

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste trabalho será disponibilizado somente a partir de 31/03/2018.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**EFEITO DE IDADE E DIETAS COM DIFERENTES FONTES
DE PROTEÍNA E CARBOIDRATO SOBRE A MICROBIOTA
ASSOCIADA À MUCOSA GASTROINTESTINAL DE CÃES**

Ana Paula Judice Maria
Médica Veterinária

2017

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**EFEITO DE IDADE E DIETAS COM DIFERENTES FONTES
DE PROTEÍNA E CARBOIDRATO SOBRE A MICROBIOTA
ASSOCIADA À MUCOSA GASTROINTESTINAL DE CÃES**

Ana Paula Judice Maria

Orientador: Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi

**Tese de Doutorado apresentado à
Faculdade de Ciências Agrárias e
Veterinárias – Unesp, Campus de
Jaboticabal, como pré-requisito para a
obtenção do título de Doutora em Medicina
Veterinária, área Clínica Médica Veterinária**

2017

M332e Maria, Ana Paula Judice
Efeito da idade e dietas com diferentes fontes de proteína e carboidrato sobre a microbiota associada à mucosa gastrointestinal de cães / Ana Paula Judice Maria. -- Jaboticabal, 2017
v, 80 p. ; 29 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2017

Orientador: Aulus Cavalieri Carciofi

Banca examinadora: Marita Vedovelli Cardozo, Márcia de Oliveira Sampaio Gomes, Thaila Cristina Putarov, Lilian Rose Marques de Sá
Bibliografia

1. Cães. 2. Microbiota. 3. Gastrointestinal. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 619:561.23:636.7

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

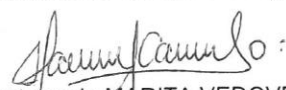
TÍTULO: EFEITO DA IDADE E DIETAS COM DIFERENTES FONTES DE PROTEÍNA
E CARBOIDRATO SOBRE A MICROBIOTA ASSOCIADA À MUCOSA
GASTROINTESTINAL DE CÃES

AUTORA: ANA PAULA JUDICE MARIA

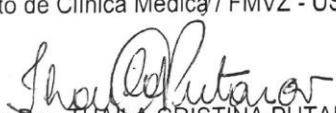
ORIENTADOR: AULUS CAVALIERI CARCIOFI

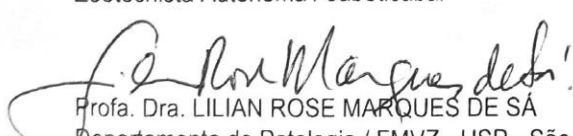
Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em MEDICINA
VETERINÁRIA, área: CLÍNICA MÉDICA VETERINÁRIA pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. AULUS CAVALIERI CARCIOFI
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Pós-doutoranda MARITA VEDOVELLI CARDOZO
Departamento de Patologia Veterinária / FCAV / UNESP - Jaboticabal


Profa. Dra. MARCIA DE OLIVEIRA SAMPAIO GOMES
Departamento de Clínica Médica / FMVZ - USP - São Paulo, SP


Pesquisadora Dra. THAILA CRISTINA PUTAROV
Zootecnista Autônoma / Jaboticabal


Profa. Dra. LILIAN ROSE MARQUES DE SÁ
Departamento de Patologia / FMVZ - USP - São Paulo, SP

Jaboticabal, 31 de março de 2017.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

ANA PAULA JUDICE MARIA – Nascida em 23 de julho de 1983, em Ribeirão Preto – SP. Graduada em Medicina Veterinária pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (Unesp), Câmpus de Jaboticabal em fevereiro de 2010. Em Março de 2011 iniciou o curso de mestrado pelo programa de pós-graduação em Medicina Veterinária (Clínica Médica) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FCAV/UNESP), concluindo-o em julho de 2013. Em agosto de 2013, iniciou o curso de doutorado pelo mesmo programa e instituição. Realizou doutorado sanduíche financiado pela Capes (Programa de Doutorado-sanduíche no Exterior - PDSE), no período de março de 2014 a março de 2015, junto ao Departamento de Ciência Animal (Department of Animal Science) da Universidade de Illinois em Urbana-Champaign (University of Illinois at Urbana-Champaign - UIUC), no Estados Unidos da America.

