
**PURINA® PRO PLAN®
CALMING CARE SYMPOSIUM 2026**

The Gut-Brain Axis in Practice



**Real-Life Applications:
Case Report on Calming Care**

Marta Amat

Xavier Manteca

Susana Le Brech

Soraya Beuk

Javier Guerra



PLAN OF THE TALK

BACKGROUND

AIM OF THE STUDY

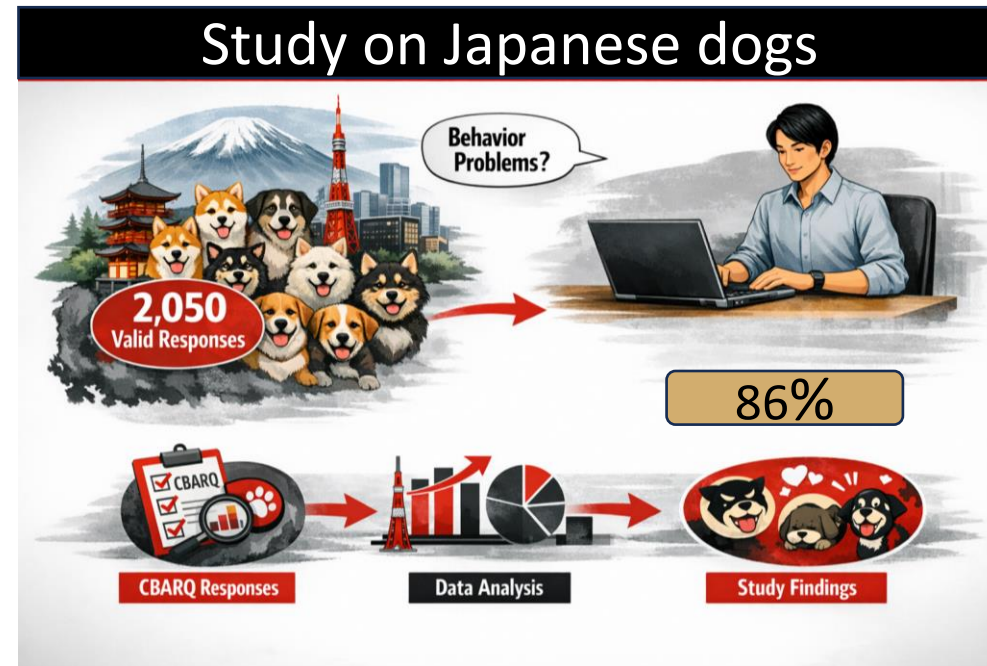
MATERIAL AND METHODS

RESULTS

DISCUSSION

BACKGROUND

Prevalence of stress-related problems



Salonen et al. Prevalence, comorbidity, and breed differences in canine anxiety in 13,700 Finnish pet dogs. *Sci Rep.* 2020, 10, 2962

Yamada et al. Prevalence of 25 canine behavioral problems and relevant factors of each behavior in Japan. *J Vet Med Sci.* 2019 Aug 9;81(8):1090-1096.

BACKGROUND

CONSEQUENCES

Impact on dog
Welfare
(stress,
relinquishment or
euthanasia)

Negative impact
on
human-dog
bond

Negative impact
on owner
wellbeing

BACKGROUND

MANAGEMENT STRATEGIES

Behaviour modification programme

Improve owner handling

Improve environment

Products that help resilience to stress factors.



Aim of the case reports study

To evaluate the effectiveness of Calming Care in patients with stress-related problems

Challenges we face when doing case reports





Decide which dogs we include in the study

Include dogs that come to the behaviour service?

