

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL

SOLUBILIDADE DA PAREDE CELULAR DE *Saccharomyces cerevisiae* SOBRE SEU EFEITO PREBIÓTICO EM GATOS

Paloma Ricardo

Médica Veterinária

2024

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL

SOLUBILIDADE DA PAREDE CELULAR DE *Saccharomyces cerevisiae* SOBRE SEU EFEITO PREBIÓTICO EM GATOS

Paloma Ricardo

Orientador: Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

2024

R488s

Ricardo, Paloma

Solubilidade da parede celular de *Saccharomyces cerevisiae* sobre seu efeito prebiótico em gatos / Paloma Ricardo. -- Jaboticabal, 2024
38 p. : tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Aulus Cavalieri Carciofi

1. Imunidade. 2. Levedura. 3. Microbiota. I. Título.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: EFEITO PREBIÓTICO DE PREPARADO SOLÚVEL DA PAREDE CELULAR DE *Saccharomyces cerevisiae* PARA GATOS

AUTORA: PALOMA RICARDO

ORIENTADOR: AULUS CAVALIERI CARCIOFI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Ciências Veterinárias, área: Saúde Animal pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. AULUS CAVALIERI CARCIOFI (Participação Virtual)
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FCAV UNESP Jaboticabal

Prof. Dr. LUCIANO TREVIZAN (Participação Virtual)
Departamento de Zootecnia / Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) Porto Alegre/RS

Prof. Dr. HÉLIO JOSÉ MONTASSIER (Participação Virtual)
Departamento de Patologia Reprodução e Saúde Única / FCAV UNESP Jaboticabal

Jaboticabal, 01 de março de 2024



Documento assinado digitalmente

LUCIANO TREVIZAN

Data: 01/03/2024 18:22:52-0300

Verifique em <https://validar.itt.gov.br>

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Paloma Ricardo – nascida em 04 de fevereiro de 1995 na cidade de São Paulo – SP. Ingressou no curso de graduação em Medicina Veterinária em fevereiro de 2013 na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Jaboticabal. Realizou duas iniciações científicas pelo Programa Sem Bolsa (ISB)/UNESP da Pró Reitoria de Pesquisa, intituladas “Ocorrência de anticorpos anti-*Brucella* em suínos abatidos no Estado de São Paulo” e “Ocorrência de anticorpos anti-*Brucella* em suínos de criações não comerciais da região de Jaboticabal-SP”, ambas sob orientação do Prof. Dr. Luís Guilherme de Oliveira. Desenvolveu seu trabalho de Conclusão de Curso sob orientação da Profa. Dra. Mirela Tinucci Costa, recebendo grau de bacharel em Medicina Veterinária em fevereiro de 2019. Após formada, atuou como médica veterinária trainee e plantonista na área de Clínica Médica de Pequenos Animais na cidade de São Paulo – SP. No ano de 2022 ingressou no mestrado com foco em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da instituição em que se formou, sendo bolsista pelo Edital PROPG Nº 23/2022 – Inclusão Social de Jovens Talentos na Pós-Graduação da UNESP.

DEDICO

À minha avó, Elza Pereira Fortunato, que não está mais entre nós, mas sempre me incentivou a estudar e torceu pelo meu sucesso. Te amo, essa conquista é por você!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço ao meu pai, Celso, por todo o apoio que me deu nessa jornada e por sempre estar presente quando precisei. Também à minha mãe, Rita, por sempre me incentivar a estudar. Sem vocês nada disso seria possível.

Aos meus avós, que não estão mais aqui, mas suas lembranças sempre me deram força para continuar.

Ao meu namorado, Guilherme, por ter passado grande parte das coletas e análises do experimento ao meu lado, mesmo em feriados, madrugadas e finais de semana. Obrigada por não ter desistido de mim nos meus piores momentos.

Às minhas amigas, Letícia, Maria, Thaís, Carol, Ana Paula, Mariana e Stephanie, que me auxiliaram em diversos quesitos, estiveram comigo nos momentos de estresse e me ensinaram muitas coisas durante o mestrado.

A todos meus colegas de trabalho, que me ajudaram sempre que podiam e à minha aluna de iniciação científica, Maria Elídia, que esteve disponível para me auxiliar em diversos momentos.

Aos funcionários Elaine, Kelly, Diego e Cláudia, por todo o cuidado com os animais e paciência com os pós-graduandos, sem vocês o laboratório não funcionaria.

À Biorigin, por confiarem no meu trabalho e por fornecerem o auxílio financeiro para o projeto acontecer, e às empresas BRF Pet, BRF Ingredients e ADIMAX Pet pelo suporte financeiro ao Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos “Prof. Dr. Flávio Prada”, FCAV/UNESP Jaboticabal.

A todos os pets que tive durante a vida e que me guiaram ao caminho que estou agora: Saria, Lua, Cindy, Nick, Clara, Oliver, Aurora e Thor.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Aulus Carciofi, sempre muito paciente e disponível para me auxiliar no que fosse necessário.

E, finalmente, a todos os gatos do Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos da FCAV/UNESP que participaram deste projeto, além de todos os outros animais do local que são essenciais para as pesquisas e dão muito amor e suporte emocional para conseguir terminar esse processo.

SUMÁRIO

CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS	ii
RESUMO	iii
ABSTRACT	iv
LISTA DE TABELAS	v
CAPÍTULO 1	1
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
<i>O sistema imunológico</i>	3
<i>Nutrição e imunidade</i>	4
<i>O papel da microbiota intestinal na saúde</i>	5
<i>Prebióticos</i>	7
<i>Efeitos dos extratos de leveduras</i>	8
3. REFERÊNCIAS	10
CAPÍTULO 2	18
RESUMO	19
1. INTRODUÇÃO.....	20
2. MATERIAL E MÉTODOS	22
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4. CONCLUSÃO	34
5. REFERÊNCIAS	35

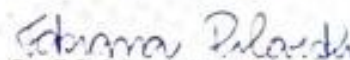
CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado "**Solubilidade da parede celular de *Saccharomyces cerevisiae* sobre seu efeito prebiótico em gatos**", protocolo nº 3074/22, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 15 de junho de 2022.

Vigência do Projeto	01/11/2022 a 01/07/2023
Espécie / Linhagem	Gatos / SRD
Nº de animais	40
Peso / Idade	~ 4kg / 1 a 6 anos
Sexo	Fêmeas e machos
Origem	Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais de Cães e Gatos "Prof. Dr. Flávio Prada"

Jaboticabal, 15 de junho de 2022.


Profª Drª Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA

SOLUBILIDADE DA PAREDE CELULAR DE *Saccharomyces cerevisiae* SOBRE SEU EFEITO PREBIÓTICO EM GATOS

RESUMO – Extratos de parede celular de levedura são estudados por seus efeitos prebióticos e diferentes processos para sua obtenção vêm sendo desenvolvidos, com vista a melhorar sua pureza e efeitos sobre a saúde do hospedeiro. O presente estudo visou avaliar os efeitos da suplementação de um extrato de parede celular de levedura, que possui alta porcentagem de mananoglicosacarídeos solúveis, na dieta de gatos adultos saudáveis. Para tal, uma formulação padrão foi empregada, desdobrada em quatro tratamentos, com as inclusões de 0%, 0.2%, 0.4% e 0.8% do devido extrato. Foram utilizados 32 gatos adultos saudáveis, com 8 repetições por tratamento e delineamento em blocos casualizados. Cada bloco teve duração de 2 meses (15 dias de washout + 30 dias experimentais + períodos de coleta), sendo avaliados no início e final do período experimental os seguintes parâmetros imunológicos: concentração sérica de 19 citocinas (TNF- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-8, IL-12, entre outras), concentração de imunoglobulina A (IgA) nas fezes e capacidade fagocítica de neutrófilos e monócitos. Adicionalmente, após 15 dias de adaptação às dietas, foram avaliados a digestibilidade aparente dos nutrientes e, ao final do período experimental, a produção e qualidade das fezes, produtos de fermentação microbiana (ácidos graxos de cadeia curta e ramificada, lactato, amônia), pH fecal e a composição da microbiota fecal. Todos os parâmetros foram submetidos a análise de variância, sendo que os parâmetros imunológicos foram analisados utilizando o tempo zero como covariável. Diferenças observadas no teste F foram submetidas à análise por contrastes polinomiais. Variáveis distribuídas de forma não paramétrica foram comparadas usando o teste de Kruskal-Wallis ($P < 0.05$). Não foram observadas diferenças na ingestão e no coeficiente de digestibilidade aparente dos nutrientes ($P > 0.05$). A umidade das fezes e o escore de condição fecal não diferiram entre os tratamentos ($P > 0.05$), mas o pH apresentou aumento quadrático ($P < 0.05$), com pico na dieta 0.4%. O lactato não diferiu entre os tratamentos ($P > 0.05$), mas o valor mais baixo foi observado na dieta 0.4%. Entre as citocinas, IL-18 e PDGF-BB apresentaram tendência ($P < 0.1$) quadrática, com menor valor na dieta 0.2%. A partir dos resultados parciais, conclui-se que o produto é seguro para gatos nas inclusões testadas, porém seus efeitos sobre a saúde intestinal e geral não estão bem esclarecidos. Novos resultados podem auxiliar a entender sua atuação sobre a espécie, porém existe a possibilidade de que a dose necessária para gerar efeitos em gatos seja mais alta do que as testadas neste estudo.

Palavras-chave: imunidade, levedura, microbiota

***Saccharomyces cerevisiae* CELL WALL SOLUBILITY ON ITS PREBIOTIC EFFECT IN CATS**

ABSTRACT – Yeast cell wall extracts are studied for their prebiotic effects and different processes for obtaining them have been developed, with a view to improving their purity and effects on the host's health. The present study aimed to evaluate the effects of supplementing a yeast cell wall extract, which has a high percentage of soluble mannan oligosaccharides, in the diet of healthy adult cats. To this end, a standard formulation was used, divided into four treatments, with the inclusions of 0%, 0.2%, 0.4% and 0.8% of the appropriate extract. 32 healthy adult cats were used, with 8 replications per treatment and a randomized block design. Each block lasted 2 months (15 days of washout + 30 experimental days + collection periods), with the following immunological parameters being evaluated at the beginning and end of the experimental period: serum concentration of 19 cytokines (TNF- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-8, IL-12, among others), concentration of immunoglobulin A (IgA) in feces and phagocytic capacity of neutrophils and monocytes. Additionally, after 15 days of adaptation to the diets, the apparent digestibility of nutrients and, at the end of the experimental period, the production and quality of feces, microbial fermentation products (short and branched chain fatty acids, lactate, ammonia), Fecal pH and the composition of the fecal microbiota. All parameters were submitted to analysis of variance, and immunological parameters were analyzed using time zero as a covariate. Differences observed in the F test were subjected to analysis using polynomial contrasts. Non-parametrically distributed variables were compared using the Kruskal-Wallis test ($P < 0.05$). No differences were observed in nutrient intake and apparent nutrient digestibility coefficient ($P > 0.05$). Fecal moisture and fecal condition score did not differ between treatments ($P > 0.05$), but pH showed a quadratic increase ($P < 0.05$), with a peak in the diet at 0.4%. Lactate did not differ between treatments ($P > 0.05$), but the lowest value was observed in the 0.4% diet. Among cytokines, IL-18 and PDGF-BB showed a quadratic trend ($P < 0.1$), with a lower value in the diet, 0.2%. From the partial results, it is concluded that the product is safe for cats in the inclusions tested, however its effects on intestinal and general health are not well understood. New results may help to understand its effect on the species, however there is the possibility that the dose necessary to generate effects in cats is higher than those tested in this study.

