. M.; DOWD, S. E.; SUCHODOLSKI, J. S.; HENRISSAT, B.; COUTINHO, P. M.; WHITE, B. A.; FAHEY, G. C.; SWANSON, K. S. Effects of dietary fiber on the feline gastrointestinal metagenome. **Journal of Proteome Research**, v. 11, n. 12, p. 5924–5933, 2012.

BARRY, K. A.; WOJCICKI, B. J.; MIDDELBOSS, I. S.; VESTER, B. M.; SWANSON, K. S.; FAHEY, G. C. Dietary cellulose, fructooligosaccharides, and pectin modify fecal protein catabolites and microbial populations in adult cats. **Journal of Animal Science**, v. 88, n. 9, p. 2978–2987, 2010.

BELENGUER, A.; DUNCAN, S. H.; CALDER, A. G.; HOLTROP, G.; LOUIS, P.; LOBLEY, G. E.; FLINT, H. J. Two routes of metabolic cross-feeding between Bifidobacterium adolescentis and butyrate-producing anaerobes from the human gut. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, n. 5, p. 3593–3599, 2006.

BELL, E. T.; SUCHODOLSKI, J. S.; ISAIAH, A.; FLEEMAN, L. M.; COOK, A. K.; STEINER, J. M.; MANSFIELD, C. S. Faecal microbiota of cats with insulin-treated diabetes mellitus. **PLoS ONE**, v. 9, n. 10, p. 1–12, 2014.

BELL, J. A.; KOPPER, J. J.; TURNBULL, J. A.; BARBU, N. I.; MURPHY, A. J.; MANSFIELD, L. S. Ecological Characterization of the Colonic Microbiota of Normal and Diarrheic Dogs. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, v. 2008, p. 1–17, 2008.

BELOSHAPKA, A. N.; DOWD, S. E.; SUCHODOLSKI, J. S.; STEINER, J. M.; DUCLOS, L.; SWANSON, K. S. Fecal microbial communities of healthy adult dogs fed raw meat-based diets with or without inulin or yeast cell wall extracts as assessed by 454 pyrosequencing. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 84, n. 3, p. 532–541, 2013.

BELOSHAPKA, A. N.; DUCLOS, L. M.; VESTER BOLER, B. M.; SWANSON, K. S. Effects of inulin or yeast cell-wall extract on nutrient digestibility, fecal fermentative end-product concentrations, and blood metabolite concentrations in adult dogs fed raw meat-based diets. **American Journal of Veterinary Research**, v. 73, n. 7, p. 1016–1023, 2012.

BENDINELLI, M.; PISTELLO, M.; LOMBARDI, S.; POLI, A.; GARZELLI, C.; MATTEUCCI, D.; CECCHERINI-NELLI, L.; MALVALDI, G.; TOZZINI, F. Feline immunodeficiency virus: An interesting model for AIDS studies and an important cat pathogen. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 8, n. 1, p. 87–112, 1995.

BERMINGHAM, E. N.; KITTELMANN, S.; HENDERSON, G.; YOUNG, W.; ROY, N. C.; THOMAS, D. G. Five-week dietary exposure to dry diets alters the faecal bacterial populations in the domestic cat (*Felis catus*). **The British Journal of Nutrition**, v. 106 Suppl, n. S1, p. S49-52, 2011.

BLAUT, M. Relationship of prebiotics and food to intestinal microflora. **European Journal of Nutrition**, v. 41, n. 0, p. 1–1, 2002.

CALDAS, A. P. F.; LEAL, É. D. S.; SILVA, E. F. A.; RAVAZZOLO, A. P. Detecção do provírus da Imunodeficiência Felina em gatos domésticos pela técnica de Reação em Cadeia da Polimerase. **Pesquisa Veterinaria Brasileira**, v. 20, n. 1, p. 20–25, 2000.

CANANI, R. B.; COSTANZO, M. Di; LEONE, L.; PEDATA, M.; MELI, R.; CALIGNANO, A. Potential beneficial effects of butyrate in intestinal and extraintestinal diseases. **World Journal of Gastroenterology**, v. 17, n. 12, p. 1519–1528, 2011.

CANTLE, J. E. **Atomic absorption spectrometry**. New York, USA: Elsevier, 1986. v. 5

CAPORASO, J. G.; LAUBER, C. L.; WALTERS, W. A.; BERG-LYONS, D.; HUNTLEY, J.; FIERER, N.; OWENS, S. M.; BETLEY, J.; FRASER, L.; BAUER, M.; GORMLEY, N.; GILBERT, J. A.; SMITH, G.; KNIGHT, R. Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. **ISME Journal**, v. 6, n. 8, p. 1621–1624, 2012.

CARBONERA, N.; SANTO, M. L. P. E. Atividade do *Lactobacillus plantarum* na preservação da anchoita (*Engraulis anchoita*) fermentada. **Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, v. 69, n. 2, p. 201–207, 2010.

CASTILLO, W.; KRONKA, R.; PIZAURO, J.; THOMAZ, C.; CARVALHO, L. Efeito da substituição do farelho de soja pela levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) como fonte protéica em dietas para leitões desmamados sobre a morfologia intestinal e atividade das enzimas digestivas intestinais. **Archivos Latinoamericanos de Producción Animal**, v. 12, p. 21–27, 2004.

CAXITO, F. A.; COELHO, F. M.; OLIVEIRA, M. E.; RESENDE, M. Feline Immunodeficiency Virus Subtype B in Domestic Cats in Minas Gerais, Brazil. **Veterinary Research Communications**, v. 30, n. 8, p. 953–956, 2006.

CFMV. **População de gatos cresce em média 8% ao ano no Brasil e está perto de se igualar a de cães**. Disponível em: <<http://portal.cfmv.gov.br/noticia/index/id/4064/secao/6>>. Acesso em: 8 jan. 2018.

CHABAN, B.; LINKS, M. G.; HILL, J. E. A Molecular Enrichment Strategy Based on cpn60 for Detection of Epsilon-Proteobacteria in the Dog Fecal Microbiome. **Microbial Ecology**, v. 63, n. 2, p. 348–357, 2012.

CHANG, J. Y.; ANTONOPOULOS, D. A.; KALRA, A.; TONELLI, A.; KHALIFE, W. T.; SCHMIDT, T. M.; YOUNG, V. B. Decreased Diversity of the Fecal Microbiome in Recurrent *Clostridium difficile* –Associated Diarrhea. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 197, n. 3, p. 435–438, 2008.

CHURCH, D. C.; POND, W. G. **Basic animal nutrition and feeding**. New York, USA: John Wiley

& Sons, 1988.

COLLINS, M. D.; WALLBANKS, S. Comparative sequence analyses of the 16S rRNA genes of *Lactobacillus minutus*, *Lactobacillus rimae* and *Streptococcus parvulus*: Proposal for the creation of a new genus *Atopobium*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 95, n. 2–3, p. 235–240, 1992.

COMMANE, D. M.; SHORTT, C. T.; SILVI, S.; CRESCI, A.; HUGHES, R. M.; ROWLAND, I. R. Effects of fermentation products of pro- and prebiotics on trans-epithelial electrical resistance in an in vitro model of the colon. **Nutrition and Cancer**, v. 51, n. 1, p. 102–109, 2005.

COUNOTTE, G. H. M.; PRINS, R. A.; JANSSEN, R. H. A. M.; DE BIE, M. J. A. Role of *Megasphaera elsdenii* in the fermentation of DL-[2-13C] lactate in the rumen of dairy cattle. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 42, n. 4, p. 649–655, 1981.

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, n. S1, p. S6–S17, 2015.

DESAI, A. R.; MUSIL, K. M.; CARR, A. P.; HILL, J. E. 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.

DEUSCH, O.; O'FLYNN, C.; COLYER, A.; MORRIS, P.; ALLAWAY, D.; JONES, P. G.; SWANSON, K. S. Deep illumina-based shotgun sequencing reveals dietary effects on the structure and function of the fecal microbiome of growing kittens. **PLoS ONE**, v. 9, n. 7, p. 1–15, 2014.

DINH, D. M.; VOLPE, G. E.; DUFFALO, C.; BHALCHANDRA, S.; TAI, A. K.; KANE, A. V.; WANKE, C. A.; WARD, H. D. Intestinal Microbiota, microbial translocation, and systemic inflammation in chronic HIV infection. **Journal of Infectious Diseases**, v. 211, n. 1, p. 19–27, 2015.

