MARIANA PAMPLONA PERINI

Efeito do tempo de ingestão de diferentes prebióticos nos produtos fermentativos fecais e imunidade de cães adultos

Pirassununga

2020

MARIANA PAMPLONA PERINI

Efeito do tempo de ingestão de diferentes prebióticos nos produtos fermentativos fecais e imunidade de cães adultos

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

Departamento:

Departamento de Nutrição e Produção Animal

Área de concentração:

Nutrição e Produção Animal

Orientador:

Prof. Dr. Cesar Augusto Pospissil Garbossa

Coorientador:

Prof. Dr. Marcio Antonio Brunetto

De acordo: Cesar Augusto P. Garbossa

Orientador

Pirassununga
2020

VERSÃO CORRIGIDA

Obs: A versão original encontra-se disponível na Biblioteca da FMVZ/USP

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

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

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

T. 3904
FMVZ

Perini, Mariana Pamplona
Efeito do tempo de ingestão de diferentes prebióticos nos produtos fermentativos fecais e imunidade de cães adultos / Mariana Pamplona Perini. – 2020.
67 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Nutrição e Produção Animal, Pirassununga, 2020.

Programa de Pós-Graduação: Nutrição e Produção Animal.

Área de concentração: Nutrição e Produção Animal.

Orientador: Prof. Dr. Cesar Augusto Pospissil Garbossa.
Coorientador: Prof. Dr. Marcio Antonio Brunetto.

1. *Blend* prebiótico. 2. Canino. 3. Galactoligossacarídeo 4. Período. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela bibliotecária Maria Aparecida Laet, CRB 5673-8, da FMVZ/USP.

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Efeito do tempo de ingestão de diferentes prebióticos nos produtos fermentativos fecais e imunidade de cães adultos", protocolada sob o CEUA nº 8591050419 (ID 007271), sob a responsabilidade de **Cesar Augusto Pospissil Garbossa** *e equipe; Mariana Pamplona Perini* - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 17/12/2019.

We certify that the proposal "Effect of intake time of different prebiotics on fecal fermentative products and immunity and of adult dogs", utilizing 24 Dogs (males and females), protocol number CEUA 8591050419 (ID 007271), under the responsibility of **Cesar Augusto Pospissil Garbossa** *and team; Mariana Pamplona Perini* - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 12/17/2019.

Finalidade da Proposta: Pesquisa

Vigência da Proposta: de 04/2019 a 06/2019 Área: Nutrição E Produção Animal

Origem:	Animais provenientes de estabelecimentos comerciais						
Espécie:	Cães	sexo:	Machos e Fêmeas	idade:	2 a 6 anos	N:	24
Linhagem:	várias raças			Peso:	10 a 35 kg		

Local do experimento: O estudo será conduzido no Centro de Desenvolvimento Nutricional da Premier Pet (CDN Premier Pet), localizado na cidade de Dourado SP.

São Paulo, 13 de março de 2020

Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

Camilla Mota Mendes
Vice-Coordenador
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

FICHA DE AVALIAÇÃO

Autor: Perini, Mariana Pamplona

Título: **Efeito do tempo de ingestão de diferentes prebióticos nos produtos fermentativos fecais e imunidade de cães adultos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Nutrição e Produção Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Data: _____/_____/_____

Banca Examinadora

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____Julgamento: _____

Prof. Dr.: _____

Instituição: _____Julgamento: _____

Dedicatória

Dedico esse trabalho,

À minha família, Hélio Antonio Perini, Maria de Fátima Andrade Pamplona Perini, Marcela Pamplona Perini e Rodrigo Pamplona Perini que sempre estiveram ao meu lado me apoiando em cada pedacinho da minha vida, com um sorriso no rosto demonstrando amor e carinho.

Ao meu namorado Murilo Haberman Torquato que sempre esteve me apoiando nas grandes conquistas e momentos da minha vida.

À Nina, minha gata que infelizmente não está mais entre nós, que me incentivou a sempre lutar pelos meus sonhos e me ofereceu apoio em momentos delicados.

Agradecimentos

- *À Deus, por me dar saúde e força para conseguir realizar esse trabalho.*
- *À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade São Paulo, pela oportunidade e todo o apoio durante minha pós-graduação.*
- *Ao Departamento de Nutrição e Produção Animal, pelo acolhimento.*
- *Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) pela concessão da bolsa.*
- *Ao meu co-orientador Prof. Dr. Marcio Antonio Brunetto pela confiança, acolhimento, dedicação, atenção, paciência e oportunidade, o que ofereceu grande apoio tanto profissional quanto pessoal. Me ofereceu sabedoria e ensinamentos valiosos para a vida. Ele foi responsável por todo o meu conhecimento, interesse e dedicação ao mundo nutricional canino e felino e só tenho a agradecer por tudo!*
- *Ao Prof. Dr. Júlio César de Carvalho Balieiro por todo o apoio, conversas, conselhos e incentivo ao meu estudo, o qual contribuiu com sua vasta experiência em análises estatísticas, além de promover-me o conhecimento de análises de dados.*
- *Ao meu orientador Cesar Augusto Pospissil Garbossa por todo o apoio e paciência durante minha formação como Mestre*
- *Ao Prof. Dr. Ricardo Ventura por sua dedicação e disposição ao meu estudo, o que promoveu o desenvolvimento e ensinamentos sobre a bioestatística.*
- *À Prof. Drª. Catarina Abdalla Gomide que me ajudou desde o início desta conquista. Ela foi responsável por minha indicação ao Prof. Dr. Marcio Antonio Brunetto e essa indicação abriram portas para a realização de 1 ano de Prática Profissionalizante e Mestrado. Agradeço imensamente o seu carinho por mim e por toda a dedicação e confiança que você me ofereceu, desde a época de Graduação.*
- *Ao secretário João Paulo da Pós-Graduação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia pela paciência e atenção.*
- *À empresa Premier Pet pelo financiamento e apoio tanto estrutural quanto financeiro ao estudo e ao grande investimento na construção do Centro de Pesquisa em Nutrologia de Cães e Gatos (CEPEN Pet), o que contribuiu muito para o meu conhecimento teórico-prático. À Cristiana Fonseca Ferreira Pontieri*

que permitiu o desenvolvimento de todo o projeto e por sua dedicação, atenção e apoio. À toda equipe pela dedicação, auxílio e preocupação: Raquel, Juliana, Paula, Brown, Josye, Claudemir, Lucas, Juliana, Susana, Leda, Joyce, Suellen e Emily.

- *À empresa Yes pelo auxílio financeiro ao projeto, apoio e confiança.*
- *Aos professores que me forneceram conhecimentos e ensinamentos na minha formação como Mestre.*
- *Aos funcionários do Departamento de Nutrição e Produção Animal pela atenção e dedicação: Alessandra, Fábia, Renata Conti, Ana e Simi Aflalo.*
- *Aos funcionários do Centro de Pesquisa em Nutrologia de Cães e Gatos (CEPEN PET) por contribuírem com minha felicidade diária: Lucinéia, Diego, Stela, Cecília, Josane e Paraná.*
- *Aos meus pais, Hélio e Fátima, por todo o investimento, carinho, amor e compreensão desde a minha graduação. Sem vocês nada disso seria possível e sou eternamente grata por tudo o que vocês fazem por mim, desde fazer-me sorrir até incentivar-me com meus sonhos. Eu amo muito vocês!*
- *Aos meus irmãos Marcela e Rodrigo por todo o carinho, amor e paciência comigo. Mesmo estando longe de vocês, vocês sempre me ajudam e me incentivam a nunca desistir. Eu amo muito vocês!*
- *Ao meu namorado Murilo H. Torquato por toda a paciência, dedicação, amor, carinho, atenção e apoio nos momentos delicados e felizes da minha vida. Ele, que acompanhou o final da minha Graduação e, desde então, compartilha momentos incríveis e inesquecíveis comigo. Apesar da correria, nunca desistiu de mim e, sempre que pode, tirava-me um sorriso no rosto. Te amo!*
- *À família do meu namorado que sempre me tratou como "filha", me acolhendo quando estava "sozinha", oferecendo-me suporte, atenção e carinho.*
- *À minha segunda família, que cada vez mais vai crescendo e conquistando espaço no meu coração. Uma família diferente, cheio de carinho, esforços, dedicação, colaboração e muitas risadas: Robs, Pajé, Cati, Lukinhas, Mel, Lari, Dressete e Rafa.*
- *Às minhas melhores amigas de São Paulo por todo o apoio, risadas, conversas, saídas, carinho, compreensão e dedicação por todos esses longos anos de amizades: Jéssica, Luísa, Mari, Jú, Ana e Amanda.*

- *Aos meus cães e gatos que já passaram em minha vida: Nina, Argos, Scooby, Tigrinho, Bud, Branquinho, Nego, Bidu, Lessie, Keiti, Preta, Stella, Spot e Preto. E aos meus cães: Negão, Bob, Pretinho, Luna, Suki, Pitoco, Lego e Lessy. Todos eles(as) são responsáveis por toda a minha luta e dedicação aos animais e pela minha formação em Zootecnia com ênfase em nutrição de cães e gatos. Esses me ensinaram lições valiosas na vida que levo comigo no meu coração.*
- *A todos os estagiários, ICs e alunos de práticas profissionalizantes pela ajuda e pela troca de experiências. Em especial para: Pri, Matheus, Ana, Isa e Paula.*
- *A todos os cães que participaram e colaboraram em meu estudo: Lloyd, Yoko, Aila, Swat, Samba, Yuki, Nala, Theo, Bella, Olívia, Akiles, Yuri, Ethel, Timão, Apolo, Thor, Mel, Lucy, Lua, Marley, Aladin, Malala, Areta e Blue, por serem tão carinhosos, atenciosos e pacientes.*
- *Aos cães e gatos do Centro de Pesquisa em Nutrologia de Cães e Gatos (FMVZ/USP) por todo o conhecimento, carinho, atenção, brincadeiras, narigadas, lambidas e unhadas.*

Meus sinceros agradecimentos.

“Pensar é o trabalho mais difícil que existe. Talvez por isso tão poucos se dediquem a ele. ”

Henry Ford

“Só existem dois dias no ano que nada pode ser feito. Um se chama ontem e o outro se chama amanhã, portanto hoje é o dia certo para amar, acreditar, fazer e principalmente viver. ”

Dalai Lama

RESUMO

PERINI, M. P. **Efeito do tempo de ingestão de diferentes prebióticos nos produtos fermentativos fecais e imunidade de cães adultos.** [Effect of intake time of different prebiotics on fecal fermentative products and immunity of adult dogs.] 2020. 67f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2020.

Alimentos formulados com a inclusão de prebióticos demonstraram capacidade de estimular o aumento da produção de ácido lático e ácidos graxos de cadeia curta, bem como a redução do pH fecal. Estes efeitos também podem modular a resposta do sistema imunológico. No entanto, ainda não há um consenso em relação ao tempo mínimo necessário de ingestão pelos cães para a obtenção de resultados confiáveis em relação a eficiência dos aditivos. Assim, este estudo objetivou avaliar o efeito do tempo de ingestão de diferentes prebióticos nos produtos fermentativos e imunidade local de cães adultos. Em dois momentos distintos, foram utilizados 24 cães de diferentes raças, ambos os sexos, com média de idade de 6,0 ± 2,22 anos e escore de condição corporal (ECC) ideal, entre 4 e 5. Os animais foram distribuídos em delineamento de blocos casualizados, divididos em 6 grupos com 4 tratamentos, contemplando dois fatores: dieta e tempo. O fator dieta foi composto pelos seguintes tratamentos: a) dieta controle sem adição de prebiótico (CO); b) dieta controle com inclusão de 0,38% de galactooligossacarídeos (GOS); c) dieta controle com inclusão de 0,5% de *blend* prebiótico comercial YES GOLF® [B1 (composto por 120g/kg de FOS; 60g/kg de MOS; 72g/kg de GOS; zinco inorgânico; 1,3 β-glucanos e 150g/kg de β-glucanos)] e, d) dieta controle com inclusão de 1,0% do mesmo *blend* prebiótico comercial YES GOLF® (B2) citado anteriormente. O fator período foi denominado pelos tempos de administração T30 (30 dias) e T60 (60 dias), sendo os primeiros 20 dias destinados para adaptação às dietas, 5 dias para avaliação do escore fecal, 2 dias de intervalo entre as coletas e os últimos 3 dias para coletas de fezes destinadas para avaliação do pH, ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) e ácidos graxos de cadeia curta ramificada (AGCCR), IgA, ácido lático e nitrogênio amoniacal. Os resultados foram analisados no programa SAS 9.4, pelo teste de SHAPIRO-WILK (PROC UNIVARIATE) para verificar a normalidade dos resíduos e teste F para homogeneidade das variâncias. A análise de variância foi determinada pelo PROC MIXED do SAS com as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de

significância. Não foram observados efeitos (P>0,05) na interação tratamento x tempo, apenas efeitos de tratamento e tempo. Em relação ao tempo, a ingestão de prebióticos por período de 60 dias (T60) resultou em maiores concentrações de IgA, ácido lático e pH nas fezes (P<0,05) em todos os tratamentos. Como efeito de tratamento, a inclusão de 1,0% de GOS no alimento resultou em aumento da umidade fecal (escore 2,8) e das concentrações de ácido lático. Portanto, o maior tempo de ingestão modulou os produtos fermentativos fecais e imunidade local de cães adultos, achados que permitem concluir que o tempo de ingestão é um fator importante para avaliação do potencial de modulação dos prebióticos.

Palavras-chave: *blend* prebiótico, canino, galactoligossacarídeo, período.

ABSTRACT

PERINI, M. P**. Effect of intake time of different prebiotics on fecal fermentative products and immunity of adult dogs**. [Efeito do tempo de ingestão de diferentes prebióticos nos produtos fermentativos fecais e imunidade de cães adultos]. 2020. 67f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2020.

Foods formulated with the inclusion of prebiotics have demonstrated the ability to stimulate an increase in the production of lactic acid and short-chain fatty acids, as well as a reduction in fecal pH. These effects can also modulate the immune system's response. However, there is still no consensus regarding the minimum time required for ingestion by dogs to obtain reliable results regarding the efficiency of additives. Thus, this study aimed to evaluate the effect of the time of ingestion of different prebiotics on fermentative products and local immunity of adult dogs. At two different times, 24 dogs of different breeds were used, both sexes, with a mean age of 6.0 ± 2.22 years and an ideal body condition score (ECC), between 4 and 5. The animals were distributed in randomized block design, divided into 6 groups with 4 treatments, contemplating two factors: diet and time. The diet factor was composed by the following treatments: a) control diet without the addition of prebiotic (CO); b) control diet with inclusion of 0.38% of galactooligosaccharides (GOS); c) control diet with the inclusion of 0.5% commercial YES GOLF® (B1) prebiotic blend (composed of 120g / kg of FOS, 60g / kg of MOS, 72g / kg of GOS, inorganic zinc, 1.3 β- glucans and 150g / kg of β-glucans) and, d) control diet with the inclusion of 1.0% of the same commercial prebiotic blend YES GOLF® (B2) mentioned above. The period factor was named for the administration times T30 (30 days) and T60 (60 days), with the first 20 days destined to adapt to the diets, 5 days to evaluate the fecal score, 2 days between collections and the last 3 days for stool collections for the evaluation of pH, short-chain fatty acids (AGCC) and short-chain branched fatty acids (AGCCR), IgA, lactic acid and ammoniacal nitrogen. The results were analyzed in the SAS 9.4 program, using the SHAPIRO-WILK test (PROC UNIVARIATE) to verify the normality of the residues and the F test for homogeneity of variances. The analysis of variance was determined by the PROC MIXED of the SAS with the means compared by the Tukey test at the level of 5% of significance. There were no effects (P> 0.05) in the treatment x time interaction, only treatment and time effects. In relation to time, the intake of prebiotics for a period of 60 days (T60) resulted in higher concentrations of IgA, lactic acid and pH in the faeces (P <0.05) in all treatments. With the treatment effect, the inclusion of 1.0% of GOS in the food resulted in an increase in fecal humidity (score 2.8) and lactic acid concentrations. Therefore, the longer time of ingestion modulated the fecal fermentative and immunological products in adult dogs, which we can conclude that time is an influential factor that should be considered fundamental about these effects.

