

MICROBIOMA CANINO E FELINO:

CIÊNCIA NUTRICIONAL
INOVADORA DA PURINA



Golden retriever, azul-russo
e *Enterococcus faecium*

O Instituto Purina está seriamente empenhado em promover avanços científicos para benefício da saúde dos animais de companhia.

A equipa da Purina com mais de 500 cientistas e especialistas na saúde de animais de companhia, incluindo nutricionistas, médicos veterinários, comportamentalistas, nutricionistas moleculares, bioquímicos, microbiologistas, entre outros, tem um registo histórico comprovado de descobertas nutricionais que melhoram as vidas de animais de companhia de todo o mundo.

A **microbiota** é composta por todos os organismos (bactérias, fungos, vírus e protozoários) que residem num determinado espaço (p. ex., intestino, pele, boca), ao passo que o **microbioma** consiste nos organismos combinados com o seu material genético. Apesar de estes dois termos não serem tecnicamente iguais, são muitas vezes usados indistintamente e o termo microbioma está vastamente aceite na medicina veterinária. A Purina continua a ser líder na investigação do microbioma, contribuindo para a comunidade científica, mas também se baseia na investigação para desenvolver intervenções nutricionais que beneficiem a saúde dos animais de companhia.



Diferentes espécies bacterianas

1. BASES DA CIÊNCIA DO MICROBIOMA

Antes de as inovações serem possíveis, a ciência parte de estudos de base para estabelecer e validar procedimentos de testagem e determinar referências para comparações. A investigação da Purina, em colaboração com os nossos parceiros externos de investigação, tem promovido avanços inovadores na ciência do microbioma através do estudo das alterações do microbioma com a idade, o ambiente, a dieta e o estado de saúde.



Golden retriever, azul-russo e *Bifidobacterium*



O TIPO DE DIETA (HÚMIDA vs. SECA) AFETA O MICROBIOMA E O METABOLISMO MICROBIANO

O microbioma intestinal tem papéis importantes na saúde geral, nomeadamente, um microbioma estável e diversificado resiste ao sobrecrecimento de bactérias potencialmente patogénicas que podem causar disbiose (um desequilíbrio entre as bactérias benéficas e as potencialmente danosas) e levar a uma doença clínica. Alterações na dieta podem modificar o microbioma e a sua atividade metabólica. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de dois tipos claramente distintos de dietas comerciais (seca e húmida) em marcadores do metabolismo microbiano relevantes para a saúde intestinal.

Desenho do estudo: dezoito (18) cães adultos (idade média de 7,2 anos, variação de 2,7 a 13 anos) foram distribuídos por dois grupos com base na sua raça e idade, tendo recebido uma dieta seca extrudida ou uma dieta húmida enlatada durante períodos de 6 semanas num desenho cruzado (todos os cães passaram para a dieta oposta no segundo período de alimentação). Os cães foram alojados individualmente e alimentados diariamente para manter um peso corporal estável. Foram colhidas amostras de fezes durante a quarta semana de cada período para determinar a digestibilidade aparente das dietas. Nas Semanas 5 e 6 de cada período foram colhidas amostras de fezes frescas para análise da atividade química e enzimática.

Resultados: catorze (14) cães completaram o estudo, visto que quatro cães foram removidos do estudo por motivos médicos não relacionados com o estudo ou por recusarem comer a dieta húmida. Todos os catorze cães mantiveram o seu peso corporal ao longo do estudo.

Não foram observadas diferenças entre os dois grupos ao nível da produção ou humidade das fezes. A dieta seca, comparativamente à dieta húmida, reduziu o pH fecal e as concentrações de indole, sulfureto e amoníaco nas fezes e aumentou as concentrações totais de ácidos gordos de cadeia curta, ácido acético e ácido propiónico. A atividade enzimática microbiana dos cães alimentados com a dieta enlatada foi significativamente superior à observada quando os cães estavam a ser alimentados com a dieta seca: as enzimas nitroreductase, β -glucosidase, β -glucuronidase e β -galactosidase aumentaram 1,5 a 3,5 vezes nas amostras de fezes colhidas durante a alimentação húmida.

Discussão: as mudanças na dieta podem influenciar o microbioma intestinal e o metabolismo microbiano, tendo sido observadas alterações consideráveis quando cães saudáveis foram alimentados com dois tipos diferentes de ração comercial para cães. Tendo em conta que as duas rações apresentavam diferenças ao nível das composições de micro e macronutrientes, os resultados não poderiam derivar de uma diferença específica entre as rações. A dieta seca resultou em diferenças drásticas na população bacteriana nas fezes, incluindo um aumento significativo de *Lactobacillus* e *Bifidobacteria* e uma redução significativa de *Clostridia*. Comparativamente à dieta seca, a dieta húmida esteve associada a um aumento nas concentrações de ácidos gordos de cadeia curta, que são moduladores importantes da função das mucosas. A dieta seca esteve associada a um menor odor das fezes.

Martineau, B., & Laflamme, D. P. (2002). Effect of diet on markers of intestinal health in dogs. *Research in Veterinary Science*, 72, 223-227. doi: 10.1053/rvsc.2002.0548



O COLOSTRO BOVINO AUMENTA A DIVERSIDADE E A ESTABILIDADE DO MICROBIOMA E MELHORA A RESPOSTA IMUNITÁRIA À VACINAÇÃO EM CÃES

O colostro é o primeiro leite produzido após o parto e serve para transferir anticorpos para o recém-nascido de modo a dar-lhe imunidade e promover o crescimento e o desenvolvimento do trato gastrointestinal. O colostro bovino é conhecido por conter alguns componentes biologicamente ativos com efeitos imunomoduladores. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito imunomodulador da suplementação alimentar com colostro bovino em cães adultos.

Desenho do estudo: vinte e quatro (24) cães cruzados de husky com uma idade média de 2,5 anos foram distribuídos por dois grupos (teste e controlo) equilibrados quanto à idade, sexo e níveis iniciais de IgA nas fezes. Durante uma fase pré-teste, todos os cães foram habituados a uma ração completa e equilibrada de croquetes secos. No final das 8 semanas da fase pré-teste (Semana 0 da fase de teste), todos os cães receberam uma vacina de reforço contra o vírus da esgana canina (CDV) (já todos os cães tinham recebido esta vacina). Os cães no grupo de controlo mantiveram-se na dieta de controlo, ao passo que os cães no grupo de teste foram alimentados com a dieta de controlo suplementada com 0,1 % de colostro bovino (CB) pulverizado. A fase de teste teve 40 semanas de duração.