Dedico

Aos meu pais,
pelos exemplos de vida e fraternidade

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por estar presente e pela luz no meu caminho.

Agradeço a minha família por todo amor e carinho que recebo.

A minha mãe Rosa Maria Judice Maria, minha eterna amiga e companheira, pelo amor, compreensão e por sempre acreditar nos meus sonhos. Agradeço ao meu pai Fausto Maria, *in memoriam*, pelo exemplo de vida e por todos os ensinamentos deixados.

A minha irmã Carla Cristina Judice Maria e aos meus irmãos Fausto Maria Junior e Carlos Eduardo Judice Maria, pela dedicação, amizade e pelos inúmeros momentos de alegria que me proporcionam.

Ao meu orientador Aulus Cavalieri Carciofi, exemplo de dedicação à ciência, por orientar com sabedoria e paciência, e pela oportunidade de crescimento profissional e pessoal.

Ao Prof. Kelly Scoott Swanson da Universidade de Illinois por contribuir com o projeto e pela orientação durante meu período de doutorado sanduiche.

A Dra. Ping Deng e a Profa Hannah D. Holscher por toda a contribuição com o projeto e dedicação e paciência ao meu ensinar.

A professora Lilian Rose Marques de Sá por sua orientação, disponibilidade e paciência, também por ser exemplo de dedicação a ciência e a educação universitária.

A professora Márcia de Oliveira Sampaio Gomes por compartilhar comigo sua experiência e principalmente pela sua amizade.

Aos membros da banca de qualificação e de defesa, Profa. Lilian Rose Marques de Sá, Profa. Márcia de Oliveira Sampaio Gomes Dra. Marita Vedovelli Cardozo, Dra. Thaila Cristina Putarov e Dra. Bruna Agy Loureiro pelas contribuições na melhoria deste trabalho.

Ao médico veterinário endoscopista, Franz N. Yoshitoshi, por sua fundamental participação neste estudo. Muito obrigada pela generosa disponibilidade e excelente trabalho exercido na execução deste trabalho.

Aos médicos veterinários anestesiistas Ana Paula Gering e Raul Honda pela participação neste estudo. Muito obrigada pelo excelente trabalho e disponibilidade.

A Elaine, Claudinha e ao Diego pela amizade e carinho, e por toda a ajuda que recebi de vocês durante a minha pós graduação.

As minhas amigas Caroline, Renata, Mariana (Brucelinha), Nara, Bruninha, Carol Nagib, Raquelzinha, Mari Monte e Thailinha pela paciência, companheirismo e amizade sincera.0

Ao Renato pelo companheirismo, amizade, dedicação e paciência comigo.

Agradeço novamente aos animais que participaram desse estudo, pois também representam o amor de Deus; Graça, Virgílio, Conta, Leo, Leo Jr., Napoleão Jr., Juca, Peri, Luizinho, Ondina, Rímel, Marina, Poulain, Stephanie, Coca, Pepita, Sasha, Manu, Simba, Scooby, Scooty, Sivi, Pepe, Spike, Sheyk, Marley e Joaquim. Agradeço a todos os cães e gatos do Laboratório de Pesquisa em Nutrição de Cães e Gatos, por me proporcionarem ótimos momentos e amor.

A todo o grupo do Laboratório de Pesquisa em Nutrição de Cães e Gatos, pós-graduandos, estagiários e funcionários, sem ajuda de vocês esse trabalho não seria realizado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela pelo auxilio financeiro do estudo (nº processo Fapesp 2011/23575-3). À Capes pela bolsa de estudo do Programa de Doutorado-sanduiche no Exterior (PDSE) pela bolsa de estudo do Programa de Demanda Social (DS).

