

UNIVERSIDADE PAULISTA – UNIP

FELIPE SAAB ROMANO

**EFEITOS DOS INIBIDORES DA BOMBA DE PRÓTONS EM BIOMARCADORES
SÉRICOS E FECAIS DE DISBIOSE INTESTINAL EM CÃES:
Um estudo clínico**

SÃO PAULO

2025

FELIPE SAAB ROMANO

**EFEITOS DOS INIBIDORES DA BOMBA DE PRÓTONS EM BIOMARCADORES
SÉRICOS E FECAIS DE DISBIOSE INTESTINAL EM CÃES:
Um estudo clínico**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia Ambiental e Experimental da Universidade Paulista – UNIP, para obtenção do título de Doutor em Patologia Ambiental e Experimental, sob a orientação da Prof.^a Dr.^a Maria Anete Lallo.

SÃO PAULO

2025

Romano, Felipe Saab.

Efeitos dos inibidores da bomba de prótons em biomarcadores séricos e fecais de disbiose intestinal em cães: um estudo clínico / Felipe Saab Romano - 2025.

67 f. : il. color.

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia Ambiental e Experimental da Universidade Paulista, São Paulo, 2025.

Área de concentração: Medicina Veterinária.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria Anete Lallo.

1. Cães. 2. Microbiota. 3. Disbiose. 4. Omeprazol.
5. Inflamação. I. Lallo, Maria Anete (orientadora). II. Título.

Ficha elaborada pelo Bibliotecário Rodney Eloy CRB8-6450

FELIPE SAAB ROMANO

**EFEITOS DOS INIBIDORES DA BOMBA DE PRÓTONS EM BIOMARCADORES
SÉRICOS E FECAIS DE DISBIOSE INTESTINAL EM CÃES:
Um estudo clínico**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia Ambiental e Experimental da Universidade Paulista – UNIP, para obtenção do título de Doutor em Patologia Ambiental e Experimental.

Aprovado em:

BANCA EXAMINADORA

_____/_____/_____
Prof.^a Dr.^a Maria Anete Lallo (orientadora)
Universidade Paulista – UNIP

_____/_____/_____
Prof.^a Dr.^a Ivana Barbosa Suffredini
Universidade Paulista – UNIP

_____/_____/_____
Prof. Dr. José Guilherme Xavier
Universidade Paulista – UNIP

_____/_____/_____
Prof.^a Dr.^a Silvia Regina Ricci Lucas
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo –
FMVZ – USP

_____/_____/_____
Prof.^a Dr.^a Alessandra Melchert
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo –
FMVZ – UNESP

AGRADECIMENTOS

Primeiramente ao Universo, que não tem nome sabido, origem totalmente compreendida ou tamanho mensurável. Diante de tantos desafios e de certas impossibilidades, me foi permitida a condição intelectual necessária para chegar até aqui e realizar este trabalho que me trouxe grande satisfação. Mais uma etapa. Mais um sonho. Um degrau a mais na trajetória acadêmica. Talvez esteja “chegando ao fim” pois são quase 17 anos ininterruptos na academia, mas depois posso recomeçar.

Aos meus pais: Waldir Rodrigues Romano e Odete Saab Romano. A união de vocês me conferiu vida e a caminhada de vocês – independente de circunstâncias – me conferiu exemplo. Eu tenho muito de ambos em mim, mesmo que eu as vezes esteja distante dos seus olhos. Sinto orgulho. Irei honrá-los sempre.

A minha orientadora e amiga, Professora Doutora Maria Anete Lallo que ensina de forma leve, compartilha de forma ilimitada e orienta dentro de um equilíbrio entre rigor e empatia. Espero honrar seus ensinamentos.

A Universidade Paulista (UNIP) que me acolheu e me deu liberdade para aprender e ainda agregar junto de colegas e docentes.

A CAPES (apoio governamental) que permitiram o andamento deste longo estudo para que isto fosse relevante a Saúde Animal e Humana, afinal a base da Medicina é uma só. Certamente a Professora Doutora Ivana Suffredini que trabalha com Farmacoterapia Aplicada a Ciência Animal e Humana, membro do corpo docente da UNIP e colaborou conosco para geração de informação estatística.

Ao canil Tweedmouth que cultivava a raça Golden Retriever com tanto carinho e qualidade e que nos confiou livre acesso ao plantel e consentiu com este estudo clínico. Sendo um canil de referência nacional, nos impressionou com adequada higiene, amplitude de espaços, criterioso trato e evidente qualidade de vida dos animais.

Ao Laboratório Hormonale que nos isentou de custos e ainda prestou suporte técnico para permitir a realização deste estudo (dosagem sérica de Gastrina), tendo como responsáveis as médica-veterinárias especializadas Priscila Viau e Debora Cattaruzzi Rodini Guisso.

A experiente Professora Mestra Camila Ferreiro, médica-veterinária que leciona no Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas (Uni-FMU) e permitiu abrir as portas da sua sala de aula para eu fosse seu professor assistente e com isso adquirisse mais segurança na comunicação do ensino superior.

Ao Laboratório Stonewell, localizado em São Paulo, que nos forneceu suporte técnico e garantiu a qualidade sobre os exames de biologia molecular (índices de disbiose) sendo vinculado ao Laboratório de Gastroenterologia da Universidade do Texas (pioneiro na técnica que se tornou eleição no diagnóstico de disbiose intestinal a partir de amostra fecal).

Aos meus amigos da vida acadêmica, parceiros para longas conversas e incentivadores frequentes que dividem alegrias e desafios comigo em prol das Especialidades, do Associativismo e da Medicina Veterinária e que sempre me convidaram a fazer parte de meios tão seletos da nossa profissão: médica-veterinária autônoma e Mestra Maria Carolina Farah Pappalardo, Professor Doutor Thiago Henrique Vendramini (FMVZ-USP), Professora Doutora Silvia Ricci (FMVZ-USP), Professora Doutora Alessandra Melchert (FMVZ-UNESP), médica-veterinária autônoma Doutora Andressa Rodrigues Amaral, médica-veterinária e Professora Mestra Rita de Cássia Carmona, médica-veterinária Professora Doutorada Maria Helena Larsson (FMVZ-USP) junto de seu marido e professor a quem tenho grande saudade e certamente grande dívida por tantas orientações, o Professor Doutor Carlos Eduardo Larsson e seu filho que além de mentor profissional se tornou meu amigo, o médico-veterinário Mestre Carlos Eduardo Larsson Junior, assim como, médica-veterinária Professora Doutora Mitika Hagiwara (FMVZ-USP), médica-veterinária especializada Bruna Coelho (HOVET/FMVZ-USP), médico-veterinário especializado e Mestre Flávio Lopes, médica-veterinária especializada Cintia Ghorayeb, médica-veterinária Doutora Angélica Safatle (Oftalmologia/FMVZ-USP).

Aos meus eternos professores e amigos, que foram primeiros incentivadores, Dr. Luiz Roberto Biondi (Universidade Metropolitana de Santos e membro da Associação Brasileira de Oncologia Veterinária) e Dra. Patricia Pereira C. Chamas (Clínica Médica Veterinária na Universidade Paulista e membro da Sociedade Brasileira de Cardiologia Veterinária), sendo um casal ícone naquilo que faz e que

sempre teve por mim muito carinho e constantemente me encorajou em etapas anteriores da minha formação.

Para a minha equipe (Clínica FEROGASTRO VET) pois todos ali me enchem de orgulho. Meus amigos e verdadeiros seguidores que acham que aprendem comigo, contudo muito me ensinam e me apoiam: especializados em Gastroenterologia e todos meus ex-alunos: Larissa Nonato de Camargo, Leticia de Paula Isidoro, Larissa Duarte de Queiroz, Flávio Tchilian Mesquita, Mariane Ruiz Cardoso, Lylian Cristina Sodré. Ainda sobre a minha equipe, as melhores anestesistas e companheiras de jornadas, médicas-veterinárias Iara Tiburcio, Tatiana Catelan e Thaís Macedo.

Aos meus ex-alunos que muito me marcaram: Juan Rezende, Isis de Carvalho, Mikhael Morita, Bianca Verlengia, Bruna Gonçalves da Silva, Giovana Canezin, Iago Martins, Fabiana Mendonça, Flávia Pimentel, Valéria Milani. Meus caros, não sei se sabem, mas a admiração (por vezes superestimada) que vejo proveniente dos seus olhos serve como propósito em minha vida.

A um velho amigo que foi “a melhor viagem” embora infelizmente - por razão de rotas - não o meu destino final, Thiago. Pois é, quanto tempo! Por aqui muita coisa mudou, exceto algumas. Eu não quero que mudem. Dizem que saudade   um sentimento de quem teve sorte. Então sou sortudo. Espero que você concorde, espero que você esteja bem. Enfim, esta mensagem é para te agradecer por bens que me causou e que não tem nome e digo isso com o amadurecimento e o autoconhecimento que outrora muito me faltaram.

A Associação Brasileira de Gastroenterologia Animal (ABRAGA) que exige de mim que seja mais  tico, mais coletivista e mais inteligente emocional do que eu sou capaz de ser. Tudo em prol de algo maior a devolver para a Medicina Veterinária, profissão que mudou a minha vida e me d  a chance de mudar de alguma forma a vida de outros.

Por último e claramente mais importante, a minha irmã gêmea e colega de profissão que divide desde sempre a caminhada da vida, médica-veterinária Mestra e Doutoranda Raquel Saab Romano. Tudo com você é bom. Tudo sem você é ruim. Com você tenho propósito. Minha fortaleza. Minha alma g mea.

DEDICATÓRIA

Já fui muito intenso em minha vida. Obtive vários bônus e ônus pela minha obstinação e pela minha precocidade. Me elaborei demasiadamente na vida profissional. Superei complexos. Pouco me conheci, pois não deu tempo. Quase sempre errei quando o assunto era vida pessoal ou relações afetivas. Te dedico, minha amiga e orientadora Maria Anete Lallo por ter me dado pela primeira vez no âmbito profissional o direito de ser apenas eu, podendo expor minhas fraquezas e minhas imperfeições sem que isso influenciasse em nossa relação profissional ou nas suas expectativas sobre meu comprometimento. Essa dedicatória não é para reforçar minha admiração enorme pela professora e pesquisadora que você é, pois isto é sabido por todos. Ela apenas formaliza o meu “muito obrigado” pelo bem que você me fez no âmbito pessoal (postura, comportamento, energia, empatia e direção).

RESUMO

O trato gastrointestinal de mamíferos, incluindo cães e gatos, é habitado por uma microbiota intestinal altamente diversa, que exerce papel essencial na saúde e na doença. Esse ecossistema microbiano influencia processos como metabolismo, imunidade, desenvolvimento neurológico e manutenção da homeostase. A revisão tem como objetivo abordar os conhecimentos atuais sobre a microbiota intestinal canina, destacando sua importância na eubiose e os impactos da disbiose. Além disso, discute as principais causas, métodos de diagnóstico e estratégias de tratamento da disbiose em cães. O segundo capítulo compreende um estudo clínico sobre os efeitos dos inibidores da bomba de prótons em biomarcadores séricos e fecais de disbiose intestinal em cães. A microbiota intestinal é composta por diversos microrganismos que desempenham funções essenciais no metabolismo e na saúde do hospedeiro. Este estudo avaliou os efeitos de inibidores da bomba de prótons (IBPs) — Omeprazol, Esomeprazol e Lansoprazol — na microbiota de cães saudáveis. Vinte cães da raça Golden Retriever foram divididos em quatro grupos, recebendo tratamento por 30 dias. Os resultados mostraram que, embora não houvesse alterações clínicas ou significativas no índice global de disbiose, foram observadas mudanças específicas na microbiota, como a redução do gênero *Turicibacter* e o aumento de *Streptococcus spp.* em alguns indivíduos. Os marcadores séricos de inflamação e absorção gastrointestinal permaneceram inalterados. Conclui-se que, nas condições estudadas, os IBPs não causaram disbiose nem prejuízos clínicos, embora alterações pontuais indesejadas tenham sido registradas.

Palavras-Chave: Eubiose; Esomeprazol; Lansoprazol; Microbiota; Microbioma; Omeprazol.

ABSTRACT

The gastrointestinal tract of mammals, including dogs and cats, is inhabited by a highly diverse intestinal microbiota that plays an essential role in both health and disease. This microbial ecosystem influences various processes such as metabolism, immunity, neurodevelopment, and the maintenance of homeostasis. The review aims to present current knowledge about the canine gut microbiota, highlighting its role in eubiosis and the impacts of dysbiosis. It also discusses the main causes, diagnostic methods, and treatment strategies for dysbiosis in dogs. The second chapter consists of a clinical study on the effects of proton pump inhibitors (PPIs) on serum and fecal biomarkers of intestinal dysbiosis in dogs. The intestinal microbiota comprises various microorganisms that play key roles in host metabolism and health. This study evaluated the effects of PPIs — Omeprazole, Esomeprazole, and Lansoprazole — on the microbiota of healthy dogs. Twenty Golden Retrievers were randomly divided into four groups and treated for 30 days. Results showed no clinical signs or significant changes in the global dysbiosis index among the treated groups. However, specific microbial alterations were observed, including a reduction in *Turicibacter* (a beneficial genus) in the Omeprazole and Esomeprazole groups, and an increase in *Streptococcus spp.* (an undesirable genus) in some individuals in the Omeprazole group. Serum biomarkers related to inflammation and gastrointestinal absorption remained unchanged. It was concluded that, under the studied conditions, PPIs did not induce intestinal dysbiosis or clinical impairment, although some isolated undesirable microbial changes were noted.

Keywords: Eubiosis; Esomeprazole; Lansoprazole; Microbiota; Microbiome; Omeprazol.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - Disbiose Intestinal em Cães: passado, presente e futuro.....	10
1. Conceitos gerais.....	13
2. Funções do microbioma	16
3. Disbiose.....	20
3.1. Alterações laboratoriais associadas à disbiose	22
3.2. Tratamentos	24
4. Conclusão	28
REFERÊNCIAS.....	28
CAPÍTULO 2 - Efeitos dos Inibidores da Bomba de Prótons em biomarcadores séricos e fecais de Disbiose Intestinal em Cães - Um estudo clínico	36
INTRODUÇÃO.....	39
MATERIAL E MÉTODOS	41
RESULTADOS	47
DISCUSSÃO.....	56
CONCLUSÃO.....	61
REFERÊNCIAS	62
ANEXOS.....	67

Capítulo 1

Disbiose Intestinal em Cães: passado, presente e futuro

Intestinal Dysbiosis in Dogs: past, present and future

Felipe Saab Romano¹, Maria Anete Lallo¹

¹Programa de Patologia Ambiental e Experimental, Medicina Veterinária, Universidade Paulista (UNIP), São Paulo, Brasil.

Resumo: O trato gastrointestinal dos mamíferos é colonizado por um grande número de microrganismos e essa população é conhecida como microbiota intestinal, que desempenha um papel fundamental nos estados fisiológicos e patológicos. Em particular em cães e gatos, o trato gastrointestinal abriga um ecossistema microbiano complexo e altamente biodiverso que interage de forma diversa na saúde (eubiose) e na doença (disbiose). Estudos recentes mostram que ele está envolvido em uma ampla variedade de processos vitais, incluindo as necessidades energéticas, o metabolismo, a atividade imunológica e o desenvolvimento neurocomportamental. O objetivo desta revisão foi trazer um recorte sobre os conhecimentos relativos à microbiota e à disbiose em cães, abordando aspectos da microbiota e sua relação com a homeostase do hospedeiro. Também essa revisão focou nas causas, no diagnóstico e no tratamento na disbiose.

Palavras-Chave: causas de disbiose; microbiota; microbioma; probióticos.

Abstract: The gastrointestinal tract of mammals is colonized by a large number of microorganisms, known as the gut microbiota, which play a fundamental role in both physiological and pathological states. In particular, the gastrointestinal tract of dogs and cats harbors a complex and highly biodiverse microbial ecosystem. Recent studies have shown that it is involved in a wide range of vital processes, including energy requirements, metabolism, immune activity, and neurobehavioral development. The aim of this review was to present an overview of current knowledge regarding the microbiota and dysbiosis in dogs, highlighting aspects of the microbiota and its relationship with homeostasis. This review also focused on the causes, diagnosis and treatment of dysbiosis.

Keywords: causes of dysbiosis; microbiota; microbiome; probiotics.

1. Conceitos gerais

Um ecossistema complexo constituído por bactérias, vírus, fungos e protozoários habita o trato gastrointestinal (TGI). Para se referir a esse sistema termos são empregados, como microbiota quando se refere à taxonomia (“quem está lá”) e microbioma quando se refere ao seu conteúdo e função genética (“o que eles estão fazendo ali”) (Suchodolski, 2022). Em cães e gatos, cerca de 98% desse ecossistema é composto por bactérias (Swanson et al., 2011). Embora descritos como componentes da microbiota, o papel dos fungos, vírus e protozoários ainda não é totalmente compreendido.

Na microbiota há bactérias Gram-positivas e negativas, aeróbias ou anaeróbias a depender do segmento anatômico intestinal e de aspectos individuais do animal, por exemplo, o intestino delgado abriga uma mistura de bactérias aeróbicas e anaeróbicas facultativas, enquanto o cólon é colonizado abundantemente por anaeróbios (quadro 1). Os filos predominantes em cães e gatos são: Firmicutes, Fusobacteria e Bacteroidetes. Os gêneros mais notáveis são: *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* (Pilla e Suchodolski, 2020).

As bactérias intestinais fazem parte da relação delicada que existe entre as células epiteliais intestinais, a camada de muco intestinal, o sistema imune do hospedeiro e o ambiente luminal. A composição da microbiota é influenciada pela dieta, pelo ambiente, pela idade, pela genética e certamente por enfermidades e/ou medicamentos (Garraway et al., 2018; Wernimont et al., 2020; Ziese, Suchodolski, 2022).

A maturidade do microbioma intestinal em cães coincide com o desmame, quando o filhote passa a ter uma composição mais semelhante ao adulto. Desde o nascimento, quando existe predominância de *Proteobacteria*, oscilações na constituição das bactérias ocorrem gradativamente, com 9 semanas de idade, ocorre redução de *Proteobacteria* e aumento de *Faecalibacterium spp.* e *Clostridium hiranonis*. Por outro lado, irmãos da mesma ninhada adultos apresentam composição microbiana mais semelhante entre si do que cães não aparentados, indicando a participação genética (Hand et al., 2013).