Registaram-se diariamente as pontuações fecais e semanalmente os pesos corporais. Foram colhidas amostras de sangue e de fezes a cada quatro (4) semanas. A resposta à vacina contra o CDV foi avaliada através da medição dos níveis plasmáticos de IgG específica da vacina. Os níveis de IgA nas fezes foram determinados como um indicador da resposta do tecido linfóide associado ao intestino (GALT). Os microbiomas dos cães também foram avaliados. A proteína C reativa (PCR) foi medida perto do final do estudo como indicador de inflamação generalizada. Durante a Semana 38 do estudo de 40 semanas, foi realizado um protocolo de exercício básico em que os cães fizeram uma corrida de velocidade de cerca de 16 quilómetros (10 milhas) em equipa a puxar um trenó sem carga. Foram colhidos esfregaços retais 24 horas antes e 24 horas após o protocolo de exercício para avaliar o efeito do CB no microbioma e a sua estabilidade em resposta ao exercício.

Resultados: não houve diferenças na ingestão de comida, nos pesos corporais nem nas pontuações fecais entre os dois grupos durante o ensaio. Com base nos dados da proteína C reativa, não houve sinais de inflamação em nenhum dos grupos de cães no final do estudo.

A concentração de anticorpos contra o CDV aumentou gradualmente após a administração da vacina de reforço e atingiu o seu máximo às 8 semanas pós-vacinação em ambos os grupos. No grupo de controlo, os níveis de anticorpos acabaram por diminuir para valores iniciais 16 semanas após a vacinação. No grupo com CB, os níveis de anticorpos mantiveram-se elevados até ao final do ensaio. Ao longo do estudo, os cães alimentados com a dieta suplementada com CB, comparativamente ao grupo de controlo, mostraram uma resposta à vacina contra o CDV significativamente superior ($p < 0,05$) e níveis de IgA nas fezes às 40 semanas significativamente superiores ($p < 0,05$). Embora o aumento destes anticorpos não tenha diferido significativamente logo após a vacinação, os níveis de IgG dos cães suplementados com CB mantiveram-se mais próximos dos níveis máximos durante todo o estudo, ao passo que os níveis de IgG do grupo de controlo diminuíram rapidamente entre as semanas 8 e 16 e mantiveram-se baixos no restante tempo do período de estudo. Os cães no grupo do CB também apresentaram uma diversidade de espécies no seu microbioma significativamente maior ($p < 0,05$) do que a do grupo de controlo. Relativamente às amostras pré- e pós-exercício, os cães alimentados com a dieta suplementada com CB apresentaram maiores semelhanças entre as amostras pré- e pós-exercício, indicando um microbioma mais estável ($p < 0,05$). O grupo suplementado com CB mostrou uma semelhança de aproximadamente 82 % entre as amostras pré- e pós-exercício, comparativamente a cerca de 46 % de semelhança no grupo de controlo.



O COLOSTRO BOVINO AUMENTA A DIVERSIDADE E A ESTABILIDADE DO MICROBIOMA E MELHORA A RESPOSTA IMUNITÁRIA À VACINAÇÃO EM CÃES (CONT.)

Discussão: a IgA é um produto-chave do tecido linfóide associado ao intestino (GALT) e tem efeitos protetores ao prevenir a adesão e colonização por agentes patogênicos, bloqueando a adesão viral e neutralizando toxinas. Os resultados deste estudo mostram que a suplementação com CB melhorou a função do GALT, resultando numa maior produção de IgA. Houve um aumento estatisticamente significativo nos níveis de IgG específica anti-CDV nos cães do grupo do CB, o que indica que a dieta aumentou o *priming* da resposta das células B à vacinação. O valor máximo não foi significativamente superior entre os grupos, mas a resposta da IgG no grupo suplementado com CB manteve-se mais próxima do máximo durante todo o estudo, ao passo que a resposta do grupo de controlo sofreu uma redução após 8 semanas. Os cães alimentados com a dieta com CB mostraram uma maior diversidade de espécies microbianas, o que indica que estes cães tinham um microbioma mais estável e mais resistente a alterações. Com base nos resultados deste estudo, a suplementação das dietas de cães com colostro bovino resultou numa maior diversidade e estabilidade no microbioma intestinal, assim como numa melhor resposta imunitária à vacinação contra o CDV sem a indução de inflamação generalizada.

Satyaraj, E., Reynolds, A., Pelker, R., Labuda, J., Zhang, P., & Sun, P. (2013). Supplementation of diets with bovine colostrum influences immune function in dogs. *British Journal of Nutrition*, 110, 2216-2221. doi: 10.1017/S000711451300175X



A RESPOSTA DO MICROBIOMA CANINO À DIETA

Desenho do estudo: alimentaram-se beagles e labradores magros e obesos (32 de cada raça, metade magros e metade obesos) com uma dieta inicial durante 4 semanas, seguidas de um estudo de alimentação de 4 semanas em que receberam uma dieta rica em proteína e pobre em hidratos de carbono (49,4 % e 10,9 %, respetivamente) ou uma dieta mais pobre em proteína e rica em hidratos de carbono (25,5 % de proteína e 38,8 % de hidratos de carbono). Os investigadores colheram amostras de fezes dos cães no final de cada fase e avaliaram-nas através de uma análise de sequenciação do gene 16S rRNA para determinar os tipos de bactérias presentes.

Resultados:

- a dieta tem grandes efeitos reproduzíveis no microbioma canino e estes efeitos são semelhantes ao que foi já observado em estudos em humanos.
- Os microbiomas de cães magros e obesos são diferentes.
- Os cães obesos sofreram maiores alterações no microbioma em resposta às mudanças na dieta. Isto poderá indicar que o seu microbioma é menos estável, mas também pode proporcionar oportunidades para uma intervenção nutricional para melhorar o controlo do peso.
- O microbioma dos cães obesos que receberam uma dieta rica em proteína e pobre em hidratos de carbono (comparativamente aos que receberam uma dieta mais pobre em proteína e mais rica em hidratos de carbono) mostrou maiores semelhanças com o microbioma de cães magros.

Discussão: a dieta influencia o microbioma (embora não seja novidade, esta investigação contribui para a evidência crescente). O achado de os cães obesos terem sofrido maiores alterações com as mudanças na dieta é consistente com a perspetiva de que o microbioma de cães com excesso de peso se encontra num estado menos estável do que o de cães magros mais saudáveis. A dieta afeta o microbioma, que por sua vez afeta a saúde animal (e humana), portanto, melhorar o microbioma no sentido de um tipo mais favorável (magro) poderá criar oportunidades para melhores abordagens para o controlo de peso. Os achados deste estudo revelam a possibilidade de podermos afetar positivamente o microbioma de cães com excesso de peso de modo a tornar as estratégias de controlo de peso mais eficazes, mas ainda temos muito que aprender sobre as interações da dieta e do microbioma.

Li, Q., Lauber, C. L., Czarnecki-Maulden, G., Pan, Y., & Hannah, S. S. (2017). Effects of the dietary protein and carbohydrate ratio on gut microbiomes in dogs of different body conditions. *MBio*, 8(1), e01703-16. doi: 10.1128/mBio.01703-16.