REJECTED



Announcement to recruit students' dogs
(that comply with the inclusion criteria)



Characteristics of owned dogs (home environment)

Environments, routines, diets and so on
can be very different



Reduce variability using
inclusion criteria

Same sex
Similar environment
Not taking probiotics or other supplements
No other treatments
No organic issues
Similar diet
Similar behaviour problems





We did not have a control group



If there is a favorable response

The probiotic is effective

There is a placebo effect

It has improved due to other reasons

Validated questionnaire was used

No other treatments were applied

MATERIAL AND METHODS

Interview the owners + Canine behavioral assessment and research questionnaire



Calming Care administration for 6 weeks

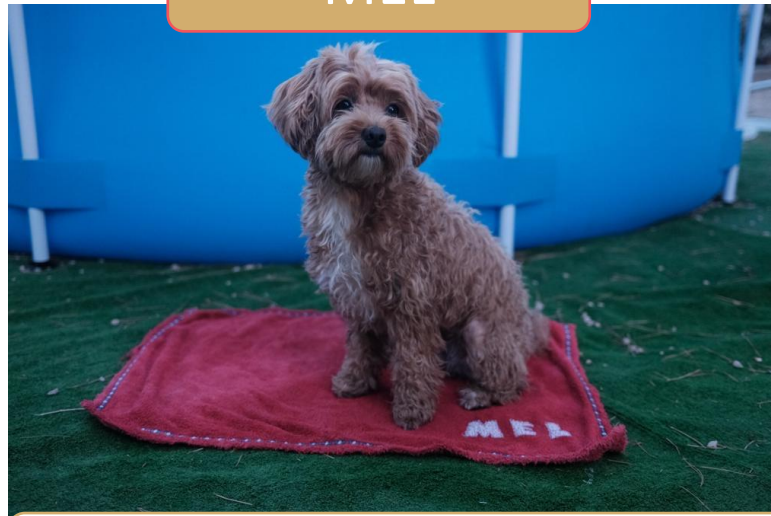
DOGS INCLUDED IN THE CASE REPORTS

LILA



Crossbred, 12 y, neutered

MEL



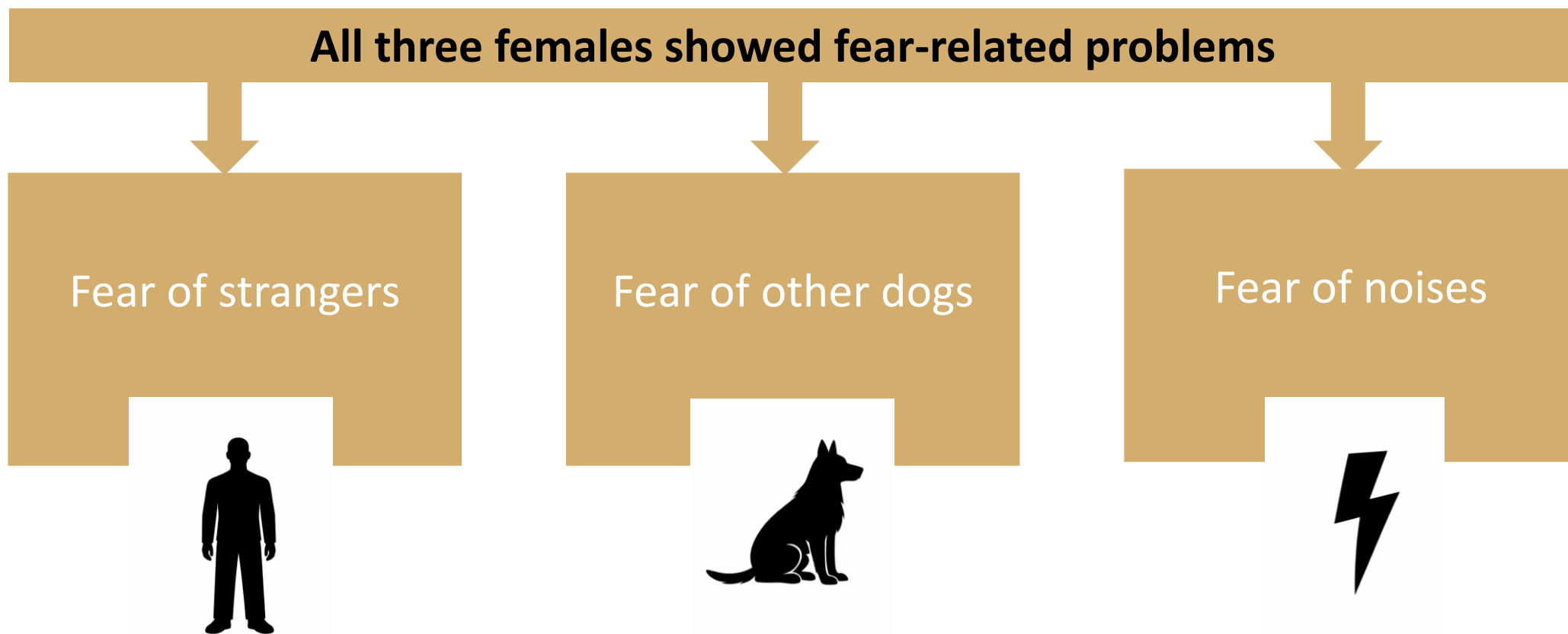
Maltipoo, 5y, neutered

SUA



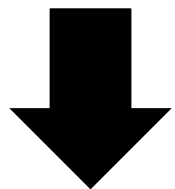
Belgian shepherd, 7 y, intact

BEHAVIOURAL PROFILE



RESULTS

When I asked them if they had noticed any changes



No change.....



Results (MEL)

T0

27% reduction in score

T6

38. En respuesta a ruidos fuertes o repentinos (por ejemplo al pasar la aspiradora, Al arrancar el auto, taladros o martillo etc.).

No hay miedo/ansiedad: No hay signos visibles de miedo 0.....1.....2.....3.....4
Miedo o Ansiedad leve—Moderado 3
Miedo extremo: Encogimientos; huida o se esconde, etc.

39. Cuando personas desconocidas visitan su casa.

No hay miedo/ansiedad: No hay signos visibles de miedo 0.....1.....2.....3.....4
Miedo o Ansiedad leve—Moderado 3
Miedo extremo: Encogimientos; huida o se esconde, etc.

40. Si algún desconocido intenta tocarlo o acariciarlo.

No hay miedo/ansiedad: No hay signos visibles de miedo 0.....1.....2.....3.....4