Keywords: immunity, yeast, microbiota

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Características do extrato de Parede Celular de *Saccharomyces cerevisiae* utilizado.....23
- Tabela 2.** Composição de ingredientes das dietas experimentais para gatos com diferentes inclusões de Parede Celular de Levedura Solúvel (PCLS).....24
- Tabela 3.** Composição química analisada e índice de gelatinização do amido das dietas experimentais com diferentes inclusões de Parede Celular de Levedura Solúvel (PCLS). Valores sobre a matéria seca.....30
- Tabela 4.** Peso corporal, ingestão de nutrientes sobre a matéria seca e Coeficientes de Digestibilidade Aparente dos Nutrientes das dietas experimentais para gatos com diferentes inclusões de Parede Celular de Levedura Solúvel.....31
- Tabela 5.** Características das fezes e concentração de produtos de fermentação nas fezes de gatos alimentados com diferentes inclusões de Parede Celular de Levedura Solúvel.....32
- Tabela 6.** Concentrações de citocinas no soro de gatos alimentados com diferentes inclusões de Parede Celular de Levedura Solúvel.....33

CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. INTRODUÇÃO

Cães e gatos ganharam uma posição especial na sociedade ao se tornarem nossos principais animais de companhia (Alessandri et al., 2020). Particularmente, a população de gatos do Brasil soma 33,6 milhões de indivíduos, configurando a segunda maior população da espécie no mundo. Além disso, seu crescimento acumulado entre os anos de 2021 e 2022 foi de 6,0%, praticamente o dobro do observado em cães (ABINPET, 2023). Tais números demonstram como os gatos vêm tomando importante espaço nos lares brasileiros, refletindo na busca de seus tutores por mais conhecimentos a respeito dos cuidados com a saúde, bem-estar e alimentação.

O aumento da demanda por produtos cada vez mais específicos, que atendam às exigências da espécie e deste nicho de mercado, leva ao desenvolvimento de estudos a respeito de nutrientes e ingredientes funcionais que promovam prevenção e, até mesmo, auxiliem no tratamento de doenças (Rocha, 2008), principalmente no que se refere à modulação do sistema imunológico (Zaine et al., 2014).

A inter-relação entre nutrição e imunidade é um dos pontos chave na nutrição moderna, e esclarecer os mecanismos de ação de novos ingredientes é importante para aplicação prática e promoção de maior qualidade de vida e longevidade a cães e gatos (Saad et al., 2015). Promover melhor saúde está diretamente relacionado à capacidade do sistema imunológico agir de forma eficaz, mediante adequado suporte nutricional, favorecendo a homeostasia do trato gastrointestinal para os processos de digestão, absorção dos nutrientes e defesa orgânica (Case et al., 2011).

Dentre as substâncias dietéticas empregadas para promover saúde, destacam-se os prebióticos, os quais podem ser definidos como compostos não digeridos pelo organismo do animal, mas que são seletivamente fermentados pelos microrganismos do trato gastrointestinal, conferindo benefícios à saúde do mesmo (Gibson et al., 2017). Tais produtos são conhecidos por modular positivamente a microbiota do cólon e inibir a multiplicação de microrganismos patogênicos (Saad, 2006).

Neste contexto, leveduras e seus extratos vêm sendo cada vez mais explorados. Os mananoligossacarídeos (MOS) e os β -glucanos, naturalmente presentes na parede celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, são largamente estudados em animais de produção e são conhecidos pela sua capacidade de modular o sistema imune, a população de bactérias e arquitetura do trato gastrointestinal (Lee et al., 2021; Perricone et al., 2022). Porém estudos a respeito das funções imunes associadas à suplementação de extratos da parede celular de levedura ainda são relativamente novos e pouco explorados em animais de companhia, principalmente em gatos.

Muitos diferentes processos estão sendo desenvolvidos para se obter melhor qualidade dos extratos de levedura, pois sua inclusão na dieta pode ter diferentes efeitos dependendo da fonte e da forma de extração, que afetam a quantidade de nutrientes e sua pureza (Calabrò et al., 2020). Seguindo esta tendência, um produto inovador à base de parede celular de leveduras foi desenvolvido, o qual apresenta maior solubilidade da camada de MOS, redução do tamanho das partículas e maior exposição do conteúdo de glucanas. Tal produto já foi testado em cães e apresentou efeitos moduladores da microbiota intestinal e imunológicos (Theodoro et al., 2019).

Em gatos, espera-se que o produto citado seja fermentado pela microbiota intestinal, alterando sua composição e produtos de fermentação e, conseqüentemente, modificando aspectos inflamatórios e imunológicos do hospedeiro. Seu estudo em animais saudáveis pode possibilitar uma padronização das respostas biológicas ao produto, viabilizando posterior avaliação de seu uso em animais doentes.

Visando encontrar soluções tecnológicas para a melhora da saúde e qualidade de vida dos gatos, o presente estudo avaliou os efeitos do uso, em dieta seca extrusada, do produto acima citado, um extrato da parede celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae* com elevada solubilidade de mananoligossacarídeos, nas inclusões de 0%, 0,2%, 0,4% e 0,8%, sobre a digestibilidade aparente dos nutrientes, microbiota fecal, produtos de fermentação microbiana, pH fecal, características das fezes, concentração de imunoglobulina A nas fezes, fagocitose de neutrófilos e monócitos e atividade de 19 diferentes citocinas sanguíneas de gatos adultos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

O sistema imunológico

O sistema imunológico é um sistema complexo que é definido como a defesa do hospedeiro contra forças destrutivas externas (vírus, parasitas e bactérias) e internas (células cancerosas e autorreativas) do corpo. As respostas imunes são geralmente classificadas como inespecíficas (inata ou natural) e específicas (adaptativa ou adquirida) (Schley e Field, 2002).

A imunidade inata promove proteção contra microrganismos invasores sem a necessidade de exposição anterior aos antígenos. Ela inclui barreiras físicas, barreiras mediadas por células e outros componentes moleculares (Schley e Field, 2002). Podemos citar a pele e membranas mucosas como barreira física, já as células fagocíticas, inflamatórias, dendríticas e natural killer como barreira mediada por células, e as citocinas, sistema complemento e proteínas de fase aguda como outros componentes moleculares (Delves e Roitt, 2000).

Dentre as barreiras mediadas por células, o processo de fagocitose tem importante papel, o qual consiste na ingestão e destruição de partículas estranhas (bactérias, parasitas, imunocomplexos, células apoptóticas e debris celulares) por células como macrófagos e neutrófilos (Underhill e Ozinsky, 2002). Já outros mediadores solúveis, como as citocinas, regulam as respostas do hospedeiro à infecção, inflamação e traumas. Tais citocinas podem ser pró-inflamatórias e anti-inflamatórias, as primeiras agem induzindo febre, inflamação e danos teciduais e as segundas agem reduzindo a inflamação e promovendo cicatrização (Dinarello, 2000).

Respostas imunológicas adquiridas envolvem a proliferação de células B e T específicas do antígeno. Células apresentadoras de antígeno exibem o antígeno aos linfócitos e colaboram junto a eles na resposta ao antígeno. As células B secretam imunoglobulinas, anticorpos específicos do antígeno que são responsáveis pela eliminação de microrganismos extracelulares. As células T as auxiliam na produção anticorpos ativando macrófagos e matando células infectadas por vírus. Em geral, as respostas inatas e adquiridas trabalham juntas para a eliminação de patógenos (Delves e Roitt, 2000).

Nutrição e imunidade

Os conceitos de nutrição e saúde estão altamente interligados, pois a nutrição desempenha um papel essencial na regulação da resposta imunológica ideal, fornecendo nutrientes adequados em concentrações suficientes às células imunológicas. Desta forma, o sistema imunológico pode iniciar respostas eficazes contra patógenos. Mecanismos inflamatórios que compõem a imunidade inata são fortemente influenciados pela nutrição, e esta interação, quando perturbada, pode levar ao aparecimento de doenças (Munteanu e Schwartz, 2022).

O intestino é considerado a primeira linha de defesa do organismo ao meio ambiente, pois sua mucosa fica exposta a uma variedade de antígenos dietéticos e de microrganismos (Fonseca e Costa, 2010). Sendo assim, integra complexas interações entre dieta, patógenos e processos imunológicos e não imunológicos locais, devendo manter um equilíbrio entre respostas imunes protetoras a potenciais patógenos, ao mesmo tempo que minimiza reações de hipersensibilidade a antígenos da dieta (Stokes & Waly, 2006).

A função imune do órgão depende da própria barreira intestinal, do tecido linfoide associado ao intestino (GALT – “*gut-associated lymphoid tissues*”) e da sua população de microrganismos, denominada microbiota intestinal. O GALT se localiza nas Placas de Peyer, nos linfonodos mesentéricos, na lâmina própria e na superfície epitelial (Fonseca e Costa, 2010). Na lâmina própria, plasmócitos são responsáveis pela secreção de Imunoglobulina A (IgA), a qual neutraliza as toxinas da superfície da mucosa, bloqueia a aderência de bactérias no epitélio e reduz a penetração invasiva de antígenos através da mucosa, servindo como um importante mecanismo de proteção (Suzuki et al., 2010).

Assim como ocorre com a maioria dos outros mamíferos, a IgA no gato é a imunoglobulina predominante em secreções mucosas. É encontrada em grandes quantidades nas lágrimas, saliva, secreções intestinais, respiratórias, leite e bile. As células produtoras de IgA representam até 80% do número total de células plasmáticas da lâmina própria do intestino delgado. Apesar disso, células produtoras de IgG são mais numerosas nos tecidos do cólon (Stokes e Waly, 2006).

O papel da microbiota intestinal na saúde

Cada vez mais estudos demonstram que a microbiota intestinal desempenha um papel vital no sistema imunológico do hospedeiro, enquanto o hospedeiro também protege essa microbiota de interferências (Tizard e Jones, 2018; Wernimont et al., 2020; Yao et al., 2022). A relação entre ambos é considerada simbiótica, pois o primeiro fornece um ambiente rico em nutrientes e o segundo desempenha funções e produz metabólitos, que de outra forma seriam limitados ou inacessíveis ao hospedeiro (Honneffer et al., 2017). Por conta disso, nos últimos tempos, o interesse em avaliar o impacto da microbiota intestinal na saúde de animais de companhia vem crescendo (Alessandri et al., 2020).