À GUABI PET CARE, Campinas, SP, Brazil, pela estrutura e manutenção do Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos “Prof. Dr. Flávio Prada”.

SUMÁRIO

	Página
Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA).....	III
Resumo	IV
Abstract	V
CAPÍTULO 1- CONSIDERAÇÕES GERAIS	6
1. Introdução	6
2. Revisão de literatura	7
2.1. Microbiota intestinal	7
2.2. Microbiota do trato gastrointestinal.....	9
2.3. Dieta e microbiota intestinal.....	10
2.4. O envelhecimento e a microbiota intestinal.....	12
2.5. Métodos de avaliação microbiana de alto rendimento.....	13
3. Objetivo geral	15
4. Referências bibliográficas	16
CAPÍTULO 2 - AGE AND DIET EFFECTS ON COLON MUCOSA MICROBIOTA OF DOGS.....	20
Abstract.....	22
Introduction	23
Materials and methods	24
Animals and diets	24
Experimental procedure	26
DNA extraction and sequencing	27
Bioinformatics and Statistics	28
Results	29
Discussion	34
Acknowledgments.....	40
Author contributions.....	40
References	40
Supporting Information	50
CAPITULO 3 – MICROBIOTA DIVERSITY ALONG GUT MUCOSA OF DOGS.....	56

Abstract.....	58
Introduction	58
Materials and methods	59
Animals and diets	59
Experimental procedure	60
DNA extraction and sequencing	61
Bioinformatics and Statistics	62
Results	63
Discussion	67
Acknowledgments.....	71
Author contributions.....	71
References	71
Supporting Information.....	77



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal



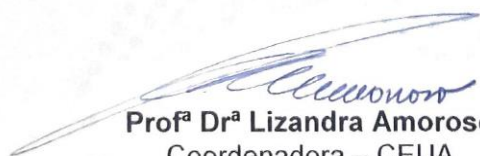
CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado **"Efeito de idade e dietas com diferentes fontes de proteína e carboidrato sobre a microbiota e a imunidade associadas à mucosa do trato gastrointestinal de cães"**, protocolo nº 546/16, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi, 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) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de junho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL - SP, em reunião ordinária de 16 de fevereiro de 2016.

Vigência do Projeto	01/03/2016 a 30/12/2016
Espécie / Linhagem	Canina
Nº de animais	36
Peso / Idade	Média de 9kg / Cães Adultos média de 4 anos; cães idosos média de 10 anos.
Sexo	Machos e fêmeas
Origem	Canil experimental do Laboratório de Nutrição e Doenças Nutricionais Prof. Dr. Flávio Prada

Jaboticabal, 16 de fevereiro de 2016.


Profª Drª Lizandra Amoroso
 Coordenadora – CEUA

EFEITO DE IDADE E DIETAS COM DIFERENTES FONTES DE PROTEÍNA E CARBOIDRATO SOBRE A MICROBIOTA ASSOCIADA A MUCOSA DO TRATO GASTROINTESTINAL DE CÃES