Key-words: blend prebiotic, canine, galactoligosaccharide, period.

Lista de Tabelas

Tabela 1. Principais estudos que avaliaram a inclusão de prebióticos em alimentos para cães saudáveis *versus* produtos fermentativos e variáveis imunológicas.....26

Tabela 2. Análises bromatológicas dos alimentos experimentais.....37

Tabela 3. Número de observações (n), médias (MED), desvio padrão (DP), coeficiente de variação (CV), mínimos (mín.) e máximos (máx.) das concentrações dos produtos fermentativos fecais observados no estudo.....42

Tabela 4. Médias da concentração dos produtos fermentativos fecais e imunológico de cães adultos alimentados com diferentes prebióticos em relação aos efeitos de tratamento, tempo e interação.....43

Lista de Figuras

Figura 1. Fases experimentais do estudo.....31

Figura 2. Concentrações fecais de IgA (ng/mL) no efeito de tempo.....46

Lista de abreviaturas e siglas

AGCC	Ácido graxo de cadeia curta
AGCCR	Ácido graxo de cadeia curta e ramificada
B1	Alimento *Blend* 1
B2	Alimento *Blend* 2
CO	Alimento Controle
COV	Compostos orgânicos voláteis
CV	Coeficiente de variação
DP	Desvio padrão
EEHA	Extrato etéreo em hidrólise ácida
EROs	Espécies reativas ao oxigênio
FAO	*Food and Agriculture Organization of the United Nations*
FB	Fibra bruta
FEDIAF	*The European Pet Food Industry Federation*
FOS	Frutooligossacarídeo
GOS	Galactooligossacarídeo
H	Hidrogênio
IFN	Interferon-gama
IgA	Imunoglobulina A
IG	Intestino grosso
IL	Interleucina
MED	Média
MM	Matéria mineral

MOS	Mananoligossacarídeo
MS	Matéria seca
N	Número de amostras
Na	Sódio
OMS	Organização Mundial da Saúde
PB	Proteína bruta
TGI	Trato gastrintestinal
T30	Período de 30 dias
T60	Período de 60 dias

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 19
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 20
2.1 POPULAÇÃO CANINA 20
2.2 PREBIÓTICOS 20
2.3 GALACTOOLIGOSSACARÍDEOS (GOS) 23
2.4 PREBIÓTICOS NA PRODUÇÃO ANIMAL 24
2.5 PREBIÓTICOS NA ALIMENTAÇÃO DE CÃES E GATOS 25
2.6 SISTEMA IMUNE 32
2.7 PRODUTOS DE FERMENTAÇÃO INTESTINAL 34
3. OBJETIVO 35
3.1 HIPÓTESE 35
4. MATERIAL E MÉTODOS 35
4.1 LOCALIZAÇÃO E ANIMAIS 35
4.2 DIETA E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL 35
4.5 DETERMINAÇÃO DO PH FECAL E ESCORE FECAL 37
4.6 DETERMINAÇÃO DE NITROGÊNIO AMONIACAL NAS FEZES 38
4.7 DETERMINAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA E CADEIA CURTA RAMIFICADA 39
4.8 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDO LÁTICO NAS FEZES 39
4.11 DETERMINAÇÃO DE IGA FECAL 40
4.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA 41
5. RESULTADOS 41
5.1 VARIÁVEIS INTESTINAIS E IMUNOLÓGICA 41
6. DISCUSSÃO 47
7. CONCLUSÃO 54
8. REFERÊNCIAS 55

1. INTRODUÇÃO

O novo perfil das famílias brasileiras tem chamado a atenção do setor *pet food* devido ao aumento do consumo de produtos e preocupação dos proprietários com seus animais. O desenvolvimento desse setor está cada vez mais inovador e criativo, o que promove o desenvolvimento de novos produtos no mercado (OLIVEIRA, 2006). A indústria brasileira de alimentos destinados a cães e gatos apresentou aumento na produção de 2,0% em 2016, com progressão de 3,0% em 2017. Esse crescimento refletiu em cerca de 13 bilhões de reais, o que tornou o mercado nacional o 3º maior mercado do mundo em faturamento (ABINPET, 2018). Tal crescimento atrelado ao acentuado número de animais de estimação estimulam estudos sobre alimentos funcionais e aditivos, que podem resultar em benefícios à saúde gastrintestinal. Os prebióticos, para poderem desempenhar seu papel, não podem ser digeridos pelos mamíferos e, muitas vezes, podem influenciar na composição e atividade metabólica da microbiota intestinal. Todavia, esses promotores de saúde intestinal em cães são de suma importância na formulação de alimentos completos devido aos seus efeitos benéficos (HESTA et al., 2006).

Atualmente, a indústria de alimentos para animais de estimação está cada vez mais utilizando fontes variadas de fibras (principalmente subprodutos derivados do processamento de grãos, frutas e legumes) na formulação de dietas para cães e gatos com diferentes propósitos: consistência fecal, prevenção de constipação intestinal, controle glicêmico em situações de doenças como no diabetes mellitus etc. No entanto, estudos sobre os efeitos de muitas fontes de fibra na composição e atividade da microbiota intestinal de cães e gatos ainda são escassos (BIAGI et al., 2010).

Na indústria de *pet food* há uma gama de prebióticos que são incluídos nas formulações. Os prebióticos mais frequentemente estudados e incluídos nos alimentos são os frutooligossacarídeos (FOS) e os mananoligossacarídeos (MOS) (GHOSH & MEHLA, 2012; GRAND et al., 2013; KARA et al., 2015). Já com relação ao prebiótico galactooligossacarídeo (GOS) existem poucas informações sobre seu emprego em cães, uma vez que na literatura há apenas dois estudos que incluíram este aditivo em alimentos para estes animais (ZENTEK et al., 2002; RENTAS, 2018). Além disso, não foram encontrados na literatura científica estudos que tenham

avaliado e comparado o tempo de ingestão de prebióticos e seus efeitos nas concentrações de produtos fermentativos e IgA fecais.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 POPULAÇÃO CANINA

Atualmente, os seres humanos cuidam dos seus animais de estimação como integrantes da família e muitas vezes, estes substituem um possível filho. O processo de humanização dos animais é denominado de antropomorfismo, ou seja, o animal é recriado com artefatos e costumes humanos e é considerado como tal (TATIBANA & VAL, 2009). No Brasil, em 2013, estimou-se que a população de cães em domicílios era de 52,2 milhões, o que resultou em crescimento do mercado, já que essa espécie é a primeira em número no ranking mundial de criação de animais de companhia (IBGE, 2013). A estimativa da população canina e felina mais atualizada publicada pelo IBGE (2015) foi de 5,44 milhões de cães e 1,005 milhões de gatos no estado de São Paulo.

Animais de estimação desempenham papel importante na saúde das pessoas devido ao fato de serem determinantes no bem-estar físico, social e mental (BAQUERO, 2015). Essa interação auxilia na redução da ansiedade e de estresse, motivo pelo qual muitas pessoas optam por adquirirem um pet (DOMINGUES, et. al. 2015).

2.2 PREBIÓTICOS

O conceito de prebióticos abrange fundamentos amplos e complexos na saúde (RASMUSSEN & HAMAKER, 2017), sendo definidos como substratos não digeríveis pelas enzimas digestivas do animal, porém podem ser fermentados pela microbiota do intestino grosso, o que resulta em estímulo seletivo da progressão na atividade de bactérias benéficas. Esse crescimento pode resultar em efeito sistêmico e intestinal, através dos produtos metabólicos da fermentação anaeróbia de bactérias intestinais

(LIU et al., 2015; MARKOWIAK & SLIZEWSKA, 2017). Efeitos esses como inibição da colonização de bactérias patógenas ou indesejáveis (GIBSON et al., 2004) e contribuição no aumento do aproveitamento da dieta com redução na excreção de nitrogênio fecal (REIS et al., 2017), aspectos que auxiliam na promoção da saúde intestinal do hospedeiro. Além disso, os efeitos dos prebióticos não se limitam apenas ao intestino, mas também podem proporcionar efeitos sistêmicos como modulação das concentrações séricas de colesterol, interação com o metabolismo lipídico (redução de triacilglicerol) e modulação do sistema imunológico (LOO & VANCRAEYNEST, 2008). De acordo com Gibson et al. (2004), os prebióticos que possuem resistência à acidez, promovem estímulo ao crescimento ou atividade de bactérias intestinais associadas à saúde e bem-estar, como por exemplo os frutoligossacarídeos, lactulose e galactoligossacarídeos.

Em 1995, os prebióticos foram definidos por Gibson e Roberfroid (1995) como componentes alimentares não digeridos que, através da estimulação do crescimento e/ou atividade de um único tipo ou em quantidade limitada de microrganismos residentes no trato gastrointestinal, melhoram o estado de saúde do hospedeiro. Em 2004, a definição foi atualizada e os prebióticos foram definidos como componentes fermentáveis de forma seletiva, que podem promover mudanças específicas na composição e/ou atividade de microrganismos no trato gastrintestinal, benéficos para a saúde e bem-estar do hospedeiro (GIBSON et al., 2004). Finalmente, em 2007, os especialistas da "*Food and Agriculture Organization of the United Nations*" (FAO) e a Organização Mundial da Saúde (OMS) definiram os prebióticos como um componente alimentar que confere benefícios à saúde do hospedeiro associados à modulação da microbiota fecal (FAO, 2007).

Os prebióticos fornecem nutrição para as bactérias benéficas já presentes no trato gastrintestinal, o que pode resultar no aumento da absorção de nutrientes e redução do pH intestinal. Em humanos, os prebióticos são consumidos com o propósito de promover uma microbiota saudável, prevenir distúrbios gastrintestinais e manter sua regularidade (CZARNECKI-MAULDEN, 2008). Todavia, para ser considerado um prebiótico, o substrato não pode ser hidrolisado e absorvido no trato gastrintestinal (TGI) proximal; deve ser seletivo às bactérias comensais benéficas no IG, o qual deverá estimular a proliferação desses microrganismos; deverá modular o

microbioma do cólon para mais saudável e induzir efeitos sistêmicos benéficos ao hospedeiro (HESTA et al., 2006).

Os prebióticos estão incluídos dentro da classe dos carboidratos, sendo considerados como fibra dietética. Por ser um substrato fermentável no intestino grosso, os prebióticos fazem parte do grupo dos carboidratos fermentativos. Os carboidratos fermentáveis são definidos por sua propriedade de laxação, embora não se tenha o conhecimento até o momento de que poderiam induzir um ambiente favorável às bactérias benéficas (RASMUSSEN & HAMAKER, 2017).

Os principais representantes dos prebióticos são alguns oligossacarídeos como galactooligossacarídeos (GOS), lactoligossacarídeos, xiloligossacarídeos (XOS), frutooligossacarídeos (FOS), mananoligossacarídeos (MOS) e β-glucanos, os quais possuem ações características no trato gastrintestinal e assim, podem resultar em benefícios na morfologia intestinal, uma vez que aumentam a área de absorção e reduzem a renovação das células epiteliais (FÉLIX, 2009). Além disso, possuem funções imunomoduladoras como é o caso dos β-glucanos. Esses são distribuídos amplamente em bactérias, algas, fungos e plantas, com diferentes tipos estruturais. Seu arranjo estrutural é composto por uma cadeia principal de β-1,3 e β-1,4-D-glucopiranosil, com cadeias laterais de comprimentos variados (ARAMLI et al., 2015). Os seus efeitos são influenciados desde a sua administração (cápsulas, injeção ou no alimento) até suas características como peso molecular, grau de ramificação, fonte e processo de extração (PILARSKI et al., 2017).

Oligossacarídeos provém de plantas, produtos vegetais e animais (HESTA et al., 2006) e são classificados como carboidratos de cadeia curta, formados por 2 a 10 monômeros de açúcares unidos por ligações glicolíticas (MENTEN, 2001). O FOS é um polímero com alta concentração de frutose devido a polimerização desta em sua obtenção (GIBSON et al., 2004). Já o MOS e GOS provém da parede celular de leveduras (*Saccharomyces cerevisae*), a qual apresenta complexa estrutura composta por manose fosforilada, glicose e proteínas (SPRING, 1996).

Estudos demonstraram a funcionalidade dos prebióticos (FOS, GOS e inulina) quanto a produção de ácido lático e acético que por consequência, promovem a redução do pH do trato gastrintestinal (RASMUSSEN & HAMAKER, 2017). A modulação dos prebióticos pode resultar na produção de metabólitos intermediários, como por exemplo, ácidos graxos de cadeia curta (ácido acético, ácido butírico e ácido propriônico), a qual podem modular o sistema imunológico (NAWAZ et al., 2018).

Misturas de prebióticos (*blends*) estão sendo reconhecidas, atualmente, como a melhor alternativa na modulação dos produtos fermentativos fecais e imunológicos, uma vez que a promoção do crescimento de diversas bactérias pode resultar em benefícios adicionais quando se compara ao desenvolvimento de menor variedade de bactérias, na saúde intestinal. Porém, há necessidade de pesquisas sobre as funções e efeitos desses carboidratos fermentáveis, bem como as misturas mais adequadas para cada indivíduo (RASMUSSEN & HAMAKER, 2017). No experimento de González-Félix et al. (2018), os autores observaram efeitos moduladores no intestino de peixes com a inclusão de prebióticos, probióticos e simbióticos, em um período de 119 dias. Em leitões, Budiño et al. (2006) verificaram que a inclusão de prebióticos na alimentação foi benéfica a partir dos 7 dias pós-desmame. Porém, não há estudos que avaliaram o tempo ideal de ingestão destes aditivos para se conseguir os efeitos esperados.

2.3 GALACTOOLIGOSSACARÍDEOS (GOS)

Os GOS são encontrados no leite, sendo sua estrutura composta por unidades de galactopiranosilo ligadas a β1-6 e a um resíduo terminal de glucopiranosilo através de um limite glicosídico α1-4 (HESTA et al., 2006). Podem ser formados, também, a partir da lactose por uma reação de transgalactosilação, compreendendo entre 2 e 8 sacarídeos, sendo uma unidade de glicose terminal, galactose e dissacarídeos que compõem 2 unidades de galactose (TZORTZIS & VULEVIC, 2009).

Um estudo que avaliou GOS em cães adultos não encontrou diferença de sua inclusão em relação aos efeitos na qualidade fecal, digestibilidade de nutrientes e minerais e produtos do metabolismo microbiano intestinal (ZENTEK et al., 2002). Um estudo mais recente realizado por nosso grupo de pesquisa demonstrou que a inclusão de 1,0% de GOS modulou variáveis imunológicas de cães adultos. Os resultados apontaram aumento das células polimorfonucleares, assim como aumento no *burst* oxidativo e atividade fagocitária (RENTAS, 2018). Dessa forma, novos estudos devem ser realizados para confirmação desses benefícios em animais de companhia. Em animais de produção, o GOS já é bastante utilizado (MWENYA et al., 2005; MACFARLANE et al., 2008; CASTRO et al., 2016) devido ao seu baixo custo de extração (MACFARLANE et al., 2006), motivo a mais para justificar novas pesquisas com outras espécies animais. Na mesma linha, Yousefi et al. (2018)

demonstraram que a inclusão de 2,0% de GOS influenciou de forma positiva em parâmetros imunológicos de peixe-zebra (*Danio rerio*).

2.4 PREBIÓTICOS NA PRODUÇÃO ANIMAL

Um estudo realizado por Tzortzis et al. (2005) demonstrou que a inclusão de 1,6% e 4,0% de GOS na dieta de suínos resultou no aumento da concentração de ácido lático nas fezes, redução do pH e concentração de acetato. Em estudo realizado com 720 perus em crescimento, a inclusão de 0,1g/kg de alimento de mananoligossacarídeo promoveu ganho de peso da 6ª a 18ª semanas em comparação com seu grupo controle (SIMS et al., 2004). Na aquicultura, o experimento de Dimitroglou et al. (2010) avaliou o efeito de 0,0%; 0,2% e 0,4% de MOS sob parâmetros alimentares e intestinais em 49 peixes (*Spaurus aurata*) e, os autores demonstraram que o aditivo resultou em tendência na melhoria da superfície de absorção do intestino posterior e promoveu aumento da diversidade de espécies das bactérias intestinais. Outro estudo com peixes (truta arco-íris) demonstrou que a inclusão de 0,2% de MOS na dieta de 14.400 animais melhorou o ganho de peso, reduziu a conversão alimentar e mortalidade e, melhorou os indicadores imunológicos (STAYKOV et al., 2007). Diversos estudos apontaram os efeitos dos mananoligossacarídeos na modulação da imunidade (SHASHIDHARA & DEVEGOWDA, 2003; FRANKLIN et al., 2005 HEINRICHS et al., 2013), seus produtos fermentativos intestinais (CHACHER et al., 2017) e na digestibilidade dos nutrientes (PARK et al., 2018).