DUBOC, H.; RAJCA, S.; RAINTEAU, D.; BENAROUS, D.; MAUBERT, M.-A.; QUERVAIN, E.; THOMAS, G.; BARBU, V.; HUMBERT, L.; DESPRAS, G.; BRIDONNEAU, C.; DUMETZ, F.; GRILL, J.-P.; MASLIAH, J.; BEAUGERIE, L.; COSNES, J.; CHAZOUILLÈRES, O.; POUPON, R.; WOLF, C.; MALLET, J.-M.; LANGELLA, P.; TRUGNAN, G.; SOKOL, H.; SEKSIK, P.; BALZOLA, F.; CULLEN, G.; HO, G. T.; RUSSELL, R. K.; WEHKAMP, J. Connecting dysbiosis,

bile-acid dysmetabolism and gut inflammation in inflammatory bowel diseases. **Inflammatory Bowel Disease Monitor**, v. 13, n. 2, p. 73, 2012.

DUERKOP, B. A.; VAISHNAVA, S.; HOOPER, L. V. Immune Responses to the Microbiota at the Intestinal Mucosal Surface. **Immunity**, v. 31, n. 3, p. 368–376, 2009.

DUNCAN, S. H.; HOLD, G. L.; BARCENILLA, A.; STEWART, C. S.; FLINT, H. J. Roseburia intestinalis sp. nov., a novel saccharolytic, butyrate-producing bacterium from human faeces. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 52, n. 5, p. 1615–1620, 2002.

DUNCAN, S. H.; LOUIS, P.; FLINT, H. J. Lactate-utilizing bacteria, isolated from human feces, that produce butyrate as a major fermentation product. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, n. 10, p. 5810–5817, 2004.

ENGLISH, R.; NELSON, P.; JOHNSON, C. M.; NASISSE, M.; TOMPKINS, W. A.; TOMPKINS, M. B. Development of clinical disease in cats experimentally infected with feline immunodeficiency virus. **Journal of Infectious Diseases**, v. 170, n. 3, p. 543–552, 1994.

ESTRADA, A.; DREW, M. D.; VAN KESSEL, A. Effect of the dietary supplementation of fructooligosaccharides and Bifidobacterium longum to early-weaned pigs on performance and fecal bacterial populations. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 81, n. 1, p. 141–148, 2001.

EWING, B.; HILLIER, L.; WENDL, M. C.; GREEN, P. Base-Calling of Automated Sequencer Traces Using Phred. I. Accuracy Assessment. **Genome Research**, p. 175–185, 1998.

FÉLIX, A. P.; RIVERA, N. L. M.; SABCHUK, T. T.; LIMA, D. C.; OLIVEIRA, S. G.; MAIORKA, A. The effect of soy oligosaccharide extraction on diet digestibility, faecal characteristics, and intestinal gas production in dogs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 184, n. 1–4, p. 86–93, 2013.

FERIA, M. G.; TABORDA, N. A.; HERNANDEZ, J. C.; RUGELES, M. T. Effects of prebiotics and probiotics on gastrointestinal tract lymphoid tissue in hiv infected patients. **Revista Médica do Chile**, v. 145, n. 2, p. 219–229, 2017.

FERKET, P. R.; PARKS, C. W.; GRIMES, J. L. Benefits of Dietary Antibiotic and Mannanligosaccharide Supplementation for Poultry. **Multi-State Poultry Meeting**, p. 1–22, 2002.

FERLAZZO, G.; RIZZELLO, V.; BONACCORSI, I.; DONGARR, M. L.; FINK, L. N. Role of natural killer and dendritic cell crosstalk in immunomodulation by commensal bacteria probiotics. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v. 2011, p. 1–10, 2011.

FILONI, C.; CATÃO-DIAS, J. L.; CATTORI, V.; WILLI, B.; MELI, M. L.; CORRÊA, S. H. R.; MARQUES, M. C.; ADANIA, C. H.; SILVA, J. C. R.; MARVULO, M. F. V.; NETO, J. S. F.; DURIGON, E. L.; DE CARVALHO, V. M.; COUTINHO, S. D. A.; LUTZ, H.; HOFMANN-LEHMANN, R. Surveillance using serological and molecular methods for the detection of infectious agents in captive Brazilian neotropic and exotic felids. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 24, n. 1, p. 166–173, 2012.

FISCHER, M. M.; KESSLER, A. M.; DE SÁ, L. R. M.; VASCONCELLOS, R. S.; ROBERTI FILHO, F. O.; NOGUEIRA, S. P.; OLIVEIRA, M. C. C.; CARCIOFI, A. C. Fiber fermentability effects on energy and macronutrient digestibility, fecal traits, postprandial metabolite responses, and colon histology of overweight cats. **Journal of Animal Science**, v. 90, n. 7, p. 2233–2245, 2012.

FISCHER, M. M.; KESSLER, A. M.; KIEFFER, D. A.; KNOTTS, T. A.; KIM, K.; WEI, A.; RAMSEY, J. J.; FASCETTI, A. J. Effects of obesity, energy restriction and neutering on the faecal microbiota of cats. **British Journal of Nutrition**, v. 118, p. 513–524, 2017.

FLEMMING, J. S. **Utilização de leveduras, probióticos e mananoligossacarídeos (MOS) na alimentação de frangos de corte**. 2005. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Paraná, 2005.

GAILLARD, E. T.; HARGIS, A. M.; PRIEUR, D. J.; EVERMANN, J. F.; DHILLON, A. S. Pathogenesis of feline gastric chlamydial infection. **American Journal of Veterinary Research**, v. 45, n. 11, p. 2314–2321, 1984.

GANAN, M.; CARRASCOSA, A. V.; DE PASCUAL-TERESA, S.; MARTINEZ-RODRIGUEZ, A. J. Effect of Mannoproteins on the Growth, Gastrointestinal Viability, and Adherence to Caco-2 Cells of Lactic Acid Bacteria. **Journal of Food Science**, v. 77, n. 3, p. M176–M180, 2012.

GARCIA-MAZCORRO, J. F. J.; MINAMOTO, Y. Gastrointestinal microorganisms in cats and dogs : a brief review. **Archivos de medicina veterinaria**, v. 45, n. 2, p. 111–124, 2013.

GARCIA-MAZCORRO, J. F.; LANERIE, D. J.; DOWD, S. E.; PADDOCK, C. G.; GRÜTZNER, N.; STEINER, J. M.; IVANEK, R.; SUCHODOLSKI, J. S. Effect of a multi-species synbiotic formulation on fecal bacterial microbiota of healthy cats and dogs as evaluated by pyrosequencing. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 78, n. 3, p. 542–554, 2011.

GARCIA, W. R. D.; QUINTAES, K. D.; LEANDRO-MERHI, V. A. Nutrition and Aids. **Revista de Ciências Médicas**, v. 9, n. 2, p. 52–73, 2000.

GERMAN, a J.; DAY, M. J.; RUAUX, C. G.; STEINER, J. M.; WILLIAMS, D. a; HALL, E. J. Comparison of direct and indirect tests for small intestinal bacterial overgrowth and antibiotic-responsive diarrhea in dogs. **Journal of veterinary internal medicine / American College of Veterinary Internal Medicine**, v. 17, n. 1, p. 33–43, 2003.

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, p. 341–352, 2002.

GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **The Journal of Nutrition**, v. 125, n. 6, p. 1401–1412, 1995.

GIBSON, G. R.; SCOTT, K. P.; RASTALL, R. A.; TUOHY, K. M.; HOTCHKISS, A.; DUBERT-FERRANDON, A.; GAREAU, M.; MURPHY, E. F.; SAULNIER, D.; LOH, G.; MACFARLANE, S.; DELZENNE, N.; RINGEL, Y.; KOZIANOWSKI, G.; DICKMANN, R.; LENOIR-WIJKOOK, I.; WALKER, C.; BUDDINGTON, R. Dietary prebiotics: current status and new definition. **Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods**, v. 7, n. 1, p. 1–19, 2010.

GLEICH, S. E.; KRIEGER, S.; HARTMANN, K. Prevalence of feline immunodeficiency virus and feline leukaemia virus among client-owned cats and risk factors for infection in Germany. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 11, n. 12, p. 985–992, 2009.

GLEICH, S.; HARTMANN, K. Hematology and serum biochemistry of feline immunodeficiency

virus-infected and feline leukemia virus-infected cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 23, n. 3, p. 552–558, 2009.