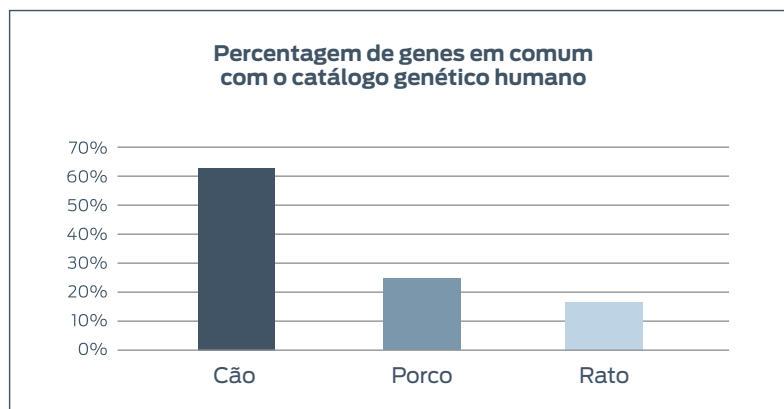


SEMELHANÇAS DO MICROBIOMA CANINO COM O MICROBIOMA HUMANO

Comparou-se os genes do microbioma intestinal humano com os do cão, do porco e do rato. Quando se compara genes, considera-se os genes “mapeados” (ou compatíveis) se as suas sequências genéticas forem idênticas em pelo menos 95 %.

Desenho do estudo: alimentaram-se beagles e labradores magros e obesos (32 de cada raça, metade magros e metade obesos) com uma dieta inicial durante 4 semanas, seguidas de um estudo de alimentação de 4 semanas em que receberam uma dieta rica em proteína e pobre em hidratos de carbono (49,4 % e 10,9 %, respetivamente) ou uma dieta mais pobre em proteína e rica em hidratos de carbono (25,5 % de proteína e 38,8 % de hidratos de carbono). Foi extraído ADN de amostras de fezes para criar um “catálogo genético” do microbioma intestinal canino e compará-lo aos catálogos genéticos existentes dos microbiomas intestinais de humanos, porcos e ratos.

Resultados: o microbioma canino é mais parecido com o microbioma humano do que o do porco ou do rato. O gráfico seguinte mostra a percentagem dos microbiomas intestinais de cada espécie mapeada com o microbioma intestinal humano. A coincidência no cão é de 63 %, que é mais do dobro do que no porco (24 %) e quase 4 vezes mais que no rato (17 %).



Discussão: as semelhanças entre os microbiomas do cão e do ser humano são um novo achado. O rato é o modelo animal mais utilizado, mas tem menos em comum com os humanos do que os cães ou os porcos. Embora os humanos e os ratos sejam mais próximos do ponto de vista evolucionário, aparentemente, o estilo de vida e a fisiologia em comum entre o cão e o ser humano fez com que os seus microbiomas se tornassem mais semelhantes do que os de ratos e humanos.

O catálogo da Purina já contém a maioria do conteúdo genómico do microbioma intestinal dos cães num centro ocidental de cuidados para animais de companhia. De acordo com os autores, “disponibiliza mais de 1 milhão de genes registados taxonomicamente e funcionalmente e pode servir de recurso para estudos futuros. Para além do censo taxonómico, o nosso estudo com duas raças de cães pode servir de base para a expansão da investigação do microbioma canino.”

Coelho, L. P., Kultima, J. R., Costea, P. I., Fournier, C., Pan, Y., Czarnecki-Maulden, ..., Bork, P. (2018). Similarity of the dog and human gut microbiomes in gene content and response to diet. *Microbiome*, 6(72). doi: 10.1186/s40168-018-0450-3



A FAMÍLIA, A MICROBIOTA MATERNA E O AMBIENTE RESIDENCIAL AFETAM O MICROBIOMA DE CÃES

O microbioma intestinal tem um impacto significativo na saúde dos cães, assim como das pessoas. Este estudo investigou os efeitos da família, da microbiota materna e do ambiente residencial no microbioma de uma população grande e bem definida de cães pastores-alemães. Além disso, foi analisado o impacto de um probiótico administrado durante o último trimestre de gravidez e durante as primeiras 12 semanas de vida.

Desenho do estudo: o estudo envolveu 30 fêmeas de pastor-alemão de raça pura e respectivos cachorros, constituindo um total de 168 cães. As cadelas, que pertenciam ao programa canino das Forças Armadas Suecas, tinham estado a viver com famílias distribuídas por toda a Suécia, mas foram trazidas para as instalações do canil central antes do dia 42 da sua gravidez e mantidas nessas instalações até os cachorros atingirem as 8 semanas de vida. Às 8 semanas, os cachorros foram entregues a famílias de toda a Suécia, mas continuaram a participar no estudo até aos 18 meses de idade. Todos os cães foram alimentados com a mesma dieta ao longo do estudo. Foi administrado um placebo ou um probiótico (*Lactobacillus johnsonii* NCC533) à cadela durante o último trimestre de gravidez e até os cachorros atingirem as 8 semanas de vida. Os cachorros receberam o mesmo tratamento que as suas mães entre as 3 e as 12 semanas de vida.

Foram colhidas amostras de sangue e de fezes. Nas cadelas, as colheitas foram efetuadas no dia 42 de gravidez, no parto e nas 4 e 7 semanas pós-parto. Nos cachorros, as colheitas foram feitas às 7 semanas e aos 12-13 e 15-18 meses de vida. As amostras de fezes foram analisadas para detetar anticorpos IgA contra o vírus da esgana canina (CDV) nas fezes e para avaliar o seu microbioma. As amostras de sangue foram avaliadas quanto a anticorpos IgA, IgE e IgG contra o CDV. (Os testes de CDV foram realizados para avaliar os efeitos do probiótico no sistema imunitário.)

Resultados: as famílias bacterianas predominantes nas cadelas, independentemente de estarem grávidas ou a amamentar, foram as mesmas que os filos predominantes nos cachorros com 7 semanas de vida: *Firmicutes*, *Fusobacteria* e *Bacteroidetes*. O filo *Firmicutes* foi o mais dominante em todas as idades e representou 78-89 % da população, seguido do *Actinobacteria* com 4-9 % da população. A diversidade bacteriana nas cadelas aumentou entre a gravidez e o final da lactação e as proporções relativas das diferentes bactérias sofreram alterações durante a lactação: As espécies *Erysipelotrichaceae* e *Lactobacillaceae* aumentaram durante a lactação das cadelas, ao passo que as *Fusobacteriaceae* e *Clostridiaceae* diminuíram. A diversidade e as proporções de bactérias na microbiota variaram entre as 7 semanas e os 15-18 meses, o que indica que a microbiota sofre alterações com a idade e o ambiente. A diversidade microbiana foi semelhante entre as 7 semanas e o 1 ano de idade, mas as proporções relativas das bactérias diferiram. Entre a infância e a idade adulta dos cachorros, as quantidades relativas de *Clostridiaceae*, *Erysipelotrichaceae* (género não identificado) e *Lachnospiraceae* aumentaram, ao passo que as quantidades relativas de *Erysipelotrichaceae* (género *Allobaculum*), *Lactobacillaceae* e *Bifidobacteriaceae* diminuíram. Os microbiomas de cachorros da mesma ninhada foram mais semelhantes entre eles do que em relação a cachorros não familiares, o que mostra um efeito da relação familiar no microbioma. As semelhanças entre cachorros da mesma ninhada atingiram o seu máximo às 7 semanas, mas ainda estavam presentes (embora não tão marcadas) aos 18 meses.