Também são identificadas diferenças entre as populações bacterianas nos segmentos do TGI, atribuídas aos níveis de oxigênio, pH, compostos antimicrobianos e motilidade intestinal. No estômago canino sobrevivem bactérias resistentes ao

ambiente ácido, predominantemente *Helicobacter* spp. e, em menor grau *Lactobacillus* spp. (Garcia-Mazcorro et al., 2012). O intestino delgado abriga uma mistura de bactérias aeróbicas e anaeróbicas (Mentula et al., 2005), enquanto no intestino grosso predominam as bactérias anaeróbicas (Honneffer et al., 2017). Além da diversidade filogenética das bactérias constituintes da microbiota, esses microrganismos mostram variações genéticas em função de fatores ambientais como pH, oxigênio, metabólicos, nutrientes, hormônios, estímulos neurais, as quais podem modificar a função no microbioma. Por exemplo, *Escherichia coli* apresenta modificação na taxa de crescimento e na motilidade dependendo da proporção de ácidos graxos de cadeia curta disponível no íleo e cólon (Zhang et al., 2020). Pesquisas indicam que as microbiotas de cães e gatos se tornaram mais diversas por meio da domesticação, assemelhando-se à dos humanos (Pilla e Suchodolski, 2020).

Quadro 1. Características e composição da microbiota gastrointestinal de cães e gatos.

	Bactérias	Fungos	Vírus
Características do grupo de microrganismos	O número e a diversidade de bactérias aumentam ao longo do trato gastrointestinal	Geralmente estão aderidos à mucosa	A quantidade de vírus na microbiota geral é pequena
Cães	<i>Firmicutes</i> , <i>Bacteroidetes</i> , <i>Proteobacteria</i> , <i>Fusobacteria</i> , <i>Actinobacteria</i>	Leveduras e bolores Cada cão tem um perfil único de espécies de fungos presentes em sua população	Rotavírus, Coronavírus, Parvovírus, Norovírus, Astrovírus, Paramyxovírus
Gatos	<i>Firmicutes</i> (incluindo <i>Clostridium</i> spp.), <i>Proteobacteria</i> <i>Bacteroidetes</i> , <i>Fusobacteria</i> , <i>Actinobacteria</i>	<i>Ascomycota</i> (>90%); <i>Saccharomyces</i> e <i>Aspergillus</i> , <i>Neocallimastigomycota</i> (>5%)	Rotavírus, Coronavírus, Parvovírus, Bacteríofagos Caudovirales, Crenarchaeota, Euryarchaeota, Korarchaeota, Nanoarchaeota e Thaumarchaeota

Adaptado de Breczko et al., 2024.

O filo Firmicutes compreende cerca de 200 gêneros de diferentes bactérias Gram-positivas, aeróbias, anaeróbias, formadoras de esporos, saprofitas e patogênicas, como *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus* e *Ruminococcus*. São encontradas no solo, água, pele e TGI. Alguns membros de Firmicutes estão envolvidos no metabolismo lipídico e dos ácidos biliares no intestino, sendo que evidências acumuladas sugerem que os ácidos biliares desempenham papéis essenciais na inflamação intestinal e no desenvolvimento da doença inflamatória intestinal (DII) (Sasso et al., 2023).

Bacteroidetes são Gram-negativas, não formadoras de esporos, anaeróbicas ou aeróbicas, em forma de bastonete. A maioria das espécies de Bacteroidetes se divide em três gêneros: *Prevotella* (sensível à bile, moderadamente sacarolítica, com espécies pigmentadas e não pigmentadas), *Porphyromonas* (espécie sensível à bile, pigmentada, assacarolítica) e *Bacteroides* (espécie resistente à bile, não pigmentada, sacarolítica). A capacidade de alguns membros degradar polissacarídeos explica por que eles prosperam no TGI (Sasso et al., 2023).

O filo Fusobacteria é composto por bactérias Gram-negativas, imóveis, aeróbicas facultativas a anaeróbicas obrigatórias, fermentativas, em forma de bastonete, que geralmente têm morfologia fusiforme (em forma de fuso). As bactérias desse filo são comumente associadas à membrana mucosa de humanos e animais (Sasso et al., 2023).

Os filios Proteobacteria e Actinobacteria também são comumente identificados como colonizadores do intestino delgado. No filo Proteobacteria, com bactérias Gram-negativas, os gêneros mais importantes são *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Desulfovibrio* e *Helicobacter*. Membros da família Enterobacteriaceae (como *Escherichia coli*) são anaeróbios facultativos, o que lhes permite aproveitar o oxigênio disponível no intestino (Honneffer et al., 2017, Sasso et al., 2023). As Actinobactérias são bactérias Gram-positivas com alto conteúdo de DNA distribuídas ubiquamente em ecossistemas aquáticos e terrestres. Elas também têm um extenso metabolismo secundário e produzem cerca de dois terços de todos os antibióticos derivados naturalmente em uso clínico atual, bem como muitos compostos anticâncer, anti-helmínticos e antifúngicos. O filo inclui as Bifidobactérias, são colonizadores microbianos dos intestinos de recém-nascidos e desempenham papéis importantes no desenvolvimento de sua fisiologia, incluindo a maturação do sistema imune e o uso

de componentes dietéticos. Algumas cepas de *Bifidobacterium* são consideradas microrganismos probióticos devido aos seus efeitos benéficos e foram incluídas como ingredientes bioativos em alimentos funcionais (Honneffer et al., 2017, Sasso et al., 2023).

2. Funções do microbioma

Antes do nascimento, o TGI é estéril, porém vai sendo colonizado, algumas horas após o nascimento, por microrganismos provenientes do canal de parto da mãe e do ambiente ao redor, dos mamilos na amamentação e do próprio colostro. Os mecanismos envolvidos nessa tolerância imunológica ainda não estão esclarecidos, porém são atribuídos a vários fatores existentes no neonato como a imaturidade do sistema imune, características constitutivas do epitélio intestinal, supressão de células imunes inatas, os anticorpos maternos fornecidos no colostro, entre outros. A microbiota permite a maturação completa do tecido linfoide associado ao intestino (GALT). O GALT, que está associado às membranas mucosas do trato digestivo, amadurece de forma abrangente, integrando componentes de respostas celulares e humorais (Tizard, Jones, 2018). Precocemente é gerada uma tolerância imunológica aos constituintes da microbiota.

A barreira intestinal, composta pela microbiota, muco e revestimento epitelial, é fundamental para preservar a saúde gastrintestinal (fig. 1). Embora a microbiota faça parte do conteúdo intestinal, ela não deve entrar em contato com as células epiteliais, por essa razão grande parte da atividade imunitária intestinal visa manter uma relação comensal saudável entre a microbiota e o hospedeiro. O muco, produzido pelas células caliciformes, em associação com os peptídeos antimicrobianos produzidos pelas demais linhagens de células epiteliais intestinais, desempenham um papel significativo na limitação da exposição à microbiota comensal (Belkaid, Hand, 2014). De forma contínua, a IgA específica para comensais é produzida pela interação de células dendríticas intestinais que coletam amostras de comensais associados ao epitélio e interagem com células B e T das placas de Peyer, produzindo mais IgA específica (Tizard, Jones, 2018). A barreira imunológica do TGI envolve a colaboração entre o corpo e a sociedade microbiana intestinal. A microbiota desempenha vários papéis de defesa. Primeiramente existe uma competição entre as bactérias pelo nicho ecológico e a disponibilidade de nutriente, fator que pode modificar a expressão

gênica de fatores de virulência. A presença de microbiota comensal também gera um estado de vigilância, por macrófagos, células dendríticas e linfócitos, com a produção de anticorpo IgA e das citocinas IL-1 β e IL-17, disponíveis para uma resposta rápida (Belkaid, Hand, 2014).

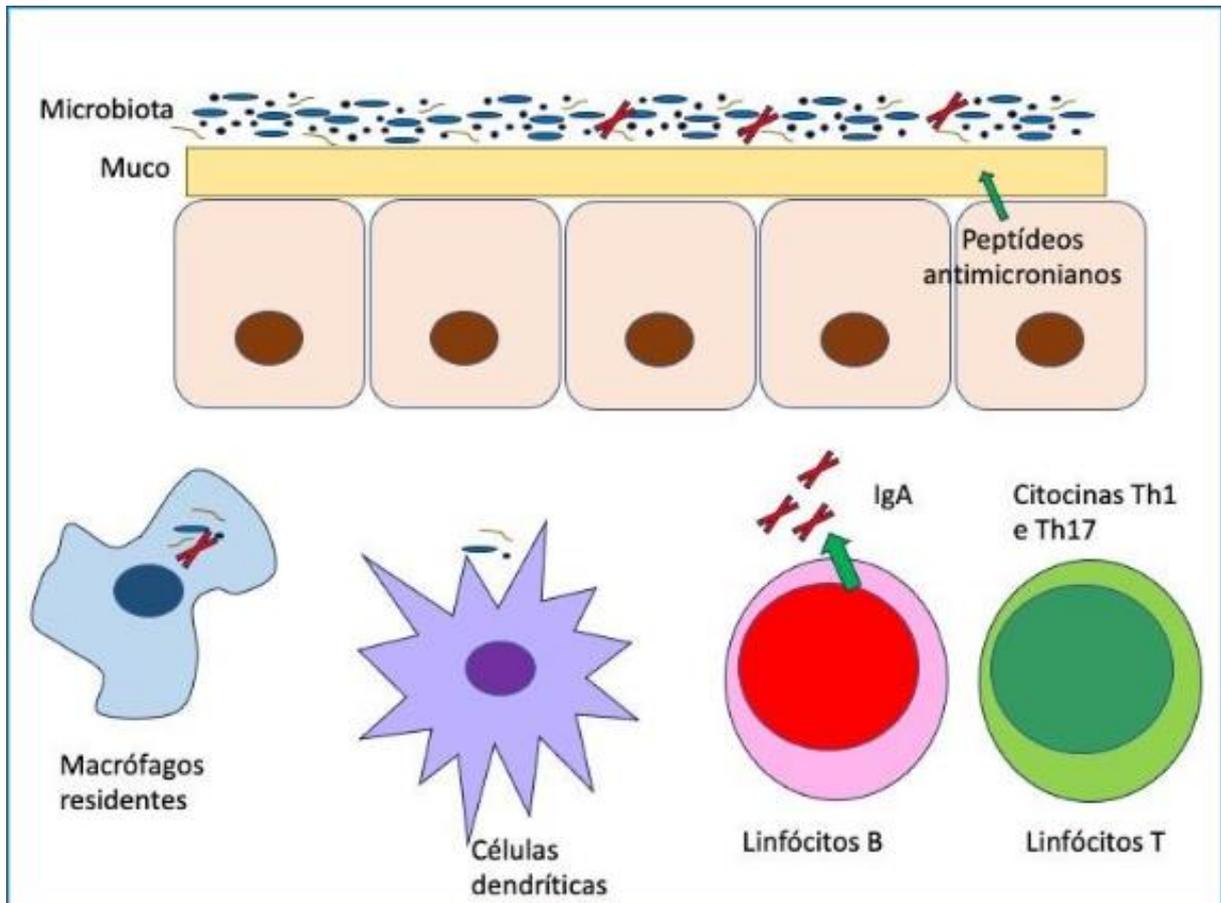


Figura 1. Desenho ilustrativo da barreira intestinal constituída pela microbiota, muco, células epiteliais e células do sistema imune associadas ao trato gastrointestinal – macrófagos residentes, células dendríticas, linfócitos T e B.

Normobiose ou eubiose representa o estado em que as bactérias do corpo estão em equilíbrio, realizando funções específicas. Embora os microrganismos naturalmente presentes na microbiota normalmente existam em pequenos números, eles podem levar a doenças, sendo denominados patobiontes. Por exemplo, membros da família Enterobacteriaceae aumentam durante infecções e inflamações (Levy et al., 2017).

Até o momento, as funções atribuídas à microbiota saudável, denominada eubiose, permitem compreender o porquê de mantê-la preservada não só em nome da saúde intestinal como em prol da saúde integrada do paciente. As atividades metabólicas das bactérias produzem energia e substratos úteis tanto para sua própria proliferação quanto para o hospedeiro. Por exemplo, a fermentação de álcoois e carboidratos não digeríveis (amido, inulina, celulose, hemicelulose, pectina e goma) resulta na produção de gases e ácidos graxos de cadeia curta (AGCCs), como acetato, propionato e butirato, os quais fornecem energia ao epitélio intestinal, reduzem o pH intestinal como mecanismo de defesa primária além de dar suporte ao crescimento, a proliferação e a diferenciação das células epiteliais intestinais (Wong et al., 2006, Bell et al., 2008, Schmitz, Suchodolski, 2016). As bactérias comensais defendem o hospedeiro contra patógenos por meio da produção de bacteriocinas além de competirem por nutrientes e vantagens ecológicas (Mondo et al., 2019). Outra função importante é a transformação tanto de ácidos biliares primários (ácido cólico e ácido quenodesoxicólico) quanto de ácidos biliares secundários (ácido desoxicólico e ácido litocólico), que são essenciais para a absorção de gorduras da dieta e de vitaminas lipossolúveis no intestino (Mondo et al., 2019).

Além disso, como já descrito anteriormente, as bactérias comensais desempenham papel fundamental na indução, modulação e funcionamento da imunidade do hospedeiro, o qual, contribui para o desenvolvimento da estrutura fisiológica do intestino e para a distinção entre patógenos e bactérias comensais (Capurso, 2016, Mondo et al., 2019). Essa relação permite que as respostas defensivas contra patógenos sejam eficazes e regula as vias envolvidas na tolerância a antígenos inofensivos. A capacidade dos microrganismos de modularem o estado imunológico dos tecidos, tanto local quanto sistemicamente, exige um monitoramento constante dos micróbios e circuitos de retroalimentação complexos entre os componentes da imunidade inata e adaptativa (Suchodolski, Simpson, 2013). A microbiota compõe um filme bacteriano com papel de “segundo epitélio” (proteção) e interação com a motilidade e com as secreções intestinais. Resumidamente, as funções atribuídas a microbiota estão elencadas na figura 2, a seguir.



Figura 2. Funções relacionadas ao microbioma intestinal.

O intestino e o cérebro se conectam por meio de uma rede neuro-imuno-humoral de vias de sinalização conhecidas como eixo microbioma intestinal-cérebro, que inclui o nervo vago, o sistema imune, os hormônios, metabólitos e produtos bacterianos. Durante a perturbação da homeostase da microbiota causada por um desequilíbrio em sua composição funcional e atividades metabólicas, conhecido como disbiose, essas rotas são desreguladas e causam alterações na permeabilidade da barreira hematoencefálica (BHE), neuroinflamação e outras disfunções patológicas, incluindo uma série de distúrbios do neurodesenvolvimento e neurodegenerativos. Tem sido descrito que a microbiota intestinal se comunica com o cérebro por meio de três rotas principais: a rota neural (pelo nervo vago e sistema nervoso entérico), a rota imunológica (por citocinas e quimiocinas) e a rota endócrina (eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, hormônios digestórios e outros) (Dinan, Cryan, 2015). A microbiota intestinal modera o eixo intestino-cérebro de várias maneiras, como preservar a permeabilidade intestinal controlando a integridade das junções estreitas no epitélio intestinal e produzindo uma grande seleção de metabólitos que incluem neurotransmissores, AGCCs e aminoácidos. Esse aspecto do microbioma ainda é pouco explorado na medicina veterinária (Sasso et al., 2023). Existem evidências de que alguns

neurotransmissores essenciais para o comportamento animal são regulados pela microbiota intestinal, bem como aos principais metabólitos microbianos, tais como os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) (Kielbik, Witkowska-Piłaszewicz, 2024).

Outros eixos de interação têm sido descritos, como por exemplo, intestino-pele e intestino-rins, evidenciado que a microbiota intestinal influencia não apenas no funcionamento digestório, mas estabelece vínculo com a homeostase sistêmica (Bartochowski et al., 2022). Em pacientes com insuficiência renal crônica são observadas alterações compatíveis com disbiose, entre elas redução da motilidade intestinal, aumento da permeabilidade intestinal, supercrescimento bacteriano, translocação bacteriana e inflamação intestinal (Cosola et al., 2021). Além do papel fundamental da microbiota cutânea nas doenças dermatológicas, foi demonstrada a associação entre dermatite atópica e a disbiose intestinal (Thomsen et al., 2023).

3. Disbiose

O termo disbiose refere-se à alteração da microbiota fisiológica de um animal, ou seja, a disbiose é uma condição patológica na qual ocorreu ruptura da homeostase desejada de microrganismos residentes, e este desequilíbrio pode ser tanto em quantidade (redução da estabilidade de bactérias, supercrescimento de agentes patogênicos facultativos ou não, diminuição de bactérias anaeróbias) como em qualidade (diminuição da diversidade, variedade nas proporções e tipos bacterianos) (Mondo et al., 2019). Essas alterações resultam no declínio das funções gastrointestinais associadas à microbiota, como maior suscetibilidade à inflamação local e sistêmica, perda das funções digestivas, imunes e endócrinas ao hospedeiro. Desta forma, diarreia, cólicas, flatulências e vômitos são manifestações clínicas inespecíficas e muitas vezes presentes em animais com disbiose.

A disbiose quase sempre é secundária, isto é, diversas enfermidades ocasionam disbiose – discreta ou acentuada – e é necessária devida triagem de investigação. Raramente ela será primária, idiopática ou associada a fatores genéticos e imunitários por enquanto incompreendidos e carentes de maiores evidências, como sugerida através de alguns estudos com cães da raça Pastor Alemão, por exemplo. Entretanto alguns fatores podem levar a disbiose, por exemplo, à medida que os indivíduos envelhecem e experimentam mudanças na dieta, em fatores ambientais e, notadamente, em doenças, ocorrem modificações na microbiota intestinal, afetando o

transcriptoma, o proteoma e o metaboloma (Pilla, Suchodolski, 2020). A microbiota também é influenciada por fatores vinculados à criação, como tipo de dieta, uso excessivo de antibióticos ou parasitoidas.