No estudo de Yamamoto et al. (2016) os autores demonstraram que a inclusão de 5,0% de FOS (em matéria seca) na alimentação de ratos no intervalo de uma a oito semanas resultou no aumento da IgA salivar e, este achado apresentou correlação positiva com a elevada concentração de AGCC nas fezes. O aumento de IgA salivar pode significar efeito na melhora da imunidade da mucosa, o que auxilia como barreira à entrada de patógenos na submucosa. Segundo Soleimani et al. (2012), a introdução de 2,0 a 3,0% de FOS na dieta de 600 peixes da espécie *Rutilus caspicus* aumentou as concentrações de imunoglobulinas, atividade de lisozimas e desempenho no crescimento (ganho de peso). Em suínos, o *Lactobacillus plantarum* introduzido em associação com FOS demonstrou aumento das concentrações de IgA e IgG e, aumento da população de bactérias produtoras de ácido lático, o que indica

grande potencial para utilizá-lo como alternativa à substituição de antibióticos em dietas para leitões desmamados (WANG et al., 2018).

Ainda nessa mesma linha, os β-glucanos quando incluídos na alimentação de animais de produção, podem resultar em efeitos positivos no sistema imune (XIAO et al., 2004; ZHANG et al., 2008) como por exemplo, foram associados ao aumento na atividade de quimiotaxia de macrófagos em frangos de corte (CHENG et al., 2004). Além disso, as diferentes moléculas de β-glucanos estimulam o sistema imunológico por mecanismos semelhantes entre espécies como camundongos, cães, leitões e pintinhos. Estudos demonstraram que a inclusão de 15mg/kg de alimento de β-glucanos e 25mg/kg de alimento de β-glucanos influenciaram no aumento da produção de IL-2, índice de fagocitose de neutrófilos e monócitos e aumento na produção de anticorpos em cães, leitões, camundongos e pintinhos (DE OLIVEIRA et al., 2019).

2.5 PREBIÓTICOS NA ALIMENTAÇÃO DE CÃES E GATOS

Segundo Adogony et al. (2007), a inclusão de 1,0% de FOS no alimento de cães gestantes promoveu melhor resposta imune devido a estimulação local do sistema imunológico pela microbiota intestinal. Pawar et al. (2017) avaliaram 10 filhotes de Spitz em um período de 150 dias, suplementados com 1,5% de MOS na dieta e, observaram aumento nas subpopulações dos linfócitos CD4+ e diminuição do colesterol total e LDL, sem a interferência na digestibilidade dos nutrientes. Esses resultados podem indicar que a inclusão de MOS na dieta de cães influência de forma direta no sistema imunológico, sem alterar a digestibilidade dos nutrientes.

A inclusão de 0,2% a 0,6% de parede celular de levedura na dieta de gatos adultos não influenciou na digestibilidade dos nutrientes, no escore, produção e pH fecais. Em relação aos produtos fermentativos intestinais, os autores encontraram aumento linear dos AGCC (SANTOS et al., 2018c). Outro estudo que avaliou a PCL *in vitro* em fezes de cães observou maior digestibilidade da matéria orgânica (>92%) e maior produção de AGCC (MUSCO et al., 2018).

Na Tabela 1 estão apresentados os principais estudos publicados até o momento na literatura científica que avaliaram prebióticos na alimentação de cães saudáveis.

Tabela 1. Principais estudos que avaliaram a inclusão de prebióticos em alimentos para cães saudáveis *versus* produtos fermentativos e variáveis imunológicas.

Autores	Inclusão	"n"	Fase fisiológica	Período (dias)	Efeitos
Diez et al. (1998)	7,0% de inulina (em ms)	8	Adultos	140	Aumento da produção fecal Diminuição da digestilidade da MO, PB e EE
Strickling et al. (2000)	5g/kg da dieta de FOS, 5g/kg da dieta de MOS e 5g/kg da dieta de XOS	7	Adultos	21	MOS: Aumentou a concentração de propionato
Swanson et al. (2002a)	2g/kg da dieta FOS + 1g MOS	8	Adultos	14	Diminuiu neutrófilos no sangue
Swanson et al. (2002b)	1g de MOS, 1g de FOS e *Blend* (1g de FOS e 1g de MOS)	4	Adultos	56	*Blend:* tendeu ao aumento das concentrações de IgA ileal, diminuiu a concentração de indol e fenol nas fezes MOS: aumentou o número de linfócitos, diminuiu a digestibilidade da matéria orgânica FOS: diminuiu a concentração de indol e fenol

Autores	Inclusão	“n”	Fase fisiológica	Período (dias)	Efeitos
Swanson et al. (2002c)	2g/kg da dieta de FOS + celulose + lactobacilos	20	Adultos	28	Diminuiu amônia fecal, isobutirato e isovalerato Aumentou as concentrações de lactato e butirato
Zentek et al. (2002)	1g/kg de PC por dia de MOS, TGOS, lactose e lactulose	4	Adultos	40	MOS: diminuiu a digestibilidade da PB e MS Diminuiu o pH fecal Diminuiu as concentrações de amônia fecal
Flickinger et al. (2003)	0,1; 0,2 e 0,3% por dia de FOS	4	Adultos	56	Diminuiu a produção fecal
Hesta et al. (2003)	3,0% de FOS na dieta e 3,0% de isomalto-oligossacarídeo	8	Adultos	24	Redução na digestibilidade da proteína e gordura
Propst et al. (2003)	0,3; 0,6 e 0,9% de inulina e oligofrutose no alimento	7	Adultos	98	Diminuiu a digestibilidade da MO, PB e MS Aumentou a concentração de amônia fecal Aumentou a concentração de AGCC

Autores	Inclusão	"n"	Fase fisiológica	Período (dias)	Efeitos
Twomey et al. (2003)	30 e 60g/kg na MS de FOS com adição de 500mL/tonelada de inulase	36	Adultos	13	60g/kg: Reduziu o CDA da gordura e energia; reduziu a MS fecal; reduziu o pH fecal; aumentou o escore fecal e aumentou as concentrações de lactato fecal
Grieshop et al. (2004)	1,0% de chicória; 1,0% de MOS e 1,0% de chicória + 1,0% de MOS na dieta	34	Idosos	56	Aumentou a produção fecal Diminuiu as concentrações de linfócitos periféricos
Verlinden et al. (2006)	3,0% de inulina na dieta	16	Adultos	116	Aumento na produção fecal Diminuiu o CDA da PB
Middelbos et al. (2007a)	2,5% da dieta de *Blend* (FOS, CL, PCL)	6	Adultos	84	Diminuiu a digestibilidade da PB Aumentou a concentração de butirato
Middelbos et al. (2007b)	0,05; 0,25; 0,45 e 0,65% de PCL na dieta	5	Adultos	70	Diminuiu a contagem de monócitos Tendência no aumento de IgA ileal

Autores	Inclusão	“n”	Fase fisiológica	Período (dias)	Efeitos
Gomes (2009)	0,15%; 0,30% e 0,45% de PCL na dieta	8	Adultos	80	Aumento linear nas concentrações de butirato fecal; redução linear nas concentrações de tiramina e histamina nas fezes Aumento linear de linfócitos CD5+ no sangue
Vetvicka & Oliveira (2014)	15mg/kg/dia de β-glucanos e 25mg/kg/dia de β-glucanos	NI	Adultos	334	Aumento no índice de fagocitose Redução da glicemia em cães hiperglicêmicos
Vojtek et al. (2017)	4mg/kg de β-glucanos na dieta	30	Filhotes	98	Aumento na atividade fagocítica de leucócitos circulantes
Alexander et al. (2018)	0,5% e 1,0% de inulina na dieta	9	Adultos em sobrepeso	28	Aumento de AGCC fecal

Autores	Inclusão	“n”	Fase fisiológica	Período (dias)	Efeitos
Pinna et al. (2018)	Baixa PB (LP) + 1,5g/kg FOS na dieta e elevada PB (HP) + 1,5g/kg FOS na dieta	12	Adultos	80	HP resultou em aumento da amônia fecal Aumento no CDA da MS, Ca, Mg, Na, Zn e Fe Aumento no pH fecal Aumento no ácido propiônico e acético
Rentas (2018)	0,38% GOS; 0,5% *blend* prebiótico; 1,0% *blend* prebiótico na dieta	24	Adultos	30	GOS: reduziu a concentração do AGCCR iso-valérico fecal GOS e B2: aumentaram o número de células polimorfonucleares sanguíneas, aumentaram o *burst* oxidativo e melhororaram o índice de fagocitose por *E. coli* B2: melhorou o índice de fagocitose da *S.aureus*
Lin et al. (2019)	125, 250 e 500mg/dia SC	12	Adultos	42	Redução de indol e fenol fecal
Theodoro et al. (2019)	0,3% PCL convencional e 0,3% PCL com alta solubilidade, na dieta	24	Adultos	32	PCL com alta solubilidade: redução na digestibilidade da gordura; Aumento do butirato e putrescina; Redução de lactato PCL convencional: Aumento no índice de fagocitose

Autores	Inclusão	"n"	Fase fisiológica	Período (dias)	Efeitos
Vierbaum et al. (2019)	4g/L diluido de YSP, 5g/L diluido de IN e 4g/L diluido de YSP + 5g IN		*In vitro*	1	Aumento de AGCC totais Redução no pH IN: Aumento de putrescina e lactato Redução na amônia fecal
Nogueira et al. (2019)	5,0% de fibra alimentar + *blend* prebiótico; 0,02% de sacarina e eugenol e 5,0% de fibra combinada + 0,02% de sacarina e eugenol na dieta	8	Adultos	28	Aumento no CDA da fibra bruta Aumento de acetato e propionato Aumento de isobutirato e isovalerato

MO: matéria orgânica; PB: proteína bruta; MS: matéria seca; EEHA: extrato etéreo em hidrólise ácida; CDA: coeficiente de digestibilidade aparente; AGCC: ácidos graxos de cadeia curta; Ca: cálcio; Mg: magnésio; Na: sódio; Zn: zinco; Fe: ferro; PB: proteína bruta; PC: peso corporal; NI: Não Informado; FOS: frutoligossacarídeo; MOS: mananoligossacarídeo; TGOS: transgalactoligossacarídeo; XOS: xiloligossacarídeo; CL: celulose; PC: peso corporal; PCL: parede celular de levedura; LP: baixa proteína; HP: alta proteína; SC: *Saccharomyces cerevisiae*; YSP: *Yucca schidigera*; IN: inulina.

Fonte: PERINI (2020)

2.6 SISTEMA IMUNE

O sistema imune intestinal produz efeitos sistêmicos na saúde do indivíduo e pode ser modulado através dos componentes dietéticos, como por exemplo, os prebióticos. Estes, por sua vez, aumentam a atividade fagocítica e dos macrófagos e, melhoram a barreira epitelial. Os prebióticos podem promover imunomodulação a partir de duas formas: indireta e direta. Os mecanismos diretos promovem a modulação da resposta imune devido a produção de componentes benéficos do sistema imune intestinal, como por exemplo, produção de muco, aumento da barreira no TGI e expressão de citocinas. Já as vias indiretas incluem os produtos fermentativos provindos das bactérias intestinais, as quais podem ser influenciadas pelos prebióticos, que irão agir nas atividades imunomoduladoras (NAWAZ et al., 2018). Um dos produtos fermentativos mais estudados são os AGCC, em especial o butirato, uma vez que foi descoberto que este é um modulador da acetilação da cauda das histonas (principal proteína que compõe o nucleossomo), o que pode aumentar a acessibilidade de muitos genes a fatores transcricionais. O butirato é produzido pelas *Clostridium* e *Eubacterium*, enquanto que propionato e acetato são produzidos pelas *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*. O butirato também pode inibir a produção de citocinas pró-inflamatórias interferon-γ (IFN) e interleucina-2 (IL), enquanto que o acetato e propionato podem aumentar a produção da citocina anti-inflamatória IL-10 (SHOKRYAZDAN et al., 2017). No entanto, somente a modulação da produção de butirato não explica os efeitos dos prebióticos no sistema imune, pois outros mecanismos podem estar envolvidos (VANHOUTVIN et al., 2009; GOURBEYNE et al., 2011).

As citocinas atuam nas células secretoras e podem apresentar ação autócrina, parácrina e endócrina. Fisiologicamente, possuem papel fundamental na inflamação local e em estados sistêmicos inflamatórios. As células auxiliares T, linfócitos B, macrófagos, mastócitos, células do estroma e fibroblastos endoteliais estão envolvidos na produção das diferentes citocinas (SHOKRYAZDAN et al., 2017). O interferon-gama (IFN) é responsável pela proteção, ou seja, será liberado em resposta à patógenos, principalmente em respostas virais, o que gera a extensão das defesas antivirais das células próximas. Estes ativam os macrófagos, já as interleucinas por

sua vez, estimulam a diferenciação e desenvolvimento de linfócitos T e B e células hematopoiéticas.

A barreira do TGI de mamíferos consiste de uma camada de células solitárias que impedem a entrada ou envolvimento indesejado contra toxinas e patógenos, mas permite a coabitação de bactérias comensais no intestino. Além dessa primeira camada de proteção, a barreira intestinal é constituída de células específicas produtoras de muco, peptídeos antimicrobianos e compostos antibacterianos (lisozima) que, em conjunto com a microbiota, representam o primeiro obstáculo de resistência às bactérias indesejadas. A disfunção na barreira da mucosa pode resultar em alterações no sistema imunológico devido a adesão do patógeno na camada. Os prebióticos favorecem a redução dessas ligações com a barreira epitelial (NAWAZ et al., 2018).

No intestino encontra-se o maior órgão imunológico do organismo, conhecido como *gut associated lymphoid tissue* (GALT), o qual é constituído por linfócitos T e B, células dendríticas, neutrófilos, mastócitos e macrófagos. Uma das funções principais dessa região é a produção de anticorpos (IgA) e a ativação de respostas mediadas por linfócitos T CD4+ e CD8+, a qual pode ser alvo no aperfeiçoamento da defesa microbiana intestinal (BROOM et al., 2018). As bifidobactérias podem apresentar outros efeitos no sistema imune tais como modificação na atividade mitogênica, a qual estimula a proliferação de células mononucleares (linfócitos, monócitos e macrófagos) isoladas do sangue periférico (HESTA et al., 2006).

De acordo com Hoseinifar et al. (2016), a inclusão de 1,0 a 2,0% de GOS na alimentação de 360 peixes brancos de Cáspio (*Rutilus frisii kutum*) resultou em aumento na atividade de lisozimas e imunoglobulinas totais, aumento no desempenho e utilização do alimento. Em outro estudo de Hoseinifar et al. (2017), os autores obtiveram resultados equivalentes com a inclusão de 2,0% de GOS na alimentação de 240 carpas comuns. O prebiótico resultou em aumento da atividade de lisozimas do muco e imunoglobulina total. Além disso, promoveu melhor desempenho de crescimento, ganho de peso, peso final, conversão alimentar e taxa de crescimento.

2.7 PRODUTOS DE FERMENTAÇÃO INTESTINAL

Os compostos nitrogenados, que não são absorvidos totalmente no ID, são transportados para o intestino grosso, onde sofrem proteólise a partir das bactérias, o que resulta na liberação de aminoácidos e peptídeos que sofreram reações de redução e oxidação. Como produtos finais, originam-se os compostos putrefativos (COV – compostos orgânicos voláteis), responsáveis pelo odor fétido fecal, que são as aminas biogênicas, indóis, fenóis, amônia, AGCR e compostos sulfurados (ROUDEBUSH et al., 2010).