A FAMÍLIA, A MICROBIOTA MATERNA E O AMBIENTE RESIDENCIAL AFETAM O MICROBIOMA DE CÃES (CONT.)

Resultados (cont.): os microbiomas dos cachorros eram mais semelhantes aos das suas mães do que aos de cadelas não familiares às 7 semanas de vida, mas não no nascimento, em que os seus microbiomas não eram mais parecidos com os das mães do que com os de cães não familiares.

A diversidade microbiana dos cães foi afetada pela sua área de residência, visto que os cães que viviam em cidades maiores tinham uma microbiota mais diversificada do que os que viviam em cidades mais pequenas ou no campo. (Não houve diferenças significativas entre as suas microbiotas quando estiveram todos alojados nas instalações do canil central.) Os investigadores não detetaram efeitos do probiótico nos parâmetros específicos testados neste estudo.

Discussão: o microbioma intestinal da cadela sofre alterações depois do parto e durante a lactação. O microbioma intestinal nos cachorros muda à medida que eles crescem. O microbioma é afetado pela geografia, já que cães a viver em cidades maiores têm um microbioma mais diversificado do que os que vivem em cidades mais pequenas ou no campo. Os autores sugerem que tal resulta da exposição a uma maior variedade de micróbios nas cidades maiores. Os laços familiares afetam o microbioma, visto que, apesar da separação geográfica, os microbiomas de cachorros da mesma ninhada aos 18 meses de vida continuavam a ser mais semelhantes entre si do que em relação a cães não familiares.

Este estudo foi o primeiro em vários aspetos importantes:

- Primeiro estudo a descrever a microbiota fecal num grande número de cães da mesma raça, no mesmo canil e sob condições naturais bem controladas. Portanto, criou-se uma oportunidade excecional para estudar os efeitos da idade, da família, da fase reprodutiva, da área de residência e de um probiótico.
- Primeiro e único estudo a comparar a microbiota intestinal em cadelas grávidas e a amamentar.
- Primeiro a mostrar que o ambiente de residência (urbano vs. rural) afeta a microbiota fecal de cães

Vilson, A., Ramadan, Z., Li, Q., Hedhammar, A., Reynolds, A., Spears, J.,...Hansson-Hamlin, H. (2018). Disengaging factors that shape the gut microbiota in German Shepherd dogs. *PLoS ONE*, 13(3): e0193507. doi:10.1371/journal.pone.0193507

2. PREBIÓTICOS

Os prebióticos são ingredientes alimentares não digeríveis que estimulam seletivamente o crescimento e/ou a atividade de bactérias potencialmente benéficas. Uma investigação inicial da Purina levou à incorporação generalizada de prebióticos nos alimentos para animais de companhia para beneficiar a saúde gastrointestinal.



Raiz de chicória



OS PREBIÓTICOS AFETAM O MICROBIOMA

Os microbiomas dos cães sofrem alterações com a idade, o que pode levar a uma disbiose (desequilíbrio entre bactérias benéficas e potencialmente danosas). Os prebióticos como a inulina e o mananooligosacarídeo (MOS) são ingredientes alimentares não digeríveis que estimulam seletivamente o crescimento e/ou a atividade de bactérias potencialmente benéficas. Os objetivos deste estudo foram determinar os efeitos da inulina, do MOS ou de uma combinação de ambos na população microbiana do cólon e nos parâmetros imunológicos de cães seniores.

Desenho do estudo: trinta e quatro (34) cães seniores (entre 8-11 anos) foram aleatoriamente distribuídos por quatro grupos. Durante o período inicial de quatro semanas, todos os cães receberam a dieta de controle. Durante o período de teste de quatro semanas seguinte, um grupo recebeu uma dieta de controle e os grupos de teste receberam a dieta de controle suplementada apenas com chicória (fonte de inulina), apenas com MOS ou com uma combinação de chicória e MOS. Os cães foram alojados individualmente. Foram colhidas e analisadas todas as fezes excretadas por cada cão durante 3 dias no final de cada período (inicial e teste). As pontuações fecais foram registradas com base numa escala de 1-5 (uma classificação de 1 correspondia a fezes duras e secas e uma de 5 a fezes líquidas e aquosas). Foi analisada uma amostra recém-excretada quanto à presença da espécie *Bifidobacteria*, da espécie *Lactobacillus*, *Escherichia coli* e *Clostridium perfringens*. Foram colhidas amostras de sangue no último dia de cada período e analisadas quanto às concentrações séricas de imunoglobulina, hemograma completo e diferenciação de glóbulos brancos.

Resultados: a suplementação alimentar com MOS ou com a combinação de chicória e MOS, mas não apenas com chicória, teve tendência para aumentar a ingestão de comida comparativamente à dieta de controle. Embora a produção fecal húmida tenha aumentado nos cães suplementados com chicória ou MOS comparativamente aos cães de controle, a diferença não foi significativa quando corrigida para o aumento da ingestão. Os cães suplementados com a combinação de chicória e MOS tiveram pontuações fecais significativamente superiores e os cães suplementados apenas com chicória tenderam a ter pontuações fecais maiores que as dos cães na dieta de controle. Apesar de as pontuações fecais terem aumentado, mantiveram-se dentro do intervalo desejável e não estiveram associadas a diarreia. Embora não tenham sido observadas diferenças significativas nos dados de digestibilidade, a suplementação com chicória tendeu a aumentar a digestibilidade da gordura ligeiramente, mas provavelmente sem um efeito fisiológico significativo. As amostras de fezes de cães suplementados apenas com chicória ou MOS apresentaram maiores concentrações de *Bifidobacteria* do que as de cães alimentados com a dieta de controle, mas o mesmo não foi observado com a combinação de chicória e MOS. A espécie *Lactobacillus* não variou entre os grupos. As concentrações fecais de *E. coli* foram menores apenas nos cães suplementados com MOS comparativamente aos cães de controle. As concentrações fecais de *Clostridium perfringens* não diferiram entre os grupos. A suplementação com apenas chicória ou MOS ou com a combinação dos dois não afetou as concentrações séricas de imunoglobulina comparativamente aos controles. A suplementação com MOS ou com a combinação de chicória e MOS, mas não a suplementação com apenas chicória, tendeu a aumentar as concentrações de neutrófilos em cerca de 20 % comparativamente aos controles, mas a diferença não foi significativa. As concentrações de linfócitos periféricos foram menores nos cães suplementados com MOS ou com a combinação de MOS e chicória.