Abaixo exemplificam-se condições possivelmente vinculadas à disbiose secundária (fig. 3):

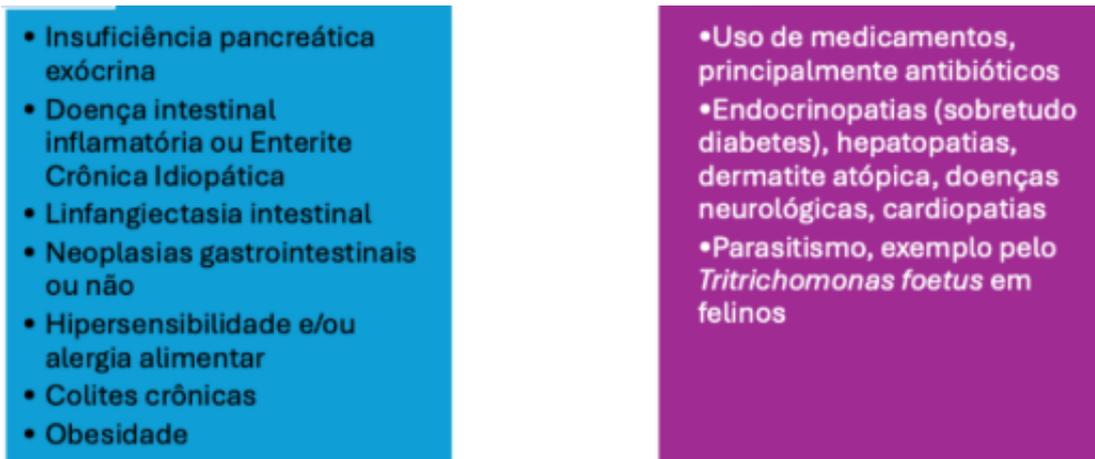


Figura 3. Relação das condições associadas à disbiose secundária.

Clinicamente espera-se diarreia aguda ou crônica em animais com disbiose intestinal, contudo, a enterite não é a única possibilidade. Há casos de vômitos, prurido, alteração do apetite, mudança comportamental, dentre outras alterações clínicas.

A inflamação intestinal também pode ser desencadeada pela disbiose intestinal por meio de um distúrbio no metabolismo dos ácidos biliares, algo observado tanto em cães quanto em humanos. Os ácidos biliares são essenciais para a digestão de lipídios, mas também desempenham um papel nas defesas da mucosa e possuem propriedades anti-inflamatórias. As bactérias presentes no lúmen intestinal são responsáveis pela não conjugação e desidroxilação dos ácidos biliares, assim a disbiose pode prejudicar a produção de ácidos biliares secundários (Giaretta et al., 2018). As doenças intestinais crônicas também podem diminuir a expressão do transportador apical de ácidos biliares dependente de sódio, que é essencial para a reabsorção dos ácidos biliares primários conjugados. A disbiose e a inflamação intestinal podem comprometer significativamente o metabolismo dos ácidos biliares, o que, por sua vez, pode agravar ainda mais a inflamação intestinal (Pilla, Suchodolski, 2020).

Alterações em aminoácidos como triptofano também estão correlacionadas com enteropatias crônicas. Em cães, o aminoácido triptofano é precursor de quinurenina, serotonina, melatonina e indol, importantes no eixo intestino-cérebro. Ainda o triptofano tem influência direta no microbioma como precursor de compostos indólicos, produzidos exclusivamente por bactérias. Esses compostos melhoram a homeostase intestinal, reduzem a permeabilidade intestinal e aumentam a produção de mucina. A redução de triptofano no soro de cães ou gatos com enteropatia é um marcador ainda incerto e carente de mais elucidação quanto sua relevância (Kathrani et al., 2018, Pilla, Suchodolski, 2020).

Os antimicrobianos são certamente os medicamentos mais problemáticos para causar disbiose (Suchodolski et al., 2009, Marclay et al., 2022, Stavroulaki, et al., 2023). O grupo dos antiácidos, por exemplo, foi inicialmente apontado como indutor de disbiose por alterar o pH gastroduodenal, contudo, a ocorrência de diarreia pelo uso destas medicações é infrequente. Ainda acerca disto outras evidências exibiram dados de que este potencial de disbiose é temporário - dependente ainda da dose e do tipo de antiácido – pois a microbiota é passível de recuperação espontânea após a suspensão do uso destes gastroprotetores. Inclusive animais que estão sem uso de Omeprazol por 2 semanas podem servir como doadores de fezes caso atendam outros requisitos (Ziese, et al., 2021; Winston, et al., 2024). Também não se sabe sobre vermífugos causando ou não disbiose e são medicamentos amplamente utilizados em pequenos animais – por vezes até indiscriminadamente – de modo que as poucas evidências existentes apontam segurança do Fenbendazol quanto a integridade da microbiota (Fujishiro, et al., 2020, Lee, et al., 2020, Sui et al., 2024). Acredita-se em algum potencial para disbiose – ainda carente de comprovação – sobre os glicocorticoides e os antineoplásicos.

3.1. Alterações laboratoriais associadas à disbiose

A suspeita de disbiose geralmente começa – em termos clínicos – com sinais e sintomas gastrointestinais agudos ou crônicos, entre eles diarreia, flatulência, vômito, presença de muco aparente nas fezes que podem exibir odor desagradável e alteração na coloração (Mondo et al., 2019, Huang et al., 2020, Suchodolski, 2021).

No laboratório clínico é possível detectar alterações bioquímicas como aumento de folato (B-9) e redução de cobalamina (B-12) mas isto é inespecífico, não sendo

patognomônico. A cultura fecal não é indicada. Embora a avaliação de metaboloma (metabólitos bacterianos) e a avaliação histológica específica que permite mensurar a microbiota de mucosa (técnica de F.I.S.H.) sejam exames complementares indicados para inferir disbiose intestinal, para a rotina clínica atual recomenda-se o exame fecal de biologia molecular (qPCR) chamado índice de disbiose fecal (ID), sendo um exame relativamente novo, desenvolvido em laboratório norte-americano (Universidade do Texas) e capaz de detectar a presença e a expressão de alguns grupos bacterianos associados a eubiose (normalidade) e a disbiose (doença), mas nada disso informa a causa da disbiose nem se existe relevância clínica destes achados, ou seja, nada substitui o exame clínico (anamnese + exame físico) para o raciocínio clínico e tomada de decisão.

As bactérias mensuradas no ID são: *Faecalibacterium* spp. (bactéria benéfica, produtora de butirato); *Fusobacterium* spp., *Turicibacter* spp., *Clostridium hiranonis* que metaboliza ácidos biliares – marcador importante, *Blautia* spp, *Streptococcus* spp. (pode crescer em casos de disbiose), e *Escherichia coli* (crescimento exagerado em disbiose) (Schmitz, Suchodolski, 2016). Além disso, o teste calcula o total bacteriano geral para normalizar os resultados. Através de uma fórmula matemática e utilizando as quantidades de bactérias observadas, um índice é obtido, ID. Na interpretação do ID pode-se dizer que o animal apresenta eubiose quando o resultado do ID está abaixo de zero, qualquer numeral entre 0 e 2 sugere possível disbiose e resultados acima de 2 apontam disbiose relevante (Schmitz, Suchodolski, 2016). Como limitações para esse método diagnóstico deve-se considerar: a) falta de informação sobre a causa da disbiose, b) custo elevado, c) basear ou inferir um diagnóstico na presença de somente 7 táxons de bactérias. No entanto, sua realização favorece no entendimento da disbiose quando está associada a manifestações clínicas. Por outro lado, exames fecais que acusam disbiose em um animal sem diarreia não tem significado clínico de valor.

A tecnologia envolvida na análise do microbioma intestinal tem sofrido grande transformação e se aprimorado muito nos últimos anos, assim é possível que novas opções de diagnóstico sejam disponibilizadas em breve. Em estudo recente com cães saudáveis, foi relatado o papel fundamental da dieta e do sexo na microbiota intestinal, confirmando a ideia de que os microrganismos que habitam o intestino podem ser considerados como uma impressão digital individual (Marshall-Jones et al., 2024).

Assim, são necessárias outras evidências científicas que ampliem o conhecimento que favoreçam à clínica veterinária individualizada ou de precisão.

Por fim, testes diagnósticos específicos para descartar doenças sistêmicas como aquelas mencionadas anteriormente (exames séricos como dosagem de tripsinogênio, exame de endoscopia para coleta de biópsias e se necessário posterior uso de imunossuppressores, coleta de fezes para realização de PCR fecal para detecção de algum patógeno específico) e com isso compreender a causa da disbiose que quase sempre será secundária, devem compor o planejamento (etapas).

3.2. Tratamentos

A terapêutica para disbiose pode incluir várias modalidades de intervenção com a finalidade de reconstituir a microbiota. A modulação da dieta é uma das ferramentas mais eficazes e deve ser o ponto de partida terapêutico. As modificações dietéticas incluem: utilização de ração de prescrição “Gastrointestinal” (moderada em gordura, alta na digestibilidade e energética); uso de dietas ricas em fibras e prebióticos (por exemplo; *Psyllium*, polpa de beterraba, linhaça); uso de dieta hipoalergênica para pacientes com suspeita de hipersensibilidade alimentar (uso de dieta com proteína hidrolisada como terapia quase sempre indicada para animais com quadro crônico gastrointestinal e que exibem melhora com esse tratamento dietético pois reações adversas ao alimento também cursam para disbiose secundária e a dieta hidrolisada pode reduzir a inflamação e modular a microbiota a favor da eubiose). Ainda acerca de alimentação é possível obter melhorias com o uso de dieta caseira balanceada (cozida e suplementada), formulada por veterinário nutrólogo que considere uma proteína inédita e/ou de alto valor biológico (Pilla, Suchodolski, 2021, Ing Steiner, 2024).

O uso de probióticos tem como finalidade manipular a microbiota intestinal a fim de promover a saúde do hospedeiro. Os probióticos exercem atividades profiláticas ou terapêuticas em enfermidades como doença inflamatória intestinal, diarreia associada ao uso de antibióticos, câncer intestinal, alergias, diabetes tipo-2 e dermatite atópica em humanos (Li et al., 2021, Simon et al., 2021, Gu et al., 2022). A microbiota fecal de cães saudáveis é dominada pelos filos Firmicutes, Proteobacteria, Bacteroidetes, Fusobacteria e Actinobacteria, sendo os gêneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Streptococcus* e *Pediococcus* são predominantes nas

fezes de cães (Pilla, Suchodolski, 2021). Os probióticos de maior potencial no tratamento de diarreias agudas ou crônicas são aqueles dotados com mais de um tipo bacteriano (Yan, Polk, 2020, Compare et al., 2022). A quantidade (carga biodisponível) também está relacionada a maior ou menor possibilidade de colonizar a mucosa intestinal e competir naquele microambiente em detrimento de bactérias indesejadas ali presentes. A forma farmacêutica também deve ser bem selecionada, uma vez que, há estudos com seres humanos que apontam maior eficácia em probióticos na forma de pó e na forma de cápsula (Menni et al., 2023), embora as apresentações de pasta oral sejam mais manejáveis em animais (aceitação – palatabilidade).

Os probióticos são apresentações terapêuticas amplamente empregadas para pessoas e para animais com doenças intestinais. São compostos por microrganismos benéficos – idealmente sabidos para cada espécie de animal ou hospedeiro – que tem algum potencial de colonizar os intestinos e competir em prol da restituição da eubiose, além disso podem produzir metabólitos desejados durante sua passagem pelo trato alimentar. Poucos estudos em medicina veterinária que respaldaram algum probiótico com base na avaliação clínica (melhora do aspecto fecal) e laboratorial (como dosagem sérica de B-12 e folato, índice fecal de disbiose) de modo que o uso seja considerado ainda incerto e sujeito a resposta individual do paciente. Acredita-se que o melhor horário de seu uso seja a noite para que ele tenha maior tempo de passagem na luz do trato gastrointestinal e não seja interferido pelo bolo alimentar (peristalse). De modo geral os melhores probióticos possuem mais de um grupo bacteriano como *Lactobacillus*, *Enterococcus* e *Bifidobacterium* – alguns ainda com leveduras como *Saccharomyces* – e aqueles dotados de outros elementos como prebióticos e nutracêuticos são denominados simbióticos e suplementos (Yang, Wu, 2023). A associação de probióticos com prebióticos e/ou nutracêuticos pode otimizar sua eficácia na redução de toxinas provenientes de bactérias indesejáveis e na recuperação da barreira intestinal, garantindo menor permeabilidade (Yang, Wu, 2023). Suas principais indicações – com base em evidências – são para casos de gastroenterite aguda (onde existe provável supercrescimento bacteriano associado ao estresse ou ainda imprudência alimentar), uso reparador de microbiota após terapias com antibióticos, adjuvante também em quadros de parasitismos doenças orais (Rossi, et al., 2020; Li, et al., 2021; Yang Q, Wu Z., 2023).

Os prebióticos são carboidratos fermentáveis (fibras solúveis) que constituem substrato para o crescimento de bactérias benéficas da microbiota. Alguns dos mais conhecidos incluem fruto-oligossacarídeos (FOS), manano-oligossacarídeos (MOS), galacto-oligossacarídeos (GOS), inulina e beta-glucanas e podem ser alternativas simples e eficazes no controle da gastroenterite e disbiose. É muito recomendável que eles sejam implementados em parceria com probióticos (Li et al., 2021, Ing, Steiner, 2024).

Outra terapêutica não medicamentosa descrita em medicina veterinária é o transplante de microbiota fecal (TMF). Consiste no transplante de matéria fecal de um doador saudável para um paciente com doença gastrointestinal que não responde às terapias convencionais. Esse transplante pode ser realizado por meio de colonoscopia, endoscopia, sigmoidoscopia ou enema por meio de sondagem retal (Camarota et al., 2014). Essa terapia é válida nos quadros de diarreia, porém deve-se realizar o índice fecal de disbiose do animal doente e dos possíveis doadores, uma vez que o doador deve ter uma diversidade e qualidade bacteriana capazes de auxiliar na recuperação da microbiota do receptor (Chaitman et al., 2020, Reisinger et al., 2024). Não é considerado um procedimento invasivo, tem demonstrado eficácia em casos de gastroenterite aguda como Parvovirose em cães filhotes e Gastroenterites Hemorrágicas Idiopáticas em cães adultos e em menor potencial, mas com papel adjuvante em Enterites Crônicas em cães (Chaitman et al., 2020, Gal et al., 2021, Niina et al., 2021, Toresson et al., 2023). Nada obstante, apesar do aumento crescente das evidências acerca desta técnica ainda a resposta clínica se mostra individual entre os pacientes e alguns animais (gatos) foram atendidos com desconforto, cólicas e apatia adquiridos após o procedimento (Lee, et al., 2025).

Embora o TMF pareça relativamente seguro e eficaz no tratamento da disbiose, mais estudos clínicos são necessários para compreender melhor seus mecanismos e os potenciais riscos para os pacientes que recebem essas infusões.

Os antibióticos Metronidazol, Tilosina e aqueles do tipo quinolonas são frequentemente usados para conter quadros de diarreia aguda ou crônica em animais, não obstante devem ser evitados na ausência de risco de sepse, pois são medicamentos que reduzem quantidades e variedades microbianas nos intestinos (Marclay et al., 2022). Embora o uso de antibióticos possa melhorar o escore fecal nos casos de diarreia, seu uso pode ter sido substituído por outras condutas terapêuticas

que não causam danos e seletividade da microbiota original, lembrando que tal dano pode requerer semanas ou meses para se restabelecer mesmo após o término do tratamento.

Compreender o impacto dos antibióticos no microbioma canino é essencial para avaliar efeitos de médio e longo prazo. Um exemplo dos efeitos dos antibióticos foi demonstrado em estudo com 22 cães com sintomas gastrointestinais (diarreia e/ou vômito) que receberam metronidazol para tratamento de giardíase. Pelo sequenciamento genético das amostras fecais desses cães foi observada redução na diversidade microbiana até três dias após o término do tratamento, com alterações persistentes por até quatro a seis semanas. No entanto, todos os cães recuperaram uma composição microbiana semelhante à do início. Vale ressaltar que bactérias associadas à fermentação de carboidratos estavam reduzidas, fato que indica potencial para intervenções que favoreçam a saúde gastrointestinal e a recuperação do microbioma. Por outro lado, a Tilosina comumente utilizada em doenças gastrointestinais têm impacto relevante sobre o microbioma intestinal. O uso de antibióticos pode induzir a disbiose intestinal, causando quedas rápidas e significativas na riqueza taxonômica, diversidade e uniformidade microbiana. Com a interrupção do tratamento, muitas espécies bacterianas se recuperam, mas raramente a composição microbiana retorna completamente ao estado original (Suchodolski et al., 2009). Sabe-se que na disbiose induzida por inflamação crônica gastrointestinal, como na DII (enterite crônica idiopática) ou induzida pelo uso de antimicrobianos é possível notar redução de bactérias desejadas como *Blautia spp.*, *Clostridium hiranonis* e *Turicibacter spp.* e maior expressão de bactérias indesejadas como *Clostridium perfringens*, *Salmonella spp.*, *E. coli* e *Streptococcus spp.*

Tem sido proposto o uso de nutracêuticos constituídos por prebióticos, probióticos, beta-glucanas, vitaminas do complexo B (ácido fólico e cobalamina) e alguns minerais como alternativa ao uso de antibióticos (Belà et al., 2024).

Por fim, há poucos estudos bem delineados que mostram a eficácia de todas as classes de medicamentos no tratamento da disbiose. Isto certamente ainda vai levar tempo e demandar muitas pesquisas até que seja compreendido o que tem baixo, alto ou nenhum potencial de reverter a disbiose em animais, uma vez que a microbiota é uma digital individual e suas variações estão associadas a fatores genéticos, escore corporal, tipo de alimentação e idade.

4. Conclusão

Apesar dos avanços significativos na pesquisa sobre o microbioma intestinal, definir o que constitui uma microbiota intestinal saudável continua sendo um grande desafio. A variabilidade individual sob influência de fatores genéticos, dieta, ambiente e estilo de vida, dificulta o estabelecimento de um padrão universal para um microbioma saudável. Adicionalmente, a metodologia para diagnóstico de disbiose está em contínua evolução, fato que ainda não permite indicar um teste de diagnóstico padrão-ouro. Também é relevante a evolução na terapêutica da disbiose, com a inclusão de técnicas de manejo e suplementação alimentar, incluindo o uso de pre- e probióticos que promovam o restabelecimento da microbiota e da homeostase intestinal. Ainda é para o veterinário um grande desafio o diagnóstico e tratamento da disbiose intestinal.

REFERÊNCIAS

Bartochowski P, Gayraud N, Bornes S, Druart C, Argilès A, Cordaillat-Simmons M, Duranton F. Gut-Kidney Axis Investigations in Animal Models of Chronic Kidney Disease. *Toxins (Basel)*. 2022;14(9):626. doi: 10.3390/toxins14090626.

Belà B, Crisi PE, Pignataro G, Fusaro I, Gramenzi A. Effects of a Nutraceutical Treatment on the Intestinal Microbiota of Sled Dogs. *Animals (Basel)*. 2024;14(15):2226. doi: 10.3390/ani14152226.