Além disso, outros produtos originados da fermentação intestinal, como ácido lático e ácidos graxos de cadeia curta e ramificada, podem apresentar efeitos como a diminuição do pH intestinal (LOO & VANCRAEYNEST, 2008). Com a inclusão de prebióticos na dieta, esse efeito pode ser maior, o que promoverá possíveis efeitos na saúde intestinal. Essa redução do pH ocorre com o aumento da conversão de NH3 (amônia) em NH4 (amônio), o qual apresenta menor absorção no cólon e maior excreção pelas fezes.

O ácido lático é um metabólito do ciclo glicolítico proveniente do metabolismo de carboidratos (KULKARNI et al., 1971). Twomey et al. (2003) demonstraram que a maior inclusão de FOS na dieta de cães adultos resultou na queda de 0,4 pontos de pH e apesentaram aumento de 234,1 pontos na concentração de lactato. Esse aumento do lactato pode ter influenciado a queda do pH fecal.

Os AGCC podem conferir propriedades energéticas ao hospedeiro e são considerados fatores importantes para o crescimento de células epiteliais. Além disso, possuem funções anti-inflamatórias, já que induzem células T imunorreguladoras. No estudo de Arpaia et al. (2013) os autores demonstraram que tanto o butirato quanto o propionato facilitaram a geração das células T regulatórias, as quais possuem função importante nas respostas inflamatórias do hospedeiro. Na formação dos AGCC, o ácido acético é gerado através da hidrólise do aceitl-CoA, formado a partir do piruvato. O propiônico é formado através das vias: succinato, fucose e acrilato. Já o ácido butírico é produzido através da reação inversa da beta oxidação (SANTOS, 2015a). Todavia, o ácido propiônico e butírico são produzidos em concentrações de 70-140mmol/L e 20-70 mmol/L no cólon proximal e distal (NAWAZ et al., 2018).

3. OBJETIVO

Avaliar a influência do tempo de ingestão de diferentes prebióticos nas concentrações de produtos fermentativos nas fezes e imunidade local (intestinal) de cães adultos.

3.1 HIPÓTESE

A ingestão dos prebióticos por período de 60 dias quando comparado ao período de 30 dias resulta em melhor efeito imunológico local, assim como modula os produtos fermentativos intestinais.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 LOCALIZAÇÃO E ANIMAIS

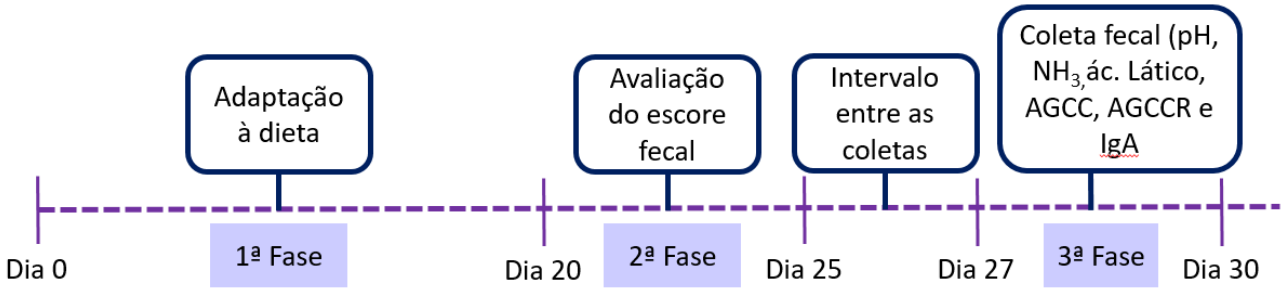
O estudo foi conduzido entre o período de março e abril de 2018, no Centro de Desenvolvimento Nutricional da Premier Pet (CDN Premier Pet), localizado na cidade de Dourado – SP. Foram utilizados 24 cães adultos saudáveis, de ambos os sexos e raças variadas (6 Beagles, 2 Cocker Spaniel, 5 Setter Irlandês, 1 Labrador, 2 Golden Retriever, 2 Whippet, 4 Bulldog francês e 2 West Highland White Terrier), com média de idade de 4,0 ± 2,0 anos e escore de condição corporal (ECC) entre 4 e 5, segundo Laflamme (1997). Os animais foram alojados em canis individuais (2,0 x 5,60m) e solário (2,0 x 4,90m), que possuíam cama, controle de temperatura e água *ad libitum*. Quanto aos exercícios físicos e socialização, os cães tinham 6 horas para realizar esta atividade. Mas, no período de coleta, foram soltos individualmente, por 1 hora, para que fosse realizada a coleta de fezes. Após a coleta, os animais eram soltos para a prática de exercícios e socialização.

4.2 DIETA E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O experimento teve duração de 60 dias (2 meses), dividido em dois períodos: T30 (30 dias) e T60 (60 dias), sendo os 20 primeiros dias (1ª fase), destinados para

adaptação aos alimentos, 5 dias (2ª fase) para avaliação do escore fecal, 2 dias de intervalo entre as coletas e avaliações e, os últimos 3 dias (3ª fase) de coleta fecal para avaliação do pH fecal, AGCC e AGCCR, IgA, ácido lático e NH3. O cronograma experimental está ilustrado na Figura 1.

Figura 1. Fases experimentais do estudo.



Legenda: AGCC: ácidos graxos de cadeia curta; AGCCR: ácidos graxos de cadeia curta ramificada; IgA: imunoglobulinas “A”.

Fonte: PERINI (2020)

Os animais foram distribuídos em delineamento em blocos casualizados, divididos em 6 grupos contendo 4 animais em cada (de acordo com seu peso metabólico e porte) com 4 tratamentos em dois períodos distintos: alimento controle, sem adição de prebiótico (CO); 0,38% GOS (GOS); 0,5% *Blend* comercial Yes Golf® (B1) e 1,0% *Blend* comercial Yes Golf® (B2). Os 4 tratamentos do período T30 eram equivalentes aos tratamentos do período T60. Cada bloco foi composto por 4 animais com portes e pesos metabólicos próximos, a fim de evitar heterogeneidade no grupo. Os *Blends* comerciais foram constituídos por uma mistura de no mínimo 120g/kg de FOS, 60g/kg de MOS, 72g/kg de GOS, zinco orgânico, 1,3 β-glucanos e 150g/kg de β-glucanos. O suplemento GOS continha no mínimo 380g/kg.

Os alimentos experimentais foram extrusados na Unidade Fabril da Premier Pet, localizada na cidade de Dourado, interior de São Paulo. Os alimentos foram formulados de acordo com as recomendações nutricionais da *European Pet Food Industry Federation* (FEDIAF, 2017). Os prebióticos foram adicionados na cobertura do alimento.

A alimentação dos animais foi fornecida duas vezes ao dia, calculando-se a quantidade de alimento com base na equação de predição energética para cães inativos: 95 x $(PC)^{0,75}$ (NRC, 2006). Os animais foram pesados semanalmente para possíveis ajustes na quantidade de alimento, a fim de evitar o desequilíbrio energético. As sobras foram pesadas diariamente e a quantidade de alimento ofertada foi registrada para a realização do cálculo de consumo.

A composição química dos alimentos experimentais está apresentada na Tabela 2. As amostras foram coletadas durante o ensaio para a realização das análises bromatológicas.

Tabela 2. Análises bromatológicas dos alimentos experimentais.

Item	Tratamentos			
	CO[1]	GOS[2]	B1[3]	B2[4]
Matéria seca (%)	91,95	91,80	91,76	91,76
Matéria mineral (%)	6,47	6,61	6,72	6,85
Proteína bruta (%)	27,46	26,93	25,28	27,22
Extrato etéreo em hidrólise ácida (%)	14,17	14,53	14,32	14,37
Fibra bruta (%)	6,30	6,40	5,97	5,83
Extrativos não-nitrogenados (%)	45,6	45,53	47,71	45,73

[1]CO: alimento controle, sem adição de prebiótico; [2]GOS: alimento controle com adição de 0,38% de galactoligosacarídeos (mín. 380g/kg); [3]B1: alimento controle com adição de 0,5% de Blend Yes Golf®; [4]B2: alimento controle com adição de 1,0% de Blend Yes Golf®.

Fonte: (PERINI, 2020)

4.5 DETERMINAÇÃO DO PH FECAL E ESCORE FECAL

Duas amostras de fezes (1g por amostra), por animal, foi coletada em até 15 minutos após a defecação para determinação do pH. Sua aferição foi realizada em duplicata por peagâmetro digital de bancada (Digimed, DM-20, Quimis do Brasil Ltda.,São Paulo/SP). Para sua avaliação, introduziu-se o eletrodo em uma solução diluída de 9:1 de água destilada e fezes e, foram diluídas em 18mL de água destilada.

A mensuração do pH foi realizada de acordo com a metodologia adaptada de Walter et al. (2005). Essa análise foi realizada no Centro de Desenvolvimento Nutricional da Premier Pet, em Dourado, São Paulo.

O escore fecal foi avaliado nos cinco primeiros dias de coletas, em uma escala de 1 a 5 pontos, sendo consideradas: 1: fezes duras secas e quebradiças; 1,5: fezes duras e secas; 2: fezes bem formadas sem deixar marcas ao serem coletas; 2,5: fezes bem formadas com umidade na superfície e deixam marca ao serem coletas; 3: fezes úmidas e com perda de formato; 3,5: fezes muito úmidas e ainda possuem algum formato; 4: fezes sem formato, com baixa consistência e viscosas; 4,5: diarreia com algumas áreas de consistência; 5: diarreia liquida, adaptado de Moxham (2001).

4.6 DETERMINAÇÃO DE NITROGÊNIO AMONIACAL NAS FEZES

Esta análise foi realizada no Laboratório Multiusuário de Nutrição Animal e Bromatologia do Departamento de Nutrição e Produção Animal da FMVZ/USP. A fim de se quantificar o nitrogênio amoniacal fecal, foram coletadas amostras frescas em até 30 minutos após a defecação. Posteriormente, as amostras foram homogeneizadas e pesadas, sendo que para a quantificação do nitrogênio amoniacal fecal foram utilizadas 3 gramas das fezes acidificadas com 9mL de ácido fórmico a 16%. Logo após, a mistura foi centrifugada a 5.000 rpm durante 15 minutos, a 15°C por três vezes, aproveitando-se o sobrenadante e desprezando-se o sedimento. Após a extração, as amostras foram identificadas e armazenadas em freezer (-15°C).

Os extratos foram descongelados à temperatura ambiente e, em seguida, alíquotas de 2mL foram diluídas em 13mL de água destilada e analisadas em destilador de nitrogênio. A destilação foi realizada com 5mL de solução 2N de hidróxido de potássio, e a titulação com ácido clorídrico 0,005mol/L, conforme Vieira (1980).

4.7 DETERMINAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA E CADEIA CURTA RAMIFICADA

Estas análises foram realizadas no Laboratório de Fermentabilidade Ruminal da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo (ZAZ/FZEA USP). As amostras de fezes foram coletadas em até 15 minutos após a defecação, sendo homogeneizadas, pesadas (3g) e acidificadas com 9mL de ácido fórmico a 16%. A mistura foi mantida por sete dias em refrigerador, homogeneizadas diariamente, e posteriormente, centrifugadas por 15 minutos a 15°C em 5.000 rpm, aproveitando-se o sobrenadante e desprezando-se o sedimento, repetindo-se este procedimento por três vezes. Após a extração, as amostras foram identificadas e armazenadas em freezer(-15°C). A determinação dos ácidos graxos de cadeia curta e ramificada foi realizada por cromatografia gasosa (Shimadzu, Tamboré, Brasil, 2014) de acordo com ERWIN et al. (1961), com detector de ionização de chama, controlado pelo programa Shimadzu GC Solution e coluna de separação Stalbilwax de 30 metros e 0,53mm, gás hélio como carreador, nitrogênio como *make up*, oxigênio com regulagem manual, injetor e detector de chama à 250°C, sendo a temperatura da coluna mantida em 145°C. Para calibração foi utilizada solução padrão externa com ácido acético, propiônico, butírico, valérico, isovalérico e isobutírico.

A amostra líquida centrifugada foi injetada e vaporizada percorrendo, com auxílio do gás de arraste à coluna. Nesta coluna, os ácidos vaporizados mais leves percorreram mais rapidamente a coluna, atingindo o detector de ionização de chama. Neste, a corrente formada pela ionização da chama com o ácido é coletada e enviada a um computador na forma de impulso elétrico. Neste, calculou-se a concentração da amostra e comparou-se as áreas dos picos formados pela intensidade dessa corrente com a área dos picos formados pela solução contendo o ácido padrão. Desta forma, calculou-se a concentração da amostra através de uma simples regra de três.

4.8 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDO LÁTICO NAS FEZES

Estas análises foram realizadas no Laboratório Multiusuário de Nutrição Animal e Bromatologia do Departamento de Nutrição e Produção Animal da FMVZ/USP. O ácido lático foi aferido segundo metodologia descrita por Pryce (1969), pelo método de espectrofotometria a 565nm (500 a 570nm), no qual foi empregado branco reagente a fim de calibrar o espectrofotômetro (QUICK-Lab, DRAKE Eletrônica Comércio LTDA, São José do Rio Preto – SP). Para tal, foram pesados 3 gramas de fezes frescas, coletadas em até 30 minutos após a defecação, posteriormente as amostras foram homogeneizadas e misturadas com 9mL de água destilada (1:3 p/v). As amostras foram quantificadas comparando-as com padrão de ácido lático a 0,08%.

4.11 DETERMINAÇÃO DE IGA FECAL

Para a quantificação de IgA nas fezes, foram coletados 3g de amostra fresca e, posteriormente, congeladas a -20ºC. Depois de descongeladas, a IgA foi extraída com solução salina de acordo com Peters et al. (2004). Pesou-se 1 grama de fezes e adicionou-se 10mL de tampão de extração [PBS 0,01M; pH 7,4; Tween 80 a 0,5% (Sigma-Aldrich, Poole, Dorset, Reino Unido) e 0,05% de azida de sódio] e foram homogeneizados. A suspensão foi centrifugada a 1.500g durante 20 minutos a 5°C.

Dois mililitros do sobrenadante foram transferidos para um tubo cônico de 5mL contendo 20µL de coquetel inibidor de protease (Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil), homogeneizados e centrifugados a 15.000g durante 15 minutos a 5°C. O sobrenadante foi transferido para um microtubo (Eppendorf) e armazenado (-20°C). A quantificação da imunoglobulina A foi realizada em kit de ELISA para determinação de IgA canina (Bethyl Laboratories, Montgomery, Texas) de acordo com as recomendações do fabricante.

A leitura foi realizada em Leitor de Microplacas ELISA (Microplate Reader MRX TC Plus, Dynex Technologies, Chantilly, VA) com emprego de um filtro de 450nm. Estas análises foram realizadas no Laboratório especializado em análises científicas (LEAC), na cidade de São Paulo - SP.

4.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram analisados através do programa computacional *Statistical Analysis System*, versão 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA), sendo previamente verificada a normalidade dos resíduos pelo teste de SHAPIRO-WILK (PROC UNIVARIATE) e a homogeneidade das variâncias comparadas pelo teste F. Todas as variáveis foram analisadas por meio de um modelo misto que contemplou os efeitos fixos de tratamento (CO, GOS, B1 e B2), tempo (T30 e T60) e interação tratamento x tempo, além dos efeitos aleatórios de blocos e resíduo. Todas as análises foram realizadas com auxílio do procedimento PROC MIXED do programa SAS. Primeiro os dados foram submetidos a ANOVA, e quando apresentaram diferença, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância, de acordo com o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + b_k + p_j + tp_{ik} + e_{ijk}$$

em que:

Y_{ij}= variável dependente; μ= média geral; t_i= efeito fixo de tratamento; b_j = efeito aleatório de bloco; pk = efeito fixo de tempo (período); t_ip_k = efeito fixo de interação tratamento x tempo; e_{ijk} = erro residual.

5. RESULTADOS

5.1 VARIÁVEIS INTESTINAIS E IMUNOLÓGICA

Na Tabela 3 estão apresentadas as médias, quantidades de amostras utilizadas (n), erro padrão, coeficiente de variação e os valores mínimos e máximos de cada parâmetro fecal avaliado.

As análises de variâncias sobre os efeitos de período, tratamento e interação estão apresentadas na Tabela 4. Podemos observar que o ácido propiônico foi a única variável que apresentou tendência na interação tratamento x período (p=0,0542).