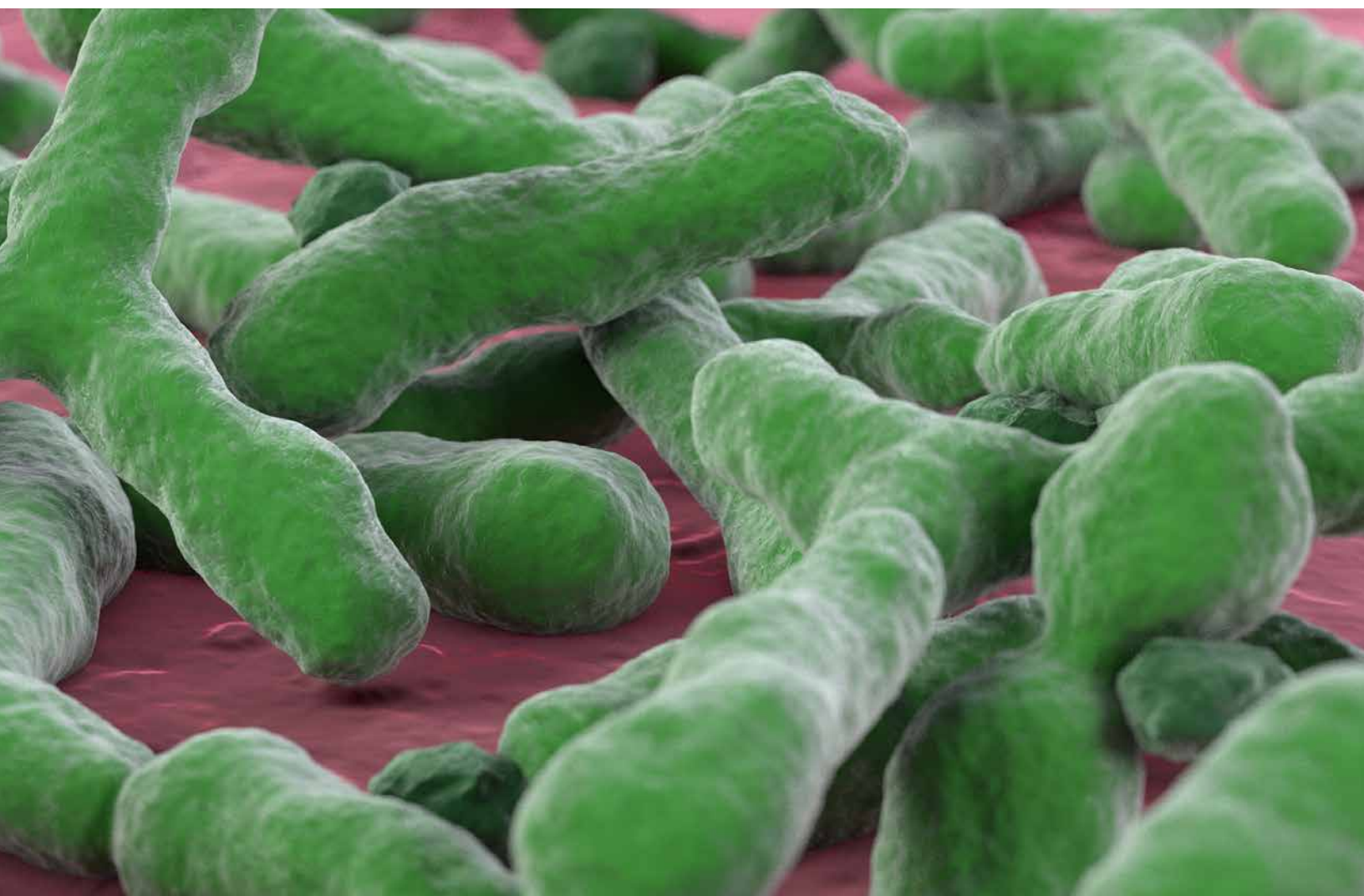
Discussão: a chicória e o MOS poderão atuar através de diferentes mecanismos para alterar as concentrações bacterianas e, quando combinados, poderão fazer com que as espécies bacterianas do intestino compitam pelo substrato. Os prebióticos não alteraram significativamente a digestibilidade da comida. A suplementação com MOS ou chicória aumentou as *Bifidobacteria* e a suplementação com MOS reduziu a *E. coli*. Embora as concentrações de células imunitárias individuais também tenham sido afetadas pelos prebióticos, é necessária mais investigação para determinar a significância clínica das alterações.

Grieshop, C. M., Flickinger, E. A., Bruce, K. J., Patil, A. R., Czarnecki-Maulden, G. L., & Fahey, G. C. (2004). Gastrointestinal and immunological responses of senior dogs to chicory and mannan-oligosaccharides. *Archives of Animal Nutrition*, 58(6), 483-493.

3. PROBIÓTICOS

Os probióticos são organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios para a saúde do hospedeiro.¹ A Purina foi a primeira a oferecer um suplemento probiótico de longa duração com comprovação de melhorar a função imunitária e ajudar a controlar a diarreia. Este probiótico, uma estirpe específica de *Enterococcus faecium* à qual chamamos *E. faecium* SF68 (NCIMB 10415 4b1705), continua a ser o probiótico mais estudado em medicina veterinária com base nas publicações até à data. Os manuscritos aqui apresentados documentam o conhecimento crescente por parte da comunidade científica veterinária sobre as indicações e a eficácia desta estirpe probiótica.

1. Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B.,...Sanders, M. E. (2014). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 11, 506–514. doi: 10.1038/nrgastro.2014.66



Bifidobacterium



A ENTEROCOCCUS FAECIUM SF68 ESTIMULA A FUNÇÃO IMUNITÁRIA E PODERÁ MELHORAR A RESPOSTA À VACINAÇÃO EM CÃES JOVENS

O microbioma intestinal tem um papel essencial na imunidade e defesa do hospedeiro e os probióticos poderão melhorar estas funções através de mecanismos diretos (por citocinas) ou indiretos (ao equilibrarem o microbioma e mitigarem a disbiose). Este estudo foi realizado para determinar os efeitos de uma estirpe específica de *Enterococcus faecium*, a SF68, na função imunitária de cachorros.