Os microrganismos presentes no cólon são capazes de fermentar os substratos dietéticos não digeridos pelo hospedeiro e, a partir disto, proporcionam suporte nutricional para colonócitos, atuam como barreira de defesa contra patógenos invasores, auxiliam na digestão e desempenham papel no desenvolvimento do sistema imunológico. Como resultado do processo fermentativo, tem-se a produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), como acetato, propionato e butirato. Tal produção acidifica o pH intestinal, colaborando para impedir o crescimento de patógenos entéricos e mantendo, assim, a microbiota saudável (Suchodolski, 2011).

Os AGCC afetam os níveis de lipídios e glicose no sangue do hospedeiro e servem como fonte de energia para certas células, também podem regular o ambiente do cólon, o metabolismo, a função imunológica, a proliferação e apoptose de células tumorais e a inflamação, modulando a expressão de citocinas (Yao et al., 2022). O butirato tem ações fisiológicas importantes regulando o desenvolvimento, barreira física e estrutura da mucosa intestinal (Theodoro et al., 2019). Além disso, ele também é conhecido por regular a diferenciação de células T e B e a participação de macrófagos, neutrófilos e células dendríticas sobre o sistema imunológico (Yao et al., 2022).

Além disso, a microbiota intestinal está envolvida na produção de diferentes tipos de peptídeos antibacterianos, como bacteriocinas, e na regulação da produção

de mucina intestinal pelas células caliciformes, que regulam ainda mais a adesão bacteriana às células epiteliais (Azad et al., 2020).

A microbiota intestinal do gato evoluiu com uma dieta carnívora, portanto, a espécie não depende da microbiota para manter o equilíbrio energético. Como carnívoros obrigatórios, gatos domésticos dependem de uma dieta rica em proteínas. Seus filos predominantes de bactérias incluem *Firmicutes* (68%), *Proteobacteria* (14%), *Bacteroidetes* (10%), *Fusobacteria* (5%) e *Actinobacteria* (4%) (Deng e Swanson, 2015).

Quando há um desequilíbrio e alteração das funções da microbiota intestinal ocorre a chamada disbiose, a qual está associada a algumas doenças, como enteropatias crônicas, obesidade, dermatite atópica, diabetes mellitus, entre outras (Tizard e Jones, 2018). Entretanto, relação de causa e efeito ainda não foi comprovada, podendo a disbiose ser tanto uma consequência da doença quanto sua causa (Pilla e Suchodolski, 2021). Sabe-se que o uso de antimicrobianos está relacionado à ocorrência de disbiose (Konstantinidis et al., 2020). Tal distúrbio no equilíbrio da microbiota intestinal pode induzir a mudanças na produção de mucina, citocinas e peptídeos antimicrobianos pelas células epiteliais intestinais, levando ao enfraquecimento da barreira intestinal (Duan et al., 2022).

Portanto, a modulação da microbiota intestinal se tornou uma técnica importante para melhorar a saúde do hospedeiro, proteger contra infecções e doenças e produzir vitaminas e energia importantes, desempenhando papel crucial nas redes reguladoras fisiológicas (Azad et al., 2020).

Variações na quantidade de carboidratos, proteínas e gorduras fornecidas na dieta podem ter um impacto significativo na microbiota intestinal, porém não é toda intervenção nutricional que resulta em mudanças na composição da mesma (Wernimont et al., 2020). Por conta disso, nas últimas décadas, diferentes estratégias nutricionais vêm sendo estudadas com o objetivo de avaliar suas respostas sobre a atividade dessas bactérias. Estudos com prebióticos, probióticos e transplante de microbiota fecal demonstraram potencial significativo para modular a microbiota intestinal em humanos e animais (Azad et al., 2020)

Prebióticos

De acordo com o consenso mais recente, o termo prebiótico é definido como “substrato que é seletivamente fermentado pela microbiota intestinal do hospedeiro e que confere benefícios à saúde do mesmo”. Tal definição expande o conceito de prebiótico de forma a englobar qualquer substância que esteja disponível para fermentação pelo microbioma intestinal, como carboidratos, proteínas, aminoácidos, gorduras e polifenóis (Gibson et al., 2017). Entretanto, os carboidratos não digeríveis são as moléculas mais estudadas nesse quesito, tanto na nutrição humana quanto animal (Mohanty et al., 2018; Rentas et al., 2020; Wan et al., 2018).

A fibra dietética inclui uma variedade de carboidratos não digeríveis e, apesar de não se enquadrar como nutriente essencial na alimentação de gatos, possui importantes funções metabólicas e auxilia no bom funcionamento do trato gastrointestinal (Moreno et al., 2022). Estudos em humanos e outros modelos animais já comprovaram seus efeitos benéficos para diversas condições, como regulação do tempo de trânsito intestinal (Lewis et al., 1994), controle glicêmico (Graham et al., 2002; Mao et al., 2021), controle de bolas de pelos em gatos (Miltenburg et al., 2021), modulação da microbiota intestinal (Grieshop et al., 2004), entre outras.

As propriedades físicas e químicas da fibra, incluindo tamanho de partícula e volume aparente, características da área superficial e propriedades de hidratação determinam a acessibilidade da fibra à degradação microbiana, bem como seus efeitos fisiológicos (Dhingra et al., 2012). Parte dos efeitos positivos da fibra dietética estão justamente relacionados à fermentação de seus componentes, que impactam no peristaltismo intestinal, no pH do cólon e na produção de subprodutos com importantes funções fisiológicas (DeVries, 2003).

Exemplos de fibras com funções prebióticas incluem: fruto-oligossacarídeos (FOS), galacto-oligosacarídeos (GOS), xilo-oligossacarídeos (XOS), manano-oligosacarídeos (MOS), inulina, pectina e amido resistente (Gibson et al., 2017; Mohanty et al., 2018). Tais prebióticos já demonstraram seu papel na modulação da microbiota intestinal, enriquecendo as populações de *Lactobacillus* spp. e *Bifidobacterium* spp. enquanto diminuem as de *Bacteroides* spp., *Clostridium* spp. e *Escherichia coli* (Azad et al., 2020).

A administração de uma dieta à base de FOS (4%) ou pectina (4%) a gatos demonstrou causar um aumento na abundância relativa do gênero *Bifidobacterium* e do gênero *Lactobacillus*, respectivamente, quando comparada à dieta controle (4% de celulose). Além disso, a concentração total de AGCC foi maior nas amostras fecais de gatos tratados quando comparada ao controle (Barry et al., 2010).

Foi demonstrado que prebióticos aumentam a integridade da mucosa intestinal, aumentando a altura das vilosidades e a liberação de mucina e da composição do biofilme da mucosa, além de afetar positivamente a funcionalidade do sistema imunológico, alterando a expressão de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias. Portanto, a modulação da microbiota intestinal também pode afetar as condições fisiológicas e a saúde intestinal do hospedeiro (Azad et al., 2020).

Neste contexto, extratos da levedura *Saccharomyces cerevisiae* vêm sendo cada vez mais explorados, pois sua parede celular é formada principalmente por mananoligossacarídeos (MOS), β -1,3-glucanas, β -1,6-glucanas, complexos de glicoproteínas e, em menor quantidade, por quitina (Fathima et al., 2023). Os MOS e os β -glucanos são vistos como as principais moléculas bioativas responsáveis por gerar benefícios à saúde do hospedeiro (Maturana et al., 2023).

Efeitos dos extratos de leveduras

Os MOS e β -glucanos de leveduras são largamente estudados em animais de produção (Saad et al., 2015). Com relação aos efeitos do MOS sobre a produção de citocinas, o estudo de Che et al. (2012) avaliou que sua suplementação na dieta de suínos experimentalmente infectados com o vírus da síndrome respiratória e reprodutiva resultou em maiores concentrações séricas de IL-1 β e IL-12, sugerindo seu papel na promoção da resposta imune inata e mediada por células T. Já em leitões desmamados, Lee et al. (2021) verificaram que a inclusão de um produto de parede celular de levedura na dieta resultou em aumento das vilosidades intestinais, diminuição das citocinas pró-inflamatórias TNF- α e IL-1 e maior expressão de genes ileais de INF- γ e IL-6.

Em tilápias do Nilo, a suplementação de níveis crescentes de β -glucanos e MOS foi responsável por promover maior crescimento corporal e respostas imunes

mais eficientes, marcadas por aumento da atividade fagocítica e redução da concentração sanguínea de citocinas pró-inflamatórias, com efeito dose-dependente (Abu-Elala et al., 2018).

Foi observado em frangos de corte que a suplementação de um produto a base de parede celular de levedura resultou em aumento das vilosidades intestinais, da densidade de células calciformes e de enzimas digestivas, além de diminuir a expressão de citocinas pró-inflamatórias IL-1 β , IL-12 e 1L-18 (McCaffrey et al., 2021).

Em estudo realizado com cães adultos e idosos, Kroll et al. (2020) testaram uma suplementação de frações ativas de manano-proteínas derivadas de parede celular de levedura, comparada a um controle, e obtiveram como resultado uma tendência a maior atividade fagocítica nos animais suplementados, mas não encontraram diferenças na concentração fecal de IgA.

O estudo de Theodoro et al. (2019), que comparou uma preparação de parede celular de levedura solúvel a uma parede celular de levedura convencional e uma dieta controle, chegou a resultados promissores em cães, nos quais a preparação solúvel refletiu em alterações no metabolismo da microbiota, com aumento da produção de butirato e putrescina e redução da resposta inflamatória pela diminuição dos níveis sanguíneos de IL-6, enquanto a preparação convencional gerou uma resposta diferente, evidenciada por maior atividade fagocítica de neutrófilos e monócitos, levando a concluir que ambas as preparações interagem com a microbiota e geram efeitos biológicos na espécie.

A utilização destes extratos na alimentação de gatos é mais restrita. Resultados para a espécie são escassos e são citados a seguir. Um estudo *in vitro*, utilizando fezes de gatos como inóculo, testou produtos de parede celular de levedura obtidos a partir de três diferentes processos fermentativos (alcoólico, cervejeiro e panificador) e obteve como resultado que o substrato alcoólico apresentou a maior taxa de fermentação, afetando todos os AGCC, já o substrato cervejeiro apresentou maior produção de acetato e butirato, enquanto o substrato de panificação apresentou maior produção de valerato, iso-butilato e iso-valerato, produtos finais menos desejáveis. Como conclusão, o substrato cervejeiro aparentou ser mais adequado como prebiótico para a espécie felina, por conta da alta fermentabilidade e produtos de fermentação mais desejáveis (Calabró et al., 2020).

No estudo de Matheus et al. (2021), a inclusão de um pós-biótico de *Saccharomyces cerevisiae* na dieta de gatos levou a aumento na produção de lactato, diminuição na produção de ácido iso-valérico e redução da população de *Clostridium perfringes* nas fezes, porém não observaram diferenças nos parâmetros imunológicos avaliados, em comparação a uma dieta controle.