RESUMO - O presente estudo avaliou e comparou a composição da microbiota associada à mucosa gastrointestinal de cães adultos e idosos, alimentados com rações contendo proteína de origem animal ou vegetal e fibras de diferentes fermentabilidades. O estudo também comparou a composição da microbiota associada a mucosa do duodeno, jejuno e cólon. O ensaio seguiu esquema fatorial 3 x 2, com três rações e duas idades. Foram utilizados 18 cães adultos ($2,6 \pm 0,9$ anos) e 18 cães idosos ($10,2 \pm 1,0$ anos). Foram produzidas três dietas: dieta NFF com fibra insolúvel não fermentável a base de cana-de-açúcar e farinha de vísceras de frango; dieta FF com polpa de beterraba, fibra fermentável e parcialmente solúvel, e farinha de vísceras; dieta SM com 30% de farelo de soja em substituição a farinha de vísceras de frango. Os animais foram submetidos a 30 dias de adaptação à dieta e nos dias 31 e 32 foram realizadas as endoscopias e colonoscopias para coleta de fragmentos do duodeno, jejuno e colon, para posterior análise da microbiota associada à mucosa gastrointestinal através do sequenciamento Illumina. Os dados foram avaliados por análise de variância e médias comparadas pelo teste de Tukey. Dados sem destibuição normal foram submetidos a transformação logarítmica na base 10, $\log(x + 1)$ ou raiz quadrada antes da análise estatística, e quando necessário submetidos ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. A avaliação das dietas e do efeito da idade sobre a mucosa do cólon demonstraram que cães idosos e adultos possuem uma microbiota associada à mucosa do cólon diversa e com grupos bacterianos predominantes iguais. O envelhecimento mostrou alterações na microbiota da mucosa do cólon canino com menor abundância de algumas famílias e gêneros em cães idosos. Os macronutrientes também levaram a alterações na microbiota associada com a mucosa do cólon de cães. As fontes de fibra que possuem diferentes perfis de fermentação levaram a diferentes abundâncias de algumas bactérias. A dieta NFF levou a uma maior abundância de *[Prevotella]* e Lachnospiraceae gênero indefinido, já as dieta FF e SM acarretaram em maior abundância de Veillonellaceae e *Megamonas* na mucosa do cólon. Também a fonte de proteína de origem animal levou a uma maior abundância de grupos bacterianos relacionados com a degradação de proteínas, aminoácidos e derivados, tais como Peptococcaceae, *Peptococcus* e *Slackia*. A avaliação da microbiota associada à mucosa do jejuno, do duodeno e do cólon mostrou mudanças nos grupos de bactérias predominantes entre o intestino delgado (duodeno e jejuno) e o cólon. A caracterização da microbiota associada à mucosa gastrointestinal em cães saudáveis pelo sequenciamento Illumina é útil para a compreensão da diversidade das comunidades intestinais microbianas nos cães, e permitiu acessar o núcleo normal de alguns grupos bacterianos que podem estar alterados em doenças gastrointestinais. Portanto, o estudo demonstrou que a idade e os macronutrientes podem alterar a microbiota associada à mucosa do cólon, como também mostrou que o jejuno, duodeno e cólon abrigam o mesmo grupo de bactérias, mas em diferentes concentrações.

Palavras-chave: microbiota, mucosa, trato gastrointestinal, fibra, proteína.

EFFECT OF AGE AND DIETS WITH DIFFERENT SOURCES OF PROTEIN AND CARBOHYDRATE ON THE MICROBIOTA ASSOCIATED WITH THE GASTROINTESTINAL MUCOSA OF DOGS