GOMES, M. de O. S. **Effects of yeast cell wall addition on diet digestibility, fecal bacterial enumeration, short-chain fatty acid and amine concentration and hematological and immunological parameters of dogs**. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciências) - São Paulo State University, 2009.

GONZÁLEZ-HERNÁNDEZ, L. A.; JAVE-SUAREZ, L. F.; FAFUTIS-MORRIS, M.; MONTES-SALCEDO, K. E.; VALLE-GUTIERREZ, L. G.; CAMPOS-LOZA, A. E.; ENCISO-GÓMEZ, L. F.; ANDRADE-VILLANUEVA, J. F.; GONZALEZ-HERNANDEZ, L. A.; JAVE-SUAREZ, L. F.; FAFUTIS-MORRIS, M.; MONTES-SALCEDO, K. E.; VALLE-GUTIERREZ, L. G.; CAMPOS-LOZA, A. E.; ENCISO-GOMEZ, L. F.; ANDRADE-VILLANUEVA, J. F. Synbiotic therapy decreases microbial translocation and inflammation and improves immunological status in HIV-infected patients: a double-blind randomized controlled pilot trial. **Nutrition Journal**, v. 11, n. 1, p. 90, 2012.

GOODMAN, A. L.; KALLSTROM, G.; FAITH, J. J.; REYES, A.; MOORE, A.; DANTAS, G.; GORDON, J. I. Extensive personal human gut microbiota culture collections characterized and manipulated in gnotobiotic mice. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 108, n. 15, p. 6252–6257, 2011.

GORI, A.; RIZZARDINI, G.; VAN'T LAND, B.; AMOR, K. B.; VAN SCHAIK, J.; TORTI, C.; QUIRINO, T.; TINCATI, C.; BANDERA, A.; KNOL, J.; BENLHASSAN-CHAHOUR, K.; TRABATTONI, D.; BRAY, D.; VRIESEMA, A.; WELLING, G.; GARSEN, J.; CLERICI, M. Specific prebiotics modulate gut microbiota and immune activation in HAART-naive HIV-infected adults: results of the “COPA” pilot randomized trial. **Mucosal immunology**, v. 4, n. 5, p. 554–563, 2011.

GORI, A.; TINCATI, C.; RIZZARDINI, G.; TORTI, C.; QUIRINO, T.; HAARMAN, M.; AMOR, K. Ben; VAN SCHAIK, J.; VRIESEMA, A.; KNOL, J.; MARCHETTI, G.; WELLING, G.; CLERICI, M. Early impairment of gut function and gut flora supporting a role for alteration of gastrointestinal mucosa in human immunodeficiency virus pathogenesis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 46, n. 2, p. 757–758, 2008.

GOTO, Y.; NISHIMURA, Y.; MIZUNO, T.; ENDO, Y.; BABA, K.; MOMOI, Y.; WATARI, T.; HASEGAWA, A.; TSUJIMOTO, H. Quantification of viral ribonucleic acid in plasma of cats naturally infected with feline immunodeficiency virus. **American Journal of Veterinary Research**, v. 61, n. 12, p. 1609–1613, 2000.

GRIESHOP, C. M.; FLICKINGER, E. A.; BRUCE, K. J.; PATIL, A. R.; CZARNECKI-MAULDEN, G. L.; FAHEY, G. C. Gastrointestinal and immunological responses of senior dogs to chicory and mannan-oligosaccharides. **Archives of Animal Nutrition**, v. 58, n. 6, p. 483–493, 2004.

GRØNVOLD, A. M. R.; L'ABÉE-LUND, T. M.; SØRUM, H.; SKANCKE, E.; YANNARELL, A. C.; MACKIE, R. I. Changes in fecal microbiota of healthy dogs administered amoxicillin. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 71, n. 2, p. 313–326, 2010.

GRZEŚKOWIAK, Ł.; ENDO, A.; BEASLEY, S.; SALMINEN, S. Microbiota and probiotics in canine and feline welfare. **Anaerobe**, v. 34, p. 14–23, 2015.

GUARD, B. C.; BARR, J. W.; REDDIVARI, L.; KLEMASHEVICH, C.; JAYARAMAN, A.; STEINER, J. M.; VANAMALA, J.; SUCHODOLSKI, J. S. Characterization of microbial dysbiosis and metabolomic changes in dogs with acute diarrhea. **PLoS ONE**, v. 10, n. 5, p. 1–24, 2015.

HACIN, B.; ROGELJ, I.; MATIJAŠIĆ, B. B. Lactobacillus isolates from weaned piglets' mucosa with inhibitory activity against common porcine pathogens. **Folia Microbiologica**, v. 53, n. 6, p. 569–576, 2008.

HAGIWARA, M. K.; RECHE JUNIOR, A.; DAGLI, M. L. Z. Feline immunodeficiency virus infection in cats from Sao Paulo, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 30, p. 217–220, 1993.

HANDL, S.; DOWD, S. E.; GARCIA-MAZCORRO, J. F.; STEINER, J. M.; SUCHODOLSKI, J. S. Massive parallel 16S rRNA gene pyrosequencing reveals highly diverse fecal bacterial and fungal communities in healthy dogs and cats. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 76, n. 2, p. 301–310, 2011.

HARGIS, A. M.; PRIEUR, D. J.; GAILLARD, E. T. Chlamydial infection of the gastric mucosa in twelve cats. **Veterinary Pathology**, v. 20, n. 2, p. 170–178, 1983.

HARTMANN, K. Clinical aspects of feline immunodeficiency and feline leukemia virus infection. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 143, n. 3–4, p. 190–201, 2011.

HASHIZUME, K.; TSUKAHARA, T.; YAMADA, K.; KOYAMA, H.; USHIDA, K. Megasphaera elsdenii JCM1772T normalizes hyperlactate production in the large intestine of fructooligosaccharide-fed rats by stimulating butyrate production. **The Journal of Nutrition**, v. 133, n. 10, p. 3187–3190, 2003.

HESTA, M.; JANSSENS, G. P. J.; DEBRAEKELEER, J.; DE WILDE, R. The effect of oligofructose and inulin on faecal characteristics and nutrient digestibility in healthy cats. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 85, n. 5–6, p. 135–141, 2001.

HISHINUMA, F.; KANEGASAKI, S.; TAKAHASHI, H. Ruminal fermentation and sugar concentrations: a model experiment with Selenomonas ruminantium. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 32, n. 11, p. 1325–1330, 1968.

HOODA, S.; VESTER BOLER, B. M.; KERR, K. R.; DOWD, S. E.; SWANSON, K. S. The gut microbiome of kittens is affected by dietary protein:carbohydrate ratio and associated with blood metabolite and hormone concentrations. **British Journal of Nutrition**, v. 109, n. 9, p. 1637–1646, 2013.

HOSIE, M. J.; ADDIE, D.; BELÁK, S.; BOUCRAUT-BARALON, C.; EGBERINK, H.; FRYMUS, T.; GRUFFYDD-JONES, T.; HARTMANN, K.; LLORET, A.; LUTZ, H.; MARSILIO, F.; PENNISI, M. G.; RADFORD, A. D.; THIRY, E.; TRUYEN, U.; HORZINEK, M. C. Feline immunodeficiency ABCD guidelines on prevention and management. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 11, n. 7, p. 575–584, 2009.

HOWARD, M. D.; GORDON, D. T.; PACE, L. W.; GARLEB, K. A.; KERLEY, M. S. Effects of dietary supplementation with fructooligosaccharides on colonic microbiota populations and epithelial cell proliferation in neonatal pigs. **Jurnal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 21, n. 3, p. 297–303, 1995.

IBGE. **Perfil dos Municípios Brasileiros 2013**. Rio de Janeiro, Brasil: IBGE, 2014.

ICAMC. **Humane Cat Population Management Guidance**, p 1-37, 2011.

INNESS, V. L.; MCCARTNEY, A. L.; KHOO, C.; GROSS, K. L.; GIBSON, G. R. Molecular characterisation of the gut microflora of healthy and inflammatory bowel disease cats using fluorescence in situ hybridisation with special reference to *Desulfovibrio spp.* **Journal of Animal Physiology and Nutrition**, v. 91, n. 1–2, p. 48–53, 2007.

ISAIAH, A.; PARAMBETH, J. C.; STEINER, J. M.; LIDBURY, J. A.; SUCHODOLSKI, J. S. The fecal microbiome of dogs with exocrine pancreatic insufficiency. **Anaerobe**, v. 45, p. 50–58, 2017.