Já em um estudo que utilizou dietas com níveis crescentes de um extrato seco de parede celular de levedura demonstraram redução linear de *Clostridium perfringes*, redução quadrática de *E. coli* e aumento linear de *Bifidobacterium spp* e *Lactobacillus spp.*, além de aumento linear nas quantidades de butirato, valerato, aminas biogênicas, putrescina, cadaverina e histamina nas fezes de gatos (Santos et al., 2018).

Portanto, estudos a respeito das funções imunes associadas à suplementação de extratos da parede celular de levedura ainda são relativamente novos e pouco explorados em animais de companhia, principalmente em gatos. Resultados acerca da composição da microbiota intestinal e de seus produtos de fermentação geram conhecimentos a nível local, porém são necessárias mais pesquisas que relacionem estes achados a alterações na saúde geral dos animais, que promovam impacto na longevidade e qualidade de vida.

3. REFERÊNCIAS

ABINPET (2023) **Mercado Pet Brasil**. Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação, p. 11. Disponível em: <https://abinpet.org.br/wp-content/uploads/2023/07/abinpet_folder_dados_mercado_2023_draft5.pdf>. Acesso em: 01 fev. 2024.

Abu-Elala NM, Younis NA, AbuBakr HO, Ragaa NM, Borges LL, Bonato MA (2018) Efficacy of dietary yeast cell wall supplementation on the nutrition and immune response of Nile tilapia. **The Egyptian Journal of Aquatic Research**, 44(4):333–341. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2018.11.001>

Alessandri G, Argentini C, Milani C, Turrone F, Cristina Ossiprandi M, van Sinderen D, Ventura, M (2020) Catching a glimpse of the bacterial gut community of companion animals: a canine and feline perspective. **Microbial Biotechnology**, 13(6):1708–1732. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13656>

Azad MAK, Gao J, Ma J, Li T, Tan B, Huang X, Yin J (2020) Opportunities of prebiotics for the intestinal health of monogastric animals. **Animal Nutrition**, 6(4):379–388. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2020.08.001>

Barry KA, Wojcicki BJ, Middelbos IS, Vester BM, Swanson KS, Fahey, GC (2010) Dietary cellulose, fructooligosaccharides, and pectin modify fecal protein catabolites and microbial populations in adult cats. **Journal of Animal Science**, 88(9):2978–2987. <https://doi.org/10.2527/jas.2009-2464>

Calabrò S, Musco N, Roberti F, Vastolo A, Coppola M, Esposito L, Cutrignelli MI (2020) Fermentability characteristics of different *Saccharomyces cerevisiae* cell wall using cat faeces as inoculum. **Italian Journal of Animal Science**, 19(1):186–193. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2019.1710727>

Case LP, Daristotle L, Hayek MG, Raasch MF (2011) Digestion and Absorption. Em: **Canine and Feline Nutrition: A Resource for Companion Animal Professionals**, 3rd Edition, Elsevier Health Sciences, p. 45-53.

Delves PJ, Roitt IM (2000) The Immune System. **New England Journal of Medicine**, 343(1):37–49. <https://doi.org/10.1056/NEJM200007063430107>

Deng P, Swanson KS (2015) Gut microbiota of humans, dogs and cats: current knowledge and future opportunities and challenges. **British Journal of Nutrition**, 113:6–17. <https://doi.org/10.1017/S0007114514002943>

DeVries JW (2003) On defining dietary fibre. **Proceedings of the Nutrition Society**, 62(1):37–43. <https://doi.org/10.1079/PNS2002234>

Dhingra D, Michael M, Rajput H, Patil RT (2012) Dietary fibre in foods: a review. **Journal of Food Science and Technology**, 49(3):255–266. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0365-5>

Dinarello CA (2000) Proinflammatory Cytokines. **Chest**, 118(2):503–508. <https://doi.org/10.1378/chest.118.2.503>

Duan H, Yu L, Tian F, Zhai Q, Fan L, Chen W (2022) Antibiotic-induced gut dysbiosis and barrier disruption and the potential protective strategies. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 62(6):1427–1452. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1843396>

Fathima S, Shanmugasundaram R, Sifri M, Selvaraj R (2023) Yeasts and yeast-based products in poultry nutrition. **Journal of Applied Poultry Research**, 32(2):100345. <https://doi.org/10.1016/j.japr.2023.100345>

Fonseca FCP, Costa CL (2010) Influência da nutrição sobre o sistema imune intestinal. *Ceres: nutrição & saúde*, 5(3):163-174.

Gibson GR, Hutkins R, Sanders ME, Prescott SL, Reimer RA, Salminen SJ, Scott K, Stanton C, Swanson KS, Cani PD, Verbeke K, Reid G (2017) Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, 14(8):491–502. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.75>

Graham PA, Maskell IE, Rawlings JM, Nash AS, Markwell, PJ (2002) Influence of a high fibre diet on glycaemic control and quality of life in dogs with diabetes mellitus. **Journal of Small Animal Practice**, 43(2):67–73. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2002.tb00031.x>

Grieshop C, Flickinger E, Bruce K, Patil A, Czarnecki-Maulden G, Fahey G (2004) Gastrointestinal and immunological responses of senior dogs to chicory and mannan-oligosaccharides. **Archives of Animal Nutrition**, 58(6):483–494. <https://doi.org/10.1080/00039420400019977>

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

Konstantinidis T, Tsigalou C, Karvelas A, Stavropoulou E, Voidarou C, Bezirtzoglou E (2020) Effects of Antibiotics upon the Gut Microbiome: A Review of the Literature. **Biomedicines**, 8(11):502. <https://doi.org/10.3390/biomedicines8110502>

Kroll FSA, Putarov TC, Zaine L, Venturini KS, Aoki CG, Santos JPF, Pedrinelli V, Vendramini, THA, Brunetto MA, Carciofi AC (2020) Active fractions of mannoproteins derived from yeast cell wall stimulate innate and acquired immunity of adult and elderly dogs. **Animal Feed Science and Technology**, 261:114392. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114392>

Lee JJ, Kyoung H, Cho JH, Choe J, Kim Y, Liu Y, Kang J, Lee H, Kim HB, Song M (2021) Dietary Yeast Cell Wall Improves Growth Performance and Prevents of Diarrhea of Weaned Pigs by Enhancing Gut Health and Anti-Inflammatory Immune Responses. **Animals**, 11(8):2269. <https://doi.org/10.3390/ani11082269>

Lewis LD, Magerkurth JH, Roudebush P, Morris ML, Mitchell EE, Teeter SM (1994) Stool Characteristics, Gastrointestinal Transit Time and Nutrient Digestibility in Dogs Fed Different Fiber Sources. **The Journal of Nutrition**, 124:2716-2718. https://doi.org/10.1093/jn/124.suppl_12.2716S

Mao T, Huang F, Zhu X, Wei D, Chen L (2021) Effects of dietary fiber on glycemic control and insulin sensitivity in patients with type 2 diabetes: A systematic review and

meta-analysis. **Journal of Functional Foods**, 82:104500.
<https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104500>

Matheus LFO, Risolia LW, Ernandes MC, de Souza JM, Oba PM, Vendramini THA, Pedrinelli V, Henríquez LBF, Massoco CO, Pontieri CFF, Brunetto MA (2021) Effects of *Saccharomyces cerevisiae* cell wall addition on feed digestibility, fecal fermentation and microbiota and immunological parameters in adult cats. **BMC Veterinary Research**, 17(1):351. <https://doi.org/10.1186/s12917-021-03049-8>

Maturana M, Castillejos L, Martin-Orue SM, Minel A, Chetty O, Felix AP, Adib Lesaux A (2023) Potential benefits of yeast *Saccharomyces* and their derivatives in dogs and cats: a review. **Frontiers in Veterinary Science**, 10.
<https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1279506>

McCaffrey C, Corrigan A, Moynagh P, Murphy R (2021) Effect of yeast cell wall supplementation on intestinal integrity, digestive enzyme activity and immune traits of broilers. **British Poultry Science**, 62(5):771–782.
<https://doi.org/10.1080/00071668.2021.1929070>

Miltenburg TZ, Peralta RM, Oliveira CAL de, Janeiro V, Pereira EQ, Nicolau JT de S, Ribeiro LB, Vasconcellos RS (2021) Effects of combined use of keratinolytic enzymes and sugarcane fibre on the hairball excretion in cats. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, 105(2):129–137. <https://doi.org/10.1111/jpn.13177>

Mohanty D, Misra S, Mohapatra S, Sahu PS (2018) Prebiotics and synbiotics: Recent concepts in nutrition. **Food Bioscience**, 26:152–160.
<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2018.10.008>

Moreno AA, Parker VJ, Winston JA, Rudinsky AJ (2022) Dietary fiber aids in the management of canine and feline gastrointestinal disease. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, 260(3):33–45.
<https://doi.org/10.2460/javma.22.08.0351>

Munteanu C, Schwartz B (2022) The relationship between nutrition and the immune system. **Frontiers in Nutrition**, 9. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1082500>

Perricone V, Sandrini S, Irshad N, Savoini G, Comi M, Agazzi A (2022) Yeast-Derived Products: The Role of Hydrolyzed Yeast and Yeast Culture in Poultry Nutrition—A Review. **Animals**, 12(11):1426. <https://doi.org/10.3390/ani12111426>

Pilla R, Suchodolski JS (2021) The Gut Microbiome of Dogs and Cats, and the Influence of Diet. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, 51(3):605–621. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2021.01.002>

Rentas MF, Pedreira RS, Perini MP, Risolia LW, Zafalon RVA, Alvarenga IC, Vendramini THA, Balieiro JCC, Pontieri CFF, Brunetto, MA (2020) Galactoligosaccharide and a prebiotic blend improve colonic health and immunity of adult dogs. **PLOS ONE**, 15(8):e0238006. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238006>

Rocha, MA (2008) Biotecnologia na nutrição de cães e gatos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 37(spe), 42–48. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982008001300006>

Saad FM de OB, Ferreira LG, Zangeronimo MG, Saad CE do P (2015) Nutrição e imunidade em animais de companhia. **Caderno de Ciências Agrárias**, 7:22–40. <https://periodicos.ufmg.br/index.php/ccaufmg/article/view/2813>

Saad SMI (2006) Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, 42(1):1–16. <https://doi.org/10.1590/S1516-93322006000100002>

Santos JPF, Aquino AA, Glória MBA, Avila-Campos MJ, Oba PM, Santos K de M, Vendramini THA, Carciofi AC, Junior AR, Brunetto MA (2018) Effects of dietary yeast cell wall on faecal bacteria and fermentation products in adult cats. **Journal of Animal**

Physiology and Animal Nutrition, 102(4):1091–1101.
<https://doi.org/10.1111/jpn.12918>

Schley PD, Field CJ (2002) The immune-enhancing effects of dietary fibres and prebiotics. **British Journal of Nutrition**, 87(6):221–230.
<https://doi.org/10.1079/BJNBJN/2002541>

Stokes C, Waly N (2006) Mucosal defence along the gastrointestinal tract of cats and dogs. **Veterinary Research**, 37(3):281–293. <https://doi.org/10.1051/vetres:2006015>