ABSTRACT - The present study evaluated and compared the microbiota composition associated with gastrointestinal tract mucosa of adult and elderly dogs, fed with animal or vegetable protein and fiber of different fermentabilities. The study also compared the composition of the microbiota associated with the mucosa of the duodenum, jejunum and colon. The assay followed a 3 x 2 factorial scheme, with three rations and two ages, generating six experimental treatments. Three blocks of 12 dogs each were used, six adult dogs (2.6 ± 0.9 years) and six elderly (10.2 ± 1.0 years). The experimental diets were: diet with non-fermentable insoluble fiber based on sugarcane (NFF) and chicken offal meal; Diet with 30% of soybean meal (SM), replacing the flour of chicken viscera; Diet with fermentable and partially soluble fiber based on beet pulp (FF). Each block was structured as follows: day one to day 30 adaptation to the diet; day 31 and 32 endoscopies and colonoscopies with collection of fragments of the duodenum, jejunum and colon, for further analysis of microbiota associated to the gastrointestinal mucosa by Illumina sequencing. The data was evaluated by analysis of variance by the SAS MIXED procedure. Averages were compared by the Tukey test ($P < 0.05$). Data without normal staining were submitted to log 10 base transformation, $\log(x + 1)$ or square root before statistical analysis, and when necessary submitted to non-parametric Kruskal-Wallis test. The evaluation of diets and age effect on colon mucosa demonstrated that old and adults dogs harbored a diverse colon mucosa microbial profile, with the same predominant bacterial groups. Ageing showed changes in the canine colon mucosa microbiota with lower abundance of some family and genus groups of old dogs. Macronutrients related changes in the microbiota associated with the colon mucosa of dogs. The fiber sources with different fermentation profiles led to different abundances of some bacteria. The NFF diet led to higher abundance of *[Prevotella]* and Lachnospiraceae undefined genus and the FF and SM diet led to higher abundance of Veillonellaceae and *Megamonas*. In addition, the protein source of animal origin led to a higher abundance of bacteria groups related to protein degradation, amino acids and derivatives, such as Peptococcaceae, *Peptococcus* and *Slackia*. The evaluation of the microbiota associated with the mucosa of the jejunum, duodenum and colon showed many bacterial shifts between the small intestine (duodenum and jejunum) and the colon in the canine intestinal tract. The characterization of the microbiota associated with the gastrointestinal mucosa of healthy dogs by Illumina sequence present in this study is helpful to understanding the diversity of the microbial intestinal communities in the dogs and allowed the normal core of some bacterial groups that might be altered in gastrointestinal disease. Therefore, the study demonstrated that age and macronutrients may alter the microbiota associated with the colonic mucosa. The study also showed that the jejunum, duodenum and colon harbor the same group of bacteria, but in different concentrations.

Keywords: microbiota, mucosa, gastrointestinal tract, fiber, protein.

CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais

1. INTRODUÇÃO

O microbioma do trato gastrointestinal é um ecossistema complexo e devido às diferenças anatômicas e fisiológicas, cada compartimento intestinal abriga um único ecossistema microbiano único. Cada cão também abriga um perfil microbiano muito singular e individual (SUCHODOLSKI et al., 2005). As bactérias presentes nesses micorbiomas realizam funções especializadas utilizando nutrientes advindos da dieta do hospedeiro e, em troca, fornecem metabólitos para a absorção do hospedeiro (SUCHODOLSKI, 2011a). Também existem diferenças na composição e no número total de bactérias nos diferentes compartimentos do trato trato gastrointestinal. A contagem bacteriana total e a riqueza de espécies aumentam ao longo do trato gastrointestinal e variam também entre o lúmen intestinal e a mucosa (MENTULA et al., 2005). As bactérias pertencentes aos filos Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria, Fusobacteria, e Actinobacteria constituem mais de 99% de toda a microbiota intestinal de cães. Os grupos bacterianos remanescentes são representados pelos filos Spirochaetes, Tenericutes, Verrucomicrobia, Cyanobacteria, Chloroflexi e algumas linhagens bacterianas não classificadas (SUCHODOLSKI, 2011a; SWANSON et al., 2011).

A capacidade da microbiota intestinal em degradar a dieta e produzir ácidos graxos de cadeia curta é de suma importância para a saúde do trato gastrointestinal (TOPPING; CLIFTON, 2001). Esses ácidos graxos exercem papel fundamental na fisiologia do cólon, uma vez que, eles constituem a principal fonte de energia para os enterócitos e colonócitos, estimulam a proliferação celular do epitélio e do fluxo sanguíneo visceral, e intensificam a absorção de sódio e água, reduzindo a carga osmótica do carboidrato (SUNVOLD et al., 1995).