JANECZKO, S.; ATWATER, D.; BOGEL, E.; GREITER-WILKE, A.; GEROLD, A.; BAUMGART, M.; BENDER, H.; MCDONOUGH, P. L.; MCDONOUGH, S. P.; GOLDSTEIN, R. E.; SIMPSON, K. W. The relationship of mucosal bacteria to duodenal histopathology, cytokine mRNA, and clinical disease activity in cats with inflammatory bowel disease. **Veterinary Microbiology**, v. 128, n. 1–2, p. 178–193, 2008.

JIA, J.; FRANTZ, N.; KHOO, C.; GIBSON, G. R.; RASTALL, R. A.; MCCARTNEY, A. L. Investigation of the faecal microbiota associated with canine chronic diarrhea. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 71, n. 2, p. 304–312, 2010.

JIA, J.; FRANTZ, N.; KHOO, C.; GIBSON, G. R.; RASTALL, R. A.; MCCARTNEY, A. L. Investigation of the faecal microbiota of geriatric cats. **Applied Microbiology**, v. 53, p. 288–293, 2011a.

JIA, J.; FRANTZ, N.; KHOO, C.; GIBSON, G. R.; RASTALL, R. A.; MCCARTNEY, A. L. Investigation of the faecal microbiota of kittens: Monitoring bacterial succession and effect of diet. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 78, n. 2, p. 395–404, 2011b.

JUGAN, M. C.; RUDINSKY, A. J.; PARKER, V. J.; GILOR, C. Use of probiotics in small animal veterinary medicine. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 250, n. 5, p. 519–528, 2017.

KAAKOUSH, N. O.; DAY, A. S.; HUINAO, K. D.; LEACH, S. T.; LEMBERG, D. A.; DOWD, S. E.; MITCHELL, H. M. Microbial dysbiosis in pediatric patients with Crohn's disease. **Journal of**

Clinical Microbiology, v. 50, n. 10, p. 3258–3266, 2012.

KANAKUPT, K.; VESTER BOLER, B. M.; UNSFORD, B. R.; FAHEY, G. C.; BOLER, B. M. V.; DUNSFORD, B. R.; JR, G. C. F.; VESTER BOLER, B. M.; UNSFORD, B. R.; FAHEY, G. C. Effects of short-chain fructooligosaccharides and galactooligosaccharides, individually and in combination, on nutrient digestibility, fecal fermentative metabolite concentrations, and large bowel microbial ecology of healthy adults cats. **Journal of Animal Science**, v. 89, n. 5, p. 1376–1384, 2011.

KELDER, T.; STROEVE, J. H. M.; BIJLSMA, S.; RADONJIC, M.; ROESELERS, G. Correlation network analysis reveals relationships between diet-induced changes in human gut microbiota and metabolic health. **Nutrition & Diabetes**, v. 4, n. 6, p. e122, 2014.

KERR, K. R.; DOWD, S. E.; SWANSON, K. S. Salmonellosis impacts the proportions of faecal microbial populations in domestic cats fed 1–3-d-old chicks. **Journal of Nutritional Science**, v. 3, n. e30, p. 1–5, 2014.

KIELER, I. N.; MØLBAK, L.; HANSEN, L. L.; BJORNVAD, C. R. Overweight and the feline gut microbiome – a pilot study. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 100, p. 478–484, 2016.

KLATT, N. R.; CANARY, L. A.; SUN, X.; VINTON, C. L.; FUNDERBURG, N. T.; MORCOCK, D. R.; QUIÑONES, M.; DEMING, C. B.; PERKINS, M.; HAZUDA, D. J.; MILLER, M. D.; LEDERMAN, M. M.; SEGRE, J. A.; LIFSON, J. D.; HADDAD, E. K.; ESTES, J. D.; BRENCHLEY, J. M. Probiotic/prebiotic supplementation of antiretrovirals improves gastrointestinal immunity in SIV-infected macaques. **Journal of Clinical Investigation**, v. 123, n. 2, p. 903–907, 2013.

KLEIN, D. Quantification using real-time PCR technology: Applications and limitations. **Trends in Molecular Medicine**, v. 8, n. 6, p. 257–260, 2002.

KOLLÁR, R.; REINHOLD, B. B.; PETRA, E.; YEH, H. J. C.; ASHWELL, G.; KAPTEYN, J. C.; KLIS, F. M.; CABIB, E. Architecture of the Yeast Cell Wall In a previous study. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 272, n. 28, p. 17762–17775, 1997.

KOTLER, D. P.; GAETZ, H. P.; LANGE, M.; KLEIN, E. B.; HOLT, P. R. Enteropathy associated

with the acquired immunodeficiency syndrome. **Ann Intern Med**, v. 101, n. 4, p. 421–428, 1984.

KOWNHAR, H.; SHANKAR, E. M.; RAJAN, R.; VENGATESAN, A.; RAO, U. A. Prevalence of *Campylobacter jejuni* and enteric bacterial pathogens among hospitalized HIV infected versus non-HIV infected patients with diarrhoea in southern India. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, v. 39, n. 10, p. 862–866, 2007.

KOZICH, J. J.; WESTCOTT, S. L.; BAXTER, N. T.; HIGHLANDER, S. K.; SCHLOSS, P. D. Development of a dual-index sequencing strategy and curation pipeline for analyzing amplicon sequence data on the miseq illumina sequencing platform. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 79, n. 17, p. 5112–5120, 2013.

KUMP, P. K.; GRÖCHENIG, H.-P.; LACKNER, S.; TRAJANOSKI, S.; REICHT, G.; HOFFMANN, K. M.; DEUTSCHMANN, A.; WENZL, H. H.; PETRITSCH, W.; KREJS, G. J.; GORKIEWICZ, G.; HÖGENAUER, C. Alteration of intestinal dysbiosis by fecal microbiota transplantation does not induce remission in patients with chronic active ulcerative colitis. **Inflammatory Bowel Diseases**, v. 19, n. 10, p. 2155–2165, 2013.

KUNIN, V.; ENGELBREKTSON, A.; OCHMAN, H.; HUGENHOLTZ, P. Wrinkles in the rare biosphere: Pyrosequencing errors can lead to artificial inflation of diversity estimates. **Environmental Microbiology**, v. 12, n. 1, p. 118–123, 2010.

LACERDA, L. C.; SILVA, A. N.; FREITAS, J. S.; CRUZ, R. D. S.; SAID, R. A.; MUNHOZ, A. D.; ESTADUAL, U.; CRUZ, D. S. Feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus: frequency and associated factors in cats in northeastern Brazil. **Genetics and molecular research: GMR**, v. 16, n. 2, p. 1–8, 2017.

LARA, V. M.; TANIWAKI, S. A.; ARAUJO JÚNIOR, J. P. Occurrence of feline immunodeficiency virus infection in cats. **Ciência Rural**, v. 38, n. 8, p. 2245–2249, 2008.

LEE, C. M.; SIEO, C. C.; ABDULLAH, N.; HO, Y. W. Estimation of 16S rRNA gene copy number in several probiotic *Lactobacillus* strains isolated from the gastrointestinal tract of chicken. **FEMS Microbiology Letters**, v. 287, n. 1, p. 136–141, 2008.

LEE, K.; SALMINEN, S. **Handbook of probiotics and prebiotics**. 2. ed. Hoboken, New Jersey, EUA: John Wiley & Sons, 2009.

LETCHER, J. D.; O'CONNER JR, T. P.; O'CONNOR, T. P. Incidence of antibodies reacting to feline immunodeficiency virus in a population of Asian lions. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 22, n. 3, p. 324–329, 1991.

LEVY, J.; CRAWFORD, C.; HARTMANN, K.; HOFMANN-LEHMANN, R.; LITTLE, S.; SUNDAHL, E.; THAYER, V. 2008 American Association of Feline Practitioners' feline retrovirus management guidelines. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 10, n. 3, p. 300–316, 2008a.

LEVY, J. K.; CRAWFORD, P. C.; LAPPIN, M. R.; DUBOVI, E. J.; LEVY, M. G.; ALLEMAN, R.; TUCKER, S. J.; CLIFFORD, E. L. Infectious diseases of dogs and cats on Isabela Island, Galapagos. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 22, n. 1, p. 60–65, 2008b.

LEVY, J. K.; SCOTT, H. M.; LACHTARA, J. L.; CRAWFORD, P. C. Seroprevalence of feline leukemia virus and feline immunodeficiency virus infection among cats in North America and risk factors for seropositivity. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 228, n. 3, p. 371–376, 2006.