Belkaid Y, Hand TW. Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell*. 2014;157(1):121-41. doi: 10.1016/j.cell.2014.03.011.

Bell JA, Kopper JJ, Turnbull JA, Barbu NI, Murphy AJ, Mansfield LS. Ecological characterization of the colonic microbiota of normal and diarrheic dogs. *Interdiscip Perspect Infect Dis*. 2008;149694. doi: 10.1155/2008/149694.

Breczko WJ, Bubak J, Miszczak M. The importance of intestinal microbiota and dysbiosis in the context of the development of intestinal lymphoma in dogs and cats. *Cancers (Basel)*. 2024;16(12):2255. doi: 10.3390/cancers16122255.

Cammarota G, Ianiro G, Gasbarrini A. Fecal microbiota transplantation for the treatment of *Clostridium difficile* infection: a systematic review. *J Clin Gastroenterol*. 2014;48(8):693-702. doi: 10.1097/MCG.0000000000000046.

Capurso L. I probiotici [Probiotics]. *Recenti Prog Med*. 2016;107(6):267-77. Italian. doi: 10.1701/2296.24682.

Chaitman J, Ziese AL, Pilla R, Minamoto Y, Blake AB, Guard BC, Isaiah A, Lidbury JA, Steiner JM, Unterer S, Suchodolski JS. Fecal microbial and metabolic profiles in dogs with acute diarrhea receiving either fecal microbiota transplantation or oral metronidazole. *Front Vet Sci*. 2020;7:192. doi: 10.3389/fvets.2020.00192.

Compare D, Sgamato C, Nardone OM, Rocco A, Coccoli P, Laurenza C, Nardone G. Probiotics in gastrointestinal diseases: all that glitters is not gold. *Dig Dis*. 2022; 40(1):123-32. doi: 10.1159/000516023.

Cosola C, Rocchetti MT, di Bari I, Acquaviva PM, Maranzano V, Corciulo S, Di Ciaula A, Di Palo DM, La Forgia FM, Fontana S, De Angelis M, Portincasa P, Gesualdo L. An innovative synbiotic formulation decreases free serum indoxyl sulfate, small intestine permeability and ameliorates gastrointestinal symptoms in a randomized pilot trial in stage IIIb-IV CKD patients. *Toxins (Basel)*. 2021;13(5):334. doi: 10.3390/toxins13050334.

Dinan TG, Cryan JF. The impact of gut microbiota on brain and behaviour: implications for psychiatry. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2015;18(6):552-8. doi: 10.1097/MCO.0000000000000221.

Fernández-Pinteño A, Pilla R, Manteca X, Suchodolski J, Torre C, Salas-Mani A. Age-associated changes in intestinal health biomarkers in dogs. *Front Vet Sci*. 2023;10:1213287. doi: 10.3389/fvets.2023.1213287.

Fujishiro MA, Lidbury JA, Pilla R, Steiner JM, Lappin MR, Suchodolski JS. Evaluation of the effects of anthelmintic administration on the fecal microbiome of healthy dogs with and without subclinical *Giardia* spp. and *Cryptosporidium canis* infections. *PLoS One*. 2020;15(2):e0228145. doi: 10.1371/journal.pone.0228145.

Gal A, Barko PC, Biggs PJ, Gedye KR, Midwinter AC, Williams DA, Burchell RK, Pazzi P. One dog's waste is another dog's wealth: A pilot study of fecal microbiota transplantation in dogs with acute hemorrhagic diarrhea syndrome. *PLoS One*. 2021;16(4):e0250344. doi: 10.1371/journal.pone.0250344.

Garcia-Mazcorro JF, Suchodolski JS, Jones KR, et al. Effect of the proton pump inhibitor omeprazole on the gastrointestinal bacterial microbiota of healthy dogs. *FEMS Microbiol Ecol*. 2012;80(3):624-36. doi: 10.1111/j.1574-6941.2012.01370.x.

Garraway K, Johannes CM, Bryan A, et al. Relationship of the mucosal microbiota to gastrointestinal inflammation and small cell intestinal lymphoma in cats. *J Vet Intern Med*. 2018;32(5):1692-702. doi: 10.1111/jvim.15332.

Giaretta PR, Rech RR, Guard BC, Blake AB, Blick AK, Steiner JM, Lidbury JA, Cook AK, Hanifeh M, Spillmann T, Kilpinen S, Syrjä P, Suchodolski JS. Comparison of intestinal expression of the apical sodium-dependent bile acid transporter between dogs with and without chronic inflammatory enteropathy. *J Vet Intern Med*. 2018;32(6):1918-1926. doi: 10.1111/jvim.15332.

Gu Q, Yin Y, Yan X, Liu X, Liu F, McClements DJ. Encapsulation of multiple probiotics, synbiotics, or nutraceuticals for improved health effects: a review. *Adv Colloid Interface Sci*. 2022; 309:102781. doi: 10.1016/j.cis.2022.102781.

Hand D, Wallis C, Colyer A, Penn CW. Pyrosequencing the canine faecal microbiota: breadth and depth of biodiversity. *PLoS One*. 2013; 8(1):e53115. doi: 10.1371/journal.pone.0053115.

Honneffer JB, Steiner JM, Lidbury JA, Suchodolski JS. Variation of the microbiota and metabolome along the canine gastrointestinal tract. *Metabolomics*. 2017;13(26). doi: 10.1007/s11306-017-1165-3.

Huang Z, Pan Z, Yang R, Bi Y, Xiong X. The canine gastrointestinal microbiota: early studies and research frontiers. *Gut Microbes*. 2020; 11(4):635-654. doi: 10.1080/19490976.2019.1704142.

Ing NH, Steiner JM. The use of diets in the diagnosis and treatment of common gastrointestinal diseases in dogs and cats. *Adv Exp Med Biol.* 2024; 1446:39-53. doi: 10.1007/978-3-031-54192-6_3.

Kathrani A, Allenspach K, Fascetti AJ, Larsen JA, Hall EJ. Alterations in serum amino acid concentrations in dogs with protein-losing enteropathy. *J Vet Intern Med.* 2018; 32(3):1026-1032. doi: 10.1111/jvim.15116.

Kiełbik P, Witkowska-Piłaszewicz O. The relationship between canine behavioral disorders and gut microbiome and future therapeutic perspectives. *Animals (Basel).* 2024;14(14):2048. doi: 10.3390/ani14142048.

Lee NN, Bidot WA, Ericsson AC, Franklin CL. Effects of *Giardia lamblia* colonization and fenbendazole treatment on canine fecal microbiota. *J Am Assoc Lab Anim Sci.* 2020; 59(4):423-429. doi: 10.30802/AALAS-JAALAS-19-000113.

Lee MA, Slead T, Suchodolski J, Tolbert MK, Marsilio S. Adverse events after fecal microbiota transplantation in nine cats: a case series. *J Feline Med Surg.* 2025 May;27(5):1098612X251337274. doi: 10.1177/1098612X251337274.

Levy M, Kolodziejczyk AA, Thaiss CA, Elinav E. Dysbiosis and the immune system. *Nat Rev Immunol.* 2017; 17(4):219-232. doi: 10.1038/nri.2017.7.

Li HY, Zhou DD, Gan RY, Huang SY, Zhao CN, Shang A, Xu XY, Li HB. Effects and mechanisms of probiotics, prebiotics, synbiotics, and postbiotics on metabolic diseases targeting gut microbiota: a narrative review. *Nutrients.* 2021;13(9):3211. doi: 10.3390/nu13093211.

Marclay M, Dwyer E, Suchodolski JS, Lidbury JA, Steiner JM, Gaschen FP. Recovery of fecal microbiome and bile acids in healthy dogs after tylosin administration with and without fecal microbiota transplantation. *Vet Sci.* 2022; 9(7):324. doi: 10.3390/vetsci9070324.

Marshall-Jones ZV, Patel KV, Castillo-Fernandez J, Lonsdale ZN, Haydock R, Staunton R, et al. Conserved signatures of the canine faecal microbiome are associated with metronidazole treatment and recovery. *Sci Rep.* 2024; 14(1):5277. doi: 10.1038/s41598-024-51338-7.

Menni A, Moysidis M, Tzikos G, Stavrou G, Tsetis JK, Shrewsbury AD, et al. Looking for the ideal probiotic healing regime. *Nutrients*. 2023;15(13):3055. doi: 10.3390/nu15133055.

Mentula S, Harmoinen J, Heikkilä M, Westermarck E, Rautio M, Huovinen P, et al. Comparison between cultured small-intestinal and fecal microbiotas in beagle dogs. *Appl Environ Microbiol*. 2005; 71(8):4169-75.

Mondo E, Marliani G, Accorsi PA, Cocchi M, Di Leone A. Role of gut microbiota in dog and cat's health and diseases. *Open Vet J*. 2019; 9(3):253-8. doi: 10.4314/ovj.v9i3.10.

Niina A, Kibe R, Suzuki R, Yuchi Y, Teshima T, Matsumoto H, et al. Fecal microbiota transplantation as a new treatment for canine inflammatory bowel disease. *Biosci Microbiota Food Health*. 2021; 40(2):98-104. doi: 10.12938/bmfh.2020-049.

Oliveira IM, Ribeiro RR, Cardoso Cysneiros ME, Torres LB, Moraes VR, Ferreira LR, et al. Intestinal biomarkers and their importance in canine enteropathies. *Vet Med Int*. 2024; 7409482. doi: 10.1155/vmi/7409482.

Pilla R, Suchodolski JS. The gut microbiome of dogs and cats, and the influence of diet. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 2021; 51(3):605-21. doi: 10.1016/j.cvsm.2021.01.002.

Pilla R, Suchodolski JS. The role of the canine gut microbiome and metabolome in health and gastrointestinal disease. *Front Vet Sci*. 2020; 6:498. doi: 10.3389/fvets.2019.00498.

Reisinger A, Stübing H, Suchodolski JS, Pilla R, Unterer S, Busch K. Comparing treatment effects on dogs with acute hemorrhagic diarrhea syndrome: fecal microbiota transplantation, symptomatic therapy, or antibiotic treatment. *J Am Vet Med Assoc*. 2024; 262(12):1657-65. doi: 10.2460/javma.24.03.0153.

Rossi G, Cerquetella M, Gavazza A, Galosi L, Berardi S, Mangiaterra S, Mari S, Suchodolski JS, Lidbury JA, Steiner JM, Pengo G. Rapid Resolution of Large Bowel Diarrhea after the Administration of a Combination of a High-Fiber Diet and a Probiotic

Mixture in 30 Dogs. *Vet Sci.* 2020 Feb 10;7(1):21. doi: 10.3390/vetsci7010021. PMID: 32050688; PMCID: PMC7158687.

Sasso JM, Ammar RM, Tenchov R, Lemmel S, Kelber O, Grieswelle M, Zhou QA. Gut microbiome-brain alliance: a landscape view into mental and gastrointestinal health and disorders. *ACS Chem Neurosci.* 2023;14(10):1717-63. doi: 10.1021/acscchemneuro.3c00127.

Schmitz S, Suchodolski J. Understanding the canine intestinal microbiota and its modification by pro-, pre- and synbiotics - what is the evidence? *Vet Med Sci.* 2016; 2(2):71-94. doi: 10.1002/vms3.17.

Simon E, Călinoiu LF, Mitrea L, Vodnar DC. Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics: Implications and Beneficial Effects against Irritable Bowel Syndrome. *Nutrients.* 2021;13(6):2112. doi: 10.3390/nu13062112.

Stavroulaki EM, Suchodolski JS, Xenoulis PG. Effects of antimicrobials on the gastrointestinal microbiota of dogs and cats. *Vet J.* 2023; 291:105929. doi: 10.1016/j.tvjl.2022.105929.

Suchodolski JS, Dowd SE, Westermarck E, Steiner JM, Wolcott RD, Spillmann T, Harmoinen JA. 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 Microbiol.* 2009; 9:210. doi: 10.1186/1471-2180-9-210.

Suchodolski JS, Simpson K. Canine gastrointestinal microbiome in health and disease. *Vet Focus.* 2013; 23(2):22.

Suchodolski JS. Analysis of the gut microbiome in dogs and cats. *Vet Clin Pathol.* 2022; 50 Suppl 1(Suppl 1):6-17. doi: 10.1111/vcp.13031.

Suchodolski JS. Analysis of the gut microbiome in dogs and cats. *Vet Clin Pathol.* 2022; 50 Suppl 1(Suppl 1):6-17. doi: 10.1111/vcp.13031.

Sui Y, Song P, Chen G, Zuo S, Liu H, Guo J, Chang Z, Dai H, Liu F, Dong H. Gut microbiota and *Tritrichomonas foetus* infection: A study of prevalence and risk factors

based on pet cats. *Prev Vet Med.* 2024; 226:106162. doi: 10.1016/j.prevetmed.2024.106162.

Swanson KS, Dowd SE, Suchodolski JS, et al. Phylogenetic and gene-centric metagenomics of the canine intestinal microbiome reveals similarities with humans and mice. *ISME J.* 2011; 5(4):639-649.

Thomsen M, Künstner A, Wohlers I, Olbrich M, Lenfers T, Osumi T, Shimazaki Y, Nishifuji K, Ibrahim SM, Watson A, Busch H, Hirose M. A comprehensive analysis of gut and skin microbiota in canine atopic dermatitis in Shiba Inu dogs. *Microbiome.* 2023;11(1):232. doi: 10.1186/s40168-023-01671-2.

Tizard IR, Jones SW. The microbiota regulates immunity and immunologic diseases in dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2018; 48(2):307-322. doi: 10.1016/j.cvsm.2017.10.008.

Toresson L, Spillmann T, Pilla R, Ludvigsson U, Hellgren J, Olmedal G, Suchodolski JS. Clinical effects of faecal microbiota transplantation as adjunctive therapy in dogs with chronic enteropathies: a retrospective case series of 41 dogs. *Vet Sci.* 2023;10(4):271. doi: 10.3390/vetsci10040271.

Wernimont SM, Radosevich J, Jackson MI, et al. The effects of nutrition on the gastrointestinal microbiome of cats and dogs: impact on health and disease. *Front Microbiol.* 2020;11:1266.

Wong JM, de Souza R, Kendall CW, Emam A, Jenkins DJ. Colonic health: fermentation and short chain fatty acids. *J Clin Gastroenterol.* 2006; 40(3):235-43. doi: 10.1097/00004836-200603000-00015.

Yan F, Polk DB. Probiotics and probiotic-derived functional factors—mechanistic insights into applications for intestinal homeostasis. *Front Immunol.* 2020;11:1428. doi: 10.3389/fimmu.2020.01428.

Yang Q, Wu Z. Gut probiotics and health of dogs and cats: benefits, applications, and underlying mechanisms. *Microorganisms.* 2023; 11(10):2452. doi: 10.3390/microorganisms11102452.

Zhang S, Dogan B, Guo C, et al. Short chain fatty acids modulate the growth and virulence of pathosymbiont *Escherichia coli* and host response. *Antibiotics (Basel)*. 2020; 9(8):462.

Ziese AL, Suchodolski JS. Impact of changes in gastrointestinal microbiota in canine and feline digestive diseases. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 2021; 51(1):1.

Capítulo 2

Efeitos dos Inibidores da Bomba de Prótons em biomarcadores séricos e fecais de Disbiose Intestinal em Cães - Um estudo clínico

Felipe Saab Romano¹, Ivana Barbosa Suffredini¹, Maria Anete Lallo¹

¹Programa de Patologia Ambiental e Experimental, Medicina Veterinária, Universidade Paulista (UNIP), São Paulo, Brasil

RESUMO

A microbiota intestinal corresponde a população de todos os microrganismos - bactérias, vírus, fungos e protozoários - presentes no trato gastrointestinal. Os antiácidos que são inibidores da bomba de prótons (IBPs) são amplamente utilizados em medicina veterinária, indicados em casos de úlcera, refluxo gastroesofágico e inflamação da mucosa gástrica. Contudo, evidências indicam que seu uso pode causar alterações indesejadas na microbiota intestinal, ou seja, disbiose. O objetivo desse estudo foi avaliar o impacto de alguns IBPs (Omeprazol, Esomeprazol e Lansoprazol) na microbiota de cães saudáveis por meio de análises séricas e do índice de disbiose fecal (ID). Para tal, 20 cães da raça Golden Retriever, machos (n=9) e fêmeas (n=11), com idades variando entre 2 e 6 anos ($3,8 \pm 2,36$), foram distribuídos aleatoriamente em 4 grupos (com 5 animais cada) denominados: Grupo Omeprazol (OMP), Grupo Esomeprazol (ESO), Grupo Lansoprazol (LSP) e Grupo Controle-Placebo (CTL). Antes do tratamento e após 30 dias de tratamento, os animais foram avaliados para o índice de disbiose fecal (ID) através de técnica da qPCR e quanto marcadores de absorção intestinal como cobalamina, ácido fólico, albumina e minerais. Não foi notada relevância estatística nas alterações quanto ao índice de disbiose global dos grupos tratados com antiácidos em relação ao placebo, contudo algumas alterações específicas foram verificadas na microbiota, como redução da expressão de *Turicibacter* (agente desejado) no grupo Omeprazol. Todos demais parâmetros séricos não apresentaram alterações significativas, apontando que este tempo e estas doses empregadas não impactaram nos marcadores de absorção gastrointestinal. Conclui-se que o uso de antiácidos não determinou disbiose intestinal, prejuízo de absorção ou repercussão clínica. A seleção de animais saudáveis somada a rigorosa padronização possivelmente contribuiu para os resultados deste estudo.

Palavras-chaves: cão; eubiose; gastroprotetor; microbioma.

ABSTRACT

The intestinal microbiota is the collection of all microorganisms — including bacteria, viruses, fungi, and protozoa — present in the gastrointestinal tract. Proton pump inhibitors (PPIs) are widely used drugs in veterinary medicine, indicated for the treatment of ulcers, esophageal reflux, and inflammation of the gastric mucosa. However, evidence suggests that prolonged use of these medications can lead to undesirable alterations in the intestinal microbiota, i.e., dysbiosis. The aim of this study was to evaluate the impact of the PPIs Omeprazole, Esomeprazole, and Lansoprazole on the microbiota of healthy dogs using the fecal dysbiosis index. For this purpose, 20 healthy Golden Retrievers — males (n=9) and females (n=11), aged between 2 and 6 years (3.8 ± 2.36) — were randomly assigned to 4 groups (5 animals each): Omeprazole Group (OMP), Esomeprazole Group (ESO), Lansoprazole Group (LSP), and Placebo-Control Group (CTL). Before treatment and after 30 days of treatment, the animals were evaluated for the fecal dysbiosis index (DI) using qPCR, as well as cobalamine, folic acid, magnesium, calcium, iron, and albumin levels. Quantification of *Turicibacter* DNA revealed a decrease in the OMP group. The other parameters assessed did not show significant changes. In conclusion, the use of Omeprazole, Esomeprazole and Lansoprazole did not induce dysbiosis in this clinical study using dogs from healthy and standardized groups.