Pesquisas demonstraram os benefícios da alimentação com fibras alimentares e prebióticos para cães, incluindo um aumento na produção de butirato, acetato, propionato, lactato e ácido graxo de cadeia curta (VICKERS et al., 2001), aumento na produção fecal Bifidobactérias e diminuição nas concentrações de fenol fecal e indolo (SWANSON et al., 2002; FLICKINGER et al., 2003). Também é

reconhecido que as proteínas de origem animal aumentam as concentrações de produtos putrefativos e *Clostridium* spp nas fezes de cães (ZENTEK et al., 2003),

Além de sua reconhecida função em prover nutrientes ao organismo, o trato gastrointestinal é órgão imunológico muito ativo, que tem estrutura complexa e alberga diversos tipos celulares especializados que cumprem papel importante na proteção contra o ambiente externo (CUNNINGHAM-RUNDLES; LIN, 1998). Assim, a dieta deve fornecer adequadamente nutrientes para o trato gastrointestinal, aspecto importante para dar suporte a um bom desenvolvimento e funcionamento deste órgão. A fonte principal de nutrientes para a mucosa intestinal são os compostos absorvidos do lúmen. Estes compostos absorvidos do lúmen advêm dos ingredientes da dieta ou são produzidos e liberados pela microbiota intestinal (SUCHODOLSKI et al., 2011a). Gomes et al. (2011) demonstraram menor atividade fermentativa no intestino grosso de cães idosos, o que poderia estar correlacionado ao processo de imunosenescência já demonstrado em cães (DAY, 2010).

Diante do exposto, a utilização de diferentes fontes de proteína e de fibras podem modular a microbiota associada à mucosa do colon de cães, podendo interferir diferente em cães adultos e idosos. assim como a caracterização da microbiota intestinal de cães idosos. Como segunda hipótese do estudo, a microbiota associada a mucosa do trato gastrointestinal difere entre os segmentos do mesmo. Portanto, o objetivo desse estudo foi caracterizar o efeito de idade e dietas com proteínas de origem animal ou vegetal e diferentes tipos de fibra sobre a microbiota associada a mucosa do colon, como também caracterizar a microbiota associada a mucosa do duodeno, jejuno e colon de cães.

4. REFERÊNCIAS

- AL-ASMAKH, M.; ZADJALI, F. Use of Germ-Free Animal Models in Microbiota-Related Research. **Journal of Microbiology Biotechnology**, v.25, n. 10, p. 1583–1588, 2015.
- 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, p. 532-541, 2013.
- BENNO, Y.; NAKAO, H.; UCHIDA, K.; MITSUOKA, T. Impact of the advances in age on the gastrointestinal microflora of beagle dogs. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 15, n. 54(4), p. 703-706, 1992.
- BLAKE, A. B.; SUCHODOLSKI, J. S. Importance of gut microbiota for the health and disease of dogs and cats. **Animal Frontiers**, v.6, n. 3, p. 37-42, 2016.
- 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. **Microbiology Ecology**, v. 63, p. 348-357, 2012.
- CHEN, J.; HE, X.; HUANG, J. Diet effects in gut microbiome and obesity. **Journal of Food Science**, v. 79, n. 4, p. R442–R451, 2014.
- CUMMINGS, J. H.; MACFARLANE, G. T. The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 70, p. 443-459, 1991.
- CUNNINGHAM-RUNDLES, S.; LIN, D. H. Nutrition and the immune system of the gut. **Nutrition**, v. 14, n. 7-8, p. 573-579, 1998.
- DAY, M. J. Ageing, immunosenescence and inflammageing in the dog and cat. **Journal of Comparative Pathology**, v. 142, p. S60-S69, 2010.
- FLICKINGER, E. A.; SCHREIJEN, E. M. W. C.; PATIL, A. R.; HUSSEIN, H. S.; GRIESHOP, C. M.; MERCHEN N. R.; FAHEY, G. C. Nutrient digestibilities, microbial populations, and protein catabolites as affected by fructan supplementation of dog diets. **Journal of Animal Science**, v. 8, p. 2008–2018, 2003.
- 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, p. 542–554, 2011.
- GOMES, M. O. S.; BERALDO, M. C.; PUTAROV, T. C.; BRUNETTO, M. A.; ZAINE, L.; GLORIA, M. B. A.; CARCIOFI, A. C. Old beagle dogs have lower fecal

concentrations of some fermentation products and lower peripheral lymphocyte counts than young adult beagles. **British Journal of Nutrition**, v. 106, p. S187-S190, 2011.