Suchodolski JS (2011) COMPANION ANIMALS SYMPOSIUM: Microbes and gastrointestinal health of dogs and cats1. **Journal of Animal Science**, 89(5):1520–1530. <https://doi.org/10.2527/jas.2010-3377>

Suzuki K, Kawamoto S, Maruya M, Fagarasan S (2010) GALT: Organization and Dynamics Leading to IgA Synthesis. Em: **Advances in Immunology**, 107:153–185.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381300-8.00006-X>

Theodoro S de S, Putarov TC, Tiemi C, Volpe LM, de Oliveira, CAF, Glória MB de A, Carciofi AC (2019) Effects of the solubility of yeast cell wall preparations on their potential prebiotic properties in dogs. **PLOS ONE**, 14(11):e0225659.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0225659>

Tizard IR, Jones SW (2018) The Microbiota Regulates Immunity and Immunologic Diseases in Dogs and Cats. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, 48(2):307–322. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2017.10.008>

Underhill DM, Ozinsky A (2002) Phagocytosis of Microbes: Complexity in Action. **Annual Review of Immunology**, 20(1):825–852.
<https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.20.103001.114744>

Wan J, Zhang J, Chen D, Yu B, Huang Z, Mao X, Zheng P, Yu J, He J (2018) Alginate oligosaccharide enhances intestinal integrity of weaned pigs through altering intestinal inflammatory responses and antioxidant status. **RSC Advances**, 8(24):13482–13492. <https://doi.org/10.1039/C8RA01943F>

Wernimont SM, Radosevich J, Jackson MI, Ephraim E, Badri DV, MacLeay JM, Jewell DE, Suchodolski JS (2020) The Effects of Nutrition on the Gastrointestinal Microbiome of Cats and Dogs: Impact on Health and Disease. **Frontiers in Microbiology**, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01266>

Yao Y, Cai X, Fei W, Ye Y, Zhao M, Zheng C (2022) The role of short-chain fatty acids in immunity, inflammation and metabolism. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 62(1):1–12. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1854675>

Zaine L, Monti M, Vasconcellos RS, Carciofi AC (2014) Nutracêuticos imunomoduladores com potencial uso clínico para cães e gatos. **Semina: Ciências Agrárias**, 35:2513. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2014v35n4Suplp2513>

CAPÍTULO 2 – EFEITO PREBIÓTICO EM GATOS DE EXTRATO SOLÚVEL DA PAREDE CELULAR DE *Saccharomyces cerevisiae*¹

Paloma Ricardo^a, Stephanie de Souza Theodoro^a, Thaís de Souza Ávida^a, Ana Paula Garcia Gonçalves^a, Carolina Oliveira^a, Lucas Bassi Scarpim^a, Mariana Gilbert Pescuma^a, Maria Elídia Natálio^a, Aulus Cavalieri Carciofi^{a*}.

^aUniversidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, Jaboticabal, SP, 14884-900, Brazil.

***Corresponding author.**

Prof. Aulus Cavalieri Carciofi. Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, SP, 14884-900, Brazil.

Email address: aulus.carciofi@unesp.br (A.C. Carciofi)

¹Escrito nas normas da revista Animal Feed Science and Technology

RESUMO

O presente estudo visou avaliar os efeitos da suplementação de um extrato de parede celular de levedura, que possui alta porcentagem de mananligossacarídeos solúveis, na dieta de gatos adultos saudáveis. Uma formulação padrão foi empregada, desdobrada em quatro tratamentos, com as inclusões de 0%, 0.2%, 0.4% e 0.8% do devido extrato. Foram utilizados 32 gatos, com 8 repetições por tratamento, em delineamento em blocos casualizados. Cada bloco teve duração de 45 dias (15 dias de washout + 30 dias experimentais), sendo avaliados no início e final do período experimental os seguintes parâmetros imunológicos: concentração sérica de 19 citocinas, concentração de imunoglobulina A (IgA) nas fezes e capacidade fagocítica de neutrófilos e monócitos. Adicionalmente, após 15 dias de adaptação às dietas, foram avaliados a digestibilidade aparente dos nutrientes e, ao final do período experimental, a produção e qualidade das fezes, produtos de fermentação microbiana (ácidos graxos de cadeia curta e ramificada, lactato, amônia), pH fecal e a composição da microbiota fecal. Todos os parâmetros foram submetidos a análise de variância, sendo que os parâmetros imunológicos foram analisados utilizando o tempo zero como covariável. Diferenças observadas no teste F foram submetidas à análise por contrastes polinomiais. Não foram observadas diferenças na ingestão e no coeficiente de digestibilidade aparente dos nutrientes ($P>0.05$). A umidade das fezes e o escore de condição fecal não diferiu entre os tratamentos ($P>0.05$), mas o pH apresentou aumento quadrático ($P<0.05$), com pico na dieta 0.4%. O lactato não diferiu entre os tratamentos ($P>0.05$), mas o valor mais baixo foi observado na dieta 0.4%. Entre as citocinas, IL-18 e PDGF-BB apresentaram tendência ($P<0.1$) quadrática, com menor valor na dieta 0.2%. A partir dos resultados parciais, conclui-se que o produto é seguro para gatos nas inclusões testadas, porém seus efeitos sobre a saúde intestinal e geral não estão bem esclarecidos. Novos resultados podem auxiliar a entender sua atuação sobre a espécie, porém existe a possibilidade de que a dose necessária para gerar efeitos em gatos seja mais alta do que as testadas neste estudo.

Palavras-chave: imunidade, levedura, microbiota

1. INTRODUÇÃO

A inter-relação entre nutrição e imunidade é um dos pontos chave na nutrição moderna, e esclarecer os mecanismos de ação de novos ingredientes é importante para aplicação prática e promoção de maior qualidade de vida e longevidade a cães e gatos (Saad et al., 2015). O intestino é considerado a primeira linha de defesa do organismo ao meio ambiente e integra interações complexas entre dieta, patógenos externos e processos imunológicos e não imunológicos locais. É essencial que respostas imunes protetoras sejam feitas a patógenos potenciais, ao mesmo tempo que reações de hipersensibilidade a antígenos dietéticos sejam minimizadas (Schley e Field, 2002).

A microbiota intestinal é capaz de fermentar substratos dietéticos não digeridos pelo hospedeiro e, a partir disto, proporciona suporte nutricional para colonócitos, atua como barreira de defesa contra patógenos invasores, auxilia na digestão e desempenha papel no desenvolvimento do sistema imunológico. Como resultado do processo fermentativo, tem-se a produção de ácidos graxos de cadeia curta, como acetato, propionato e butirato. Tal produção colabora para impedir o crescimento de patógenos entéricos devido a acidificação do pH intestinal, mantendo, assim, a microbiota saudável (Suchodolski, 2011). Além disso, o butirato tem ações fisiológicas importantes regulando o desenvolvimento, barreira física e estrutura da mucosa intestinal (Theodoro et al., 2019).

Ocorre efeito simbiótico entre hospedeiro e microbiota benéfica, pois o primeiro fornece um ambiente rico em nutrientes e o segundo desempenha funções e produz metabólitos, que de outra forma seriam limitados ou inacessíveis ao hospedeiro (Honneffer et al., 2017). Por conta disso, nos últimos tempos, o interesse em avaliar o impacto da microbiota intestinal na saúde canina e felina vem crescendo (Alessandri et al., 2020).

Dentre as substâncias dietéticas empregadas para promover saúde, destacam-se os prebióticos. Estes podem ser definidos como substratos que são seletivamente fermentados pelos microrganismos do trato gastrointestinal do hospedeiro, conferindo benefícios à saúde do mesmo (Gibson et al., 2017). Tais produtos são conhecidos por modular positivamente a microbiota do cólon e inibir a multiplicação de

microrganismos patogênicos (Saad, 2006). Os prebióticos mais estudados para seres humanos e animais são da classe dos carboidratos, chamados oligossacarídeos não digeríveis, como os fruto-oligossacarídeos (FOS), galacto-oligossacarídeos (GOS), mananoligossacarídeos (MOS) e xilo-oligossacarídeos (XOS) (Gibson et al., 2017).

Neste contexto, leveduras e seus extratos vêm sendo cada vez mais explorados. A parede celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae* é formada principalmente por mananoligossacarídeos (MOS), β -1,3-glucanas, β -1,6-glucanas, complexos de glicoproteínas e, em menor quantidade, por quitina (Fathima et al., 2023).

Os MOS e β -glucanos são largamente estudados em animais de produção e são conhecidos pela sua capacidade de modular o sistema imune, a população de bactérias e arquitetura do trato gastrointestinal (Lee et al., 2021; Perricone et al., 2022). Porém estudos a respeito das funções imunes associadas à suplementação de extratos da parede celular de levedura ainda são relativamente novos e pouco explorados em animais de companhia, principalmente em gatos.

Após pesquisas, um novo produto comercial à base de parede celular de leveduras foi desenvolvido, o qual apresenta processo de produção para maior solubilização da camada de MOS, com redução do tamanho das partículas e maior exposição do conteúdo de glucanas. Tal produto já foi testado em cães e apresentou efeitos prebióticos e imunomoduladores (Theodoro et al., 2019). Por conta disso, espera-se que ele seja fermentado pela microbiota intestinal dos gatos, alterando sua composição e produtos de fermentação e, conseqüentemente, modifique aspectos inflamatórios e imunológicos do hospedeiro. Por conta disso, o presente estudo avaliou os efeitos do uso deste extrato, em dieta seca extrusada, nas inclusões de 0%, 0,2%, 0,4% e 0,8%, sobre a digestibilidade aparente dos nutrientes, microbiota fecal, produtos de fermentação microbiana, IgA nas fezes, citocinas sanguíneas e fagocitose de neutrófilos e monócitos de gatos adultos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos experimentais seguiram os princípios éticos adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e passaram por autorização da Comissão de Ética no Uso de Animais (nº 3074/22) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FCAV/UNESP), Campus de Jaboticabal.

Delineamento experimental, animais e manejo

Foram utilizados 32 gatos adultos, com idade de 4.69 ± 1.87 anos, pesando 4.09 ± 0.79 kg, sendo 15 fêmeas e 17 machos, sem raça definida, saudáveis, vacinados e vermifugados, provenientes do laboratório em que foi realizado o estudo.

O experimento seguiu delineamento em blocos casualizados, com dois blocos de 16 unidades experimentais (gatos), quatro tratamentos (rações) e quatro animais por ração em cada bloco, totalizando oito repetições por tratamento. Cada bloco do estudo teve duração de 45 dias, com os gatos alimentados nos 15 dias iniciais com dieta controle (sem prebiótico), denominado período de washout, seguidos de 30 dias de período experimental.

O período experimental compreendeu 15 dias de adaptação ao consumo da dieta experimental, fornecida de forma randomizada para os animais, seguidos de sete dias de coleta total de fezes para análise de digestibilidade aparente dos nutrientes. Posteriormente, amostras de fezes frescas foram coletadas, por três dias consecutivos, para análise de microbiota intestinal, produtos de fermentação microbiana e determinação de imunoglobulina A nas fezes. Para avaliação do sistema imunológico, coleta de sangue para determinação das citocinas sanguíneas de ação inflamatória e ensaio de fagocitose de neutrófilos e monócitos foram realizados no início (dia 0) e ao final (dia 30) do período experimental, incluindo na avaliação inicial a coleta de IgA nas fezes frescas.