Desenho do estudo: catorze (14) cachorros de quatro raças diferentes foram alimentados com uma de duas dietas (a dieta de controlo ou a dieta de controlo suplementada com *E. faecium* SF68) desde o desmame (8 semanas) até fazerem um ano de idade. Em cada uma de sete ninhadas, um cachorro foi alimentado com a dieta de controlo e outro foi alimentado com a dieta de teste. Os cachorros foram alojados em pares dentro de cada grupo de tratamento. Ao longo do estudo, avaliou-se a ingestão de comida, o peso corporal e análises sanguíneas (análises sanguíneas completas e imunológicas). Os cachorros foram vacinados com uma vacina viva atenuada do vírus da esgana canina (CDV) às 9 semanas de vida e receberam o reforço às 12 semanas de vida (durante a quarta semana do ensaio). Foram colhidas fezes e analisadas quanto à IgA secretora.

Resultados: a presença de *E. faecium* SF68 nas fezes foi confirmada no grupo de teste e a sua ausência foi confirmada no grupo de controlo. Não houve diferenças significativas entre os grupos de controlo e de teste relativamente à ingestão de comida, peso corporal, hemograma completo e valores da química sanguínea. Também não houve diferenças significativas entre grupos nos níveis plasmáticos totais do anticorpo IgG ou nas quantidades ou proporção de dois tipos de células T (CD4+ e CD8+), mas os monócitos foram mais ativados no plasma dos cães de teste. O aumento nestes anticorpos não diferiu significativamente logo após a vacinação. Contudo, os cães do grupo de teste apresentaram quantidades significativamente superiores de anticorpos IgG e IgA específicos anti-CDV comparativamente ao controlo nas Semanas 31 e 44, tendo estes níveis superiores sido mantidos ao longo do resto do estudo. A IgA fecal total nos cães de teste foi superior no grupo de teste na Semana 44 ($p = 0,056$). A IgA plasmática foi superior nos cães do grupo de teste a partir da Semana 18 e os cães de teste mostraram uma maior proporção de células B maduras nas Semanas 31 e 44. As amostras do plasma dos cães de teste foram analisadas para confirmar a ausência de evidência de sobre-estimulação ou desregulação do sistema imunitário.

Discussão: este foi o primeiro estudo a mostrar que a alimentação com uma ração seca suplementada com *E. faecium* SF68 melhorava a longo prazo as funções imunitárias de cães em crescimento. Os resultados sugerem que a *E. faecium* SF68 proporciona um efeito adjuvante sistémico e na mucosa sem sobre-estimulação, o que poderá melhorar a resposta imunitária protetora contra várias infeções durante o período crítico do desmame, assim como em futuras fases da vida. Para além disso, os resultados também sugerem que a *E. faecium* SF68 aumentou o *priming* de células B naíve em resposta à vacinação inicial contra o CDV, o que poderá melhorar a eficácia dessa vacina na prevenção da infeção por CDV.

Benyacoub, J., Czarnecki-Maulden, G. L., Cavadini, C., Sauthier, T., Anderson, R. E., Schiffrin, E. J., & von der Weid, T. (2003). Supplementation of food with *Enterococcus faecium* (SF68) stimulates immune function in young dogs. *Journal of Nutrition*, 133, 1158-1162.



A ENTEROCOCCUS FAECIUM SF68 REDUZ A INCIDÊNCIA E A GRAVIDADE DA DIARREIA EM GATINHOS

Os problemas gastrointestinais, como a diarreia, são comuns durante os primeiros meses de vida dos gatinhos e poderão ser, pelo menos parcialmente, explicados por um microbioma instável. Este estudo com oclusação teve como objetivo determinar os efeitos da estirpe probiótica *Enterococcus faecium* SF68 na diarreia de gatinhos.

Desenho do estudo: trinta e um (31) gatinhos foram alimentados *ad libitum* com uma ração seca para gatinhos nutricionalmente completa desde o desmame (8-14 semanas de vida) até ao primeiro ano de vida. Os gatinhos foram divididos em dois grupos, tendo um grupo recebido *E. faecium* SF68 e o outro um placebo. Houve oclusação dos colaboradores veterinários quanto ao grupo em que estava cada gatinho.

Resultados: os gatinhos alimentados com a dieta suplementada com o placebo foram tratados significativamente mais vezes para problemas intestinais do que os gatinhos alimentados com *E. faecium* SF68 (60 % vs. 9,5 %, respetivamente; $p < 0,05$). Para além disso, nos gatinhos que receberam a *E. faecium* SF68 a resolução dos problemas intestinais demorou menos tempo (18 dias vs. 45 dias nos gatos com SF68 e placebo, respetivamente; $p < 0,045$). Os gatinhos que receberam a *E. faecium* SF68 apresentaram maiores quantidades de *Bifidobacteria* e menores de *Clostridium perfringens* nas fezes do que os gatinhos que receberam o placebo ($p < 0,02$). Para além disso, os gatinhos alimentados com *E. faecium* SF68 mostraram maiores níveis de IgA sérica do que os gatinhos que receberam o placebo ($p < 0,5$).

Discussão: a *E. faecium* SF68 foi associada a uma menor incidência e duração da diarreia de ocorrência natural, com maiores níveis séricos de anticorpos IgA nos gatinhos. Também se detetou uma associação da *E. faecium* SF68 a maiores níveis de *Bifidobacteria* e menores níveis de *Clostridium perfringens*, o que indica um microbioma mais equilibrado nos gatinhos que receberam o probiótico.

Czarnecki-Maulden, G. L., Cavadini, C., Lawler, D. F., & Benyacoub, J. (2007). Incidence of naturally occurring diarrhea in kittens fed *Enterococcus faecium* SF68. *Compendium: Continuing Education for Veterinarians* (Supplement), 29 (2A), 37.



A ENTEROCOCCUS FAECIUM SF68 TEM EFEITOS IMUNOMODULADORES NOS GATINHOS

Um estudo anterior¹ mostrou que a suplementação com a estirpe probiótica *Enterococcus faecium* SF68 resultava numa melhor função imunitária e resposta à vacinação em cachorros. Este estudo foi realizado para avaliar o efeito da suplementação com *E. faecium* SF68 na função imunitária e na resposta à vacinação em gatinhos.