LOESCHE, W. J.; GIBBONS, R. J. Amino acid fermentation by *Fusobacterium nucleatum*. **Archives of Oral Biology**, v. 13, n. 2, p. 191–202, 1968.

Longbottom, D.; Coulter, L. J. Animal chlamydioses and zoonotic implications. **Journal of Comparative Pathology**, v. 128, n. 4, p. 217–244, 2003.

LOUIS, P.; SCOTT, K. P.; DUNCAN, S. H.; FLINT, H. J. Understanding the effects of diet on bacterial metabolism in the large intestine. **Journal of Applied Microbiology**, v. 102, n. 5, p. 1197–1208, 2007.

LU, L.; WALKER, W. A. Pathologic and physiologic interactions of bacteria with the gastrointestinal epithelium. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 73, n. 6, p. 1124S–1130S, 2001.

LUO, C.; TSEMENTZI, D.; KYRPIDES, N.; READ, T.; KONSTANTINIDIS, K. T. Direct

comparisons of Illumina vs. Roche 454 sequencing technologies on the same microbial community DNA sample. **PLoS ONE**, v. 7, n. 2, p. 1–12, 2012.

LUTZ, H. Feline retroviruses: a brief review. **Veterinary Microbiology**, v. 23, n. 1–4, p. 131–146, 1990.

MACKAY, I. M. Real-time PCR in the microbiology laboratory. **Clinical Microbiology and Infection : the Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 10, n. 3, p. 190–212, 2004.

MARGULIES, M.; EGHOLM, M.; ALTMAN, W. E.; ATTIYA, S.; BADER, J. S.; BEMBEN, L. A.; BERKA, J.; BRAVERMAN, M. S.; CHEN, Y. J.; CHEN, Z.; DEWELL, S. B.; DU, L.; FIERRO, J. M.; GOMES, X. V.; GODWIN, B. C.; HE, W.; HELGESEN, S.; HO, C. H.; IRZYK, G. P.; JANDO, S. C.; ALLENQUER, M. L. I.; JARVIE, T. P.; JIRAGE, K. B.; KIM, J. B.; KNIGHT, J. R.; LANZA, J. R.; LEAMON, J. H.; LEFKOWITZ, S. M.; LEI, M.; LI, J.; LOHMAN, K. L.; LU, H.; MAKHIJANI, V. B.; MCDADE, K. E.; MCKENNA, M. P.; MYERS, E. W.; NICKERSON, E.; NOBILE, J. R.; PLANT, R.; PUC, B. P.; RONAN, M. T.; ROTH, G. T.; SARKIS, G. J.; SIMONS, J. F.; SIMPSON, J. W.; SRINIVASAN, M.; TARTARO, K. R.; TOMASZ, A.; VOGT, K. A.; VOLKMER, G. A.; WANG, S. H.; WANG, Y.; WEINER, M. P.; YU, P.; BEGLEY, R. F.; ROTHBERG, J. M. Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. **Nature**, v. 437, n. 7057, p. 376–380, 2005.

MARTINS, M. dos S. **Leveduras de cerveja e cana-de-açúcar (*Saccharomyces cerevisiae*), autolisada e íntegra, na dieta de cães**. 2009. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Jaboticabal, 2009.

MASUOKA, H.; SHIMADA, K.; KIYOSUE-YASUDA, T.; KIYOSUE, M.; OISHI, Y.; KIMURA, S.; OHASHI, Y.; FUJISAWA, T.; HOTTA, K.; YAMADA, A.; HIRAYAMA, K. Transition of the intestinal microbiota of cats with age. **PloS one**, v. 12, n. 8, p. 1–9, 2017.

MATHEUS, L. F. O. **Avaliação dos efeitos digestivos, fermentativos e imunológicos de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) inativadas e enriquecidas em meio de cultura em dietas para gatos adultos**. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2016.

MAUKONEN, J. Characterization of the human predominant fecal microbiota-With special focus on the Clostridial clusters IV and XIVa. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 58, p. 517–528, 2012.

MCHARDY, I. H.; LI, X.; TONG, M.; RUEGGER, P.; JACOBS, J.; BORNEMAN, J.; ANTON, P.; BRAUN, J. HIV Infection is associated with compositional and functional shifts in the rectal mucosal microbiota. **Microbiome**, v. 1, n. 1, p. 26, 2013.

MEEKER, R.; HUDSON, L. Feline Immunodeficiency Virus Neuropathogenesis: A Model for HIV-Induced CNS Inflammation and Neurodegeneration. **Veterinary Sciences**, v. 4, n. 1, p. 14, 2017.

MIDDELBOS, I. S.; BOLER, B. M. V.; QU, A.; WHITE, B. A.; SWANSON, K. S.; FAHEY, G. C. Phylogenetic Characterization of Fecal Microbial Communities of Dogs Fed Diets with or without Supplemental Dietary Fiber Using 454 Pyrosequencing. **PLoS ONE**, v. 5, n. 3, p. 1–9, 2010.

MIDDELBOS, I. S.; FASTINGER, N. D.; FAHEY, G. C. Evaluation of fermentable oligosaccharides in diets fed to dogs in comparison to fiber standards. **Journal of Animal Science**, v. 85, n. 11, p. 3033–3044, 2007.

MIDDELBOS, I. S.; GODOY, M. R.; FASTINGER, N. D.; FAHEY, G. C. A dose-response evaluation of spray-dried yeast cell wall supplementation of diets fed to adult dogs: Effects on nutrient digestibility, immune indices, and fecal microbial populations. **Journal of Animal Science**, v. 85, n. 11, p. 3022–3032, 2007.

MINAMOTO, Y.; HOODA, S.; SWANSON, K. S.; SUCHODOLSKI, J. S. Feline gastrointestinal microbiota. **Animal Health Research Reviews / Conference of Research Workers in Animal Diseases**, v. 13, n. 1, p. 64–77, 2012.

MINAMOTO, Y.; OTONI, C. C.; STEELMAN, S. M.; STEINER, J. M.; JERGENS, A. E.; SUCHODOLSKI, J. S.; STEELMAN, S. M.; BÜYÜKLEBLEBICI, O.; STEINER, J. M.; JERGENS, A. E.; JAN, S. Alteration of the fecal microbiota and serum metabolite profiles in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. **Gut Microbes**, v. 6, n. 1, p. 33–47, 2015.

MOREIRA, I.; JÚNIOR, M. M.; FURLAN, A. C.; PATRICIO, V. M. I.; OLIVEIRA, G. C. Uso da

levedura seca por “spray-dry” como fonte de proteína para suínos em crescimento e terminação. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 2, p. 962–969, 2002.

NATARO, J. P.; KAPER, J. B. Diarrheagenic *Escherichia coli*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 11, n. 1, p. 142–201, 1998.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrient requirements of dogs and cats**. Washington, USA: National Academies Press, 2006.

NELSON, M. R.; SHANSON, D. C.; HAWKINS, D. a; GAZZARD, B. G. Salmonella, Campylobacter and Shigella in HIV-seropositive patients. **AIDS**, v. 6, n. 12, p. 1495–1498, 1992.

NEYRINCK, A. M.; POSSEMIERS, S.; VERSTRAETE, W.; DE BACKER, F.; CANI, P. D.; DELZENNE, N. M. Dietary modulation of clostridial cluster XIVa gut bacteria (*Roseburia* spp.) by chitin-glucan fiber improves host metabolic alterations induced by high-fat diet in mice. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 23, n. 1, p. 51–59, 2012.

NORRIS, J. M.; BELL, E. T.; HALES, L.; TORIBIO, J.-A. L. M. L.; WHITE, J. D.; WIGNEY, D. I.; BARAL, R. M.; MALIK, R. Prevalence of feline immunodeficiency virus infection in domesticated and feral cats in eastern Australia. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 9, n. 4, p. 300–8, 2007.

NOVOTNEY, C.; ENGLISH, R. V.; HOUSMAN, J.; DAVIDSON, M. G.; NASISSE, M. P.; JENG, C. R.; DAVIS, W. C.; TOMPKINS, M. B. Lymphocyte population changes in cats naturally infected with feline immunodeficiency virus. **AIDS**, v. 4, n. 12, p. 1213–1218, 1990.

O’CONNOR JR, T. P.; TONELLI, Q. J.; SCARLETT, J. M. Report of the National FeLV/FIV Awareness Project. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 199, n. 10, p. 1348, 1991.