Durante o washout, os gatos foram alimentados à vontade com a dieta controle em gatil coletivo. No período do estudo, os gatos permaneceram das 16:00h às 08:00h do dia seguinte alojados individualmente em gaiolas metabólicas de aço inox, com

dimensões de 0,8m x 0,8m x 1,0m, equipadas com aparato para coleta separada de fezes e urina. Das 8:00h às 16:00h os gatos eram soltos em gatil coletivo de 50 m² para a prática de exercício e socialização, exceto durante o período de coleta total de fezes e urina, em que os animais permaneceram restritos às gaiolas metabólicas. A água foi disponibilizada *ad libitum* e a alimentação era realizada no momento em que os animais estavam nas gaiolas individuais. As sobras de ração eram recolhidas na manhã seguinte (08:00h) e o consumo registrado. A energia metabolizável das dietas foi estimada pela sua composição química e a porção individual de cada animal foi determinada por $80\text{kcal/PC}^{0.67}/\text{dia}$ (FEDIAF, 2021). Os animais foram pesados semanalmente e a quantidade de alimento foi ajustada, se necessário, para que mantivessem peso constante.

Ingrediente teste e dietas experimentais

O ingrediente teste utilizado foi um extrato obtido pela purificação industrial de cepa específica da parede celular de *Saccharomyces cerevisiae* (Biorigin, Lençóis Paulista, São Paulo, Brasil), que apresenta índice de solubilidade em água de 42%. Principalmente os mananoligossacarídeos (MOS) são solubilizados durante o processo, resultando em 22.4% de MOS solúveis (Tabela 1).

Tabela 1. Características do extrato de Parede Celular de *Saccharomyces cerevisiae* utilizado.

Composição	PCLS²
Densidade (g/L)	515
Umidade (g/100g)	5.0
Proteína (g/100g)	24.8
Cinzas (g/100g)	4.9
Mananas (g/100g)	22.4
Glucanas (g/100g)	24.0
Índice de solubilidade em água ¹ (%)	42.6

¹Determinado no laboratório da Biorigin (Lençóis Paulista, Brasil) de acordo com Anderson (1982).

²Parede Celular de Levedura Solúvel

Foi empregada uma formulação padrão, completa e balanceada, de acordo com as recomendações da FEDIAF (2021), à base de milho, arroz, farinha de vísceras de frango, proteína isolada de suíno, gordura de aves e fibra de cana-de-açúcar. A fibra de cana-de-açúcar foi utilizada como fonte de fibra dietética devido à sua baixa fermentação intestinal, evitando produção expressiva de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e não influenciando na avaliação do produto prebiótico utilizado no estudo.

As dietas experimentais foram obtidas pela inclusão do extrato de Parede Celular de Levedura Solúvel (PCLS), nas quantidades definidas, totalizando quatro tratamentos: CO – dieta controle (sem prebiótico); 0.2% – inclusão de 0,2% de PCLS; 0.4% – inclusão de 0,4% de PCLS; 0.8% – inclusão de 0,8% de PCLS. O ingrediente teste foi adicionado à dieta em substituição ao milho, os demais ingredientes permaneceram inalterados (Tabela 2).

Tabela 2. Composição de ingredientes das dietas experimentais para gatos com diferentes inclusões de Parede Celular de Levedura Solúvel (PCLS).

Composição (g/kg)	Adição de PCLS ¹			
	CO	0.2%	0.4%	0.8%
Farinha de vísceras de frango	415.5	415.5	415.5	415.5
Arroz quirera	220.0	220.0	220.0	220.0
Milho grão	155.5	153.5	151.5	147.5
Farinha de glúten de milho 60	80.0	80.0	80.0	80.0
Gordura de aves	61.7	61.7	61.7	61.7
Fibra de cana	25.0	25.0	25.0	25.0
Palatabilizante pó ²	20.0	20.0	20.0	20.0
Cloreto de potássio	5.9	5.9	5.9	5.9
Cloreto de colina	5.3	5.3	5.3	5.3
Sal comum	5.0	5.0	5.0	5.0
Taurina	1.5	1.5	1.5	1.5
Antifúngico ³	1.0	1.0	1.0	1.0

Premix vitamínico e mineral ⁴	3.0	3.0	3.0	3.0
Antioxidante ⁵	0.5	0.5	0.5	0.5
Parede Celular de Levedura	0.0	2.0	4.0	8.0

¹CO, dieta controle sem adição de parede celular de levedura; 0.2% de parede celular de levedura solúvel; 0.4% de parede celular de levedura solúvel; 0.8% de parede celular de levedura solúvel.

²11P, Symrise Pet Food

³Fylax, Selko

⁴PetMeal, MCassab

⁵ANTIOX-AV (220g/kg BHA, 210g/kg BHT), AllTech

Digestibilidade Aparente de nutrientes

Foi empregado o método de coleta total de fezes e calculadas a digestibilidade aparente da matéria seca, matéria orgânica, proteína, gordura, amido, fibra dietética total dos alimentos, segundo protocolo e procedimentos de cálculo descritos pela FEDIAF (2021). As dietas foram oferecidas por um período de adaptação de 15 dias, seguidos de sete dias de coleta, para obter um conjunto de fezes total de cada animal. As fezes foram recolhidas ao longo do dia, pesadas e acondicionadas em freezer (-15°C). Após o término do período de coleta, as fezes foram descongeladas à temperatura ambiente e homogeneizadas formando uma única amostra por gato, e secas em estufa de ventilação forçada (320-SE, FANEM, São Paulo, Brasil) a 55°C por 72 horas. Fezes pré-secas e dietas experimentais foram moídas em moinho tipo faca (MOD 340, ART LAB, São Paulo, Brasil) com peneira de 0,8mm tamanho para análise laboratorial. O conteúdo de energia bruta (EB) das dietas e amostras fecais foi determinado usando calorímetro de bomba (IKA C2000 Basic, IKA-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Alemanha). A matéria seca (MS) foi determinada por secagem da amostra em estufa a 105°C (método 934.01), cinzas por incineração em mufla (método 942.05), proteína bruta usando determinação de nitrogênio/proteína LECO (FP-528, LECO Corporation, Saint Joseph, EUA; método 990.03), a gordura total foi avaliada usando o ensaio de gordura hidrolisada com ácido (método 954.02), e a matéria orgânica (MO) foi calculada como MS menos cinzas. A quantidade de amido das rações e fezes foi determinada de acordo com Hendrix (1993) e Miller (1959). A Fibra Dietética Total (FDT) foi determinada utilizando um kit comercial (TDF100A; Sigma

Aldrich, EUA). Todas as amostras foram analisadas em duplicata, e as análises foram repetidas quando a variação entre as réplicas foi superior a 5%.

Produtos de fermentação microbiana nas fezes e pH fecal

Foi avaliada a produção e características das fezes frescas, incluindo produção de fezes por animal/dia, teor de umidade das fezes, escore de fezes, pH das fezes e os seguintes produtos de fermentação microbiana: ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e ramificada (AGCR), amônia, ácido láctico e aminas biogênicas. A coleta das fezes frescas foi realizada após 30 dias de consumo das dietas, durante três dias consecutivos, formando um pool de amostras dos três dias. O escore fecal foi determinado pelo seguinte sistema: 0 = líquido aquoso que pode ser derramado; 1 = macio, não formado; 2 = fezes moles e malformadas que assumem a forma de seu recipiente; 3 = fezes moles, formadas e úmidas que mantêm sua forma; 4 = fezes bem formadas e consistentes que não aderem ao chão; e 5 = pellets duros e secos, que são massas pequenas e duras (Carciofi et al., 2008). Em cada dia da coleta foram separados 10 gramas de fezes frescas para análise de ácidos graxos voláteis e amônia, 3 gramas para ácido láctico, 2 gramas para pH e 2 gramas para aminas biogênicas. Após a separação e pesagem das fezes para as análises, todas as amostras foram congeladas em freezer a -20°C. O pH das fezes foi avaliado pela diluição em 6 mililitros de água mili-Q e medição por pH-metro de precisão (DM20, Digicrom Analítica Ltda, São Paulo, Brasil), apresentando como resultado a média aritmética dos três dias de coleta. Para a análise dos ácidos graxos voláteis e amônia, as amostras de cada dia foram descongeladas e homogeneizadas em 30 mililitros de ácido fórmico 4,2 N cada, após isso foram centrifugadas quatro vezes a 4500 x g e 5°C por 15 minutos para coleta do sobrenadante, que foi identificado e armazenado em freezer à -20°C para análise posterior da amônia, conforme descrito por Vieira (1980). Para a análise dos ácidos graxos de cadeia curta foi conduzida uma quinta centrifugação do extrato, por 1 hora a 20000 x g e 5°C, armazenando-se o sobrenadante a -20°C para análise através de cromatografia gasosa (Finningan, modelo 9001, Finningan Corporation, San Jose, EUA), de acordo com Erwin et al. (1961). Para a determinação de ácido láctico, as amostras de cada dia foram

homogeneizadas com nove mililitros de água destilada. A leitura de ácido láctico foi realizada de acordo com Pryce (1969), em espectrofotômetro (QUICK – Lab, DRAKE, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil). Para as concentrações fecais de aminas biogênicas, o pool de fezes foi descongelado, homogeneizado e adicionados a 7 mL de uma solução de ácido tricloroacético a 5% e centrifugados a 10.000 x g por 20 min a 5°C. Em seguida, os sobrenadantes foram filtrados e reunidos. O volume final obtido foi registrado e congelado. As concentrações de aminas biogênicas no sobrenadante foram determinadas por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC - modelo LC-10AD; Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão).

Microbiota intestinal

Para análise de microbiota foram recolhidas amostras de fezes durante três dias consecutivos no final do período experimental (dia 30) em tubos criogênicos estéreis. Após a coleta, as amostras foram armazenadas em freezer -80°C para posterior análise. A microbiota fecal foi avaliada através da extração de DNA das amostras utilizando um kit de isolamento de DNA (MoBio PowerSoil, MoBio Laboratories), seguindo as instruções do fabricante. O sequenciamento Illumina da região V4 dos genes 16S rRNA bacterianos foi realizado utilizando os primers 515F (5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3') e 806R (5'-GGACTACVSGGGTATCTAAT-3'). Resumidamente, a reação de PCR foi realizada em um único passo com 30 ciclos PCR usando o kit HotStarTaq Plus Master Mix (Qiagen). Seguindo o protocolo do DNA TruSeq da Illumina, será preparada uma biblioteca de DNA e o sequenciamento será realizado no Illumina MiSeq, de acordo com as diretrizes do fabricante. Os resultados foram analisados e realizado o Índice de Disbiose pelo Gastrointestinal Laboratory (GI Lab) da Escola de Medicina Veterinária e Ciências Biomédicas da Universidade Texas A&M.