Miedo o Ansiedad leve—Moderado 4
Miedo extremo: Encogimientos; huida o se esconde, etc.

41. Al tráfico denso.

No hay miedo/ansiedad: No hay signos visibles de miedo 0.....1.....2.....3.....4
Miedo o Ansiedad leve—Moderado 2
Miedo extremo: Encogimientos; huida o se esconde, etc.

42. En respuesta a objetos extraños o desconocidos sobre o cerca de la acera (por ejemplo bolsas de basura, hojas, desecho; banderas flameando, etc.)

No hay miedo/ansiedad: No hay signos visibles de miedo 0.....1.....2.....3.....4
Miedo o Ansiedad leve—Moderado 0
Miedo extremo: Encogimientos; huida o se esconde, etc.

43. Al ser examinado o tratado por el veterinario.

No hay miedo/ansiedad: No hay signos visibles de miedo 0.....1.....2.....3.....4
Miedo o Ansiedad leve—Moderado 0
Miedo extremo: Encogimientos; huida o se esconde, etc.

44. Durante las tormentas.

No hay miedo/ansiedad: No hay signos visibles de miedo 0.....1.....2.....3.....4
Miedo o Ansiedad leve—Moderado 2
Miedo extremo: Encogimientos; huida o se esconde, etc.

45. Cuando se le acerca directamente un perro extraño de igual tamaño o más grande.

No hay miedo/ansiedad: No hay signos visibles de miedo 0.....1.....2.....3.....4
Miedo o Ansiedad leve—Moderado 4
Miedo extremo: Encogimientos; huida o se esconde, etc.

46. Cuando se le acerca directamente un perro desconocido de menor tamaño.

No hay miedo/ansiedad: No hay signos visibles de miedo 0.....1.....2.....3.....4
Miedo o Ansiedad leve—Moderado 3
Miedo extremo: Encogimientos; huida o se esconde, etc.

47. La primera vez que es expuesto a situaciones desconocidas (por ejemplo el primer viaje en auto, la primera vez en el ascensor, la primera visita al veterinario, etc.)

No hay miedo/ansiedad: No hay signos visibles de miedo 0.....1.....2.....3.....4
Miedo o Ansiedad leve—Moderado 0
Miedo extremo: Encogimientos; huida o se esconde, etc.