O’TOOLE, P. W.; COONEY, J. C. Probiotic Bacteria Influence the Composition and Function of the Intestinal Microbiota. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, v. 2008, p. 1–9, 2008.

OLMSTED, R. A.; BARNES, A. K.; YAMAMOTO, J. K.; HIRSCH, V. M.; PURCELL, R. H.;

JOHNSON, P. R. Molecular cloning of feline immunodeficiency virus. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 86, n. 7, p. 2448–2452, 1989.

ORTEGA-PACHECO, A.; AGUILAR-CABALLERO, A. J.; COLIN-FLORES, R. F.; ACOSTA-VIANA, K. Y.; GUZMAN-MARIN, E.; JIMENEZ-COELLO, M. Seroprevalence of feline leukemia virus, feline immunodeficiency virus and heartworm infection among owned cats in tropical Mexico. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 16, n. 6, p. 460–464, 2014.

OSUMI, M. The ultrastructure of yeast: cell wall structure and formation. **Micron**, v. 29, n. 2–3, p. 207–233, 1998.

PAVLIDIS, P.; POWELL, N.; VINCENT, R. P.; EHRLICH, D.; BJARNASON, I.; HAYEE, B. Systematic review: Bile acids and intestinal inflammation-luminal aggressors or regulators of mucosal defence? **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, v. 42, n. 7, p. 802–817, 2015.

PEDERSEN, N. C. C.; YAMAMOTO, J. K. J. K.; ISHIDA, T.; HANSEN, H. Feline immunodeficiency virus infection. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 21, n. 1, p. 111–129, 1989.

PEDERSEN, N. C.; HO, E. W.; BROWN, M. L.; YAMAMOTO, J. K. Isolation of a T-lymphotropic virus from domestic cats with an immunodeficiency-like syndrome. **Science**, v. 235, n. 4790, p. 790–793, 1987.

PEREIRA, E. S.; QUEIROZ, A. C. de; PAULINO, M. F.; CECON, P. R.; VALADARES FILHO, S. de C.; MIRANDA, L. F.; ARRUDA, A. M. V. de; FERNANDES, A. M.; CABRAL, L. da S. Fontes nitrogenadas e uso de *Sacharomyces cerevisiae* em dietas à base de cana-de-açúcar para novilhos: consumo, digestibilidade, balanço nitrogenado e parâmetros ruminais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 30, n. 2, p. 563–572, 2001.

PETTERSSON, E.; LUNDEBERG, J.; AHMADIAN, A. Generations of sequencing technologies. **Genomics**, v. 93, n. 2, p. 105–111, 2009.

PLÉ, C.; VANDENBORGH, L. E.; ADELE-DIT-RENSEVILLE, N.; BRETON, J.; DANIEL, C.; FERREIRA, S.; BENOÎT, F. Snapshot on a pilot metagenomic study for the appraisal of gut microbial

diversity in mice, cat, and man. **Gastroenterology Research and Practice**, v. 2016, p. 1–7, 2016.

POTRYKUS, J.; WHITE, R. L.; BEARNE, S. L. Proteomic investigation of amino acid catabolism in the indigenous gut anaerobe *Fusobacterium varium*. **Proteomics**, v. 8, n. 13, p. 2691–2703, 2008.

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

RÅDSTRÖM, P.; KNUTSSON, R.; WOLFFS, P. Pre-PCR Processing. **Molecular Microbiotechnology**, v. 26, p. 133–146, 2004.

RAMADAN, Z.; XU, H.; LAFLAMME, D.; CZARNECKI-MAULDEN, G.; LI, Q. J.; LABUDA, J.; BOURQUI, B. Fecal microbiota of cats with naturally occurring chronic diarrhea assessed using 16S rRNA Gene 454-pyrosequencing before and after dietary treatment. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 28, n. 1, p. 59–65, 2014.

RECHE JR, A.; HAGIWARA, M. K.; LUCAS, S. R. Clinical study of acquired immunodeficiency syndrome in domestic cats in São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 34, n. 3, p. 152–155, 1997.

RITCHIE, L. E.; BURKE, K. F.; GARCIA-MAZCORRO, J. F.; STEINER, J. M.; SUCHODOLSKI, J. S.; STEINER, M.; SUCHODOLSKI, J. S.; RITCHIE, L. E.; BURKE, K. F.; GARCIA-MAZCORRO, J. F. Characterization of fecal microbiota in cats using universal 16S rRNA gene and group-specific primers for *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* spp. **Veterinary Microbiology**, v. 144, n. 1–2, p. 140–146, 2010.

RITCHIE, L. E.; STEINER, J. M.; SUCHODOLSKI, J. S. Assessment of microbial diversity along the feline intestinal tract using 16S rRNA gene analysis. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 66, n. 3, p. 590–598, 2008.

RITZ, K. The plate debate: Cultivable communities have no utility in contemporary environmental microbial ecology. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 60, n. 3, p. 358–362, 2007.

ROBERFROID, M. Functional food concept and its application to prebiotics. **Digestive and Liver**

Disease, v. 34, n. SUPPL. 2, p. S 105-110, 2002.

ROBERFROID, M. B. Prebiotics: concept, definition, criteria, methodologies, and products. In: GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. (Ed.). **Handbook of prebiotics**. 1. ed. Boca Raton, FL, USA: CRC Press, 2008. p. 39–69.

ROBERFROID, M.; GIBSON, G. R.; HOYLES, L.; MCCARTNEY, A. L.; RASTALL, R.; ROWLAND, I.; WOLVERS, D.; WATZL, B.; SZAJEWSKA, H.; STAHL, B.; GUARNER, F.; RESPONDEK, F.; WHELAN, K.; COXAM, V.; DAVICCO, M.-J.; LÉOTOING, L.; WITTRANT, Y.; DELZENNE, N. M.; CANI, P. D.; NEYRINCK, A. M.; MEHEUST, A. Prebiotic effects: metabolic and health benefits. **The British Journal of Nutrition**, v. 104 Suppl, p. S1-63, 2010.

RONAGHI, M.; KARAMOHAMED, S.; PETTERSSON, B.; UHLÉN, M.; NYRÉN, P. Real-time DNA sequencing using detection of pyrophosphate release. **Analytical Biochemistry**, v. 242, n. 1, p. 84–89, 1996.

ROSE, A. H.; HARRISON, J. S. **The yeasts: Yeast technology**. 2. ed. San Diego, CA, EUA: Academic Press, 2012. v. 5

RUSSELL, J. B.; BALDWIN, R. L. Substrate preferences in rumen bacteria: evidence of catabolite regulatory mechanisms. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 36, n. 2, p. 319–329, 1978.

SANTOS, J. P. F. **Efeitos de níveis crescentes de parede celular de levedura sobre a digestibilidade, microbiota fecal e produtos da fermentação intestinal em dietas para gatos adultos**. 2015. Tese (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2015.

SAS. **SAS/STAT 9.3 User's Guide** Cary, NC, USA SAS Institute Inc., 2011. Disponível em: <<http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Sas/stat+9.3#1>>.

SATO, J.; KANAZAWA, A.; IKEDA, F.; YOSHIHARA, T.; GOTO, H.; ABE, H.; KOMIYA, K.; KAWAGUCHI, M.; SHIMIZU, T.; OGIHARA, T.; TAMURA, Y.; SAKURAI, Y.; YAMAMOTO, R.; MITA, T.; FUJITANI, Y.; FUKUDA, H.; NOMOTO, K.; TAKAHASHI, T.; ASAHARA, T.; HIROSE, T.; NAGATA, S.; YAMASHIRO, Y.; WATADA, H. Gut dysbiosis and detection of “Live

gut bacteria” in blood of Japanese patients with type 2 diabetes. **Diabetes Care**, v. 37, n. 8, p. 2343–2350, 2014.

SAUTER, S. N.; ALLENSPACH, K.; GASCHEN, F.; GRÖNE, A.; ONTSOUKA, E.; BLUM, J. W. Cytokine expression in an ex vivo culture system of duodenal samples from dogs with chronic enteropathies: Modulation by probiotic bacteria. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 29, n. 4, p. 605–622, 2005.

SAXENA, D.; LI, Y.; YANG, L.; PEI, Z.; POLES, M.; ABRAMS, W. R.; MALAMUD, D. Human microbiome and HIV/AIDS. **Current HIV/AIDS Reports**, v. 9, n. 1, p. 44–51, 2012.