Keywords: dog; dysbiosis; gastroprotectant agents; microbiome.

INTRODUÇÃO

A microbiota intestinal é constituída por bactérias, fungos, vírus, entre outros organismos eucariotas (Swanson et al., 2011). As bactérias são os microrganismos mais abundantes e possuem funções digestivas fundamentais, como a fermentação de fibras. O microbioma intestinal é considerado um novo órgão metabólico com diversas funções, desempenhando papel fundamental no dos processos físico-químicos e imunitários do trato gastrointestinal (TGI), modulando o sistema imune a partir dos intestinos, protegendo o hospedeiro contra patógenos, auxiliando no efeito de barreira intestinal e fornecendo metabólitos benéficos (Ziese, Suchodolski, 2021). No conjunto das bactérias constituintes da microbiota intestinal em cães e gatos, o filo mais abrangente é o Firmicutes e os gêneros mais notáveis são *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* (Suchodolski, 2022). A quantidade das diferentes bactérias presentes no microbioma é fator importante para a saúde e homeostasia do indivíduo (Sasso et al., 2023). Algumas bactérias são consideradas mais desejadas no microbioma, como por exemplo *Blautia spp.*, *Clostridium hiranonis* e *Turicibacter spp.*, enquanto outras são consideradas menos desejáveis e devem existir em quantidades pequenas, como *Salmonella spp.*, *Clostridium perfringens* e *Streptococcus spp* (Zhang et al., 2020, Sasso et al., 2023).

Entende-se por disbiose a alteração qualitativa ou quantitativa na microbiota, que deixa o estado de homeostase (eubiose) e assume um estado de desequilíbrio entre as proporções de microrganismos favoráveis e desfavoráveis (Paul, Stayt, 2019, Breczko et al., 2024). Sabe-se que fatores variados impactam na microbiota, entre eles, destacam-se: obesidade, doenças pancreáticas, doenças de pele, neuropatias, neoplasias e certamente doenças inflamatórias do trato gastrointestinal. Há medicamentos que também ameaçam a homeostase entre microbiota e hospedeiro, como: quimioterápicos (imunossupressão do hospedeiro e maior dano tecidual em células germinativas das criptas), corticoides (possível alteração de permeabilidade) e principalmente antibióticos (Fujishiro et al., 2020, Lee et al., 2020, Wernimont et al., 2020, Habermaass, et al., 2023, Stavroulaki et al., 2023, Filippo et al., 2024, Marshall-Jones et al., 2024). Desta forma entende-se que disbiose quase sempre será secundária. A disbiose resulta em declínio das funções gastrointestinais associadas à microbiota e causa perda das funções digestivas, imunológicas e endócrinas

relacionadas aos intestinos, também aumenta suscetibilidade à inflamação intestinal local (maior permeabilidade intestinal) e sistêmica e ainda afeta os eixos formados entre o intestino e outros sistemas, como por exemplo o eixo intestino-cérebro, intestino-pele (Ziese, Suchodolski, 2021, Belkaid, Hand, 2014, Summers, Quimby, 2024, Sacoor et al., 2024). Desta forma, diarreia, cólicas, flatulências e vômitos são manifestações clínicas inespecíficas, porém muitas vezes presentes em animais com disbiose (Pilla, Suchodolski, 2021, Barko et al., 2023).

A análise da microbiota intestinal é difícil por ela ser altamente diversificada do ponto de vista filogenético e os métodos baseados no sequenciamento do gene RNA ribossômico 16S (rRNA) não terem resolução suficiente para identificar todas as bactérias convenientes para esta finalidade analítica. O Índice de Disbiose (ID) da microbiota realizado com qPCR quantifica a abundância de sete táxons bacterianos e apresenta os resultados individualmente para cada grupo bacteriano. O valor de ID acima de zero é considerado indicativo de algum grau de disbiose, e quanto maior o ID, maior o desvio da microbiota em relação ao normal (números entre 0 e 1 apontam disbiose discreta e números acima de 2 apontam disbiose relevante). Os alvos bacterianos (por ora são 6 a 8 grupos bacterianos) demonstraram estar alterados em vários estudos com cães que apresentam enteropatias crônicas (EC) e disbiose induzida por antibióticos, conforme detectado por sequenciamento do gene 16S rRNA (Suchodolski et al., 2012).

Os inibidores da bomba de prótons (IBPs) e outros supressores da secreção do ácido gástrico (HCL) são amplamente utilizados na clínica veterinária em animais com suspeita de distúrbios no trato gastrointestinal (TGI) ou para mitigar os efeitos adversos de fármacos anti-inflamatórios e antibióticos. Esse grupo farmacológico inibe a secreção de ácido gástrico ao bloquear a enzima ATPase-hidrogênio-potássio (bomba de prótons) das células parietais presentes no fundo e no corpo do estômago, aumentando o pH gástrico, ou seja, tornando-o menos ácido (Ben Ghezala et al., 2022). O Omeprazol é o principal representante desse grupo e já foi relacionado com disbiose em cães (Garcia-Mazcorro et al., 2012) embora não tenha sido elucidada a relevância clínica desta alteração que mais tarde foi entendida como branda e passível de reversão espontânea com a interrupção do tratamento e em alguns estudos sem relevância estatística (Garcia-Mazcorro et al., 2012; Schmid, S.M. et al, 2018; McAtee, R, et al, 2023; Winston, J.A. et al, 2024; Handa, A. et al, 2025). Mais recentemente,

foi demonstrado discreto aumento no ID de cães que receberam Esomeprazol, no entanto foi um aumento menos notável do que aqueles que receberam Omeprazol naquele delineamento (McAtee et al., 2023). Não tendo – até agora – estudos que avaliaram Lansoprazol neste sentido. Portanto, tem sido demonstrado que o uso de IBPs determina menor diversidade da microbiota intestinal e aumento de agentes indesejáveis, ou seja, resulta em disbiose. Nesse sentido, o objetivo do presente estudo foi avaliar o impacto dos IBP (Omeprazol, Esomeprazol e Lansoprazol) na microbiota de cães saudáveis em comparação com um grupo controle (placebo) por meio do índice de disbiose fecal e análises séricas.

Descobrir potenciais alterações na microbiota intestinal de cães saudáveis mediante a influência de 3 tratamentos com IBPs em comparação a um grupo controle (placebo) e ainda associar eventual prejuízo em marcadores séricos de absorção intestinal nestes animais

MATERIAL E MÉTODOS

Aprovação pelo comitê de ética e pesquisa com o uso de animais

O Comitê de Ética e Pesquisa com o Uso de Animais (CEUA) da Universidade Paulista – UNIP em São Paulo aprovou este estudo clínico sob o nº 5414170323 (ID 000966) em 11 de maio de 2023 (São Paulo, Brasil).

População de estudo

Vinte cães adultos (n=20) da raça Golden Retriever foram selecionados de forma randomizada para o estudo. A população amostrada foi constituída por machos (n=9) e fêmeas (n=11), com idades variando entre 2 e 6 anos ($3,8 \pm 2,36$) (Figura suplementar 1). Todos os animais pertenciam ao mesmo canil, localizado na cidade de Cotia, na região metropolitana de São Paulo, Brasil.

Antes de incluídos neste estudo, os animais foram submetidos a uma triagem clínica a partir de exame físico e exames complementares para avaliação do estado de saúde. Entre os exames foram realizados hemograma, bioquímica para análise da função renal (ureia e creatinina) e bioquímica hepática (fosfatase alcalina e alanina-aminotransferase), mensuração de colesterol e triglicérides e exames coproparasitológicos (métodos de Willis e Faust). Adicionalmente, mesmo com

exames parasitológicos negativos, levando em conta que existe possibilidade de falso-negativo e ainda considerando que pertenciam a um plantel numeroso de animais, todos os cães do estudo foram vermifugados com vermífugo de amplo espectro 30 dias antes do início deste estudo (Fenbendazol na dose de 50 mg/kg uma vez ao dia por 3 dias e depois novo ciclo em 15 dias). Dentro dos poucos estudos existentes sobre o impacto de vermífugos na microbiota, o Fenbendazol aparentemente é considerado pouco ou nada prejudicial. Nenhum animal incluído na amostragem exibia diarreia ou prurido antes do estudo. Todos eles tinham escore corporal 3/9 ou 4/9 ou 5/9, ou seja, nenhum exibia magreza, sobrepeso ou obesidade. A dieta padrão para todos os animais, já utilizada antes do estudo, consistia em alimentação comercial superpremium importada (Hill's®), sem o uso de petiscos ou suplementos durante o estudo.

Critérios de inclusão

Os animais incluídos nos grupos experimentais deveriam estar clinicamente saudáveis, livres de sintomas ou sinais gastrointestinais aparentes nos últimos 30 dias, assim como ausência qualquer alteração clínica outra natureza. Não poderiam ter recebido medicamentos com impacto na microbiota, principalmente antibióticos ou quimioterápicos. Assim como não poderiam ter qualquer alteração na dieta e no comportamento. Certamente tinham que ter exibido normalidade nos exames complementares de triagem mencionados anteriormente.

Critérios de exclusão ou afastamento

A presença de diarreia ou prurido antes do estudo, ou ainda manifestações clínicas de doenças crônicas, como: nefropatia, hepatopatia ou neoplasia foram fatores de exclusão para o animal. Presença de ectoparasitas, uso de antimicrobianos ou corticoides ou quimioterápico, ou ainda modificação na dieta em seu histórico nos últimos 6 meses foram critérios excludentes. As fêmeas não poderiam estar prenhez ou no estro. Animais com hábito de coprofagia não foram selecionados. Obesidade também foi considerado um fator de exclusão. E ainda afastamento, a presença de diarreia com sangue, comportamento deprimido ou falta de apetite foram considerados.

Sobre os medicamentos IBPs selecionados para o estudo e placebo

Os medicamentos utilizados nos tratamentos orais foram: Omeprazol na dose de 1 mg/kg a cada 12 horas, Esomeprazol na posologia de 1 mg/kg a cada 12 horas, Lansoprazol na dosagem de 0,5 mg/kg a cada 12 horas. Todos foram manipulados em farmácia licenciada para animais, com o mesmo lote de princípio ativo e preparados pelo mesmo técnico responsável. O grupo Placebo recebeu cápsulas com a mesma aparência e tamanho das outras, mas contendo apenas elemento inerte. Todos os tratamentos foram feitos por um período de 30 dias contínuos monitorados pelos mesmos dois tratadores.

Delineamento experimental

Os 20 cães foram distribuídos aleatoriamente em 4 grupos, cada um com 5 animais, sendo assim denominados: Grupo Omeprazol (OMP), Grupo Esomeprazol (ESO), Grupo Lansoprazol (LSP) e Grupo Controle-Placebo (CTL). Este estudo clínico foi caracterizado como simples cego, portanto as pessoas que manejavam os animais diariamente não tinham conhecimento do tratamento que estes estavam recebendo. A razão de terem sido divididos em grupos contendo 5 animais foi visando poupar o N do estudo no sentido ético e também por verificação prévia de que esta quantidade seria suficiente para o poder do teste desde que os grupos fossem bem delineados (análise estatística).

Na linha do tempo de execução experimental destacamos:

Dia -30: data em que todos os cães selecionados para o estudo passaram pelo exame físico e pelos exames complementares (hemograma, bioquímica para análise das funções renal e hepática, mensuração de colesterol e triglicérides e exames coproparasitológicos), conforme mencionado anteriormente, também receberam vermifugação.

Dia 0: data da coleta de sangue por venopunção da veia jugular ou da veia cefálica mediante jejum alimentar de 8 horas em todos os animais do estudo. Com o soro foram mensuradas: vitamina B-12, ácido fólico, magnésio, cálcio total, ferro e albumina. Nessa data também foi realizada coleta de fezes através de palpação retal

com luvas estéreis para avaliação do índice de disbiose através de técnica da qPCR (fezes frescas que foram congeladas até a chegada no laboratório de referência).

Dia 1: Início dos tratamentos orais em todos os cães do estudo.

Dia +31: Após 30 dias consecutivos de tratamento, no dia 31º. dia foram realizadas as coletas de novas amostras de sangue e de fezes. Com o soro foram mensuradas: vitamina B-12, ácido fólico, magnésio, cálcio total, ferro e albumina. Nessa data também foi realizada nova coleta de fezes para avaliação do índice de disbiose através de técnica da qPCR.

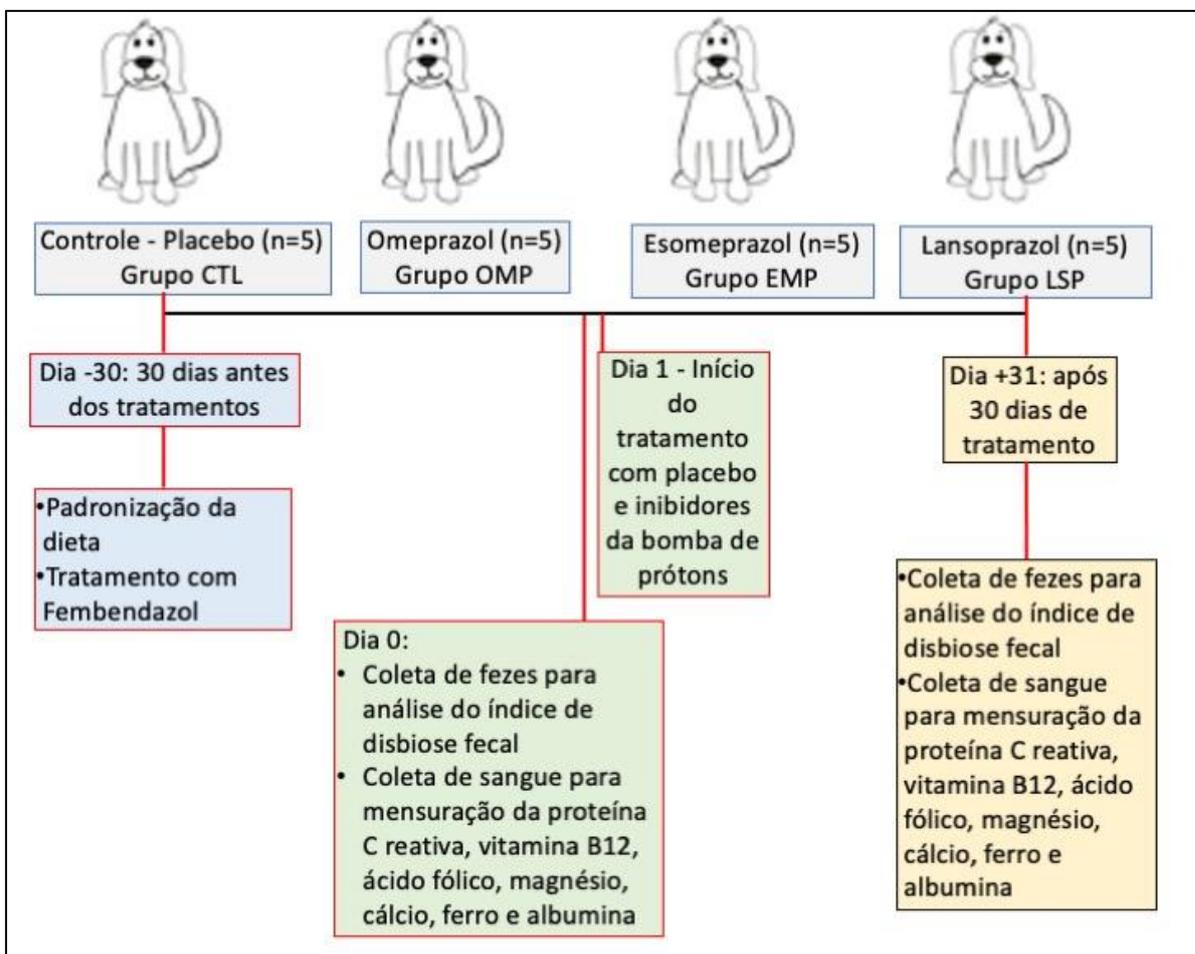


Figura 1. Delineamento experimental. Quatro grupos constituídos por 5 animais cada foram constituídos de acordo com o tipo de tratamento: Grupo Controle- Placebo-CTL; Grupo tratado com Omeprazol (OMP), Grupo tratado com Esomeprazol (EMP), Grupo tratado com Lansoprazol (LSP). Trinta dias antes do tratamento todos os animais foram clinicamente avaliados e tratados com Fendbendazol. No dia anterior (dia 0) ao início dos tratamentos, todos foram submetidos a coleta de sangue e fezes. No dia 1, todos os tratamentos foram instituídos simultaneamente. No 31º. dia, após o término

de 30 dias consecutivos de tratamento, todos os animais foram novamente submetidos a coleta de sangue e fezes. A partir do exame de fezes foi realizado o índice de disbiose fecal. Com o soro foram mensuradas: vitamina B-12, ácido fólico, magnésio, cálcio total, ferro e albumina.

Amostras de sangue e marcadores séricos avaliados

Cerca de 5 mL de sangue coletados foram armazenados em frasco seco e usados para obtenção de soro. Os marcadores séricos foram analisados antes dos tratamentos (dia 0) e no final dos mesmos (dia +31). Os indicadores avaliados visaram mensurar absorção gastrointestinal e os distúrbios que uma possível disbiose poderia determinar. A seguir, indicamos os parâmetros empregados e seus valores de referência dos laboratórios que analisaram estes analitos (empresas PROVET e LAPAVET): albumina (2,2 a 4 g/dL), ferro (40 a 200 µg/dL), cobalamina (250 a 900 pg/mL), folato (4 a 14 ng/mL), cálcio total (9 a 12 mg/dL), magnésio (1,9 a 2,4 mg/dL).

Para os animais do Grupo LSP também foi realizada a dosagem de gastrina sérica (sabe-se que o valor de referência em cães ainda é subjetivo e bastante amplo, sendo de 10 a 90 pg/mL). Essa dosagem se deu tanto no dia 0 como no dia +31 visando definir se o este fármaco desempenhou seu efeito antiácido, uma vez que, há poucos estudos com este medicamento e para inferir tal efeito supressor gástrico, espera-se que ele cause aumento da gastrina sérica (efeito compensatório esperado).