48. En respuesta al viento u objetos que este mueve.

No hay miedo/ansiedad: No hay signos visibles de miedo 0.....1.....2.....3.....4
Miedo o Ansiedad leve—Moderado 1
Miedo extremo: Encogimientos; huida o se esconde, etc.

38. En respuesta a ruidos fuertes o repentinos (por ejemplo al pasar la aspiradora, al poner en marcha el coche, taladros o martillos, etc.).

No hay miedo/ansiedad: No hay signos visibles de miedo 0.....1.....2.....3.....4
Miedo o Ansiedad leve—Moderado 2
Miedo extremo: Encogimientos; huida o se esconde, etc.

39. Cuando personas desconocidas visitan su casa.

No hay miedo/ansiedad: No hay signos visibles de miedo 0.....1.....2.....3.....4
Miedo o Ansiedad leve—Moderado 3
Miedo extremo: Encogimientos; huida o se esconde, etc.

40. Si alguna persona desconocida intenta tocarlo o acariciarlo.

No hay miedo/ansiedad: No hay signos visibles de miedo 0.....1.....2.....3.....4
Miedo o Ansiedad leve—Moderado 3
Miedo extremo: Encogimientos; huida o se esconde, etc.

41. Al tráfico denso.

No hay miedo/ansiedad: No hay signos visibles de miedo 0.....1.....2.....3.....4
Miedo o Ansiedad leve—Moderado 1
Miedo extremo: Encogimientos; huida o se esconde, etc.

42. En respuesta a objetos extraños o desconocidos sobre o cerca de la acera (por ejemplo bolsas de basura, hojas, desechos, banderas flameando, etc.)

No hay miedo/ansiedad: No hay signos visibles de miedo 0.....1.....2.....3.....4
Miedo o Ansiedad leve—Moderado 0
Miedo extremo: Encogimientos; huida o se esconde, etc.

43. Al ser examinado o tratado por el veterinario.

No hay miedo/ansiedad: No hay signos visibles de miedo 0.....1.....2.....3.....4
Miedo o Ansiedad leve—Moderado 0
Miedo extremo: Encogimientos; huida o se esconde, etc.

44. Durante las tormentas.

No hay miedo/ansiedad: No hay signos visibles de miedo 0.....1.....2.....3.....4
Miedo o Ansiedad leve—Moderado 2
Miedo extremo: Encogimientos; huida o se esconde, etc.

45. Cuando se le acerca directamente un perro desconocido de igual tamaño o más grande.

No hay miedo/ansiedad: No hay signos visibles de miedo 0.....1.....2.....3.....4
Miedo o Ansiedad leve—Moderado 2
Miedo extremo: Encogimientos; huida o se esconde, etc.

46. Cuando se le acerca directamente un perro desconocido de menor tamaño.

No hay miedo/ansiedad: No hay signos visibles de miedo 0.....1.....2.....3.....4
Miedo o Ansiedad leve—Moderado 1
Miedo extremo: Encogimientos; huida o se esconde, etc.

47. La primera vez que es expuesto a situaciones desconocidas (por ejemplo el primer viaje en coche, la primera vez en el ascensor, la primera visita al veterinario, etc.)

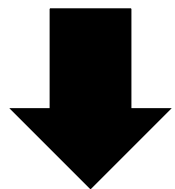
No hay miedo/ansiedad: No hay signos visibles de miedo 0.....1.....2.....3.....4
Miedo o Ansiedad leve—Moderado 0
Miedo extremo: Encogimientos; huida o se esconde, etc.

48. En respuesta al viento u objetos que este mueve.

No hay miedo/ansiedad: No hay signos visibles de miedo 0.....1.....2.....3.....4
Miedo o Ansiedad leve—Moderado 1
Miedo extremo: Encogimientos; huida o se esconde, etc.

RESULTS

When I asked them if they had noticed any changes



No change.....

It is important to avoid owner subjectivity and to minimize not only the placebo effect but also the nocebo effect.