SCHAREK, L.; GUTH, J.; REITER, K.; WEYRAUCH, K. D.; TARAS, D.; SCHWERK, P.; SCHIERACK, P.; SCHMIDT, M. F. G.; WIELER, L. H.; TEDIN, K. Influence of a probiotic *Enterococcus faecium* strain on development of the immune system of sows and piglets. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 105, n. 1–2, p. 151–161, 2005.

SCHUNTER, M.; CHU, H.; HAYES, T. L.; MCCONNELL, D.; CRAWFORD, S. S.; LUCIW, P. A.; BENGMARK, S.; ASMUTH, D. M.; BROWN, J.; BEVINS, C. L.; SHACKLETT, B. L.; CRITCHFIELD, J. W. Randomized pilot trial of a synbiotic dietary supplement in chronic HIV-1 infection. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 12, n. 84, p. 1–15, 2012.

SHOAF, K.; MULVEY, G. L.; ARMSTRONG, G. D.; HUTKINS, R. W. Prebiotic galactooligosaccharides reduce adherence of enteropathogenic *Escherichia coli* to tissue culture cells. **Infection and Immunity**, v. 74, n. 12, p. 6920–6928, 2006.

SILVA, R. O. S.; LOBATO, F. C. F. *Clostridium perfringens*: A review of enteric diseases in dogs, cats and wild animals. **Anaerobe**, v. 33, p. 14–17, 2015.

SIMPSON, K. W.; DOGAN, B.; RISHNIW, M.; GOLDSTEIN, R. E.; KLAESSIG, S.; MCDONOUGH, P. L.; GERMAN, A. J.; YATES, R. M.; RUSSELL, D. G.; JOHNSON, S. E.; BERG, D. E.; HAREL, J.; BRUANT, G.; MCDONOUGH, S. P.; SCHUKKEN, Y. H. Adherent and invasive *Escherichia coli* is associated with granulomatous colitis in Boxer dogs. **Infection and Immunity**, v. 74, n. 8, p. 4778–4792, 2006.

SMITH, M. I.; YATSUNENKO, T.; MANARY, M. J.; TREHAN, I.; MKAKOSYA, R.; CHENG, J.; KAU, A. L.; RICH, S. S.; CONCANNON, P.; MYCHALECKYJ, J. C.; LIU, J.; HOUP, E.; LI, J. V.; HOLMES, E.; NICHOLSON, J.; KNIGHTS, D.; URSELL, L. K.; KNIGHT, R.; GORDON, J. I. Gut Microbiomes of Malawian Twin Pairs Discordant for Kwashiorkor. **Science**, v. 339, n. 6119, p. 548–554, 2013.

SOBRINHO, L. S. V.; VIDES, J. P.; BRAGA, E. T.; GOMES, A. A. D.; ROSSI, C. N.; MARCONDES, M. Sorofrequência de infecção pelo vírus da imunodeficiência felina e vírus da leucemia felina em gatos do município de Araçatuba, São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 48, n. 5, p. 378–383, 2011.

SOUZA, H. J. M.; TEIXEIRA, C. H. R.; GRAÇA, R. F. S. Estudo epidemiológico de infecções pelo vírus da leucemia e/ou imunodeficiência felina, em gatos domésticos do município do Rio de Janeiro. **Clinica Veterinária**, v. 36, p. 14–21, 2002.

SPARKES, A. H. .; PAPASOULIOTIS, K. .; SUNVOLD, G. .; WERRETT, G. .; GRUFFYDD-JONES, E. A. .; EGAN, K. .; GRUFFYDD-JONES, T. J. .; REINHART, G. . Effect of dietary supplementation with fructo-oligosaccharides on fecal flora of healthy cats. **American Journal of Veterinary Research**, v. 59, n. 4, p. 436–440, 1998.

SPENCER, R. J.; CHESSON, a. The effect of *Lactobacillus* spp. on the attachment of enterotoxigenic *Escherichia coli* to isolated porcine enterocytes. **The Journal of applied bacteriology**, v. 77, n. 2, p. 215–220, 1994.

STAVISKY, J.; DEAN, R. S.; MOLLOY, M. H. Prevalence of and risk factors for FIV and FeLV infection in two shelters in the United Kingdom (2011–2012). **Veterinary Record**, v. 181, n. 17, p. 1–5, 2017.

STRICKLING, J. A.; HARMON, D. L.; DAWSON, K. A.; GROSS, K. L. Evaluation of oligosaccharide addition to dog diets: Influences on nutrient digestion and microbial populations. **Animal Feed Science and Technology**, v. 86, n. 3–4, p. 205–219, 2000.

SUCHODOLSKI, J. S. Diagnosis and interpretation of intestinal dysbiosis in dogs and cats. **Veterinary Journal**, v. 215, p. 30–37, 2016.

SUCHODOLSKI, J. S.; DOWD, S. E.; WESTERMARCK, E.; STEINER, J. M.; WOLCOTT, R. D.; SPILLMANN, T.; HARMOINEN, J. A. The effect of the macrolide antibiotic tylosin on microbial diversity in the canine small intestine as demonstrated by massive parallel 16S rRNA gene sequencing. **BMC Microbiology**, v. 9, n. 210, p. 1–16, 2009.

SUCHODOLSKI, J. S.; DOWD, S. E.; WILKE, V.; STEINER, J. M.; JERGENS, A. E. 16S rRNA gene pyrosequencing reveals bacterial dysbiosis in the Duodenum of dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. **PLoS ONE**, v. 7, n. 6, p. 1–11, 2012a.

SUCHODOLSKI, J. S.; MARKEL, M. E.; GARCIA-MAZCORRO, J. F.; UNTERER, S.; HEILMANN, R. M.; DOWD, S. E.; KACHROO, P.; IVANOV, I.; MINAMOTO, Y.; DILLMAN, E. M.; STEINER, J. M.; COOK, A. K.; TORESSON, L. The Fecal Microbiome in Dogs with Acute Diarrhea and Idiopathic Inflammatory Bowel Disease. **PLoS ONE**, v. 7, n. 12, p. 1–13, 2012b.

SUCHODOLSKI, J. S.; XENOULIS, P. G.; PADDOCK, C. G.; STEINER, J. M.; JERGENS, A. E. Molecular analysis of the bacterial microbiota in duodenal biopsies from dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. **Veterinary Microbiology**, v. 142, n. 3–4, p. 394–400, 2010.

SWANSON, K. S.; GRIESHOP, C. M.; FLICKINGER, E. a.; BAUER, L. L.; HEALY, H.-P.; DAWSON, K. a.; MERCHEN, N. R.; FAHEY, GEORGE C., J. Supplemental Fructooligosaccharides and Mannanoligosaccharides Influence Immune Function, Ileal and Total Tract Nutrient Digestibilities, Microbial Populations and Concentrations of Protein Catabolites in the Large Bowel of Dogs. **Jurnal of Nutrition**, v. 132, n. 5, p. 980–989, 2002.

SWIDSINSKI, A.; DORFFEL, Y.; LOENING-BAUCKE, V.; THEISSIG, F.; RUCKERT, J. C.; ISMAIL, M.; RAU, W. A.; GASCHLER, D.; WEIZENEGGER, M.; KUHN, S.; SCHILLING, J.; DORFFEL, W. V. Acute appendicitis is characterised by local invasion with *Fusobacterium nucleatum/necrophorum*. **Gut**, v. 60, n. 1, p. 34–40, 2011.

TAP, J.; MONDOT, S.; LEVENEZ, F.; PELLETIER, E.; CARON, C.; FURET, J. P.; UGARTE, E.; MUÑOZ-TAMAYO, R.; PASLIER, D. L. E.; NALIN, R.; DORE, J.; LECLERC, M. Towards the human intestinal microbiota phylogenetic core. **Environmental Microbiology**, v. 11, n. 10, p. 2574–2584, 2009.

TEE, W.; MIJCH, A. *Campylobacter jejuni* Bacteremia in Human Immunodeficiency Virus (HIV)-Infected and Non-HIV-Infected Patients: Comparison of Clinical Features and Review. **Clinical Infectious Diseases**, v. 26, n. 1, p. 91–96, 1998.

TEIXEIRA, B. M.; RAJÃO, D. S.; HADDAD, J. P. A.; LEITE, R. C.; REIS, J. K. P. Ocorrência do vírus da imunodeficiência felina e do vírus da leucemia felina em gatos domésticos mantidos em abrigos no município de Belo Horizonte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 4, p. 939–942, 2007.