Determinação de citocinas no soro sanguíneo

Para a análise das citocinas sanguíneas, nos dias zero e 30 do período experimental, foram coletadas amostras de sangue da veia cefálica (1 mL) e

armazenadas em tubos sem anticoagulante. Em seguida, as amostras passaram por centrifugação a 3.500 x g por 10 minutos e o soro foi congelado a -80°C até a análise. A dosagem foi estimada utilizando um kit Luminex específico para gatos (FCYTOMAG-20K-PMX, Merck Millipore), de acordo com as recomendações do fabricante.

Ensaio de fagocitose de neutrófilos e monócitos

Para análise de fagocitose foram coletadas amostras de sangue da veia cefálica (0,5 mL) nos dias zero e 30 do período experimental, as quais foram armazenadas em tubos heparinizados. Posteriormente, 100 µL de cada amostra foi incubada com 20 µL do reagente fornecido pelo kit comercial “pHrodo Red E. Coli BioParticles Phagocytosis Kit for Flow Cytometry” (Thermo Fisher Scientific). Para cada amostra de sangue, dois tubos foram preparados com o reagente, um acondicionado em gelo e o outro mantido em banho-maria a 37°C durante 15 minutos. Logo após, as amostras foram lisadas, centrifugadas e lavadas, de acordo com as especificações do fabricante. Duas amostras de controle negativo também foram processadas da mesma forma em cada dia de coleta, mas ambos os tubos sem a presença de biopartículas. As amostras foram analisadas por citômetro de fluxo e os resultados mostrados em porcentagem do sinal de fluorescência dentro da população desejada de neutrófilos e monócitos.

Imunoglobulina A nas fezes

Para sua mensuração, fezes frescas foram coletadas por três dias consecutivos no início e no final do período experimental (dias zero e 30) em tubos criogênicos não estéreis, os quais foram armazenados em freezer a -80°C para posterior avaliação. Um litro de tampão de extração foi produzido com 900 mililitros de solução salina tamponada com fosfato (PBS), 100 µg de inibidor de tripsina de soja (Sigma, EUA), 100 mililitros de solução de 50mM-EDTA (ThermoFisher, EUA) e 1% de albumina sérica bovina (Tocris Bioscience, Reino Unido). Para a extração de IgA, 0,5 gramas de fezes foram homogeneizadas com 1,5 mililitros do tampão de extração. Após isso,

foi adicionado 12,5 µL de Fluoreto de fenilmetanosulfonil (350mg/L; Sigma, EUA) em cada tubo e centrifugado a 1000 x g por 10 minutos a 5°C. O sobrenadante foi coletado cuidadosamente e armazenado a -20°C para posterior análise utilizando um kit ELISA para mensuração de IgA felina (E-20A; Immunology Consultants Laboratory, EUA), de acordo com as recomendações do fabricante.

Análises estatísticas

Os parâmetros imunológicos foram submetidos a análise de variância utilizando o tempo zero (valor basal) como covariável. Diferenças observadas no teste F foram submetidas à análise por contrastes polinomiais. Os demais dados obtidos foram submetidos a análise de variância e submetidas à análise por contrastes polinomiais quando diferenças foram observadas no teste F. Variáveis distribuídas de forma não paramétrica foram comparadas usando o teste de Kruskal-Wallis ($P < 0.05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição química das dietas foi adequada para gatos adultos e os tratamentos apresentaram composições semelhantes, conforme planejado (Tabela 3). Em geral, as dietas foram bem aceitas pelos animais, os quais mantiveram peso constante e consumo acima de 70% do ofertado.

Houve apenas três episódios de vômito durante todo o período experimental, sendo dois na dieta CO e um na dieta 0.2%, todos ocorreram em animais diferentes e não tiveram recorrência. Em dois deles havia presença de bolas de pelos (dieta CO) e um deles com aspecto de alimento não digerido (dieta 0.2%). Tais acontecimentos podem estar ligados às bolas de pelos e a estresse no momento de isolamento na gaiola, pois eram animais saudáveis ao exame físico, exames complementares e recentemente vermifugados e vacinados. Um animal apresentou fezes amolecidas durante todo o período, em dois diferentes blocos, nas dietas 0.2% e 0.8%, apresentando escore de condição fecal entre 2 e 3, fato que também pode estar ligado ao estresse no momento de isolamento na gaiola, pois era saudável ao exame físico, exames complementares e recentemente vermifugado e vacinado.

O peso médio dos animais e o consumo de matéria seca, matéria orgânica e proteína bruta referente a todo o período experimental não diferiu entre os tratamentos ($P>0.05$). Além disso, a partir das análises de digestibilidade aparente dos nutrientes, obteve-se os Coeficientes de Digestibilidade Aparente (CDA) da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, amido e energia bruta, os quais não diferiram entre as dietas ($P>0.05$) e se apresentaram em níveis adequados (Tabela 4). Tais resultados são esperados, levando em conta que as dietas seguiram formulação e processamento próximos e a quantidade adicionada de Parede Celular de Levedura Solúvel foi baixa (menor que 1% em todas as dietas), não sendo suficiente para alterar a digestibilidade dos outros nutrientes. Tais dados corroboram com os resultados encontrados por Matheus et al. (2021) em estudo utilizando inclusões entre 0.3% e 0.6% de um pós-biótico de *Saccharomyces cerevisiae*, no qual os CDA da matéria seca, matéria orgânica, proteína bruta, amido e energia bruta não diferiram entre os tratamentos. O índice de gelatinização do amido das dietas foi alto, com valores em torno de 97%, resultado dentro do esperado.

Tabela 3. Composição química analisada e índice de gelatinização do amido das dietas experimentais com diferentes inclusões de Parede Celular de Levedura Solúvel (PCLS). Valores sobre a matéria seca.

Item	CO	Adição de PCLS ¹		
		0.2%	0.4%	0.8%
Composição química (g/kg)				
Matéria seca	961.7	967.1	963.5	964.3
Cinzas	91.3	94.0	92.4	89.0
Extrato etéreo hidrólise ácida*	145.6	144.8	145.3	145.2
Proteína bruta	362.6	373.1	373.6	380.0
Fibra alimentar*	58.6	58.3	58.5	58.4
Amido	265.4	258.5	256.3	252.1
Ca*	15.2	15.2	15.2	15.2
P*	11.0	11.0	11.0	11.0
Índice de gelatinização do amido	0.972	0.976	0.967	0.963

¹CO, dieta controle sem adição de parede celular de levedura; 0.2% de parede celular de levedura solúvel; 0.4% de parede celular de levedura solúvel; 0.8% de parede celular de levedura solúvel.

*Valores estimados através da formulação utilizada.

Tabela 4. Peso corporal, ingestão de nutrientes sobre a matéria seca e Coeficientes de Digestibilidade Aparente dos Nutrientes das dietas experimentais para gatos com diferentes inclusões de Parede Celular de Levedura Solúvel.

Item	CO	Adição de PCLS ¹			EPM ²	P valor
		0.2%	0.4%	0.8%		
Peso Corporal (kg)	4.2	4.0	4.1	4.1	0.14	0.967
Consumo (g/PC ^{0.67} /dia)						
Matéria seca	18.5	18.8	18.1	19.0	0.28	0.665
Matéria orgânica	16.8	17.1	16.4	17.3	0.25	0.637
Proteína bruta	6.7	7.0	6.8	7.2	0.11	0.311
CDA						
Matéria seca	0.826	0.811	0.818	0.825	0.33	0.351
Matéria orgânica	0.876	0.864	0.872	0.874	0.24	0.323
Amido	0.999	0.998	0.999	0.999	0.01	0.724
Proteína bruta	0.884	0.872	0.886	0.884	0.26	0.191
Energia bruta	0.881	0.869	0.878	0.876	0.23	0.351

¹CO, dieta controle sem adição de parede celular de levedura; 0.2% de parede celular de levedura solúvel; 0.4% de parede celular de levedura solúvel; 0.8% de parede celular de levedura solúvel.

²Erro Padrão da Média (n=8 gatos por dieta)

As características das fezes frescas foram próximas entre os tratamentos. Não houve diferença na Umidade e Escore de Condição Fecal (ECF) entre as dietas ($P > 0.05$), já os valores de pH apresentaram efeito quadrático ($P < 0.05$), sendo o maior valor observado na dieta 0.4%, mas todos dentro do esperado para a espécie. Dentre os produtos de fermentação das fezes, o lactato não diferiu entre as dietas ($P > 0.05$), porém apresentou menor valor na dieta 0.4%, o que pode ajudar a explicar o valor de pH mais alto observado neste tratamento, pois o lactato é um dos produtos que

acidifica as fezes (Tabela 5). Além disso, os níveis de lactato corroboram com os observados por Santos et al. (2018), que também não observaram diferença significativa ao testarem níveis crescentes de parede de celular de levedura na dieta de gatos.

Tabela 5. Características das fezes e concentração de produtos de fermentação nas fezes de gatos alimentados com diferentes inclusões de Parede Celular de Levedura Solúvel.

Item	CO	Adição de PCLS ¹			EPM ²	P valor	Contraste ³	
		0.2%	0.4%	0.8%			Linear	Quadrático
Fezes								
Umidade (g/kg)	557	579	522	569	1.07	0.258	- ⁴	-
Escore	4.0	3.8	4.0	3.9	0.07	0.654	-	-
pH	6.8	6.7	6.9	6.7	0.03	0.002	0.751	0.007
Produtos de fermentação (mMol/kg MS fezes)								
Lactato	5.5	5.5	4.4	5.1	0.22	0.119	-	-

¹CO, dieta controle sem adição de parede celular de levedura; 0.2% de parede celular de levedura solúvel; 0.4% de parede celular de levedura solúvel; 0.8% de parede celular de levedura solúvel.

²Erro Padrão da Média (n=8 gatos por dieta).

³Efeito linear ou quadrático das diferentes inclusões de Parede Celular de Levedura Solúvel.

⁴Médias não diferem estatisticamente.

Em relação aos resultados observados para as citocinas sanguíneas, das 19 avaliadas, duas apresentaram uma tendência ($P < 0.10$) a diferir entre os tratamentos, a interleucina-18 (IL-18) e o fator de crescimento derivado de plaquetas BB (PDGF-BB), ambas com comportamento quadrático e valor mais baixo no tratamento 0.2% (Tabela 6). Tais citocinas são descritas como pró-inflamatórias, tanto para humanos, quanto para animais (Dinarello, 1999; Parys et al., 2018).

Tabela 6. Concentrações de citocinas no soro de gatos alimentados com diferentes inclusões de Parede Celular de Levedura Solúvel.