Pode-se apontar que os produtos da fermentação intestinal e imunológico, como o ácido lático, o pH e IgA ($p<0,05$) apresentaram efeito de período e, o maior período (T60) de ingestão dos prebióticos aumentou as concentrações dessas variáveis. As outras variáveis não apresentaram diferença ($p>0,05$) tanto no fator tratamento quanto no fator período, exceto o escore fecal e ácido lático, que demonstraram efeito de tratamento ($P<0,05$). O GOS aumentou o escore fecal (2,8) em comparação com os outros tratamentos. Além disso, o GOS também aumentou as concentrações de ácido lático, quando comparado aos tratamentos CO e B1. O tratamento B2 se assemelhou com os tratamentos GOS, B1 e CO nas amostras fecais de ácido lático.

Tabela 3. Número de observações (N), médias (MED), desvio padrão (DP), coeficiente de variação (CV), mínimos (mín.) e máximos (máx.) das concentrações dos produtos fermentativos fecais observados no estudo.

Variável (mMol/L de MS)	**N**	**MED**	**DP**	**CV (%)**	**Mín.**	**Máx.**
Escore fecal	48	2,59	0,27	10,45	2,20	3,50
Ácido lático	48	2,16	0,03	1,33	2,09	2,21
NH3	48	136,79	35,22	25,75	61,99	253,02
pH	48	6,80	0,29	4,20	6,18	7,47
Ácido acético	48	21,42	6,06	28,29	11,55	38,72
Ácido propiônico	48	14,06	3,46	24,61	7,94	23,90
Ácido butírico	48	4,30	1,20	27,96	2,01	7,40
AGCC totais	48	39,78	9,72	24,45	22,52	67,57
Ácido isobutírico	48	0,82	0,23	28,63	0,20	1,33
Ácido valérico	40	0,12	0,03	27,87	0,06	0,18
Ácido isovalérico	48	0,95	0,26	27,09	0,53	1,58
AGCCR totais	48	1,88	0,45	24,06	0,76	2,76
IgA (ng/mL)	48	18,12	11,84	65,31	1,36	48,17

N: número de amostras; MED: média; DP: desvio padrão; CV: coeficiente de variação; Mín.: mínimo; Máx.: máximo; AGCC totais: ácidos graxos de cadeia curta totais; AGCCR totais: ácidos graxos de cadeia curta e ramificada totais.

Fonte: (PERINI, 2020)

Tabela 4. Médias da concentração dos produtos fermentativos fecais e imunológico de cães adultos alimentados com diferentes prebióticos em relação aos efeitos de tratamento, tempo e interação.

	Tratamentos									
	CO	**GOS**	**B1**	**B2**		**EPP**		***p***		
Ác. lático (mMol/L de MS)	**Média**	**Média**	**Média**	**Média**	**DP**	**Média**	**DP**	**Trat.**	**Tempo**	**Trat.x Tempo**
T30	2,13	2,15	2,12	2,14		2,13^{B}				
T60	2,16	2,19	2,16	2,18	0,007	2,17^{A}	0,0037	0,0002	<.0001	0,7515
EPT	2,14^{B}	2,17^{A}	2,14^{B}	2,16^{AB}	0,005					
NH3										
T30	119,87	133,58	157,58	140,7		137,93				
T60	145,73	123,32	136,9	136,61	14,75	135,64	8,7738	0,5565	0,8144	0,3775
EPT	132,80	128,45	147,24	138,66	11,13					
pH										
T30	6,75	6,77	6,655	6,58		6,69^{B}				
T60	6,98	6,96	6,921	6,76	0,11	6,91^{A}	0,0681	0,2004	0,0043	0,9696
EPT	6,87	6,87	6,78	6,67	0,08					
Ác. acético										
T30	22,50	19,98	19,15	22,23		22,23				
T60	18,24	26,38	23,61	19,23	2,42	19,23	2,4202	0,6638	0,6029	0,0836
EPT	20,37	23,18	21,38	20,73	1,71					
Ác. propiônico										
T30	14,70	14,16	13,38	15,49		14,43				
T60	11,47^{B}	14,76^{AB}	16,05^{A}	12,45^{B}	1,38	13,68	0,9051	0,5604	0,3881	0,0542
EPT	13,09	14,46	14,72	13,97	1,09					

	Tratamentos									
	CO	GOS	B1	B2		EPP		*p*		
Ác. butírico	**Média**	**Média**	**Média**	**Média**	**DP**	**Média**	**DP**	**Trat.**	**Tempo**	**Trat.x Tempo**
T30	4,20	3,62	4,87	4,47		4,29				
T60	4,04	4,46	4,06	4,63	0,50	4,30	0,25	0,6934	0,9847	0,4473
EPT	4,12	4,04	4,46	4,55	0,35					
AGCC totais										
T30	41,41	37,78	37,41	42,20		39,70				
T60	33,76	45,61	43,72	36,32	3,95	39,85	2,11	0,7406	0,9555	0,1085
EPT	37,59	41,69	40,57	39,26	2,86					
Iso-butírico										
T30	0,76	0,79	0,85	0,82		0,81				
T60	0,76	0,78	0,88	0,84	0,10	0,82	0,050	0,7104	0,9033	0,9958
EPT	0,76	0,79	0,87	0,83	0,07					
Iso-valérico										
T30	0,95	0,80	1,14	0,85		0,93				
T60	1,12	0,85	0,96	0,94	0,10	0,97	0,052	0,0892	0,6463	0,3716
EPT	1,04	0,82	1,05	0,89	0,07					
Valérico										
T30	0,12	0,12	0,11	0,10		0,11	0,008			
T60	0,14	0,13	0,11	0,09	0,01	0,12	0,008	0,0934	0,5187	0,6574
EPT	0,13	0,13	0,11	0,09	0,01					
AGCCR totais										
T30	1,82	1,72	2,15	1,78		1,87				
T60	2,00	1,75	2,01	1,84	0,19	1,90	0,09	0,3164	0,8144	0,8594
EPT	1,91	1,73	2,08	1,81	0,13					

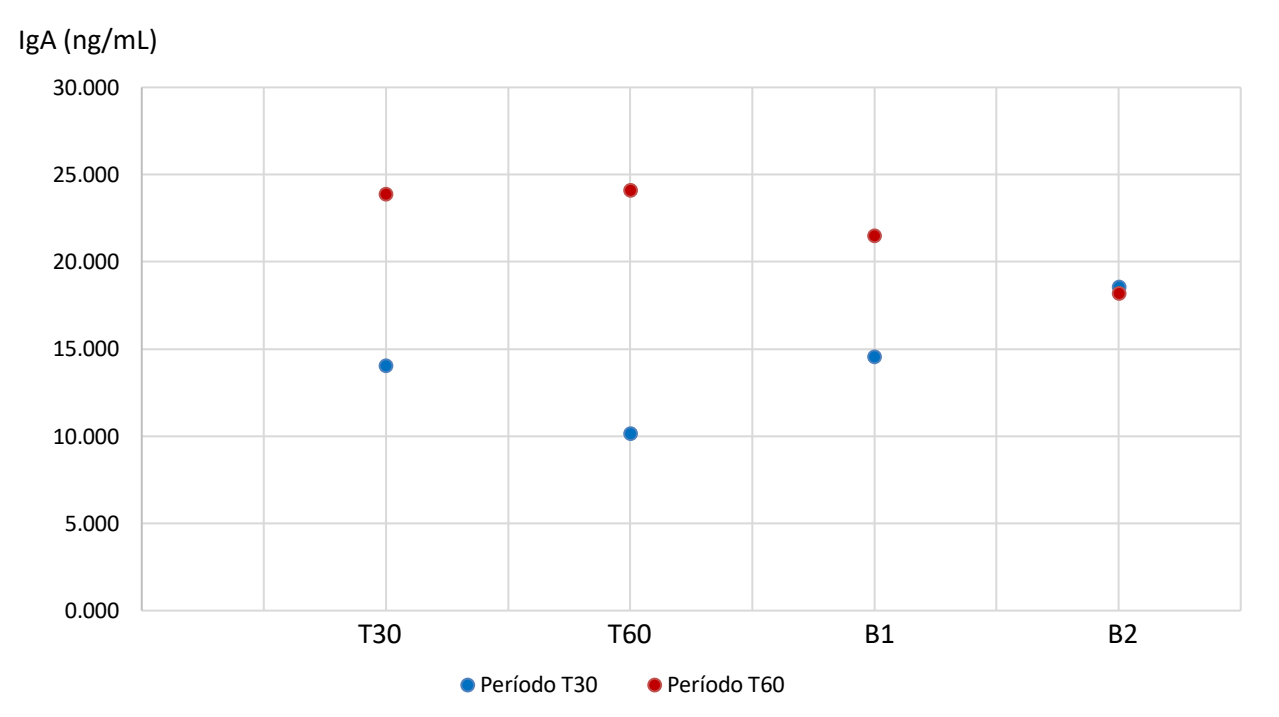
	Tratamentos									
	CO	**GOS**	**B1**	**B2**		**EPP**		***p***		
IgA (ng/mL)	**Média**	**Média**	**Média**	**Média**	**DP**	**Média**	**DP**	**Trat.**	**Tempo**	**Trat.x Tempo**
T30	14,03	10,15	14,57	18,55		14,33[B]				
T60	23,87	24,11	21,49	18,18	4,80	21,91[A]	3,008	0,9796	0,0182	0,4167
EPT	18,95	17,13	18,03	18,37	3,70					
Escore fecal										
T30	2,55	2,85	2,55	2,51		2,61				
T60	2,50	2,78	2,50	2,51	0,10	2,57	0,0571	0,0124	0,5664	0,9891
EPT	2,52[B]	2,81[A]	2,52[B]	2,51[B]	0,07					

CO (alimento controle, sem adição de prebiótico); GOS (alimento controle com adição de 0,38% de galactoligosacarídeos); B1 (alimento controle com adição de 0,5% de *blend* prebiótico comercial); B2 (alimento controle com adição de 1,0% de *blend* prebiótico comercial); EPT Efeito principal de tratamento; T30: período de 30 dias; T60: período de 60 dias; EPP: efeito principal de período; A; B médias em uma mesma coluna e seguidas por uma mesma letra maiúscula, não diferem entre si ao nível de 5% pelo Teste de Tukey.

Fonte: (PERINI, 2020)

A figura 2 ilustra o aumento da IgA fecal no período T60 em comparação com o T30. No período T60, a IgA aumentou nos tratamentos CO, GOS e B1.

Figura 2. Concentrações fecais de IgA (ng/mL) no efeito de tempo.



CO (alimento controle, sem adição de prebiótico); GOS (alimento controle com adição de 0,38% de galactoligosacarídeos); B1 (alimento controle com adição de 0,5% de *blend* prebiótico comercial); B2 (alimento controle com adição de 1,0% de *blend* prebiótico comercial); T30: período de 30 dias; T60: período de 60 dias.

Fonte: (PERINI, 2020)

6. DISCUSSÃO

Atualmente é de conhecimento que o objetivo da nutrição de cães não está apenas ligado à saciedade e sobrevivência, mas também no bem-estar, melhora da saúde e redução do risco de doenças (CERBO et al., 2017). Os pesquisadores da área, assim como os formuladores, buscam ingredientes funcionais que ofereçam benefícios além da nutrição básica (MIDDELBOS et al., 2007).

Das pesquisas mais promissoras dentro da nutrologia e nutrição pet, estão os alimentos que atuam no metabolismo de macronutrientes, os quais possuem efeitos antioxidantes e promovem benefícios à saúde do trato gastrintestinal (CERBO et al., 2017). Dentre os ingredientes funcionais mais utilizados pela indústria, destacam-se os prebióticos, os quais podem resultar em benefícios ao hospedeiro por estimularem de forma seletiva o crescimento e a atividade de um grupo ou mais de bactérias intestinais benéficas (SWANSON et al., 2002; ROBERFROID et al., 2010). Tanto a associação entre prebióticos, quanto a utilização de novos compostos como os galactooligossacarídeos (GOS), precisam ser mais bem estudados. Os GOS são prebióticos de alto valor agregado e, recentes estudos atribuem a estes oligossacarídeos uma série de potenciais benefícios à saúde (FAI et al., 2015).

Dentre os 27 principais estudos que avaliaram prebióticos na alimentação de cães (Tabela 2), a maior parte (37,0%) estudou esses aditivos por período médio de 25 dias (STRICKLING et al., 2000; SWANSON et al., 2002c; FLICKINGER et al., 2003a; HESTA et al., 2003; BIAGI et al., 2010; BELOSHAPKA et al., 2012; SANTOS et al., 2017c; ALEXANDER et al., 2018; NOGUEIRA et al., 2019). Já 22,22% dos trabalhos, avaliaram diferentes prebióticos por 47 dias em média (SWANSON et al., 2002b; ZENTEK et al., 2002; FLICKINGER et al., 2003b; GRIESHOP et al., 2004; LIN et al., 2019; THEODORO et al., 2019). Outros estudos (18,51%) avaliaram por 100 dias em média (DIEZ et al., 1998; WILLARD et al., 2000; PROPST et al., 2003; MIDDELBOS et al., 2007a; PAWAR et al., 2017) e poucos (14,81%) avaliaram os efeitos em curto prazo de tempo, 13 dias em média (SWANSON et al., 2002a; TWOMEY et al., 2003; FABER et al., 2011). Por fim, a minoria (7,40%) dos estudos avaliaram por tempo médio de 75 dias (MIDDELBOS et al., 2007b; PINNA et al, 2018). Com base nas informações levantadas, pode-se concluir que não há consenso em relação ao tempo mínimo/ideal de avaliação dos prebióticos na alimentação de cães. Desta maneira, este é o primeiro estudo com o propósito de avaliar dois períodos de inclusão de diferentes prebióticos e os possíveis efeitos nos produtos de fermentação intestinal e imunidade local de cães.

Com base nos resultados encontrados, pode-se observar que o maior período de ingestão (60 dias) resultou em efeitos (aumento) no pH, ácido lático e IgA. Em peixes, estudos também demonstraram que em períodos de 45 dias (LEVY-PEREIRA et al., 2018) e 60 dias (MOMENI-MOGHADDAM et al., 2015) ocorreu aumento nas

concentrações do ácido lático. No presente estudo, o aumento do pH fecal foi um achado não esperado, uma vez que o aumento do ácido lático geralmente está associado à redução do pH fecal (LOO & VANCRAEYNEST, 2008; SLAVIN 2013). No entanto, esse aumento no pH fecal corrobora os resultados encontrados em alguns estudos que avaliaram a inclusão de prebióticos em cães (SWANSON et al., 2002a; GOMES, 2009; PINNA et al., 2018). Swanson et al. (2002a) observaram tendência no aumento do pH fecal em cães canulados por curto período (14 dias). Gomes (2009) observou aumento linear no pH fecal em período de 42 dias de avaliação. Nessa mesma linha, Pinna et al. (2018) também observaram aumento no pH das fezes em longo prazo (80 dias). O leve aumento nas concentrações de ácido lático e o não aumento dos AGCC são possíveis explicações para a não redução do pH fecal.

O aumento no IgA fecal encontrado no presente estudo colabora com os resultados encontrados em roedores (HOSONO et al., 2002) e cães (KROLL et al. 2020). Hosono et al. (2002) encontraram efeitos em 42 dias de experimentação. Já Kroll et al. (2020) observaram aumento em período de 28 dias. Outro estudo em cães também demonstrou tendência no aumento da concentração de IgA, quando os animais foram alimentados por período de 14 dias (MIDDELBOS et al., 2007). Os mecanismos envolvidos nas ações dos prebióticos em modular variáveis imunológicas no intestino ainda não foram totalmente elucidados (SCHLEY & FIELD, 2002). Segundo Slavin (2013), o teor de inclusão do prebiótico, assim como o tempo de utilização e a fonte do mesmo, podem influenciar no seu efeito. Como os principais efeitos relacionados aos prebióticos são consequentes à modulação microbiana intestinal, este aspecto ainda necessita de mais estudos, uma vez que não há consenso sobre o tempo necessário para que um prebiótico possa modular a microbiota e assim, resultar nos efeitos esperados. Portanto, a concentração de IgA fecal aumentada nos tratamentos com adição de prebiótico ao longo do tempo, é um resultado importante, pois expressa melhor capacidade imunológica local quando o animal passa por um período maior de exposição. Outros estudos observaram variações nas concentrações fecais de IgA em cães ao longo do tempo (ZAINE et al., 2011; KROLL et al., 2020). Além disso, alguns autores observaram que cães filhotes apresentaram menores concentrações de IgA fecal do que cães adultos ou idosos. A produção contínua de IgA ocorre devido à estimulação constante pela microbiota intestinal (GOMES et al., 2011). As bactérias benéficas estimulam o sistema

imunológico, o qual produz mediadores (citocinas, células mononucleares e imunoglobulinas) que interagem com o sistema imune.