Amostras de fezes e avaliação do ID fecal

As análises fecais foram realizadas no Gastrointestinal Laboratory, Department of Small Animal Clinical Sciences, School of Veterinary Medicine & Biomedical Sciences, Texas A&M University, College Station, Texas, USA. Contamos com a participação do laboratório Stonewell situado em São Paulo e conveniado ao Gastrointestinal Laboratory para garantir a recepção dos materiais, preparo inicial das amostras, que estavam congeladas, antes de serem enviadas para os Estados Unidos. O exame consiste na extração e expansão do DNA bacteriano através da técnica de qPCR. Os resultados são expressos em logaritmo, refletindo a quantidade de cada grupo bacteriano para cada 10 ng de DNA total isolado. Os resultados individuais de cada bactéria são combinados por meio de um algoritmo para gerar um único número - índice de disbiose ou ID. O laboratório padronizou a técnica como

padrão-ouro para identificar e quantificar a disbiose intestinal, sendo que $ID \leq$ zero sugestivo de eubiose e $ID \geq 1$ sugestivo algum grau de disbiose e ID acima de 2 aponta disbiose notável. Vale considerar que este método não permite identificar a causa da disbiose nem permite inferir a alteração ali notada é fruto de afecção aguda ou crônica, ou seja, apesar de sofisticado e tecnológico, não é um exame com potencial de mudar a importância do histórico clínico do paciente (Alshawaqfe et al., 2017).

Análise estatística

Para saber se ocorreram alterações nos cães da raça Golden Retriever analisados antes e após os tratamentos com estes inibidores da secreção do ácido clorídrico, foram feitos testes de normalidade de Shapiro-Wilk e teste ROUT para identificação de “outliers” nos diversos parâmetros analisados, como cobalamina, albumina, folato, magnésio, cálcio e ferro, e a quantificação de microrganismos intestinais conhecidos, como: *Streptococcus* spp., *Escherichia coli*, *Blautia* spp., *C. hiranonis*, *Faecalebacterium* spp., *Turicibacter* spp. e *Fusobacterium* spp. Caso os resultados para todos os grupos submetidos aos testes de normalidade demonstraram a não confirmação da H_0 através da identificação dos p-valores $<0,05$, foram feitos testes não paramétricos como o de Kruskal-Wallis e teste posterior de Dunn’s para comparação de medianas, uma vez que foram comparados mais de três grupos. Caso a H_0 tenha sido confirmada ($p > 0,05$), procedeu-se a ANOVA de medidas repetidas de duas vias e teste de comparação de médias de Tukey, após identificação da ocorrência de “outliers”. Para o caso de comparação entre dois grupos, como na avaliação da gastrina, realizou-se o teste-T (GraphPad Prism). Para todos os testes foi considerado 0,05% de significância.

Conflito de interesse

Este estudo não teve apoio ideológico ou financeiro de nenhuma empresa privada, portanto está livre de conflito de interesses. Houve apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) através da concessão de bolsa de doutorado (Governo Federal).

RESULTADOS

Os IBPs utilizados não causaram disbiose

Os IDs de cada cão foram mensurados antes e depois do tratamento com os IBPs selecionados ou com placebo, sendo esse o primeiro critério de comparação entre os grupos. Os IDs dos animais experimentais foram analisados em função dos tratamentos e do tempo (antes/depois). A interação entre o tratamento e o tempo foi responsável por 13,87% de variância [$F(3,16) = 2,30$; $p = 0,1163$] e não foi significativo (Fig. 2A). O tempo foi responsável por 7,641% de variância [$F(1,16) = 3,80$; $p = 0,0690$] considerado pouco significativo (Fig. 2A). O tratamento foi responsável por 10,16% de variância [$F(3,16) = 1,50$; $p = 0,2529$] considerado pouco significativo (Fig. 2A). Para todos esses dados não houve diferenças observadas entre os grupos.

Adicionalmente, foram realizadas análises entre os IDs obtidos antes e após, individualizadas de acordo com os tratamentos, sendo que essa análise não demonstrou diferenças significativas (OMP [$t(8) = 1,494$]; EMP [$t(8) = 1,019$]; LSP [$t(df 8) = 1,399$]). Os animais do grupo OMP apresentaram a maior amplitude do ID, antes do tratamento os animais tinham ID entre 0 e -2 e após o tratamento os IDs ficaram entre -2 e 2.

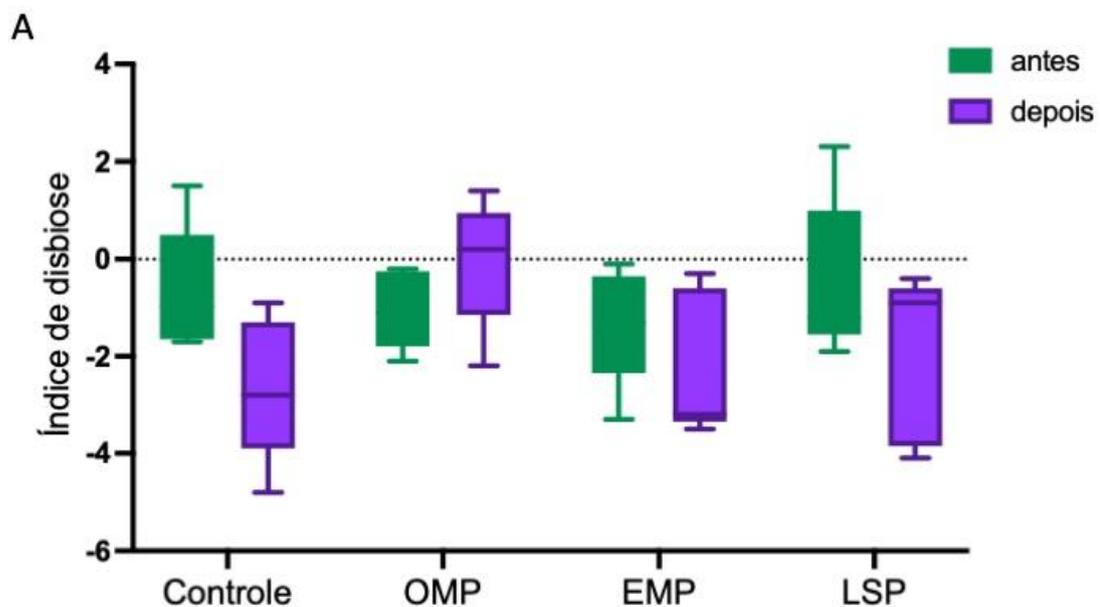


Figura 2. Índice de disbiose fecal (ID) de cães mensurado antes e após os tratamentos com Omeprazol (OMP), Esomeprazol (EMP) e Lansoprazol (LSP) e grupo controle tratado com placebo.

A) Comparação dos IDs das amostras fecais obtidas antes e depois da terapêutica com Controle (tratado com placebo), OMP (tratado com Omeprazol), EMP (tratado com Esomeprazol) e LSP (tratado com Lansoprazol). Análise de variância Anova de duas vias.

Os IDs foram obtidos pela quantificação de DNA das bactérias do microbioma na base logarítmica pela qPCR, sendo obtidos resultados do log total de DNA e das frações para *Turicibacter*, *Blautia*, *Clostridium hiranonis*, *E. coli*, *Streptococcus*, *Faecalibacterium* e *Fusobacterium*. De forma geral, o DNA quantificado de todas as bactérias não variou em função dos tratamentos ou dos grupos amostrados (Fig. 3A). A quantificação de DNA de *Turicibacter* demonstrou diminuição nos grupos controle, tratado com OMP ($p = 0.0083$) e EMP ($p = 0.0017$) na segunda mensuração, após o tratamento [$F(3,16) = 0,51$] (Fig. 3B). A comparação da quantificação de DNA de *Streptococcus* entre os grupos controle e tratado com OMP após o tratamento mostrou aumento dessa bactéria no grupo tratado com OMP ($p = 0.0298$) (Fig. 3C). Em relação a *Faecalibacterium*, a diferença entre os grupos estava presente antes do tratamento, portanto sem significado clínico (Fig. 3D). As quantificações do DNA de *Blautia*, *Clostridium hiranonis*, *Fusobacterium* e *E. coli* mensuradas como parte do ID não apresentaram mudanças significativas antes e após os tratamentos, ou ainda entre os grupos distintos (Fig. 4).

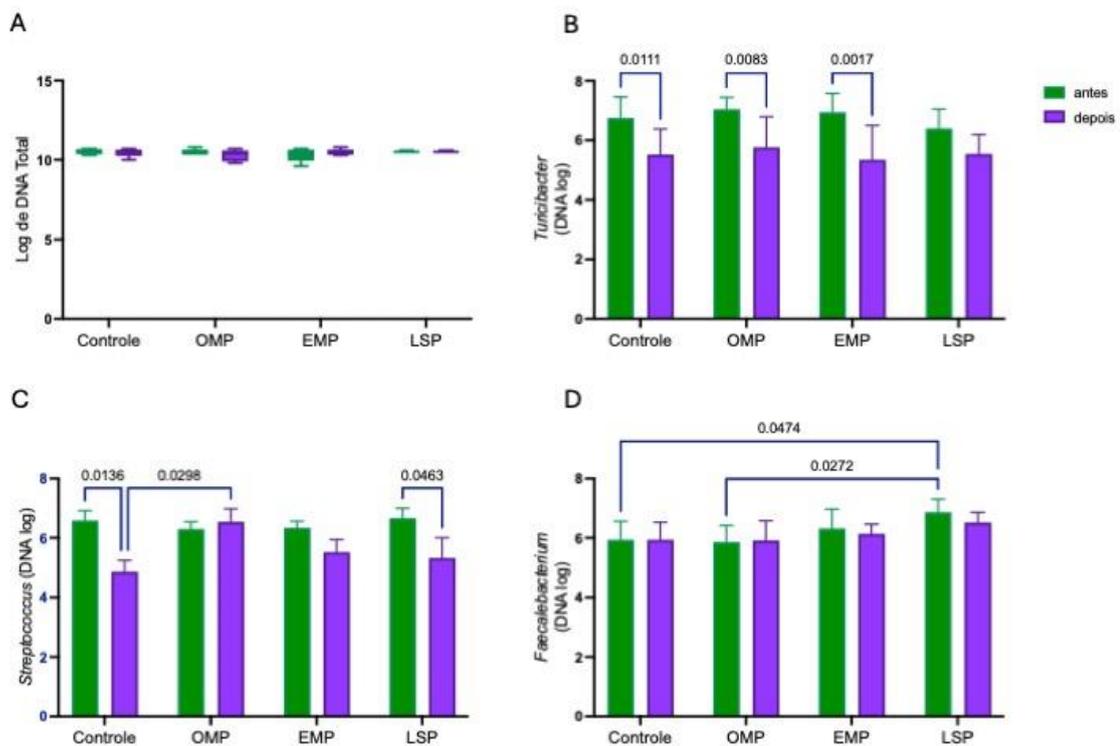


Figura 3. Quantificação do DNA (em logaritmo) total e em separado de bactérias (*Turicibacter*, *Streptococcus*, *Faecalibacterium*) constitutivas do índice de disbiose nas fezes de cães mensurados antes e após os tratamentos com inibidores da bomba de prótons: Omeprazol (OMP), Esomeprazol (EMP), Lansoprazol (LSP) e Placebo (Controle).

A) Valor em logaritmo da quantidade de DNA obtido pela qPCR do total das bactérias que compõe o índice de disbiose.

B) Valor em logaritmo da quantidade de DNA obtido pela qPCR da bactéria *Turicibacter* [F(3,16) = 0,51].

C) Valor em logaritmo da quantidade de DNA obtido pela qPCR da bactéria *Streptococcus* [F (3,16) = 1,881].

D) Valor em logaritmo da quantidade de DNA obtido pela qPCR da bactéria *Faecalibacterium* [F (3,16) = 0,2870].

Análise de variância Anova de duas.

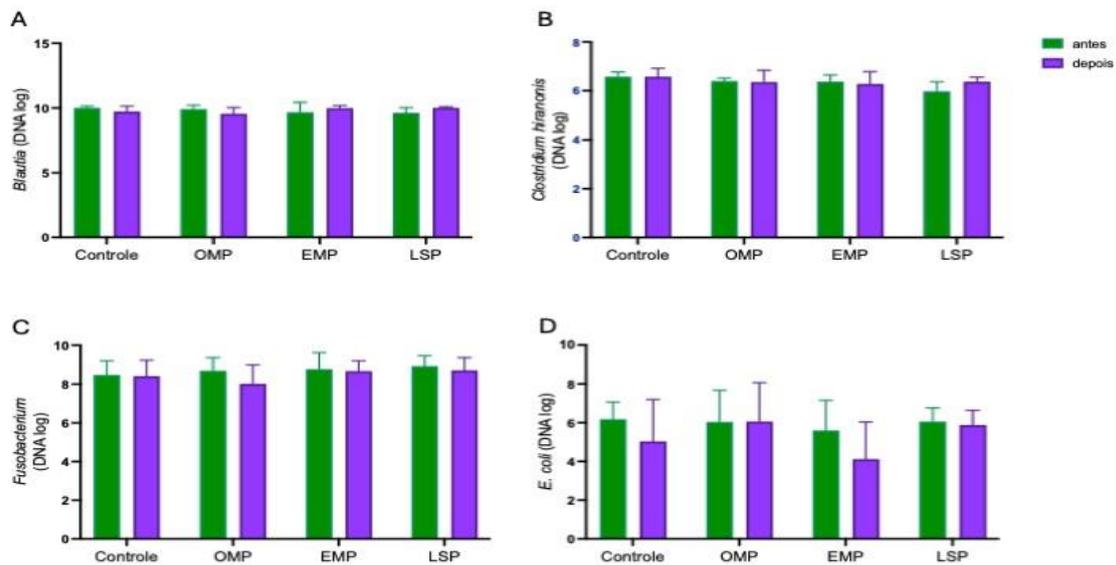


Figura 4. Quantificação do DNA (em logaritmo) das bactérias *Blautia*, *Clostridium hiranonis*, *Fusobacterium* e *E. coli* constitutivas do índice de disbiose nas fezes de cães mensurados antes e após os tratamentos com inibidores da bomba de prótons: Omeprazol (OMP), Esomeprazol (EMP), Lansoprazol (LSP) e Placebo (Controle).

A) Valor em logaritmo da quantidade de DNA obtido pela qPCR da bactéria *Blautia*.

B) Valor em logaritmo da quantidade de DNA obtido pela qPCR da bactéria *Clostridium hiranonis*.

C) Valor em logaritmo da quantidade de DNA obtido pela qPCR da bactéria *Fusobacterium*.

D) Valor em logaritmo da quantidade de DNA obtido pela qPCR da bactéria *E. coli*.

Análise de variância Anova de duas vias.

Os parâmetros séricos e clínicos não apresentaram alterações mediante os tratamentos

Os níveis séricos de albumina variaram de 2,4 a 3,2 mg/dL, portanto estavam dentro dos valores de referência antes dos tratamentos e não mostraram alteração após as terapias ou alterações entre os grupos (Fig. 5A), no entanto vale citar que apesar da albumina sérica ser uma proteína negativa de fase aguda da inflamação, ela exibe meia vida de até 10 dias na circulação de modo que dificilmente ela reduziria num estudo como este. As variações na dosagem sérica de folato (vitamina B-9) que

podem ser indicativos inespecífico de disbiose quando ele se eleva, nesse estudo não apresentaram relevância estatística. Por sua vez, os dados obtidos quanto a dosagem sérica de cobalamina (vitamina B-12) apontaram discretas alterações, sem relevância estatística, marcando uma tendência geral no sentido de redução, fato sugestivamente associado a déficits na absorção intestinal (Fig. 5C). A maior queda foi notada no grupo OMP, fato que pode indicar certo prejuízo na manutenção da vitamina B-12 em animais tratados com antiácidos, embora os resultados tenham estado majoritariamente dentro da referência de normalidade.

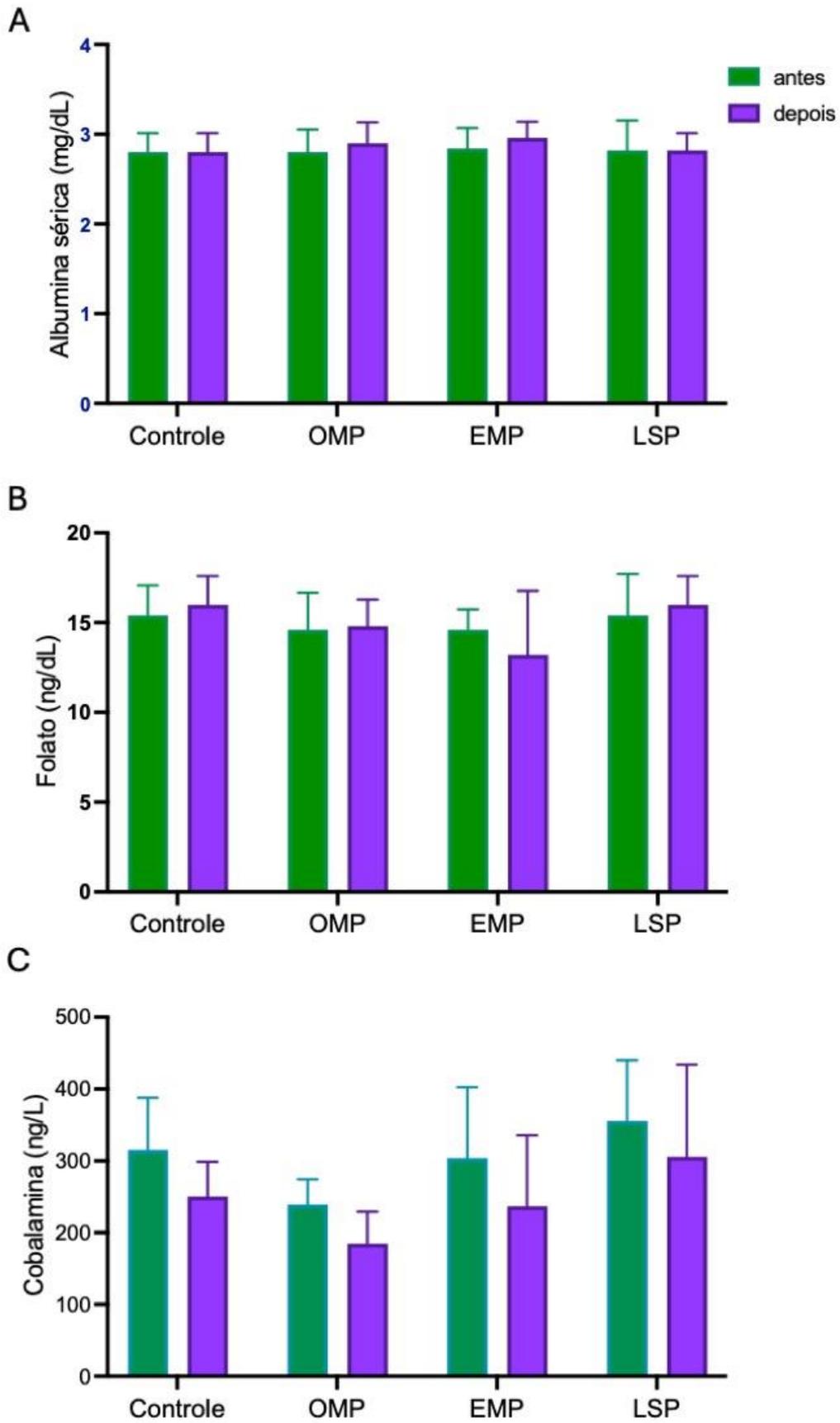


Figura 5. Parâmetros séricos albumina, folato e cobalamina mensurados antes e após os tratamentos com inibidores da bomba de prótons: Omeprazol (OMP), Esomeprazol (EMP), Lansoprazol (LSP) e Placebo (Controle).