Citocinas (pg/ml)	CO	Adição de PCLS ¹			EPM ²	P valor	Contraste ³	
		0.2%	0.4%	0.8%			Linear	Quad.
IL-6	1270.4	851.3	1234.3	1109.5	132.35	0.506	-	-
IL-8	119.4	83.4	114.7	110.3	11.25	0.524	- ⁴	-
KC	2.5	14.8	18.1	4.5	5.35	0.262	-	-
SCF-1	499.6	262.9	567.1	200.6	158.95	0.625	-	-
TNF- α	373.8	258.8	361.1	338.8	37.70	0.472	-	-
IL-18	1641.2	819.1	1231.0	957.4	183.78	0.095	0.174	0.033
MCP-1	3404.1	2549.0	3262.4	3079.8	260.82	0.505	-	-
SCF	954.9	651.5	884.2	886.6	100.34	0.475	-	-
RANTES	66.8	57.4	65.8	86.4	8.21	0.562	-	-
Faz	86.0	29.4	14.9	32.2	16.31	0.392	-	-
Fit-3L	295.2	255.8	287.6	283.5	12.10	0.655	-	-
GM-CSF	63.1	43.6	94.7	66.3	12.63	0.662	-	-
INF- γ	537.9	220.1	617.0	691.0	141.65	0.357	-	-
IL-1 β	224.5	147.8	212.8	206.4	22.77	0.411	-	-
IL-2	290.9	198.5	278.7	244.8	36.00	0.426	-	-
PDGF-BB	2823.8	1923.7	2827.6	3005.4	521.93	0.057	0.109	0.030
IL-12(p40)	401.1	300.9	389.5	386.1	29.40	0.620	-	-
IL-13	104.0	91.5	92.9	124.0	7.29	0.321	-	-
IL-4	3139.9	2305.0	3062.5	2982.6	281.80	0.547	-	-

¹CO, dieta controle sem adição de parede celular de levedura; 0.2% de parede celular de levedura solúvel; 0.4% de parede celular de levedura solúvel; 0.8% de parede celular de levedura solúvel.

²Erro Padrão da Média (n=8 gatos por dieta).

³Efeito linear ou quadrático das diferentes inclusões de Parede Celular de Levedura Solúvel.

⁴Médias não diferem estatisticamente.

A interleucina-18 foi primeiramente descrita como “Fator Indutor de IFN- γ ”. Semelhante à IL-1 β , a IL-18 é sintetizada primeiro como um precursor inativo e permanece como uma citocina intracelular (Dinarello et al., 2013). A IL-18 é produzida por células hematopoiéticas e não hematopoiéticas, incluindo monócitos, macrófagos,

queratinócitos e células mesenquimais. Ela tem o potencial de induzir atividades de células imunes inflamatórias e citotóxicas, levando à autoimunidade. Seus níveis elevados foram relatados no sangue de pacientes com algumas doenças relacionadas ao sistema imunológico, incluindo artrite reumatóide, lúpus eritematoso sistêmico, diabetes mellitus tipo I, dermatite atópica, psoríase e doença inflamatória intestinal. (Ihim et al., 2022). Já em gatos com cistite idiopática aguda, as concentrações séricas de IL-18 foram significativamente maiores do que em gatos saudáveis (Parys et al., 2018). Tais fatos demonstram que sua inibição pode ser recomendada.

O PDGF-BB é um dos principais fatores de crescimento que promovem a proliferação, migração e secreção de fibroblastos (Liu et al., 2022). Em particular, o PDGF-BB ganhou destaque em diversas aplicações ortopédicas devido à sua capacidade de reparo tecidual (Cai et al., 2023). Foi demonstrado que o PDGF-BB aumenta a osteogênese das células tronco mesenquimais com um efeito dependente da dose (Liu et al., 2022), além do potencial de ação para promover a cicatrização rápida e eficaz de feridas (Zhang et al., 2021). A partir disto, sua ativação pode ser desejada.

4. CONCLUSÃO

A partir dos resultados parciais observados, pode-se concluir que o produto é seguro para gatos nas inclusões testadas, pois não foram observados efeitos deletérios nos parâmetros avaliados. Seus efeitos sobre a saúde intestinal e geral não foram bem esclarecidos, porém o presente estudo avaliou parâmetros de animais saudáveis, sem promover desafio imunológico aos mesmos, fato que pode dificultar a análise das respostas imunes. Os resultados de outras análises podem auxiliar na compreensão dos efeitos do produto, porém existe a possibilidade de que a dose necessária para gerar efeitos em gatos seja mais alta do que as testadas neste estudo, levando à necessidade de maiores ensaios com a espécie, utilizando novas dosagens e testando desafios imunológicos.

5. REFERÊNCIAS

Alessandri G, Argentini C, Milani C, Turrone F, Cristina Ossiprandi M, van Sinderen D, Ventura, M (2020) Catching a glimpse of the bacterial gut community of companion animals: a canine and feline perspective. **Microbial Biotechnology**, 13(6):1708–1732. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13656>

Cai Y, Wang Z, Liao B, Sun Z, Zhu P (2023) Anti-inflammatory and Chondroprotective Effects of Platelet-derived Growth Factor-BB on Osteoarthritis Rat Models. **The Journals of Gerontology: Series A**, 78(1):51–59. <https://doi.org/10.1093/gerona/glac118>

Carciofi AC, Takakura FS, De-Oliveira LD, Teshima E, Jeremias JT, Brunetto MA, Prada F (2008) Effects of six carbohydrate sources on dog diet digestibility and post-prandial glucose and insulin response*. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, 92(3):326–336. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2007.00794.x>

Dinarello CA (1999) IL-18: A TH1 -inducing, proinflammatory cytokine and new member of the IL-1 family. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, 103(1):11–24. [https://doi.org/10.1016/S0091-6749\(99\)70518-X](https://doi.org/10.1016/S0091-6749(99)70518-X)

Dinarello CA, Novick D, Kim S, Kaplanski G (2013) Interleukin-18 and IL-18 Binding Protein. **Frontiers in Immunology**, 4. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2013.00289>

Erwin ES, Marco GJ, Emery EM (1961) Volatile Fatty Acid Analyses of Blood and Rumen Fluid by Gas Chromatography. **Journal of Dairy Science**, 44(9):1768–1771. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(61\)89956-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(61)89956-6)

Fathima S, Shanmugasundaram R, Sifri M, Selvaraj R (2023) Yeasts and yeast-based products in poultry nutrition. **Journal of Applied Poultry Research**, 32(2):100345. <https://doi.org/10.1016/j.japr.2023.100345>

FEDIAF (2021) Nutritional guidelines for complete and complementary pet food for cats and dogs. European Pet Food Industry Federation, 98.

Gibson GR, Hutkins R, Sanders ME, Prescott SL, Reimer RA, Salminen SJ, Scott K, Stanton C, Swanson KS, Cani PD, Verbeke K, Reid G (2017) Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, 14(8):491–502. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.75>

Lee JJ, Kyoung H, Cho JH, Choe J, Kim Y, Liu Y, Kang J, Lee H, Kim HB, Song M (2021) Dietary Yeast Cell Wall Improves Growth Performance and Prevents of Diarrhea of Weaned Pigs by Enhancing Gut Health and Anti-Inflammatory Immune Responses. **Animals**, 11(8):2269. <https://doi.org/10.3390/ani11082269>

Hendrix DL (1993) Rapid extraction and analysis of nonstructural carbohydrates in plant tissues. **Crop Science**, 33(6):1306-1311.

Liu C, Wang C, Yang F, Lu Y, Du P, Hu K, Yin X, Zhao P, Lu G (2022) The conditioned medium from mesenchymal stromal cells pretreated with proinflammatory cytokines promote fibroblasts migration and activation. **PLOS ONE**, 17(4):e0265049. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0265049>

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

Ihim SA, Abubakar SD, Zian Z, Sasaki T, Saffarioun M, Maleknia S, Azizi, G (2022) Interleukin-18 cytokine in immunity, inflammation, and autoimmunity: Biological role in

induction, regulation, and treatment. **Frontiers in Immunology**, 13. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.919973>

Matheus LFO, Risolia LW, Ernandes MC, de Souza JM, Oba PM, Vendramini THA, Pedrinelli V, Henríquez LBF, Massoco CO, Pontieri CFF, Brunetto MA (2021) Effects of *Saccharomyces cerevisiae* cell wall addition on feed digestibility, fecal fermentation and microbiota and immunological parameters in adult cats. **BMC Veterinary Research**, 17(1):351. <https://doi.org/10.1186/s12917-021-03049-8>

Miller GL (1959) Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry, Washington**, 31(3):426-428.

Parys M, Yuzbasiyan-Gurkan V, Kruger JM (2018) Serum Cytokine Profiling in Cats with Acute Idiopathic Cystitis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, 32(1):274–279. <https://doi.org/10.1111/jvim.15032>

Perricone V, Sandrini S, Irshad N, Savoini G, Comi M, Agazzi A (2022) Yeast-Derived Products: The Role of Hydrolyzed Yeast and Yeast Culture in Poultry Nutrition—A Review. **Animals**, 12(11):1426. <https://doi.org/10.3390/ani12111426>

Pryce JD (1969) A modification of the Barker-Summerson method for the determination of lactic acid. **The Analyst**, 94:1125-1151. <https://doi.org/10.1039/an9699401151>

Santos JPF, Aquino AA, Glória MBA, Avila-Campos MJ, Oba PM, Santos K de M, Vendramini THA, Carciofi AC, Junior AR, Brunetto MA (2018) Effects of dietary yeast cell wall on faecal bacteria and fermentation products in adult cats. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, 102(4):1091–1101. <https://doi.org/10.1111/jpn.12918>

Saad FM de OB, Ferreira LG, Zangeronimo MG, Saad CE do P (2015) Nutrição e imunidade em animais de companhia. **Caderno de Ciências Agrárias**, 7:22–40. <https://periodicos.ufmg.br/index.php/ccaufmg/article/view/2813>

Saad SMI (2006) Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, 42(1):1–16. <https://doi.org/10.1590/S1516-93322006000100002>

Schley PD, Field CJ (2002) The immune-enhancing effects of dietary fibres and prebiotics. **British Journal of Nutrition**, 87(6):221–230. <https://doi.org/10.1079/BJNBJN/2002541>

Suchodolski JS (2011) COMPANION ANIMALS SYMPOSIUM: Microbes and gastrointestinal health of dogs and cats1. **Journal of Animal Science**, 89(5):1520–1530. <https://doi.org/10.2527/jas.2010-3377>

Theodoro S de S, Putarov TC, Tiemi C, Volpe LM, de Oliveira, CAF, Glória MB de A, Carciofi AC (2019) Effects of the solubility of yeast cell wall preparations on their potential prebiotic properties in dogs. **PLOS ONE**, 14(11):e0225659. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0225659>

Vieira P de F (1980) Efeito do formaldeído na proteção de proteínas e lipídios em rações para ruminantes. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Viçosa, 98.

Zhang N, Lo CW, Utsunomiya T, Maruyama M, Huang E, Rhee C, Gao Q, Yao Z, Goodman SB (2021) PDGF-BB and IL-4 co-overexpression is a potential strategy to enhance mesenchymal stem cell-based bone regeneration. **Stem Cell Research & Therapy**, 12(1):40. <https://doi.org/10.1186/s13287-020-02086-8>