A inclusão de diferentes prebióticos na alimentação de cães adultos não alterou as concentrações de AGCC, AGCCR, AGCC totais, AGCCR totais e nitrogênio amoniacal com relação ao tempo, tratamento e interação, o que corrobora os resultados de Swanson et al. (2002a) e Santos (2017b). Apenas o ácido propiônico demonstrou tendência na interação tratamento x período, aspecto observado pelas maiores concentrações no tratamento B1 no período T60. Um estudo demonstrou que a utilização de 0,5%; 1,0%; 2,0%; 4,0% e 8,0% de galactoglucomanano (GGMO) na dieta de 6 cães aumentou as concentrações de ácido propiônico por 84 dias, o que indica aumento da fermentação no intestino grosso (FABER et al., 2011). Outro estudo demonstrou que a utilização de 0,3%; 0,6% e 0,9% de oligofrutose e inulina aumentou as concentrações de ácido propiônico em 7 cães durante 98 dias (PROPST et al., 2003). A inclusão de 5g/kg de MOS no alimento resultou em aumento nas concentrações de ácido propiônico ileal em 7 cães adultos por 21 dias (Strickling et al., 2000). Os AGCC, como ácido acético, propiônico e butírico, são produzidos no intestino posterior dos cães por meio da fermentação microbiana. Cerca de 95,0 a 99,0% dos AGCC produzidos são absorvidos (VON ENGELHARDT et al., 1989). Como desempenham papel importante na manutenção da saúde do TGI, as células epiteliais do cólon os utilizam preferencialmente como fonte de energia, mesmo quando substratos concorrentes, como glicose e glutamina, estão disponíveis (SLAVIN, 2013). O cérebro, os músculos e os tecidos metabolizam o acetato de forma sistêmica, enquanto o propionato é depurado pelo fígado e pode diminuir a produção hepática de colesterol, interferindo na sua síntese (SLAVIN, 2013). Estima-se que em humanos o transporte e o metabolismo adicional de AGCC no fígado, músculo ou outros tecidos periféricos contribuam com cerca de 7,0% a 8,0% das necessidades energéticas diárias do hospedeiro (CUMMINGS & MACFARLANE, 1991). Os produtos intermediários da fermentação como o ácido lático, succínico, pirúvico e o etanol são usualmente metabolizados a AGCC. Segundo Swanson et al. (2002a), as concentrações de AGCC fecais de cães são inferiores que as encontradas no cólon, devido à elevada taxa de absorção dos AGCC neste segmento. Dessa forma, é possível que os prebióticos administrados aos cães por meio da alimentação, tenham sido fermentados pelas bactérias resultando em concentrações mais elevadas de

AGCC. Porém, devem ter sido rapidamente absorvidos pelos colonócitos, o que pode ter mascarado o resultado nas fezes, como demonstrado no experimento realizado por Swason et al. (2002a). Os mecanismos de absorção dos AGCC ainda não estão totalmente compreendidos, mas é de conhecimento que a absorção dos AGCC está associada à absorção de Na+ por meio da troca de Na+ e H+ (SHEPPACH, 1994). Outros estudos, os quais utilizaram teores mais elevados de prebióticos, comprovaram o aumento das concentrações dos AGCC por um período menor que o testado (FLICKINGER et al., 2003; MUSCO et al., 2018; ALEXANDER et al., 2018; NOGUEIRA et al., 2019). Em humanos, alguns autores observaram que com a inclusão de inulina foram observadas alterações nas concentrações de AGCC ao longo de 3 anos (PARKAR et al., 2019).

O nitrogênio amoniacal e os AGCCR são considerados compostos putrefativos, os quais provêm da fermentação de proteínas (MINER & HAZEN, 1969; PINNA et al., 2018) e podem promover o aumento na quantidade de resíduos como ureia e amônia, que entram na corrente sanguínea (CALABRÒ et al., 2013) e, indicam atividade de bactérias potencialmente patogênicas (MATHEUS et al., 2016). Esses compostos podem interferir na qualidade fecal, ou seja, podem causar odores putrefativos e fezes amolecidas, características essas que influenciam na escolha da dieta do animal de estimação, no ponto de vista dos proprietários (NOGUEIRA et al., 2019). Porém, estudos demonstraram redução do nitrogênio amoniacal em cães com a inclusão de 2g de FOS (SWANSON et al., 2002c) e 1g de transoligossacarídeo (ZENTEK et al., 2002) em períodos de 28 a 40 dias, respectivamente). Apesar dos resultados encontrados no presente estudo em relação ao nitrogênio amoniacal e AGCCR, essa resposta não resultou em características indesejáveis nas fezes. Além disso, esse resultado pode ser influenciado pelo nível de inclusão dos prebióticos, fontes ou pela própria duração do estudo (SLAVIN, 2013). O nitrogênio amoniacal é de extrema relevância nesses estudos, pois em altas concentrações, pode causar prejuízos à saúde em cães e gatos, devido a sua absorção na parede intestinal, o qual pode resultar em redução na altura dos vilos e diminuição na absorção dos nutrientes (CÓRDOBA & MUR, 2014; MATHEUS et al., 2016).

No efeito de tratamento, o alimento GOS resultou em aumento da concentração de ácido lático, resultados semelhantes aos de Matheus et al. (2016). Segundo Rentas (2018), a inclusão de GOS e *blends* prebióticos em cães, não alterou as

concentrações de ácido lático, em um período de 30 dias. O resultado encontrado no estudo pode ser explicado em função da formação do ácido lático. Os produtos intermediários da fermentação como o ácido lático, succínico, pirúvico e o etanol são usualmente metabolizados a AGCC, porém quando produzidos em grande quantidade podem ser excretados nas fezes. Ácidos orgânicos de maneira geral têm atividade antibacteriana, especialmente contra bactérias gram negativas como *E. coli* e espécies de *Salmonella* e *Campylobacter* (ADAM, 2003). Essa eficácia contra os patógenos é caracterizada pelo acesso do ácido lático ao periplasma através das proteínas porinas (ALAKOMI et al., 2000).

Com relação a característica fecal, a consistência é uma das variáveis mais importantes na avaliação de alimentos para cães (TWOMEY et al., 2003). No presente estudo, o escore fecal foi influenciado (aumento) apenas pelo tratamento (GOS), com valor de 2,8 - de acordo com a escala da WALTHAM (2001). Não foi observado efeito na interação tratamento x período e no tempo de ingestão de diferentes prebióticos com relação ao escore fecal. Esses resultados podem ser explicados de acordo com a concentração prebiótica e composição da dieta, uma vez que a digestibilidade dos nutrientes, bem como sua fermentação, resultam na produção de produtos fermentativos que podem modular a absorção de água (NRC, 2006). De acordo com o único estudo que utilizou transgalactoligossacarídeo (TGOS) na alimentação de cães, não foi observado efeito no escore fecal, mas foi encontrado valores dentro do intervalo ideal (3,5) (ZENTEK et al., 2002). O GOS pode estimular de maneira seletiva a proliferação e atividade de bactérias intestinais benéficas, as quais podem favorecer as características fecais (LOO et al., 2008). A concentração de AGCC é um fator importante na qualidade e produção fecal, uma vez que elevadas concentrações de AGCC podem promover o aumento da umidade fecal, o que contribui para o aumento do escore fecal (NRC, 2006). A baixa concentração de prebióticos pode alterar a consistência e volume fecal, situação na qual os tutores se preocupam (PINNA & BIAGI, 2014). De acordo com Moro et al. (2003), a inclusão de uma mistura de 0,4g/100mL, 8g/100mL de GOS + FOS em bebês humanos em fase de amamentação promoveu melhor consistência fecal em comparação com o grupo controle em um período de 28 dias. Apesar desses resultados, o tempo de ingestão não influenciou no escore fecal, o que pode ser explicado pela concentração dos prebióticos avaliada e duração do estudo.

Quanto aos efeitos dos prebióticos na imunidade, o intestino é a primeira linha de defesa do organismo e realiza interações complexas entre dieta e microrganismos. Portanto, é essencial que a proteção imunológica esteja bem estabelecida (SCHLEY & FIELD, 2002). Uma das formas de defesa local do intestino é a produção de IgA. Esta imunoglobulina está presente nas secreções da mucosa em maiores concentrações do que outras imunoglobulinas (VAERMAN & HEREMANS, 1969; PETERS et al., 2004). Sua função primária é a defesa específica contra patógenos e toxinas e, em alguns casos, sua redução pode estar associada com reação alérgica (TRESS et al., 2006). A IgA é responsável pela ligação ativa com microrganismos, enterotoxinas e outros antígenos a fim de impedir adesão e penetração na parede intestinal (ZAINE et al., 2011). Um dos prebióticos que pode aumentar sua produção são os β-glucanos. Estes interagem indiretamente com a microbiota intestinal, a qual promoverá aumento da produção e secreção de componentes como lisozima, peptídeos antimicrobianos e IgA (RAA, 2015).

As propriedades imunológicas do FOS e MOS têm sido estudadas há anos em animais. Esses promotores intestinais aumentaram o desenvolvimento do tecido linfóide associado ao intestino e o conteúdo de IgA fecal em camundongos (HOSONO et al., 2003; MANHART et al., 2003; MA et al., 2017). Manhart et al. (2003) descreveram que a dosagem de 2g/dia de FOS em camundongos não foi suficiente para alterar os parâmetros imunes estudados. Além disso, estudos demonstraram a eficiência dos β-glucanos sobre o sistema imunológico, os quais apontaram aumento no índice de fagocitose, produção de IL-2 e produção de anticorpos (DE OLIVEIRA et al., 2019). Porém, a fonte de β-glucano também influencia em seus efeitos, como por exemplo a suplementação de 1,0% de β-glucano de aveia reduziu as concentrações de colesterol sérico total, redução na consistência fecal e maior produção fecal em 14 cães adultos por 71 dias (FERREIRA et al., 2018). Estudos demonstraram que a inclusão de 150mg/dia de β-glucanos reduziu as concentrações de IgA sérica, salivar e lacrimal, em 4 semanas (STUYVEN et al., 2010). No presente estudo, os prebióticos e teores de inclusões não modularam o IgA fecal, o que pode significar que as concentrações de prebióticos não foram suficientes, no entanto, o tempo de ingestão influenciou os resultados dessa variável. O maior tempo de ingestão atrelado com concentrações adequadas de prebióticos certamente promoverão efeitos positivos no sistema gastrintestinal e imunológico de cães adultos.

7. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados encontrados no presente estudo, pode-se concluir que houve aumento de ácido lático, pH e IgA fecal ao longo do tempo. Além disso, foi verificado efeito do tratamento GOS, que aumentou a concentração de ácido lático fecal e o escore das fezes. Não foram observados efeito de interação. Portanto, o maior tempo de ingestão dos prebióticos (60 dias) foi importante para a modulação de variáveis fermentativas e da imunidade local intestinal de cães adultos saudáveis.

8. REFERÊNCIAS

ABINPET – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO (2018). **Mercado pet Brasil 2018.** São Paulo, Disponível em: <http://abinpet.org.br/mercado/>. Acessado em: 11 de dezembro de 2018.

ADAM, O. Dietary fatty acids and imune reactions in synovial tissue. **European jornal of medical research**, v. 8, n. 8, p. 381-387, 2003.

ADOGONY, V.; RESPONDEK, R.; BIOURGE, V.; RUDEAUX, F.; DELAVAL, J.; BIND, J. L.; SALMON, H. Effects of dietary scFOS on immunoglobulins in colostrums and milk of bitches. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, vol. 91, p. 169–174, 2007.

ALAKOMI, H.-L.; SKYTTA, E.; SAARELA, M.; MATTILA-SANDHOLM, T.; LATVA-KALA, K.; HELANDER, I. M.Lactic acid permeabilizes gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 66, n. 5, p. 2001-2005, 2000.

ALEXANDER, C.; CROSS, T.-W. L.; DEVENDRAN, S.; NEUMER, F.; THEIS, S.; RIDLON, J. M.; SUCHODOLSKI, J. S.; GODOY, M. R. C.; SWANSON, K. S. Effects of prebiotic inulin-type fructans on blood metabolite and hormone concentrations and faecal microbiota and metabolites in overweight dogs. **British Journal of Nutrition**, v. 120, n. 6, p. 711-720, 2018.

ARAMLI, M. S.; KAMANGAR, R. M.; NAZARI, R. M. Effects of dietary beta-glucan on the growth and innate immune response of juvenile Persian sturgeon, *Acipenser persicus*. **Fish Shellfish Immunol.**, v. 47, p. 606-610, 2015.

ARPAIA, N.; CAMPBELL, C.; FAN, X.; DIKIY, S.; VEEKEN, J. V. D.; DEROOS, P.; LIU, H.; CROSS, J. R.; PFEFFER, K.; COFFER, P. J.; RUDENSKY, A. Y. Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T-cell generation. **Nature**, vol. 504, p. 451-55, 2013.

BAQUERO, O. S. **Manejo populacional de cães e gatos: métodos quantitativos para caracterizar populações, identificar prioridades e estabelecer indicadores.** 2015. 47p. Tese (Doutorado em Epidemiologia experimental de zoonoses). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo, São Paulo/SP.

BIAGI, G.; CIPOLLINI, I.; GRANDI, M.; ZAGHINI, G. Influence of some potential prebiotics and fibre-rich foodstuffs on composition and activity of canine intestinal microbiota. **Animal Feed Science and Technology**, v. 159, n. 1-2, p. 50-58, 2010.

BROOM, L. J.; KOGUT, M. H. Gut immunity: its development and reasons and opportunities for modulation in monogastric production animals. **Animal Health Research Reviews**, p. 1-7, 2018.

BUDIÑO, F. E. L.; THOMAZ, M. C.; KRONKA, R. N.; TUCCI, F. M.; FRAGA, A. L.; SCANDOLERA, A. J.; HUAYNATE, R. A. R.; NADAI, A.; CORREIA, R. C. Efeito da adição de probiótico e/ou prebiótico em dietas de leitões desmamados sobre o desempenho, incidência de diarréia e contagem de coliformes totais. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 43, n. supl., p. 59-67, 2006.

CALABRÒ, S.; CARCIOFI, A. C.; MUSCO, N.; TUDISCO, R.; GOMES, M. O. S.; CUTRIGNELLI, M. I. Fermentation characteristics of several carbohydrate sources for dog diets using the in vitro gas production technique. **Ital J Ani Sci**., v. 12, n. 1, p. 4, 2013.

CASTRO, J. J.; GOMEZ, A.; WHITE, B. A.; MANGIAN, H. J.; LOFTEN, J. R.; DRACKLEY, J. K. Changes in the intestinal bacterial community, short-chain fatty acid profile, and intestinal development of preweaned Holstein calves. 1. Effects of prebiotic supplementation depend on site and age. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 12, p. 9682-9702, 2016.

CERBO, A.D.; MORALES-MEDINA, J.C.; PALMIERI, B.; PEZZUTO, F.; COCCO, R.; FLORES, G.; IANNITTI, T. Functional foods in pet nutrition: Focus on dogs and cats. **Research in Veterinary Science**, v. 112, p. 161-166, 2017.

CHACHER, M. F. A.; KAMRAN, Z.; AHSAN, U.; AHMAD, S.; KOUTOULIS, K. C.; DIN, H. G. Q. U.; CENGIZ, O. Use of mannan oligosaccharide in broiler diets: an overview of underlying mechanisms. **World's Poultry Science Journal**, v. 73, n. 4, p. 831-844, 2017.