Desenho do estudo: este foi um estudo controlado por placebo com ocultação. Após um período de equilíbrio de 10 dias para uma dieta padronizada, vinte (20) gatinhos com 7 semanas de vida foram distribuídos aleatoriamente por dois grupos de 10 gatinhos cada e alojados por grupo. Durante 20 semanas, um grupo de gatinhos recebeu a *E. faecium* SF68 e o outro recebeu um placebo. Todos os gatinhos foram vacinados às 9 e 12 semanas de vida com uma vacina polivalente contra o herpesvírus felino 1 (FHV-1), o calicivírus felino (FCV) e o vírus da panleucopenia felina (FPV). As atitudes e o comportamento dos gatinhos foram monitorizados diariamente e o seu peso corporal foi medido semanalmente. Foram colhidas cinco amostras de fezes por dia da caixa de areia partilhada de cada grupo para classificação de acordo com um sistema de pontuação da consistência fecal padronizado. Determinou-se a pontuação fecal média diária de cada grupo. Colheu-se sangue, saliva, urina e fezes de todos os gatos às 7 semanas de vida (antes da administração do probiótico ou placebo) e às 9, 15, 21 e 27 semanas de vida. Nas amostras sanguíneas foi realizado o hemograma completo e a bioquímica sérica, assim como testes imunológicos. As respostas imunitárias humorais foram calculadas medindo a IgA e/ou a IgG contra os componentes da vacina. Foram avaliados os linfócitos de amostras de sangue total quanto à expressão dos marcadores CD4, CD8 e CD44 e as células B foram avaliadas quanto aos marcadores B220, CD21 e complexo maior de histocompatibilidade de classe II (MHC II). Realizaram-se testes da proliferação de linfócitos para avaliar a resposta imunitária ativa dos gatinhos. Foram medidas a IgA e a IgG específicas contra FHV-1 nas amostras de saliva. Analisaram-se os níveis totais de IgA e IgG em extratos fecais de amostras obtidas às 9 semanas e às 27 semanas de vida. As fezes foram analisadas para confirmar a presença (grupo do probiótico) ou ausência (grupo do placebo) de *E. faecium* SF68 nas fezes dos grupos, assim como para determinar a presença de *Clostridium perfringens*, toxinas A ou B de *Clostridium difficile*, *Salmonella* ou *Campylobacter*.

Resultados: dezoito gatinhos concluíram o estudo, já que um gatinho de cada grupo foi removido por motivos não relacionados com o estudo. O peso corporal e as pontuações fecais não diferiram estatisticamente entre os dois grupos. A suplementação com *E. faecium* SF68 não afetou os parâmetros de desenvolvimento. No início do estudo, todos os gatinhos apresentavam fezes normais. O hemograma completo e os perfis bioquímicos encontravam-se dentro dos limites normais em todos os gatos em todos os momentos. As fezes de 7 dos 9 gatinhos no grupo do probiótico estiveram positivas para *E. faecium* SF68 pelo menos uma vez durante o estudo, ao passo que todo o grupo do placebo esteve negativo para *E. faecium* SF68 em todos os momentos. O ADN da *E. faecium* SF68 não foi detetado nas fezes de nenhum gatinho do grupo do probiótico uma semana após a descontinuação. Às 21 e 27 semanas de vida, os níveis médios de IgA específica para FHV-1 no soro e na saliva foram superiores no grupo do probiótico do que no grupo do placebo, mas a diferença não foi estatisticamente significativa. Do mesmo modo, os níveis séricos médios de IgG específica para FHV-1 foram maiores no grupo do probiótico às 15, 21 e 27 semanas de vida e os de IgG específica para FPV foram maiores no grupo do probiótico às 15 semanas de vida. Os níveis totais de IgG e IgA no soro e nas fezes, assim como o nível total de IgA na saliva, foram semelhantes entre grupos. No Dia 27, a percentagem de linfócitos CD4+ foi significativamente superior no grupo do probiótico. Não houve diferenças estatísticas entre grupos nas medições de nenhum outro parâmetro imunitário específico ou não específico.



A ENTEROCOCCUS FAECIUM SF68 TEM EFEITOS IMUNOMODULADORES EM GATINHOS (CONT.)

Discussão: a administração de *E. faecium* SF68 foi segura para os gatinhos, não interferiu no normal desenvolvimento e não induziu a excreção de *Salmonella* ou *Campylobacter*. Após a vacinação, cada um dos gatinhos desenvolveu anticorpos séricos específicos contra o herpesvírus felino 1, o calicivírus felino e o vírus da panleucopenia felina. O aumento nas contagens de células CD4+ no grupo do probiótico comparativamente ao grupo do placebo às 27 semanas de vida sugere que o probiótico tem efeitos imunomoduladores sistêmicos.

Veir, J. K., Knorr, R., Cavadini, C., Sherrill, S. J., Benyacoub, J., Satyaraj, E., & Lappin, M. R. (2007). Effect of supplementation with *Enterococcus faecium* (SF68) on immune function in cats. *Veterinary Therapeutics*, 8(4), 229-238.

1. Benyacoub, J., Czarnecki-Maulden, G. L., Cavadini, C., Sauthier, T., Anderson, R. E., Schiffrin, E. J., & von der Weid, T. (2003). Supplementation of food with *Enterococcus faecium* (SF68) stimulates immune function in young dogs. *Journal of Nutrition*, 133, 1158-1162.



A ENTEROCOCCUS FAECIUM SF68 PRESERVA A DIVERSIDADE MICROBIANA DURANTE STRESS LIGEIRO

A infecção por herpesvírus felino 1 (FHV-1) é comum em gatos e causa febre, infecções oculares e infecções respiratórias potencialmente fatais. Os gatos infectados podem desenvolver infecções latentes crônicas que resultam na recorrência de sinais clínicos de doença quando estão sob stress causado pelo seu ambiente ou por outras doenças. Os gatos afetados podem infectar outros gatos. Este estudo foi realizado para avaliar os efeitos da estirpe probiótica *Enterococcus faecium* SF68 na doença clínica, assim como na frequência e gravidade de episódios de excreção de FHV-1.

Desenho do estudo: foram incluídos no estudo doze (12) gatos com um ano de idade cronicamente infectados por FHV-1 e com doença clínica intermitente. Depois de um período de adaptação de duas semanas (para permitir aos gatos adaptarem-se ao seu alojamento e dieta), os gatos foram divididos em número igual em dois grupos. Um grupo de gatos recebeu a *E. faecium* SF68 misturada com um intensificador de sabor (grupo de teste) e o outro grupo (grupo do placebo) recebeu o intensificador de sabor sem o probiótico. Os gatos foram alojados em grupo durante 28 dias, alojados individualmente durante 28 dias e novamente alojados em grupo por mais 84 dias. A presença ou ausência de espirros, secreção nasal ou conjuntivite foi registada diariamente por observadores com ocultação quanto à condição de tratamento (teste ou placebo) dos gatos. Mediu-se o peso corporal semanalmente e foram colhidas amostras sanguíneas duas vezes durante o período de adaptação e depois aproximadamente a cada 14 dias durante todo o estudo. Foram colhidos esfregaços da garganta semanalmente e fezes antes da suplementação e ao longo das fases de teste.

Resultados: todos os gatos aceitaram bem comer o intensificador de sabor com ou sem a *E. faecium* SF68. Os gatos no grupo do placebo apresentaram uma menor diversidade microbiana nas fezes do que o grupo de teste ($p < 0,05$). Embora durante o estudo os espirros e a secreção nasal tenham sido pouco comuns nos gatos, houve uma tendência para menos conjuntivite nos gatos do grupo de teste durante o último período de alojamento. Durante o período de suplementação, os gatos que receberam *E. faecium* SF68 apresentaram conjuntivite em significativamente menos momentos de observação do que os do grupo do placebo (16,3 % vs. 29,3 %, respetivamente; $p < 0,001$). Não foram detetadas diferenças estatísticas entre os grupos ou entre períodos quanto à deteção de ADN de FHV-1 nos esfregaços da garganta, valores de anticorpos anti-FHV-1 ou resposta linfocitária.