A) Albumina sérica (mg/dL);

B) Folato sérico (ng/dL);

C) Cobalamina sérica (ng/dL).

Análise de variância Anova de uma via.

A análise sérica incluiu a quantificação de alguns minerais que sofrem oscilações importantes em condições patológicas gastrintestinais que cursam com alterações absorptivas. Os valores obtidos na dosagem de magnésio (Fig. 6A), cálcio total (Fig. 6B) e ferro (Fig. 6C) mostraram variações, porém dentro dos valores referenciados para cães. Não houve redução mediante o tratamento com os diferentes IBPs.

Como o LSP é pouco utilizado na clínica veterinária de cães e gatos e existem poucos dados sobre sua eficácia na espécie canina, foi realizada a dosagem de gastrina em laboratório brasileiro que se dedica exclusivamente as dosagens hormonais. Observou-se que o tratamento com LSP aumentou a secreção de gastrina em todos os animais deste grupo após 30 dias de uso do medicamento ($t(8) = 2,695$, $p = 0,0273$) (Fig. 7A). A figura 7B, indica que os valores de gastrina aumentaram em média 7 pontos por indivíduo, ou seja, quase o dobro do seu valor inicial.

Clinicamente, apenas 2 cães apresentaram diarreia branda, sem sangue e autolimitada em até 8 horas, ou seja, foram basicamente dois episódios não sustentados. Esses cães pertenciam ao grupo Placebo (1) no segundo dia do estudo e ao grupo OMP (1) no vigésimo quinto dia do estudo e eles não precisaram ser afastados do experimento pois o quadro foi resolvido espontaneamente.

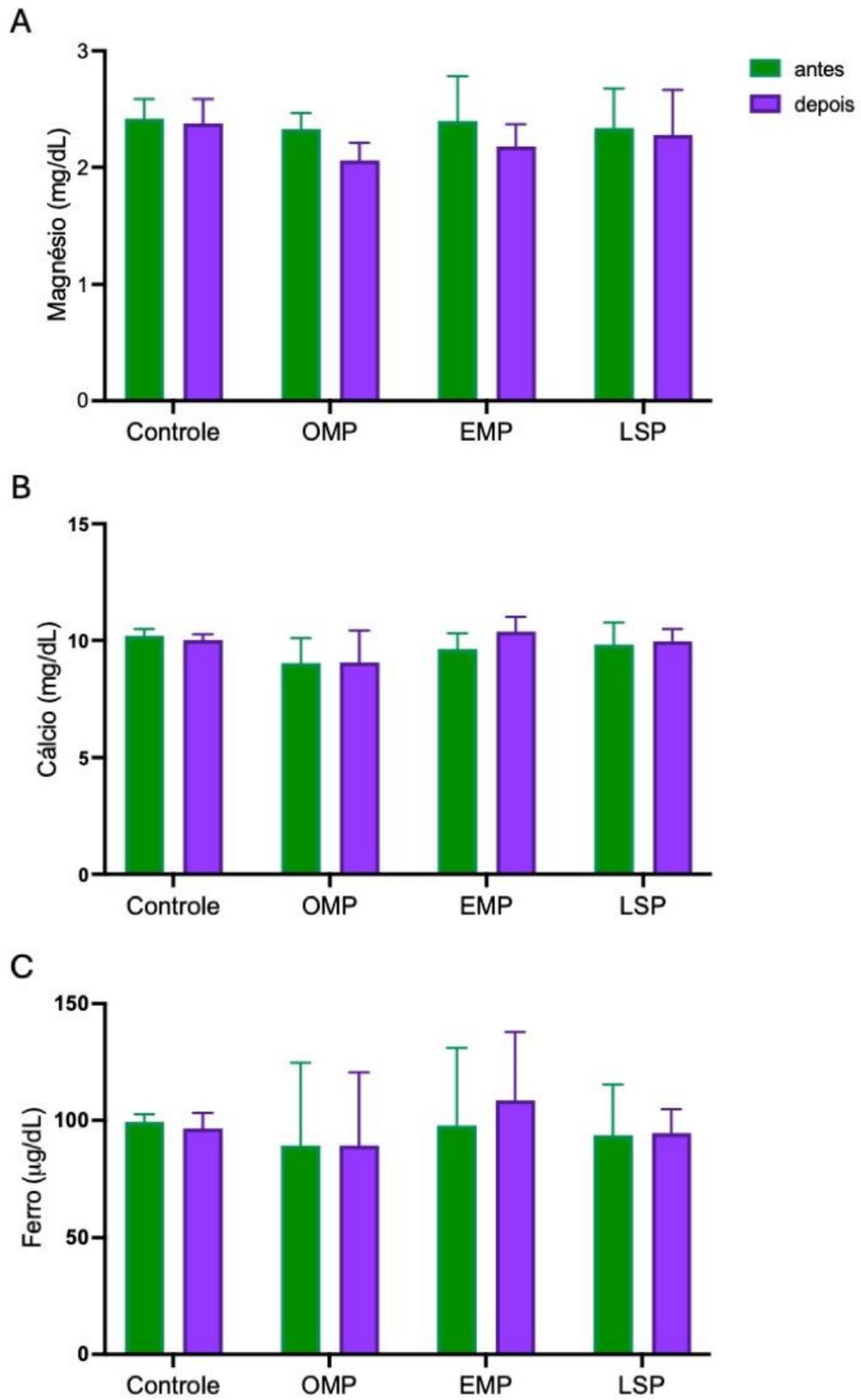


Figura 6. Parâmetros séricos de magnésio, cálcio e ferro avaliados antes e após os tratamentos com inibidores da bomba de prótons: Omeprazol (OMP), Esomeprazol (EMP), Lansoprazol (LSP) e o Placebo (Controle).

A) Magnésio sérico (mg/dL);

B) Cálcio sérico (mg/dL);

C) Ferro sérico ($\mu\text{g/dL}$).

Análise de variância Anova de uma via.

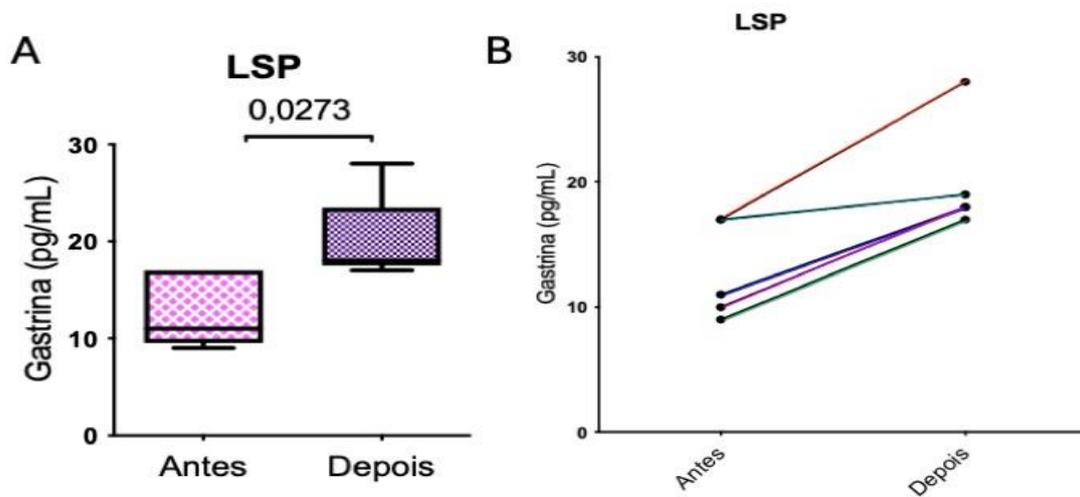


Figura 7. Gastrina sérica mensurada em cães antes e após o tratamento com o inibidor da bomba de prótons Lansoprazol (LSP).

A) Quantificação de gastrina antes e após o tratamento. Teste-T ($t(8) = 2,695$, $p = 0,0273$).

B) Indicativo da evolução na secreção de gastrina antes e depois do tratamento por indivíduo do grupo.

DISCUSSÃO

Os IBPs estão entre os medicamentos mais utilizados no mundo para pessoas e para animais e são empregados no tratamento de distúrbios relacionados à acidez, como: úlceras pépticas, refluxo gastroesofágico e dispepsia, além de serem usados no tratamento de gastroduodenopatias, hernia de hiato e até mesmo em doenças neurológicas específicas. Como os IBPs são eficazes no controle da acidez gástrica e na redução de sinais e sintomas de desconforto associado a baixo custo e baixo potencial de toxicidade, seu uso aumentou rapidamente nas últimas décadas, tanto na medicina humana como veterinária (Weersma et al., 2020, Xiao et al., 2024). A inibição do ácido gástrico pela administração de IBPs pode resultar em um aumento da carga microbiana (supercrescimento da microbiota) no intestino delgado (Vesper et al., 2009). Uma das consequências apontadas para o uso indiscriminado e sem prescrição médica dos IBPs é a disbiose (Vesper et al., 2009). No presente estudo, demonstrou-se que o uso de IBPs em cães saudáveis, na posologia habitual e recomendada por 30 dias, não resultou em disbiose intestinal, indo em contramão a Garcia-Mazcorro et al. (2012) onde demonstraram que o Omeprazol possui efeitos negativos sobre a microbiota intestinal, causando disbiose. De forma similar, em gatos (Schmid et al., 2028) e equinos (Cerri et al., 2020) o uso de Omeprazol também foi associado à disbiose discreta em animais saudáveis. Todos estes estudos não partiram de uma amostragem uniformizada e bem padronizada quanto a idade, perfil genético (raça) e alimentação dos indivíduos incluídos.

Por outro lado, os presentes resultados mostraram ausência de disbiose intestinal com o uso de ESP, evidência que corroborou nos resultados de McAtee et al. (2023), e ainda acerca disso neste presente estudo foi empregado maior rigor metodológico nos grupos (triagem clínica inicial) do que anteriormente conhecida para esta finalidade. Os efeitos do IBP Lansoprazol (LSP) foi mensurado pela primeira vez em cães saudáveis e os resultados também mostraram ausência de mudanças na constituição da microbiota pelo ID, ou seja, foi notada ausência de disbiose. Portanto, o uso dos antiácidos Esomeprazol e Lansoprazol não impactou em mudanças – discretas ou acentuadas – na microbiota intestinal nos animais deste estudo, enquanto os cães do grupo OMP exibiram tendência global de aumento do índice de disbiose em comparação ao estágio original (antes do medicamento) mesmo que sem

significância estatística. Embora os presentes resultados tenham apontado consequências supostamente autolimitadas com o emprego dos antiácidos, não se pode esquecer que os efeitos aqui descritos são resultados do uso de IBPs em animais saudáveis, ou seja, com microbiota saudável. Mais estudos devem ser realizados para avaliar os efeitos desses medicamentos em pacientes com doenças que consideram o uso de antiácido como protocolo, uma vez que tais pacientes já podem cursar com disbiose de base e não se sabe completamente se esse uso seria um fator agravante na situação de doença intestinal.

Ademais, deve-se considerar que a constituição da microbiota é extremamente complexa e envolve outros microrganismos distintos dos avaliados nessa pesquisa, uma vez que mensuramos o ID como exame padrão-ouro de diagnóstico de disbiose atualmente disponível, no entanto o incremento de outros grupos bacterianos deve aumentar a qualidade deste método para inferir disbiose, também em razão deste exame ter maior sensibilidade para apontar eubiose do que disbiose. Os animais amostrados nesse estudo eram da mesma raça, recebiam a mesma dieta, tinham o mesmo estado reprodutivo (não castrados), encontravam-se na fase adulta (filhotes e idosos não participaram), exibiam escore corporal semelhante e foram submetidos a mesma triagem de exclusão quanto eventuais doenças pregressas. Estudos sobre disbiose são desafiadores pois ela quase sempre é secundária a uma gama de afecções. Além disso, a maioria dos estudos sobre a relação entre IBPs e disbiose intestinal partiram de amostras sem a padronização de raça, idade, tipo de alimentação e outros potenciais fatores que podem interferir na microbiota.

A presença de diarreia branda e livre de sangue ocorreu em um cão do grupo OMP e não requereu seu afastamento do experimento, apenas foram adicionadas fibras (1 colher de farelo de aveia em três refeições depois da diarreia) e o quadro de normalidade se restaurou. Conforme descrito por Paul, Stayt (2019), a ocorrência de diarreia é uma consequência esperada em quadros de disbiose e isto pode acontecer de forma pontual. Por outro lado, foi notada diarreia em um animal do grupo CTL (Placebo) e a causa permaneceu desconhecida, relativizando a relação entre o emprego do OMP e a repercussão clínica notada em apenas um animal. Deste modo, destaca-se a importância de diferenciar disbiose intestinal e disbiose intestinal com repercussão clínica, uma vez que os outros quatro cães do grupo OMP não tiveram diarreia. O microbioma intestinal é considerado um “novo órgão vital” por estar

intimamente ligado a todos os sistemas orgânicos e ele certamente apresenta dinamismo e particularidades ainda pouco elucidadas e isto torna este tema cada vez mais importante em Medicina Veterinária.

Em humanos, o uso crônico de OMP e outros IBPs pode ser associado a prejuízos neurológicos, ao maior risco de doença celíaca, ao potencial para desenvolvimento de alguns tipos de câncer, a piora da saúde dos ossos e a deficiências nutricionais (Lespessailles, Toumi, 2022). Algumas metanálises sugerem que o aumento de bactérias indesejadas e diminuição de bactérias desejadas podem estar associados ao maior risco de inflamação intestinal em pessoas que receberam IBPs por muitos anos, assim como foi associada a ocorrência de peritonite e ao agravamento de cirrose (Bajaj, et al., 2028; Naito, et al., 2018; Zhang et al., 2022) e todas essas informações ocasionaram numa tendência mundial quanto a cautela no emprego e duração destes tratamentos. Aqui, os resultados mostraram que o uso de OMP cursou com alteração qualitativa específica nesse grupo de animais pois houve redução da bactéria *Turicibacter*, um componente do microbioma muito desejável, no entanto não associada a diminuição de outros elementos desejados como *C. hiranonis* ou aumento de oportunistas como *E. coli*. As bactérias do gênero *Turicibacter* são muito prevalentes e convenientes na microbiota intestinal de vários animais (Winston, et al, 2024). *Turicibacter* pode atingir abundâncias relativas superiores a 20% no intestino delgado de roedores e cerca de 0,5% na microbiota fecal humana (Lynch et al., 2023). Seu papel é crucial no metabolismo lipídico do hospedeiro e na produção de ácidos graxos. Em estudo anterior com cães a administração de OMP aumentou a porcentagem de *Streptococcus* (Garcia-Mazcorro et al., 2012), fato que corrobora os resultados observados no presente estudo, uma vez que houve discreto aumento de *Streptococcus*, um patógeno da microbiota cuja aumento não é desejado. No entanto, o grupo Placebo também exibiu redução da presença de *Turicibacter* e este dado alerta sobre o potencial dinamismo da microbiota de cães que coexistem sob mesmo manejo ambiental.

A favor dos resultados desse estudo clínico, resultados anteriores descritos em cães saudáveis (Gil-Vicente, et al., 2024) e em gatos saudáveis (Gould, et al., 2016) não identificaram deficiências nutricionais nos marcadores séricos como albumina, cobalamina e folato dos pacientes que receberam OMP e os demais IBPs. Outros marcadores séricos como magnésio, cálcio e ferro também não demonstraram

variação com os tratamentos dos antiácidos. Ao contrário do que foi observado nesse estudo, em pacientes humanos é plausível a indução de deficiências pelo uso de antiácidos, em especial hipocalcemia, hipoferrêmia, hipocobalaminemia provavelmente por conta da durabilidade destas medicações nas terapias (Yu et al., 2017, Koyyada, 2021).

Os gastroprotetores selecionados para esse estudo foram escolhidos com base na alta aplicabilidade na rotina clínica como Omeprazol que era e ainda é o mais empregado IBP para animais. A escolha destes também se deu devido recente evidência de uso como alternativa supostamente menos problemática para a microbiota de cães, como Esomeprazol que é – em termos – mais moderno enquanto fármaco. Os resultados evidenciados com o uso de Lansoprazol no sentido de tentar inferir disbiose e de considerar contraprova de eficácia com a relação a partir de gastrina sérica são inéditos em cães. Todos os animais desse último grupo de antiácidos (LSP) mostraram elevação da gastrina sérica após o tratamento na dose de 0,5 mg/kg duas vezes ao dia, fato que pode justificar seu uso em substituição ao Omeprazol em sentido de menos impactar na microbiota intestinal.

Estudos anteriores com Omeprazol empregado em cães saudáveis – embora provenientes de metodologia questionável no sentido de padronização – investigaram a disbiose causada por tal medicamento e ela foi associada a resolução espontânea em até duas semanas após a suspensão do seu uso e acredita-se que não foram necessárias melhorias de dieta ou uso de probióticos para otimizar este processo de recuperação da microbiota, razão pela qual a repetição dos índices de disbiose duas semanas após o fim dos tratamentos não foi realizada no presente estudo. Ou seja, disbiose fecal transitória induzida por Omeprazol foi notada em estudos anteriores e mais heterogêneos do que este e tal tendência ao aumento do ID em algum grau também foi verificada neste atual estudo e ela não é uma alteração que pode ser banalizada ou considerada conveniente, no entanto não está associada a relevância clínica - até o momento. Inclusive há diretrizes internacionais recentes permitem que um cão seja doador de fezes para eventual transplante de microbiota desde que esteja duas semanas sem receber antiácido e tenha obviamente um índice adequado (Winston, et al, 2024).