CHENG, Y. H.; LEE, D. N.; WEN, C. M.; WENG, C. F. Effects of beta-glucan supplementation on lymphocyte proliferation, macrophage chemotaxis and specific immune responses in broilers. **Asia Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 17, p. 286-290, 2004.

CÓRDOBRA, J.; MUR, R. E. Hepatic encephalopathy. **Gastroenterologia y hepatologia**, v. 37, p. 74-80, 2014.

CUMMINGS, J. H.; MACFARLANE, G. T. The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 70, n. 6, p. 443-459, 1991.

CZARNECKI-MAULDEN, G. L. Effect of dietary modulation of intestinal microbiota on reproduction and early growth. **Theriogenology**, vol. 70, p. 286-290, 2008.

DE OLIVEIRA, C. A. F; VETVICKA, V.; ZANUZZO, F S. β-glucan successfully stimulated the immune system in different jawed vertebrate species. **Comparative immunology, microbiology and infectious diseases**, v. 62, p. 1-6, 2019.

DIEZ, M.; HORNICK, J. L.; BALDWIN, P.; EENAEME, C. V.; ISTASSE, L. The influence of sugar-beet fibre, guar gum and inulin on nutrient digestibility, water consumption and plasma metabolites in healthy Beagle dogs. **Research in Veterinary Science**, v. 64, n. 2, p. 91-96, 1998.

DIMITROGLOU, A.; MERRIFIELD, D. L.; SPRING, P.; SWEETMAN, J.; MOATE, R.; DAVIES, S. J. Effects of mannan oligosaccharide (MOS) supplementation on growth performance, feed utilisation, intestinal histology and gut microbiota of gilthead sea bream (Sparus aurata). **Aquaculture,** v. 300, n. 1-4, p. 182-188, 2010.

DOMINGUES, L. D.; CESAR, J. A.; FASSA, A. G.; DOMINGUES, M. R. Guarda responsável de animais de estimação na área urbana do município de Pelotas, RS, Brasil. Universidade Federal de Pelotas. **Revista Ciência & Saúde Coletiva**, vol. 20, p. 185-192, 2015.

ERWIN, E. S.; MARCO, G. J.; EMERY, E. M. Volatile fatty acid analyses of blood and rumen fluid by gas chromatography. **J Dairy Sci**., v. 44, p. 1768-1771, 1961.

FABER, T. A.; HOPKINS, A. C.; MIDDELBOS, I. S.; PRICE, N. P.; FAHEY JR., G. C. Galactoglucomannan oligosaccharide supplementation affects nutriente digestibility fermentation end-product production, and large bowel microbiota of the dog. **Journal of Animal Science**, v. 89, n. 1, p. 103-112, 2011.

FAI, A.E.C.; SILVA, J.B.; ANDRADE, C.J.; BUTION, M.L.; PASTORE, G.M. Production of prebiotic galactooligosaccharides from lactose by Pseudozymatsukubaensis and Pichiakluyveri. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 03, p. 343-350, 2015.

FÉDÉRATION EUROPÉENNE DE L´INDUSTRIE DES ALIMENTS POUR ANIMAUX FAMILIERS. FEDIAF. **Nutritional Guidelines for Cats and Dogs**. Bruxelas: National Academic Press, 2017.

FELIX, A. P. **Avaliação de aditivos sobre as características das fezes de cães**. 2009. 84p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Universidade Federal do Paraná, Curitiba/PR.

FERREIRA, L. G.; ENDRIGHI, M.; LISENKO, K. G.; DE OLIVEIRA, M. R. D.; DAMASCENO, M. R.; CLAUDINO, J. A.; GUTIERRES, P. G.; PECONICK, A. P.; SAAD, F. M. D. O. B.; ZANGERONIMO, M. G.; Oat beta-glucan as a dietary supplement for dogs. **PLOS one**, v. 13, n. 7, 2018.

Food and Agriculture Organization. FAO Technical Meeting on Prebiotics: Food Quality and Standards Service (AGNS), **Food and Agriculture Organization of the United Nations** (FAO); FAO Technical Meeting Report; FAO: Rome, Italy, setembro, 2007.

FLICKINGER, E. A.; SCREIJEN, E. M. W. C.; PATIL, A. R.; HUSSEIN, H. S.; GRIESHOP, C. M.; MERCHEN, N. R.; JUNIOR FAHEY, G. C. Nutrient digestibilities, microbial populations, and protein catabolites as affected by fructan supplementation of dog diets. **Journal of** Animal **Science**, v. 81, n. 8, p. 2008-2018, 2003.

FRANKLIN, S. T.; NEWMAN, M. C.; NEWMAN, K. E.; MEEK, K. I. Immune parameters of dry cows fed mannan oligosaccharide and subsequent transfer of immunity to calves. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 2, p. 766-775, 2005.

GARCIA-MAZCORRO, J. F.; BARCENAS-WALLS, J. R.; SUCHODOLSKI, J. S.; STEINER, J. M. Molecular assessment of the fecal microbiota in healthy cats and dogs before and during supplementation with fructo-oligosaccharides (FOS) and inulin using high-throughput 454-pyrosequencing. **Peer J**., v. 5, p.e3184, 2017.

GERMAN, A. J.; HALL, E. J.; DAY, M. J. Measurement of IgG, IgM and IgA concentrations in canine serum, saliva, tears and bile. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 64, n. 2, p. 107-121, 1998.

GHOSH, S.; MEHLA, R. K. Influence of dietary supplementation of prebiotics (mannanoligosaccharide) on the performance of crossbred calves. **Tropical Animal Health and Production**, v. 44, n. 3, p. 617-622, 2012.

GIBSON R.G.; ROBERFROID, M.B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. **J. Nutr**., v. 125, p. 1401–1412, 1995.

GIBSON, R.G.; PROBERT, H. M.; LOO, J. V.; RASTALL, R. A.; ROBERFROID, M.B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. **J. Nutr.**, vol.125, p.1401–1412, 2004.

GOMES, M. O. S. **Efeito da adição de parede celular de levedura sobre a digestibilidade, microbiota, ácidos graxos de cadeia curta e aminas fecais e parâmetros hematológicos e imunológicos de cães**. 2009. 79p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal/SP.

GOMES, M. O. S.; BERALDO, M. C.; PUTAROV, T. C.; BRUNETTO, M. A.; ZAINE, L.; GLORIA, M. B. A.; CARCIOFI, A. C. Old beagle dogs have lower fecal concentrations of somefermentation products and lower peripheral lymphocyte counts than young adult beagles. **Br. J. Nutr**. 106, p.187–190, 2011.

GONZÁLEZ-FÉLIX, M. L. et al. Effects of commercial dietary prebiotic and probiotic supplements on growth, innate immune responses, and intestinal microbiota and histology of *Totoaba macdonaldi*. **Aquaculture**, v. 491, p. 239-251, 2018.

GOURBEYRE, P.; DENERY, S.; BODINIER, M. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: impact on the gut immune system and allergic reactions. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 89, n. 5, p. 685-695, 2011.

GRAND, E.; RESPONDEK, F.; MARTINEAU, C.; DETILLEUX, J.; BERTRAND, G. Effects of short-chain fructooligosaccharides on growth performance of preruminant veal calves. **Journal Dairy Sci**., vol. 96, n. 2, 2013.

GRIESHOP, C.; FLICKINGER, E. A.; BRUCE, K. J.; PATIL, A. R.; CZARNECKI-MAULDEN, G. L.; JUNIOR FAHEY, G. C. Gastrointestinal and immunological responses of senior dogs to chicory and mannan-oligosaccharides. **Archives of Animal Nutrition**, v. 58, n. 6, p. 483-494, 2004.

HEINRICHS, A. J.; HEINRICHS, B. S.; JONES, C. M. Fecal and saliva IgA secretion when feeding a concentrated mannan oligosaccharide to neonatal dairy calves. **The Professional Animal Scientist**, v. 29, n. 5, p. 457-462, 2013.

HESTA, M.; ROOSEN, W.; JANSSENS, G. P. J.; MILLET, S.; DE WILDE, R. Prebiotics affect nutrient digestibility but not faecal ammonia in dogs fed increased dietary protein levels. **British Journal of Nutrition**, v. 90, n. 6, p. 1007-1014, 2003.

HESTA, M.; DEBRAEKELEER, J.; JANSSENS, G. P. J.; DE WILDE, R. Effects of prebiotics in dog and cat nutrition: a review. **Trends in Dietary Carbohydrates Research**, p. 179-219, 2006.

HOSEINIFAR, S. H.; ZOHEIRI, F.; DADAR, M.; RUFCHAEI, R.; RINGØ, E. Dietary galactooligosaccharide elicits positive effects on non-specific immune parameters and growth performance in Caspian white fish (Rutilus frisii kutum) fry. **Fish & Shellfish Immunology**, vol.56, p.467–472, 2016.

HOSEINIFAR, S. H.; AHMADI, A.; RAEISI, M.; HOSENI, S. M.; KHALILI, M.; BEHNAMPOUR, N. Comparative study on immunomodulatory and growth enhancing effects of three prebiotics (galactooligosaccharide, fructooligosaccharide and inulin) in common carp (Cyprinus carpio). **Aquaculture Research**, v. 48, n. 7, p. 3298-3307, 2017.

HOSONO, A.; OZAWA, A.; KATO, R.; OHNISHI, Y.; NAKANISHI, Y.; KIMURA, T.; NAKAMURA, R. Dietary fructooligosaccharides induce immunoregulation of intestinal IgA secretion by murine Peyer's patch cells. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 67, n. 4, p.758-764, 2002.

IBGE. **Pesquisa Nacional de Saúde 2013**. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/ home/estatistica/populacao/pns/2013/. Acesso em: 17 jan. 2018.

IBGE. **População de cães e gatos 2015.** Disponível em: http://www.saude.sp.gov.br/resources/instituto-pasteur/pdf/dados-estatisticos/populacao_de_caes_e_gatos__2015_final_2.pdf. Acesso em: 17 jan 2018.

KARA, C.; CIHAN, H.; TEMIZEL, M.; CATIK, S.; MERAL, Y.; ORMAN, A.; YIBAR, A. GENCOGLU, H. Effects of Supplemental Mannanoligosaccharides on Growth Performance, Faecal Characteristics and Health in Dairy Calves. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, vol. 28, n.11, p.1599-1605, Nov. 2015.

KROLL, F. S. A.; PUTAROV, T. C.; ZAINE, L.; VENTURINI, K. S.; AOKI, C. G.; SANTOS, J. P. F.; PEDRINELLI, V.; VENDRAMINI, T. H. A.; BRUNETTO, M. A.; CARCIOFI, A. C. Active fractions of

mannoproteins derived from yeast cell wall stimulate innate and acquired immunity of adult and elderly dogs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 261, p.114392, 2020.

KULKARNI, R. K.; MOORE, E. G.; HEGYELI, A. F.; LEONARD, U. S. F. Biodegradable poly (lactic acid) polymers. **J. Biomed. Mater. Res.**, vol. 5, p.169-181, 1971.

LAFLAMME, D. R. P. C. Development and validation of a body condition score system for dogs: a clinical tool. **Canine Pract.**, vol. 22, p. 10-15, 1997.

LEVY-PEREIRA, N.; YASUI, G. S.; CARDOZO, M. V.; NETO, J. D.; FARIAS, T. H. V.; SAKAKE, R.; DE PÁDUA, S. B.; PILARSKI, F. Immunostimulation and increase of intestinal lactic acid bacteria with dietary mannan-oligosaccharide in Nile tilapia juveniles. **Revista Brasileira de Zootecnia**, vol. 47, 2018.

LIN, C.Y.; ALEXANDER, C.; STEELMAN, A. J.; WARZECHA, C. M.; DE GODOY, M. R. C.; SWANSON, K. S. Effects of a Saccharomyces cerevisiae fermentation product on fecal characteristics, nutrient digestibility, fecal fermentative end-products, fecal microbial populations, immune function, and diet palatability in adult dogs. **Journal of Animal Science**, v. 97, n. 4, p.1586-1599, 2019.

LIU, X.; CAO, S.; ZHANG, X. Modulation of gut microbiota-brain axis by probiotcs, prebiotics and diet. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol. 63, p.7885-7895, 2015.

LOO, J. V.; VANCRAEYNEST, D. Prebiotics and animal nutrition. **Handbook of Prebiotics**, p. 421-436, 2008.

MA, Y.; WU, X.; GIOVANNI, V.; MENG, X. Effects of soybean oligosaccharides on intestinal microbial communities and immune modulation in mice. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 24, n. 1, p.114-121, 2017.

MACFARLANE, S. M. G. T.; MACFARLANE, G. T.; CUMMINGS, J. H. T. Prebiotics in the gastrointestinal tract. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 24, n. 5, p. 701-714, 2006.

MACFARLANE G. T.; STEED, H.; MACFARLANE, S. Bacterial metabolism and health-related effects of galactooligosaccharides and other prebiotics. **J. Appl. Microbiol.**, vol. 104, p.305–344, 2008.

MANHART, N.; SPITTLER, A.; BERGMEISTER, H.; MITTLBOCK, M.; ROTH, E. Influence of fructooligosaccharides on Peyer's patch lymphocyte numbers in healthy and endotoxemic mice. **Nutrition**, v. 19, n. 7-8, p.657-660, 2003.

MARIA, A. P. J.; AYANE, L.; PUTAROV, T. C.; LOUREIRO, B. A.; NETO, B. P.; CASAGRANDE, M. F.; GOMES, M. O. S.; GLÓRIA, M. B. A.; CARCIOFI, A. C. The effect of age and carbohydrate and protein sources on digestibility, fecal microbiota, fermentation products, fecal IgA, and immunological blood parameters in dogs. **Journal of Animal Science**, v. 95, n. 6, p.2452-2466, 2017.

MARKOWIAK, P.; ŚLIŻEWSKA, K. Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. **Nutrients**, v. 9, n. 9, p. 1021, 2017.

MATHEUS, L. F. O.; ERNANDES, M. C.; SANTOS, J. P. F.; SANTOS, K. D. M.; TAKEARA, P.; MONTI, M.; PONTIERI, C. F.; BRUNETTO, M. A. Efeitos digestivos e fermentativos de leveduras (*Saccharomyces cerevisiea*) inativadas e enriquecidas em meio de cultura em dietas para gatos adultos. **In: XV Congresso CBNA Pet 2016**, Campinas, São Paulo, 2016.

MENTEN, J. F. M. (2001). Aditivos alternativos na nutrição de aves: probióticos e prebióticos. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 38., Piracicaba. ***Anais...*** Piracicaba, Brazil.

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

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

MIDDELBOS, I. S.; BOLER, B. M. V.; QU, A.; WHITE, B. A.; SWANSON, K. S.; FAHEY, G. C. Phylogenetic characterization of fecal microbial communities of dogs fed diets with or without supplemental dietary fiber using 454 pyrosequencing. **PLoS ONE 5**, e9768, 2010.

MINER, J. R.; HAZEN, T. E. Ammonia and amines: Components of swine-building odor. **Transactions of the ASAE**, v. 12, n. 6, p. 772-0774, 1969.

MORO, G. E.; MOSCA, F.; MINIELLO, V.; FANARO, S.; JELINEK, J.; STAHL, B.; BOEHM, G. Effects of a new mixture of prebiotics on faecal flora and stools in term infants. **Acta Paediatrica**, v. 92, p. 77-79, 2003.

MOMENI-MOGHADDAM, P.; KEYVANSHOKOOH, S.; ZIAEI-NEJAD, S.; SALATI, A. P.; PASHA-ZANOOSI, H. 239f. Effects of mannan oligosaccharide supplementationon growth, some immune responses and gut lactic acid bacteria of common carp (Cyprinus Carpio) fingerlings. In: **Veterinary Research Forum**. Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran, 2015.

MOXHAM, G. Ealtham feces socring system – A tool for veterinarians and pet owners: how does your pet rate. **Waltham focus**, v. 11, n. 2, p. 24-5, 2001.

MULLIS, K. B. **Process for amplifying nucleic acid sequences**. U.S. Patent n. 4, 683, 202, 28 jul. 1987.

MUSCO, N.; CALABRÒ, S.; ROBERTI, F.; GRAZIOLI, R.; TUDISCO, R.; LOMBARDI, P.; CUTRIGNELLI, M. I. In vitro evaluation of Saccharomyces cerevisiae cell wall fermentability using a dog model. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 102, p. 24-30, 2018.