Use a validated questionnaire to assess potential changes (CBARQ)



Results

4% "improvement" (Lila: mild fear-related problems)

13% "improvement" (Sua: moderate fear-related problems)

27% "improvement" (Mel: severe fear-related problema)

Several changes were already evident after the third week of probiotic administration

Discussion

Did we obtain the expected results?

Probiotic as part of a multifactorial treatment

Type of Stress-related problem (chronic)



Discussion

Did we obtain the expected results?

Probiotic as part of a multifactorial treatment

Type of Stress-related problem (chronic)

Important limitations of case reports
(challenges)

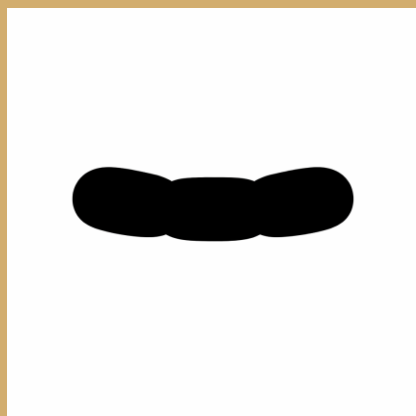
Several factors may affect
probiotic effectiveness

Small sample size
Lack of a control group
Variability between cases



Discussion

Factors influencing the effectiveness of probiotics



Type of strain

Indications

Quality

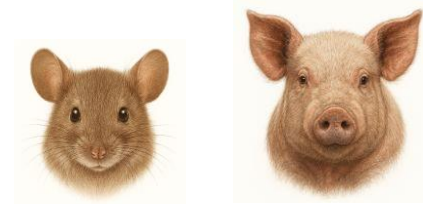


Sex/ reproductive status

Age

Diet

Discussion-Sex and neutered status



In different species (e.g. mice, pigs, and rats), the effects of probiotics vary by sex.

Lactic acid bacterium

The effects have been found to be greater in males.

Zhang et al. (2021). Sex-dependent changes in the microbiota profile, serum metabolism, and hormone levels of growing pigs after dietary supplementation with *Lactobacillus*. *Applied microbiology and biotechnology*, 105(11), 4775–4789.



Neutered dogs (♀ and ♂) have different microbial profiles than intact dogs

This may influence the response to probiotics

Scarsella et al. (2020). Learning machine approach reveals microbial signatures of diet and sex in dog. *PloS one*, 15(8), e0237874.

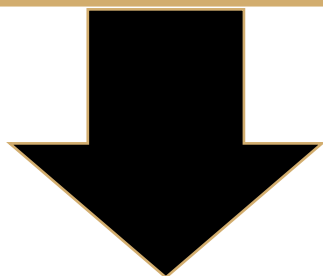
Discussion-Age

Age



Age modifies the composition of gut microbiota and short-chain fatty acid profile (acetate, butyrate, valerate etc.)

This may influence the response to probiotics



Less butyrate in older dogs

**Modulates key neurotransmitters
(GABA, serotonin, dopamine)**

Alpino et al. (2024). Beneficial effects of butyrate on brain functions: A view of epigenetic. *Critical reviews in food science and nutrition*, 64(12), 3961–3970.

Fernandez Pinteño, Anna; Manteca Vilanova, Xavier dir.; Salas Mani, Anna dir. The microbiota-gut-brain axis in dogs, and its relationship with aging. 2025.
<<https://ddd.uab.cat/record/323697>> [Consulta: 17 febrer 2026].

Discussion-Diet

The type and amount of fiber, protein and carbohydrate in the diet

Influence the composition and function of the gut microbiota

Which may modify the response to probiotic supplementation

Raw diet
(higher protein and lower carbohydrate and fiber)

**Greater changes
In the microbiota**

**Commercial dry diet produces more
intestinal butyrate
than a raw diet**

Schmidt et al. (2018). The fecal microbiome and metabolome differs between dogs fed Bones and Raw Food (BARF) diets and dogs fed commercial diets.

PloS one, 13(8), e0201279.

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.

Discussion

Did we obtain the expected results?

YES



Further research is needed

**PURINA® PRO PLAN®
CALMING CARE SYMPOSIUM 2026**

The Gut-Brain Axis in Practice



Thank you