Não há certezas, todavia, pode ser cogitada a possibilidade de particularidades genéticas (individuais) estarem associadas a maior ou menor potencial de dano com o uso de Omeprazol, como por exemplo o sistema complexo de metabolização

hepática citocromo P-450 (proteínas e/ou enzimas catalisadoras). Esomeprazol e Lansoprazol são fármacos mais modernos e modificados e isto também pode justificar um comportamento distinto em termos de farmacocinética, farmacodinâmica e farmacoterapia. (Masa, K. et al., 2001; McAtee, R. et al, 2023).

Fatores de limitação por conta de fatores éticos ou de custos ou sobre disponibilidade ou grau de invasão nos animais deste estudo, destacam-se: a) não realização da Calprotectina fecal que embora não confira diagnóstico poderia inferir maior permeabilidade e deduzir inflamação intestinal a ser correlacionada ou não com o aumento do índice de disbiose; b) número reduzido de animais estudados por cada grupo - mesmo que submetidos a padronização elevada, pois diante das variáveis e dinâmismos que são conhecidos acerca da microbiota intestinal quanto mais animais submetidos ao mesmo delineamento maior será a chance destes dados serem refletidos como evidências; c) não realização de índice de disbiose (ID) após 2 semanas dos antiácidos (principalmente do grupo OMP) para endossar aquilo sugerido em outros estudos anteriores quanto a recuperação espontânea da microbiota; d) não realização de mensuração de inflamação tecidual através de amostras histopatológicas que ainda poderiam ter permitido identificação e quantificação microbiana (técnica de F.I.S.H.); e) dosagem de cálcio total como marcador de absorção intestinal é considerado menos adequado do que a dosagem do cálcio livre e menos interferido (cálcio iônico); f) apesar de serem mais conhecidos e mais estabelecidos como inibidores da secreção do ácido gástrico, Omeprazol e Esomeprazol também poderiam ter sido grupos incluídos na dosagem sérica comparativa entre antes e depois dos tratamentos e não apenas os animais do grupo Lansoprazol.

Reforça-se que os fármacos IBPs podem conferir variados benefícios terapêuticos devido sua indicação nas afecções relacionadas a inflamação e ulceração gastrintestinais. Os resultados desse estudo mostraram que o uso dos IBPs na dose terapêutica e por 30 dias não resultou em disbiose, porém em animais doentes ou predispostos a disbiose o impacto negativo dos antiácidos pode ser maior. Assim, outros estudos devem ser realizados para esclarecer o impacto dos IBPs em cães. Investigações com maiores populações de cães saudáveis pertencentes a grupos adequadamente padronizados quanto alimentação e ausência de disbiose pregressa podem revelar eventuais particularidades de raça (genética) e outras variáveis.

CONCLUSÃO

Esse estudo apontou que o uso de Omeprazol, Esomeprazol e Lansoprazol em cães saudáveis e provenientes de elevado grau de padronização quanto a raça, faixa etária e histórico dietético não determinou disbiose intestinal mensurada por marcadores fecais e sanguíneos. Isto permite o questionamento sobre o verdadeiro potencial dos inibidores da bomba de prótons serem – isoladamente – promotores da disbiose intestinal ou se dependem de um quadro inflamatório já existente ou ainda da associação com outros medicamentos para serem deletérios. Não foi notada relevante deficiência de nutrientes nos animais tratados com antiácidos. Lansoprazol mostrou-se sugestivamente eficaz como supressor do HCL e indutor de aumento da gastrina sérica nos cães deste estudo, podendo tornar-se uma alternativa terapêutica.

REFERÊNCIAS

Barko, P. C., Williams, D. A., Wu, Y. A., Steiner, J. M., Suchodolski, J. S., Gal, A., & Marsilio, S. (2023). Chronic inflammatory enteropathy and low-grade intestinal T-cell lymphoma are associated with altered microbial tryptophan catabolism in cats. *Animals: an open access journal from MDPI*, *14*(1), 67. <https://doi.org/10.3390/ani14010067>

Belkaid Y, Hand TW. Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell*. 2014 Mar 27;*157*(1):121-41. doi: 10.1016/j.cell.2014.03.011.

Ben Ghezala I, Luu M, Bardou M. An update on drug-drug interactions associated with proton pump inhibitors. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2022 May;*18*(5):337-346. doi: 10.1080/17425255.2022.2098107. Epub 2022 Jul 11. PMID: 35787720.

Breczko, W. J., Bubak, J., & Miszczak, M. (2024). The importance of intestinal microbiota and dysbiosis in the context of the development of intestinal lymphoma in dogs and cats. *Cancers*, *16*(12), 2255. <https://doi.org/10.3390/cancers16122255>

Carlson AL, Xia K, Azcarate-Peril MA, Rosin SP, Fine JP, Mu W, Zopp JB, Kimmel MC, Styner MA, Thompson AL, Propper CB, Knickmeyer RC. Infant gut microbiome composition is associated with non-social fear behavior in a pilot study. *Nat Commun*. 2021 Jun 2;*12*(1):3294. doi: 10.1038/s41467-021-23281-y. PMID: 34078892; PMCID: PMC8172562.

Cerri S, Taminiau B, de Lusancay AH, Lecoq L, Amory H, Daube G, Cesarini C. Effect of oral administration of Omeprazole on the microbiota of the gastric glandular mucosa and feces of healthy horses. *J Vet Intern Med*. 2020 Nov;*34*(6):2727-2737. doi: 10.1111/jvim.15937.

Filippo, D., Guardone, L., Listorti, V., & Elisabetta, R. (2024). Microbiome in cancer: A comparative analysis between humans and dogs. *Veterinary Journal (London, England: 1997)*, *305*, 106145. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2024.106145>

Fujishiro, M. A., Lidbury, J. A., Pilla, R., Steiner, J. M., Lappin, M. R., & Suchodolski, J. S. (2020). Evaluation of the effects of anthelmintic administration on the fecal microbiome of healthy dogs with and without subclinical *Giardia* spp. and *Cryptosporidium canis* infections. *PloS one*, *15*(2), e0228145. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0228145>

Garcia-Mazcorro JF, Suchodolski JS, Jones KR, et al. Effect of the proton pump inhibitor Omeprazole on the gastrointestinal bacterial microbiota of healthy dogs. *FEMS Microbiol Ecol*. 2012;80(3):624-636.

Gil-Vicente L, Martín G, Soler C, Vila A, Saiz MR, Navarro PF. Prospective randomized controlled clinical trial of the long-term effects of omeprazole on healthy dogs. *Animals (Basel)*. 2024 Apr 12;14(8):1168. doi: 10.3390/ani14081168.

Gould E, Clements C, Reed A, Giori L, Steiner JM, Lidbury JA, Suchodolski JS, Brand M, Moyers T, Emery L, Tolbert MK. A prospective, placebo-controlled pilot evaluation of the effect of omeprazole on serum calcium, magnesium, cobalamin, gastrin concentrations, and bone in cats. *J Vet Intern Med*. 2016 May;30(3):779-86. doi: 10.1111/jvim.13932.

Habermaass, V., Olivero, D., Gori, E., Mariti, C., Longhi, E., & Marchetti, V. (2023). Intestinal microbiome in dogs with chronic hepatobiliary disease: can we talk about the gut-liver axis? *Animals*, *13*(20), 3174. <https://doi.org/10.3390/ani13203174>

Handa A, Slanzon GS, Ambrosini YM, Haines JM. Effect of omeprazole on esophageal microbiota in dogs detected using a minimally invasive sampling method. *J Vet Intern Med*. 2025 Mar-Apr;39(2):e70029. doi: 10.1111/jvim.70029.

Koyada A. Long-term use of proton pump inhibitors as a risk factor for various adverse manifestations. *Therapie*. 2021 Jan-Feb;76(1):13-21. doi: 10.1016/j.therap.2020.06.019.

Lee, N. N., Bidot, W. A., Ericsson, A. C., & Franklin, C. L. (2020). Effects of *Giardia lamblia* colonization and fenbendazole treatment on canine fecal microbiota. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science: JAALAS*, *59*(4), 423–429. <https://doi.org/10.30802/AALAS-JAALAS-19-000113>

Lynch JB, Gonzalez EL, Choy K, Faull KF, Jewell T, Arellano A, Liang J, Yu KB, Paramo J, Hsiao EY. Gut microbiota *Turicibacter* strains differentially modify bile acids and host lipids. *Nat Commun.* 2023 Jun 20;14(1):3669. doi: 10.1038/s41467-023-39403-7.

Marshall-Jones, Z. V., Patel, K. V., Castillo-Fernandez, J., Lonsdale, Z. N., Haydock, R., Staunton, R., Amos, G. C. A., & Watson, P. (2024). Conserved signatures of the canine faecal microbiome are associated with metronidazole treatment and recovery. *Scientific reports*, 14(1), 5277. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-51338-7>

Masa K, Hamada A, Arimori K, Fujii J, Nakano M. Pharmacokinetic differences between lansoprazole enantiomers and contribution of cytochrome P450 isoforms to enantioselective metabolism of lansoprazole in dogs. *Biol Pharm Bull.* 2001 Mar;24(3):274-7. doi: 10.1248/bpb.24.274.

McAtee, R., Schmid, S. M., Tolbert, M. K., Hetzel, S., Suchodolski, J. S., & Pritchard, J. C. (2023). Effect of esomeprazole with and without a probiotic on fecal dysbiosis, intestinal inflammation, and fecal short-chain fatty acid concentrations in healthy dogs. *Journal of veterinary internal medicine*, 37(6), 2109–2118. <https://doi.org/10.1111/jvim.16886>

Paul, A.E.H., & Stayt, J. (2019). The intestinal microbiome in dogs and cats with diarrhoea as detected by a faecal polymerase chain reaction-based panel in Perth, Western Australia. *Australian veterinary journal*, 97(10), 418–421. <https://doi.org/10.1111/avj.12867>

Pilla, R., & Suchodolski, J. S. (2021). The gut microbiome of dogs and cats, and the influence of diet. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 51(3), 605–621. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2021.01.002>

Sacoer, C., Marugg, J. D., Lima, N. R., Empadinhas, N., & Montezinho, L. (2024). Gut-brain axis impact on canine anxiety disorders: new challenges for behavioral veterinary medicine. *Veterinary medicine international*, 2024, 2856759. <https://doi.org/10.1155/2024/2856759>

Sasso JM, Ammar RM, Tenchov R, Lemmel S, Kelber O, Grieswelle M, Zhou QA. Gut microbiome-brain alliance: a landscape view into mental and gastrointestinal health and disorders. *ACS Chem Neurosci*. 2023 May 17;14(10):1717-1763. doi: 10.1021/acscchemneuro.3c00127.

Schmid SM, Suchodolski JS, Price JM, Tolbert MK. Omeprazole minimally alters the fecal microbial community in six cats: A Pilot Study. *Front Vet Sci*. 2018 Apr 16;5:79. doi: 10.3389/fvets.2018.00079.

Stavroulaki, E. M., Suchodolski, J. S., & Xenoulis, P. G. (2023). Effects of antimicrobials on the gastrointestinal microbiota of dogs and cats. *Veterinary journal (London, England: 1997)*, 291, 105929. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2022.105929>

Suchodolski J. S. (2022). Analysis of the gut microbiome in dogs and cats. *Veterinary clinical pathology*, 50 Suppl 1(Suppl 1), 6–17. <https://doi.org/10.1111/vcp.13031>

Suchodolski JS, Dowd SE, Wilke V, Steiner JM, Jergens AE. 16S rRNA gene pyrosequencing reveals bacterial dysbiosis in the duodenum of dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. *PLoS One*. 2012;7(6):e39333. doi: 10.1371/journal.pone.0039333.

Summers, S., & Quimby, J. (2024). Insights into the gut-kidney axis and implications for chronic kidney disease management in cats and dogs. *Veterinary journal (London, England: 1997)*, 306, 106181. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2024.106181>

Swanson KS, Dowd SE, Suchodolski JS, et al. Phylogenetic and gene-centric metagenomics of the canine intestinal microbiome reveals similarities with humans and mice. *ISME J*. 2011;5(4):639-649.

Vesper BJ, Jawdi A, Altman KW, Haines GK 3rd, Tao L, Radosevich JA. The effect of proton pump inhibitors on the human microbiota. *Curr Drug Metab*. 2009 Jan;10(1):84-9. doi: 10.2174/138920009787048392.

Weersma RK, Zhernakova A, Fu J. Interaction between drugs and the gut microbiome. *Gut*. 2020 Aug;69(8):1510-1519. doi: 10.1136/gutjnl-2019-320204.

Wernimont SM, Radosevich J, Jackson MI, et al. The effects of nutrition on the gastrointestinal microbiome of cats and dogs: impact on health and disease. *Front Microbiol.* 2020;11:1266.

Winston, JA, Suchodolski, J, Gaschen, FP, Busch, KB, Marsilio, S, Costa, MC, Chaitman, J, Coffey, EL, Dandrieux, J, Gal, A, Hill, T, Pilla, R, Procoli, F, Salavati, S, Toresson, L, Unterer, S, Valverde-Altamirano, É, Verocai, GG, Weese, JS, Werner, M & Ziese, A-L 2024, Clinical guidelines for fecal microbiota transplantation in companion animals. *Advances in Small Animal Care.* vol. 5, no. 1, pp. 79-107. doi.org/10.1016/j.yasa.2024.06.006

Xiao X, Zhang X, Wang J, Liu Y, Yan H, Xing X, Yang J. Proton pump inhibitors alter gut microbiota by promoting oral microbiota translocation: a prospective interventional study. *Gut.* 2024 Jun 6;73(7):1098-1109. doi: 10.1136/gutjnl-2023-330883.

Yu LY, Sun LN, Zhang XH, Li YQ, Yu L, Yuan ZQ, Meng L, Zhang HW, Wang YQ. A review of the novel application and potential adverse effects of proton pump inhibitors. *Adv Ther.* 2017 May;34(5):1070-1086. doi: 10.1007/s12325-017-0532-9.

Zhang S, Dogan B, Guo C, et al. Short chain fatty acids modulate the growth and virulence of pathosymbiont *Escherichia coli* and host response. *Antibiotics (Basel).* 2020;9(8):462.

Ziese AL, Suchodolski JS. Impact of changes in gastrointestinal microbiota in canine and feline digestive diseases. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2021;51(1):155-169.

ANEXOS

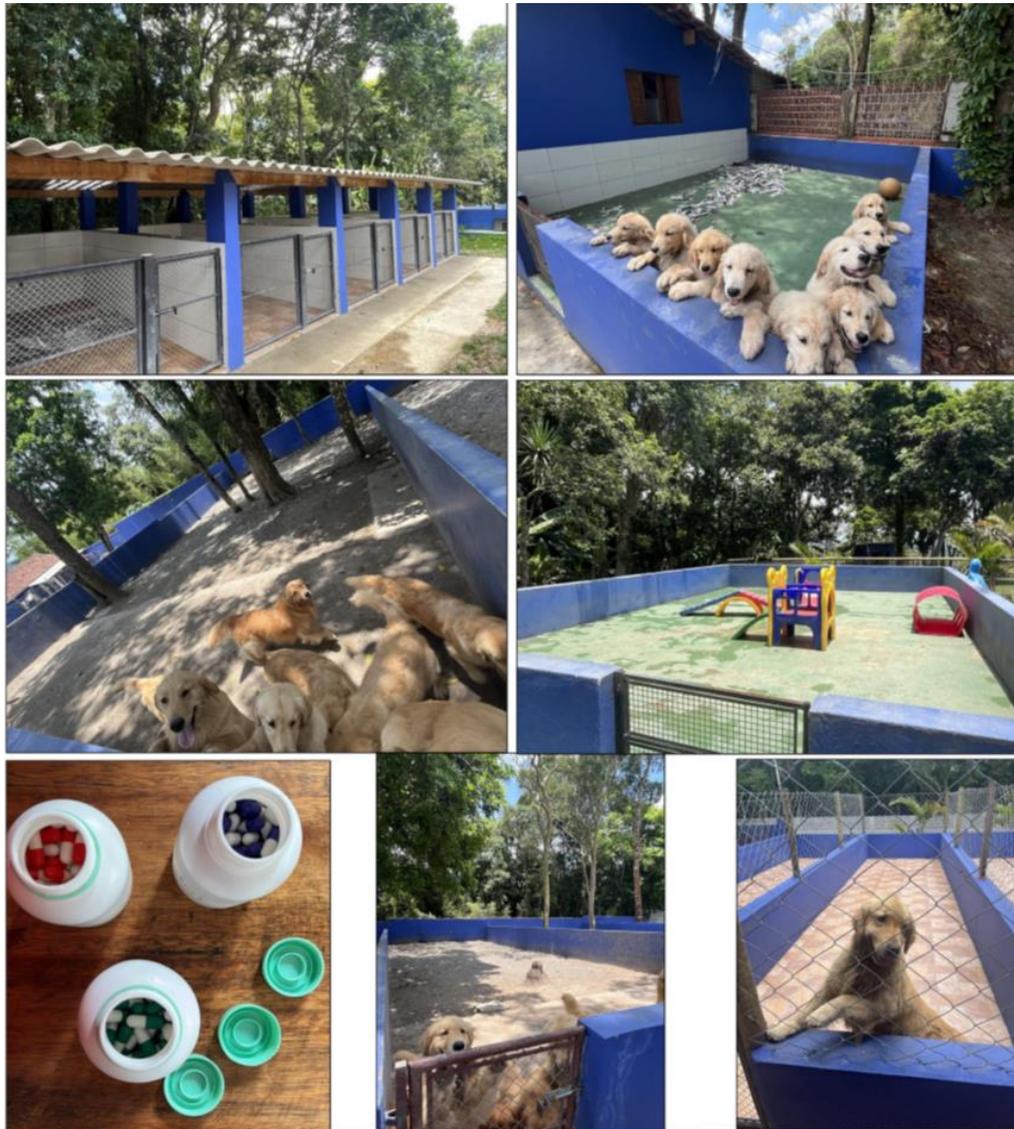


Figura Suplementar 1. Fotos ilustrativas do canil da raça Golden Retriever localizado na cidade de Cotia, na região metropolitana de São Paulo, Brasil. Fotografia dos medicamentos antiácidos utilizados na pesquisa. Notam-se fotografias mostrando diferentes ambientes dos animais (bairros para confinamento e alimentação individualizada, pátios com grama lavável e sintética, áreas externas para exercícios físicos, zonas separadas entre filhotes e adultos).