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, p. 1637-1646, 2013.

HOOPER, L. V.; GORDON, J. I. Commensal host-bacterial relationships in the gut. **Science**, v. 292, n. 5519, p. 1115-1118, 2001.

HOPKINS, M.J.; SHARP, R.; MACFARLANE, G.T. Age and disease related changes in intestinal bacterial populations assessed by cell culture, 16s rRNA abundance, and community cellular fatty acid profiles. **Gut**, v. 48: p. 198-205, 2001.

KEARNS, R. J.; HAYEK, M. G.; SUNVOLD, G. D. Microbial changes in aged dogs. In: Reinhart GA, Carey DP. Recent Advances in **Canine and Feline Nutrition**, Vol. II. Wilmington, OH: Orange Frazer. 1998, p. 337-351.

KERR, K. R.; BELOSHAPKA, A. N.; SWANSON, K. S. 2011. Use of genomic biology to study companion animal intestinal microbiota. **Journal of Animal Science**, v. 91, p. 2504-2511, 2013.

KIRK, C.A. Normal Cats. In: HAND, M.S. **Small animal clinical nutrition**. Topeka: Mark Morris Institute, fourth edition. 2000; p. 291-347.

KUZMUK, K. N.; SWANSON, K. S.; TAPPENDEN, K. A.; SCHOOK, L.B.; FAHEY JR., G.C. Diet and age affect intestinal morphology and large bowel fermentative end-product concentrations in senior and young adult dogs. **The Journal of Nutrition**, v. 135, p. 1940-1945, 2005.

LAFLAMME, D.P. Nutrition for Aging Cats and Dogs and the Importance of Body Condition. **Veterinary Clinical Small Animal**; v. 35: p. 713-742, 2005.

LARSEN, J. A.; FARCAS, A. Nutrition of Aging Dogs. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 44, n. 4, p. 741-759, 2014.

MACFARLANE, G. T.; MACFARLANE, S. Bacteria, colonic fermentation, and gastrointestinal health. **Journal of AOAC International**. v. 95, p. 50-60, 2012.

MENTULA, S.; HARMOINEN, J.; HEIKKILA M.; WESTERMARCK, E.; RAUTIO, M.; HUOVINEN, P.; KONONEN E. Comparison between cultured small-intestinal and fecal microbiota in beagle dogs. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 71, n. 8, p. 4169-4175, 2005. doi:10.1128/AEM.71.8.4169-4175.2005.

NEISH, A.; Microbes in Gastrointestinal Health and Disease. **Gastroenterology**, v. 136, n. 1, p. 65-80, 2009.

NRC - NATIONAL RESEARCH COUNCIL (US) Ad Hoc Committee on Dog and Cat Nutrition: Nutrient Requirements of Dogs and Cats, **Rev. National Academies Press**, Washington, DC. 2006.

OUWEHAND, A. C.; DERRIEN, M.; DE VOS, W.; TIIHONEN, K.; RAUTONEN, N. Prebiotics and other microbial substrates for gut functionality. **Curr. Opin. Biotech.** 16:212-217, 2005.

PANASEVICH, M. R.; KERR, K. R.; DILGER, R. N.; FAHEY, G. C.; GUÉRIN-DEREMAU, L.; LYNCH, G. L.; WILS, D.; SUCHODOLSKI, J. S.; STEER, J. M.; DOWD, S. E.; SWANSON, K. S. Modulation of the faecal microbiome of healthy adult dogs by inclusion of potato fibre in the diet. **British Journal of Nutrition**, v.14, n. 113(01), p. 125-33, 2015.