TERWEE, J.; SABARA, M.; KOKJOHN, K.; SANDBULTE, J.; FRENCHICK, P.; DREIER, K. J. Characterization of the systemic disease and ocular signs induced by experimental infection with *Chlamydia psittaci* in cats. **Veterinary Microbiology**, v. 59, n. 4, p. 259–281, 1998.

TOHYA, Y.; CASTELLANO, M. C.; NORIMINE, J.; ETCHEVERRIGARAY, M. E. Anticuerpos contra el virus de la inmunodeficiencia felina: Primera comprobación en Argentina. **Revue de Médecine Vétérinaire**, v. 75, p. 242–246, 1994.

TOLHURST, G.; HEFFRON, H.; LAM, Y. S.; PARKER, H. E.; HABIB, A. M.; DIAKOGIANNAKI, E.; CAMERON, J.; GROSSE, J.; REIMANN, F.; GRIBBLE, F. M. Short-chain fatty acids stimulate glucagon-like peptide-1 secretion via the G-protein-coupled receptor FFAR2. **Diabetes**, v. 61, n. 2, p. 364–371, 2012.

TOMPKINS, M. B.; NELSON, P. D.; ENGLISH, R. V.; NOVOTNEY, C. Early events in the immunopathogenesis of feline retrovirus infections. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 199, n. 10, p. 1311–1315, 1991.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiology: an introduction**. San Francisco, CA, EUA: Pearson, 2015. v. 12

TUN, H. M.; BRAR, M. S.; KHIN, N.; JUN, L.; HUI, R. K. H.; DOWD, S. E.; LEUNG, F. C. C. Gene-centric metagenomics analysis of feline intestinal microbiome using 454 junior pyrosequencing. **Journal of Microbiological Methods**, v. 88, n. 3, p. 369–376, 2012.

VAN DEN NIEUWBOER, M.; BRUMMER, R. J.; GUARNER, F.; MORELLI, L.; CABANA, M.;

CLAASSEN, E. The administration of probiotics and synbiotics in immune compromised adults: Is it safe? **Beneficial Microbes**, v. 6, n. 1, p. 3–17, 2015.

VICKERS, R. J.; SUNVOLD, G. D.; KELLEY, R. L.; REINHART, G. A. Comparison of fermentation of selected fructooligosaccharides and other fiber substrates by canine colonic microflora. **American Journal of Veterinary Research**, v. 62, n. 4, p. 609–615, 2001.

VIJAY-KUMAR, M.; AITKEN, J. D.; CARVALHO, F. A.; CULLENDER, T. C.; MWANGI, S.; SRINIVASAN, S.; SITARAMAN, S. V.; KNIGHT, R.; LEY, R. E.; GEWIRTZ, A. T. Metabolic syndrome and altered gut microbiota in mice lacking Toll-like receptor 5. **Science**, v. 328, n. 5975, p. 228–31, 2010.

VILLAR-GARCIA, J.; HERNANDEZ, J. J.; GUERRI-FERNANDEZ, R.; GONZALEZ, A.; LERMA, E.; GUELAR, A.; SAENZ, D.; SORLI, L.; MONTERO, M.; HORCAJADA, J. P.; KNOBEL FREUD, H. Effect of probiotics (*Saccharomyces boulardii*) on microbial translocation and inflammation in HIV-treated patients: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. **Journal of acquired immune deficiency syndromes**, v. 68, n. 3, p. 256–263, 2015.

VOLPE, G. E.; WARD, H.; MWAMBURI, M.; DINH, D.; BHALCHANDRA, S.; WANKE, C.; KANE, A. V. Associations of cocaine use and HIV infection with the intestinal microbiota, microbial translocation, and inflammation. **Journal of studies on alcohol and drugs**, v. 75, n. 2, p. 347–57, 2014.

VUJKOVIC-CVIJIN, I.; DUNHAM, R. M.; IWAI, S.; MAHER, M. C.; ALBRIGHT, R. G.; BROADHURST, M. J.; HERNANDEZ, R. D.; LEDERMAN, M. M.; HUANG, Y.; SOMSOUK, M.; DEEKS, S. G.; HUNT, P. W.; LYNCH, S. V.; MCCUNE, J. M. Dysbiosis of the gut microbiota is associated with HIV disease progression and tryptophan catabolism. **Science translational medicine**, v. 5, n. 193, p. 1–28, 2013.

WARREN, Y. A.; TYRRELL, K. L.; CITRON, D. M.; GOLDSTEIN, E. J. C. *Clostridium aldenense* sp. nov. and *Clostridium citroniae* sp. nov. isolated from human clinical infections. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 7, p. 2416–2422, 2006.

WEESE, J. S.; NICHOLS, J.; JALALI, M.; LITSTER, A. The rectal microbiota of cats infected with

feline immunodeficiency virus infection and uninfected controls. **Veterinary Microbiology**, v. 180, n. 1–2, p. 96–102, 2015.

WESTMAN, M. E.; PAUL, A.; MALIK, R.; MCDONAGH, P.; WARD, M. P.; HALL, E.; NORRIS, J. M. Seroprevalence of feline immunodeficiency virus and feline leukaemia virus in Australia: risk factors for infection and geographical influences (2011–2013). **Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports**, v. 2, n. 1, p. 1–11, 2016.

WILSON, B.; WHELAN, K. Prebiotic inulin-type fructans and galacto-oligosaccharides: definition, specificity, function, and application in gastrointestinal disorders. **Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)**, v. 32, p. 64–68, 2017.

WORLD ATLAS. **Most Populous Mammals On Earth - WorldAtlas.com**. Disponível em: <<https://www.worldatlas.com/articles/most-populous-mammals-on-earth.html>>. Acesso em: 8 jan. 2018.

XENOULIS, P. G.; PALCULICT, B.; ALLENSPACH, K.; STEINER, J. M.; VAN HOUSE, A. M.; SUCHODOLSKI, J. S. Molecular-phylogenetic characterization of microbial communities imbalances in the small intestine of dogs with inflammatory bowel disease. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 66, n. 3, p. 579–589, 2008.

XU, Z. R.; HU, C. H.; XIA, M. S.; ZHAN, X. A.; WANG, M. Q. Effects of Dietary Fructooligosaccharide on Digestive Enzyme Activities, Intestinal Microflora and Morphology of Male Broilers. **Poultry science**, v. 82, p. 1030–1036, 2003.

XU, Z. R.; ZOU, X. T.; HU, C. H.; XIA, M. S.; ZHAN, X. A.; WANG, M. Q. Effects of dietary fructooligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of growing pigs. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 15, n. 12, p. 1784–1789, 2002.

YAMAMOTO, J. K.; HANSEN, H.; HO, E. W.; MORISHITA, T. Y.; OKUDA, T.; SAWA, T. R.; NAKAMURA, R. M.; PEDERSEN, N. C. Epidemiologic and clinical aspects of feline immunodeficiency virus infection in cats from the continental United States and Canada and possible mode of transmission. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 194, n. 2, p. 213–20, 1989.

YAMAMOTO, J. K.; SPARGER, E.; HO, E. W.; ANDERSEN, P. R.; O'CONNOR, T. P.; MANDELL, C. P.; LOWENSTINE, L.; MUNN, R.; PEDERSEN, N. C. Pathogenesis of experimentally induced feline immunodeficiency virus infection in cats. **American Journal of Veterinary Research**, v. 49, n. 8, p. 1246–1258, 1988.

YOSHIDA, Y.; TSUKAHARA, T.; USHIDA, K. Oral administration of *Lactobacillus plantarum* Lq80 and *Megasphaera elsdenii* iNP-001 induces efficient recovery from mucosal atrophy in the small and the large intestines of weaning piglets. **Animal Science Journal**, v. 80, n. 6, p. 709–715, 2009.

ZENTEK, J.; MARQUART, B.; PIETRZAK, T. Intestinal effects of mannanoligosaccharides, transgalactooligosaccharides, lactose and lactulose in dogs. **Journal of Nutrition**, v. 132, n. 6S–2, p. 1682S–1684S, 2002.

ZHANG, C.; LI, S.; YANG, L.; HUANG, P.; LI, W.; WANG, S.; ZHAO, G.; ZHANG, M.; PANG, X.; YAN, Z.; LIU, Y.; ZHAO, L. Structural modulation of gut microbiota in life-long calorie-restricted mice. **Nature Communications**, v. 4, n. 2163, p. 1–10, 2013.

ZUCKERKANDL, E.; PAULING, L. Molecules as documents of evolutionary history. **Journal of Theoretical Biology**, v. 8, n. 2, p. 357–366, 1965.