MWENYA, B.; SANTOSO, B.; SAR, C.; PEN, B.; MORIKAWA, R.; TAKAURA, K.; UMETSU, K.; KIMURA, K.; TAKAHASHI, J. Effects of yeast culture and galacto-oligosaccharides on ruminal fermentation in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 4, p. 1404-1412, 2005.

NAWAZ, A.; JAVAID, A. B.; IRSHAD, S.; HOSEINIFAR, S. H.; XIONG, H. The functionality of prebiotics as immunostimulant: Evidences from trials on terrestrial and aquatic animals. **Fish & Shellfish Immunology**, 2018.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirements of Dogs and Cats**. National Academies Press, 2006.

NOGUEIRA, J. P. S.; HE, F.; MANGIAN, H. F.; OBA, P. M.; GODOY, M. R. C. Dietary supplementation of a fiber-prebiotic and saccharin-eugenol blend in extrused diets fed to dogs. **Journal of Animal Science**, v. 97, n. 11, p. 4519-4531, 2019.

OLIVEIRA, S. B. C. **Sobre homens e cães: um estudo antropológico sobre afetividade, consumo e distinção.** 2006. 141f. Dissertação (Mestrado em Sociologia). Programa de pós-graduação em Sociologia e Antropologia. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro – RJ, 2006.

PARK, J.; JUNG, S.; CAREY, J. B. Effects of a Commercial Mannan-Oligosaccharide Product on Growth Performance, Intestinal Histomorphology, and Amino Acid Digestibility in White Pekin Ducks. **The Journal of Applied Poultry Research**, p.1-6, 2018.

PARKAR, S. G.; DAVIS, P.; TROWER, T. M.; HEDDERKEY, D. I.; SUTTON, K. H.; INGRAM, J. R. Factors affecting microbial metabolism in a human fecal fermentation model to evaluate prebiotics. **Journal of Nutrition & Intermediary Metabolism**, v. 15, p. 55-57, 2019.

PAWAR, M. M.; PATTANAIK, A. K.; SINHA, D. K.; GOSWAMI, T. K.; SHARMA, K. Effect of dietary mannanoligosaccharide supplementation on nutriente digestibility, hindgut fermentation, imune responde and antioxidante índices in dogs. **Journal of Animal Science and Technology**, v. 59, n. 1, p. 11, 2017.

PETERS, I. R., CALVERT E. L., HALL, E. J., DAY, M. J. Measurement of immunoglobulin concentrations in the feces of healthy dogs. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 11, p. 841–848, 2004.

PILARSKI, F.; DE OLIVEIRA, C. A. F.; DE SOUZA, F. P. B. D.; ZANUZZO, F. S. Different beta-glucans improve the growth performance and bacterial resistance in Nile tilapia. **Fish Shellfish Immunol.**, v. 70, p. 25-29, 2017.

PINNA, C.; BIAGI, G. The utilization of prebiotics and synbiotics in dogs. **Italian Journal of Animal Science**, v. 13, n. 1, p. 3107, 2014.

PINNA, C.; VECCHIATO, C. G.; BOLDUAN, C.; GRANDI, M.; STEFANELLI, C.; WINDISCH, W.; ZAGHINI, G.; BIAGI, G. Influence of dietary protein and fructooligosaccharides on fecal fermentative em-products, fecal bacterial populations and apparent total tract digestibility in dogs. **BMC Veterinary Research**, v. 14, n. 1, p. 106, 2018.

PRYCE, J. D. A modification of the Barker-Summerson method for the determination of latic acid. **Analist**, v. 94, p.1121-1151, 1969.

PROPST, E. L.; FLICKINGER, E. A.; BAUER, L. L.; MERCHEN, N. R.; FAHEY JR., G. C. A dose-response experimente evaluating the effects of oligofructose and inulin on nutriente digestibility, stool quality, and fecal protein catabolites in healthy adult dogs. **Journal of Animal Science**, vol. 81, n. 12, p. 3057-3066, 2003.

RAA, J. Immune modulation by non-digestible and non-absorbable beta-1, 3/1, 6-glucan. **Microbial ecology in health and disease**, v. 26, n. 1, p. 27824, 2015.

RASMUSSEN, H. E.; HAMAKER, B. R. Prebiotics and Inflammatory Bowel Disease. **Gastroenterology Clinics**, v. 46, n. 4, p. 783-795, 2017.

REIS, J. S.; OGOSHI, R. C. S.; FRANÇA, J.; FIGUEIREDO, M. L.; BORGES, L. A.; ZANGERONIMO, M. G. Amido resistente, um potencial ingrediente para ser considerado em alimentos funcionais para cães. **Archivos de Zootecnia**, v. 66, n. 256, p. 639-648, 2017.

RENTAS, M. F. **Efeitos da adição de diferentes promotores de saúde intestinal na digestibilidade, produtos fermentativos e parâmetros imunológicos em cães.** 2018. 80p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2018.

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

ROUDEBUSH, P.; DAVENPORT, D. J.; REMILLARD, R. L.; Flatulence. In: HAND, M. S. et al. **Small Animal Nutrition**, 5th. Ed. Topeka Kansas: Mark Morris Institute, 2010.

SANTOS, J. P. F. **Efeitos de níveis crescentes de parede celular de levedura sobre a digestibilidade, microbiota fecal e produtos da fermentação intestinal em dietas para gatos adultos.** 2015. 91p. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2015a.

SANTOS, K. M. **Efeitos da suplementação de cães adultos com teores crescentes de levedura dietética na digestibilidade dos nutrientes, produtos da fermentação fecal microbiota e parâmetros imunológicos.** 2017. 71 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2017b.

SANTOS, J. P. F.; AQUINO, A. A.; GLÓRIA, M. B. A.; AVILA-CAMPOS, M. J.; OBA, P. M.; SANTOS, K. D. M.; VENDRAMINI, T. H. A.; CARCIOFI, A. C.; JUNIOR, A. R.; BRUNETTO, M. A. Effects of dietary yeast cell wall on faecal bactéria and fermentation products in adult cats. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 102, n. 4, p. 1091-1101, 2018c.

SCHLEY, P. D.; FIELD, C. J. The immune-enchancing effects of dietary fibres and prebiotics. **British Journal of Nutrition**, v. 87, n.S2, p.S221-S230, 2002.

SHASHIDHARA, R. G.; DEVEGOWDA, G. Effect of dietary mannan oligosaccharide on broiler breeder production traits and immunity. **Poultry Science**, v. 82, n. 8, p. 1319-1325, 2003.

SHEPPACH, W. Effects of shot chain fatty acids on gut morphology and function. **Gut**, v. 35, n. 1, suppl, p.S35-S38, 1994.

SHOKRYAZDAN, P.; JAHROMI, M. F.; NAVIDSHAD, B.; LIANG, J. B. Effects of prebiotics on immune system and cytokine expression. **Medical Microbiology and Immunology**, v. 206, n. 1, p. 1-9, 2017.

SIMS, M. D.; DAWSON, K. A.; NEWMAN, K. E.; SPRING, P.; HOOGE, D. M. Effects of dietary mannan oligosaccharide, bacitracin methylene disalicylate, or both on the live performance and intestinal microbiology of turkeys. **Poultry Science**, v. 83, n. 7, p. 1148-1154, 2004.

SLAVIN, J. Fiber and Prebiotics: Mechanisms and Health Benefits. **Nutrients**, v. 5, p. 1417-1435, 2013.

SPRING, P. **Effects of mannanoligosaccharide on diferente cecal parameters ando n cecal concentrations of enteric pathogens in poultry**. 1996. 123f. Tese (Doutorado); Instituto Federal Suiço de Tecnologia, Zurique.

SOLEIMANI, N.; HOSEINIFAR, S. H.; MERRIFIELD, D. L.; BARATI, M.; ABADI, Z. H. Dietary supplementation of fructooligosaccharide (FOS) improves the innate immune response, stress resistance, digestive enzyme activities and growth performance of Caspian roach (Rutilus rutilus) fry. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 32, n. 2, p. 316-321, 2012.

STAYKOV, Y.; SPRING, P.; DENEV, S.; SWEETMAN, J. Effect of a mannan oligosaccharide on the growth performance and immune status of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss). **Aquaculture International**, v. 15, n. 2, p. 153-161, 2007.

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

STUYVEN, E.; VERDONCK, F.; VAN HOEK, I.; DAMINET, S.; DUCHATEAU, L.; REMON, J. P.; GODDEERIS, B. M.; COX, E. Oral administration of β-1, 3/1, 6-glucan to dogs temporally changes total and antigen-specific IgA and IgM. **Clin. Vaccine Immunol.**, v. 17, n. 2, p. 281-285, 2010.

SWANSON, K.; GRIESHOP, C.; FLICKINGER, E.; HEALY, H. P.; DAWSON, K. A.; MERCHEN, N. R.; MERCHEN, N. R.; FAHEY JR, G. C. Effects of supplemental fructooligosaccharides plus mannanoligosaccharides on immune function and ileal and fecal microbial populations in adult dogs. **Archives of Animal Nutrition**, v. 56, n. 4, p. 309-318, 2002a.

SWANSON, K. S.; GRIESHOP, C. M.; FLICKINGER, E. A.; BAUER, L. L.; HEALY, H. P.; DAWSON, K. A.; MERCHEN, N. R.; FAHEY JR, G. C. Supplemental fructooligosaccharides and mannanoligosaccharides influence immune function, ileal and total tract nutrient digestibilities, microbial populations and concentrations of protein catabolites in the large bowel of dogs. **The Journal of nutrition**, v. 132, n. 5, p. 980-989, 2002b.

SWANSON, K. S.; GRIESHOP, C. M.; FLICKINGER, E. A.; BAUER, L. L.; CHOW, J.; WOLF, B. W.; GARLEB, K. A.; FAHEY JR, G. C. Fructooligosaccharides and Lactobacillus acidophilus modify gut microbial populations, total tract nutrient digestibilities ande fecal protein catabolite concentrations in healthy adult dogs. **The Journal of Nutrition**, v. 132, n. 12, p. 3721-3731, 2002c.

TATIBANA, L. S.; VAL, A. P. D. C. Relação homem-animal de companhia e o papel do médico veterinário. Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinárias, Escola de Veterinária da UFMG. **Revista Veterinária e Zootecnia em Minas**, ano XXVIII, out-nov/2009.

THEODORO, S. D. S.; PUTAROV, T. C.; VOLPE, L. M.; TIEMI, C.; DE OLIVEIRA, C. A. F.; GLÓRIA, M. B. D. A.; CARCIOFI, A. C. Effects of the solutibility of yeast cell wall preparations on their potential prebiotic properties in dogs. **PloS one**, v. 14, n. 11, 2019.

TRESS, U.; SUCHODOLSKI, J. S.; WILLIAMS, D. A.; STEINER, J. M. Development of a fecal sample collection strategy for extration and quantification of fecal immunoglobulin A in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 67, n. 10, p. 1756-1759, 2006.

TWOMEY, L. N.; PLUSKE, J. R.; ROWE, J. B.; CHOCT, M.; BROWN, W.; PETHICK, D. W. The effects of added fructooligosaccharide (Raftilose® P95) and inulinase on faecal quality and digestibility in dogs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 108, n. 1-4, p. 83-93, 2003.

TZORTZIS, G.; GOULAS, A. K.; GEE, J. M.; GIBSON, G. R. A Novel Galactooligosaccharide Mixture Increases the Bifidobacterial Population Numbers in a Continuous In Vitro Fermentation System and in the Proximal Colonic Contents of Pigs In Vivo. **The Journal of Nutrition**, vol.135, n.7, p.1726-1731, 2005.

TZORTZIS, G.; VULEVIC, J. Galacto-oligosaccharide prebiotics. In:Charalampopoulos D, Rastall RA, editors. **Prebiotics and probiotics science and technology**. New York: Springer, p. 207–44, 2009.

WANG, W.; CHEN, J.; ZHOU, H.; WANG, L.; DING, S.; WANG, Y.; SONG, D.; LI, A. Effects of microencapsulated Lactobacillus plantarum and fructooligosaccharide on growth performance, blood immune parameters, and intestinal morphology in weaned piglets. **Food and Agricultural Immunology**, v. 29, n. 1, p. 84-94, 2018.

WALTER, M.; SILVA, L. P.; PERDOMO, D. M. X.; Biological response of rats to resistant starch. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 64, n. 2, p. 252-257, 2005.

WILLARD, M. D.; SIMPSON, R. B.; COHEN, N. D.; CLANCY, J. S. Effects of dietary fructooligosaccharide on selected bacterial populations in feces of dogs. **American Journal of Veterinary Research**, vol.61, n.7, p.820–825, 2000.

VAERMAN, J. P.; HEREMANS, J. F. The immunoglobulins of the dog – II. The immunoglobulins of canine secretions. **Immunochemistry**, v. 6, n. 6, p.779-786, 1969.

VANHOUTVIN, S. A.; TROOST, F. J.; HAMER, H. M.; LINDSEY, P. J.; KOEK, G. H.; JONKERS, D. M.; KODDE, A.; VENEMA, K.; BRUMMER, R. J. Butyrate-induced transcriptional changes in human colonic mucosa. **PLoS ONE** 4, 2009.

VERLINDEN, A.; HESTA, M.; HERMANS, J. M.; JANSENS, G. P. J. The effects of inulin supplementation of diets with or without hydrolysed protein sources on digestibility, faecal characteristics, haematology and immunoglobulins in dogs. **British Journal of Nutrition**, v. 96, n. 5, p. 936-944, 2006.

VETVICKA, V.; OLIVEIRA, C. β (1-3)(1-6)-D-glucans modulate imune status and blood glucose levels in dogs. **Journal of Pharmaceutical Research International**, p. 981-991, 2014.

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

VIERBAUM, L.; EISENHAUER, L.; VAHJEN, W.; ZENTEK, J. In vitro evaluation of the effects of Yucca schidigera and inulin on the fermentation potential of the faecal microbiota of dogs and cats fed diets with low or high protein concentrations. **Archives of animal nutrition**, v. 73, n. 5, p. 399-413, 2019.

VOJTEK, B.; MOJZISOVÁ, J.; SMRCO, P.; DRAZOVSKA, M. Effects of orally administeres β-1, 3/1, 6-glucan on vaccination responses and immunological parameters in dogs. **Food and Agricultural Immunology**, v. 28, n. 6, p. 993-1002, 2017.

VON ENGERLHARDT, W.; RONNAU, K.; RECHKEMMER, G.; SAKATA, T. Absorption of short-chain fatty acids and their role in the hindgut of monogastric animals. **Animal Feed Science and Technology**, v. 23, n. 1-3, p.43-53, 1989.

ZAINE, L.; FERREIRA, C.; GOMES, M. O. S.; MONTI, M.; TORTOLA, L.; VASCONCELLOS, R. S.; CARCIOFI, A. C. Faecal IgA concentrations is influenced by age in dogs. **British Journal of Nutrition**, v. 106, n. S1, p.S183-S186, 2011.

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

ZHANG, B.; GUO, Y.; WANG, Z. The modulating effect of beta-1, 3/1, 6-glucan supplementation in the diet on performance and immunological responses of broiler chickens. **Asian Australasian Journal of Animal Science**, v. 21, n. 2, p. 237, 2008.

YAMAMOTO, Y.; TAKAHAHI, T.; TO, M.; NAKAGAWA, Y.; HAYASHI, T.; SHIMIZU, T.; KAMATA, Y.; SARUTA, J.; TSUKINOK, K. The salivary IgA flow rate is increased by high concentrations of short-chain fatty acids in the cecum of rats ingesting fructooligosaccharides. **Nutrients**, v. 8, n. 8, p. 500, 2016.

YOUSEFI, S.; HOSEINIFAR, S. H.; PAKNEJAD, H.; HAJIMORADLOO, A. The effects of dietary supplement of galactooligosaccharide on innate immunity, immune related genes expression and growth performance in zebrafish (Danio rerio). **Fish & Shellfish Immunology**, vol.73, p.192–196, 2018.

XIAO, Z.; TRINCADO, C. A.; MURTAUGH, M. P. β-Glucan enhancement of T cell IFNγ response in swine. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, vol.102, n.3, p.315–320, 2004.