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, p. 590-598, 2008.

SAUNIER, K.; DORÉ, J. Gastrointestinal tract and the elderly: functional foods, gut microflora and healthy ageing. **Digestive and Liver Disease**, v. 34, suppl. 2, p. S19-S24, 2002.

SIMPSON, J. M.; MARTINEAU, B.; JONES, W. E. Characterization of fecal bacterial populations in canines: effects of age, breed, and dietary fiber. **Microbial Ecology**, v. 44: p.186-197, 2002.

SMITH, E. A.; MACFARLANE, G. T. Formation of phenolic and indolic compounds by anaerobic bacteria in the human large intestine. **Microbial Ecology**, v. 33, p. 180-188, 1997.

SUCHODOLSKI J.S., RUAUX C.G., STEINER J.M., FETZ K.; WILLIAMS D.A. Assessment of the qualitative variation in bacterial microflora among compartments of the intestinal tract of dogs by use of a molecular fingerprinting technique. **American Journal of Veterinary Research**, v. 66, p. 1556–1562, 2005.

SUCHODOLSKI, J.; CAMACHO, J.; STEINER, J. Analysis of bacterial diversity in the canine duodenum, jejunum, ileum, and colon by comparative 16S rRNA gene analysis. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 66, p. 567-578, 2008.

SUCHODOLSKI, J.; DOWD, S. E.; WESTERMARCK, E.; STEINER, J. M.; WOLCOTT, R. D.; SPILLMANN, T.; HARMONINEN, 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, 2009. Disponível em: <http://www.biomedcentral.com/1471-2180/9/210>.

SUCHODOLSKI, J. S. Companion animal symposium: Microbes and gastrointestinal health of dogs and cats. **Journal of Animal Science**, v. 89, p. 1520-1530, 2011a

SUCHODOLSKI, J. S. Intestinal microbiota of dogs and cats: A bigger world than we thought. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 41, n 2, p. 261-272, 2011b.

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, suppl. 12, e51907, 2012a.

SUNVOLD, G. D.; FAHEY, G. C.; MERCHEM, N. R.; REINHART, G. A. In vitro fermentation of selected fibrous substrates by dog and cat fecal inoculum: influence of diet composition on substrate organic matter disappearance and short-chain fatty acid production. **Journal of Animal Science**. V. 73 N. 4, p. 1110-1122.

SWANSON, K. S.; GRIESHOP, C. M.; FLICKINGER, E. A.; BAUER, L. L.; HEALY, H. P.; DAWSON, K. A.; MERCHEN, N. R.; FAHEY, G. C.Jr. 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. *Journal of Nutrition*, v. 132, p. 980-989, 2002.

SWANSON, K. S.; DOWD, S. E.; SUCHODOLSKI, J. S.; MIDDELBOSS, I. S.; VESTER, B. M.; BARRY, K. A.; NELSON, K. E.; TORRALBA, M.; HENRISSAT, B.; COUTINHO, P. M.; CANN, I. K.; WHITE, B. A.; FAHEY JUNIOR, G. C. Phylogenetic and gene-centric metagenomics of the canine intestinal microbiome reveals similarities with humans and mice. **ISME J.** 5:639-649, 2011.

TOPPING, D. L.; CLIFTON, P. M. Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. **Physiology Reviews**, v. 81, p. 1031-1064, 2001.

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.

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, p. 579-589, 2008.

ZENTEK, J.; MARQUART, B.; PIETRZAK, T.; BALLÈVRE, B.; ROCHAT, F. Dietary effects on bifidobacteria and *Clostridium perfringens* in the canine intestinal tract. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, v.87, p.397–407, 2003a.