Discussão: a administração de *E. faecium* SF68 preservou a diversidade microbiana intestinal quando os gatos foram expostos a stress ligeiro (alterações no alojamento e castração). A melhoria nos momentos de observação de conjuntivite com *E. faecium* SF68 comparativamente ao placebo poderá ser um efeito do tratamento, mas são necessários mais estudos. No entanto, o estudo não determinou o mecanismo que poderá estar na origem do efeito.

Lappin, M. R., Veir, J. K., Satyaraj, E., & Czarnecki-Maulden, G. (2009). Pilot study to evaluate the effect of oral supplementation of *Enterococcus faecium* SF68 on cats with latent herpesvirus 1. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11(8), 650-654. doi: 10.1016/j.jfms.2008.12.006



A ENTEROCOCCUS FAECIUM SF68 NÃO ALTERA A EXCREÇÃO DE QUISTOS DE GIARDIA

A infecção com o parasita protozoário *Giardia* é bastante comum e clinicamente normal, mas os cães infetados podem ser infeciosos para outros cães e possivelmente para humanos. Investigações anteriores demonstraram que a estirpe probiótica *Enterococcus faecium* SF68 reduzia a carga e a excreção de *Giardia* em ratos. Este estudo foi realizado para avaliar o efeito de seis semanas de administração de *E. faecium* SF68 na imunidade e excreção de quistos fecais de *Giardia* em cães.

Desenho do estudo: foram incluídos no estudo vinte (20) cães adultos com infecções por *Giardia* crônicas e subclínicas, naturalmente adquiridas. Após um período de adaptação alimentar de 6 semanas, os cães foram divididos em dois grupos iguais para o estudo cruzado (com ocultação?). Todos os cães foram mantidos com a mesma dieta, mas um grupo recebeu *E. faecium* SF68 e o outro grupo recebeu um placebo com os mesmos ingredientes de base mas sem a estirpe probiótica, durante 6 semanas. Depois, cada grupo recebeu a condição contrária (o grupo que inicialmente recebeu *E. faecium* SF68 recebeu o placebo e vice-versa) nas 6 semanas seguintes. Foram colhidas amostras de fezes todas as semanas em 3 dias consecutivos para determinar a pontuação fecal e analisar cistos fecais de *Giardia* e a carga antigénica. Mediu-se a IgA secretora nas fezes nas semanas 3, 9 e 15. Nas semanas 3, 9 e 15 também se colheu sangue para avaliar a capacidade fagocitária dos leucócitos.

Resultados: não foram observadas diferenças significativas entre o grupo do placebo e o do tratamento com *E. faecium* SF68 quanto à excreção de cistos de *Giardia*, excreção de antígeno nas fezes, concentração fecal de IgA ou atividade fagocitária dos leucócitos. Não houve qualquer evidência de uma melhor imunidade adaptável como resposta à *E. faecium* SF68.

Discussão: a administração de *E. faecium* SF68 durante 6 semanas a cães com giardíase crônica subclínica naturalmente adquirida não alterou a excreção de cistos de *Giardia*, o conteúdo antigénico nem as respostas imunitárias adaptadas ou inatas. São necessários mais estudos para determinar se a suplementação com *E. faecium* SF68 a longo prazo afeta a excreção de cistos ou reduz a reinfeção, ou se o pré-tratamento com *E. faecium* SF68 proporciona benefícios preventivos ou reduz a colonização por *Giardia*.

Simpson, K. W., Rishniw, M., Bellosa, M., Liotta, J., Lucio, A., Baumgart, M.,...Bowman, D. (2009). Influence of *Enterococcus faecium* SF68 probiotic on giardiasis in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 23, 476-481.



A ENTEROCOCCUS FAECIUM SF68 REDUZ A PREVALÊNCIA DE DIARREIA EM GATOS EM ABRIGOS

A diarreia é comum em animais de companhia alojados em abrigos. Pode ter várias causas, incluindo stress, alterações à dieta e agentes patogénicos (como vírus, bactérias e parasitas). A diarreia pode atrasar a adoção e apertar os recursos financeiros dos abrigos (devido ao custo do tratamento), podendo ainda resultar em eutanásia em casos suficientemente graves ou crónicos. Este estudo foi realizado para avaliar a eficácia de uma estirpe probiótica específica de *Enterococcus faecium*, a SF68, na prevenção da diarreia em cães e gatos em abrigos.

Desenho do estudo: este estudo controlado por placebo e com dupla ocultação avaliou cães e gatos alojados num abrigo para animais. Os cães e os gatos deste estudo foram separados por espécie e cada espécie foi dividida em dois grupos que foram alojados separadamente. Após um período de 4 semanas para avaliar a prevalência inicial de diarreia por área de alojamento, cada grupo recebeu a *E. faecium* SF68 na forma de um intensificador de sabor ou um placebo (apenas o intensificador de sabor) durante 4 semanas como suplemento a uma dieta completa e equilibrada. Seguiu-se um período de *washout* de uma semana, durante o qual não receberam qualquer suplemento, e depois um período de 4 semanas com a condição contrária (os que tinham recebido placebo no primeiro período receberam a SF68 no segundo e vice-versa). A pontuação fecal diária foi estimada por indivíduos com ocultação quanto à condição de placebo ou teste dos cães/gatos. Também houve ocultação dos indivíduos que suplementaram os cães/gatos quando à sua condição. As fezes com uma pontuação igual ou superior a 4 foram consideradas diarreia.

Resultados: foram incluídos na análise de dados 130 gatos e 102 cães. Embora o período total do estudo tenha sido de 13 semanas, alguns dos gatos e cães foram adotados durante o estudo. Consequentemente, nem todos os cães ou gatos ficaram alojados no abrigo durante todo o período do estudo. Portanto, as taxas de prevalência de diarreia foram reportadas de acordo com a área de alojamento e não de acordo com grupos consistentes com os mesmos animais.

Gatos: a percentagem de gatos com diarreia foi significativamente inferior no grupo da SF68 comparativamente ao grupo do placebo (7,7 % vs. 20,7 %, respetivamente; $p = 0,0297$). Não houve diferenças significativas entre os grupos quanto ao número de episódios de diarreia.

Cães: não foram observadas diferenças significativas entre os grupos, mas a prevalência de diarreia foi demasiado baixa para uma análise suficiente: apenas um cão de cada grupo teve diarreia durante dois ou mais dias.

Discussão: gatos de abrigos suplementados com *E. faecium* SF68 apresentaram menos episódios de diarreia com uma duração de 2 ou mais dias do que gatos que receberam um placebo. A redução da prevalência da diarreia pode indiretamente poupar tempo e dinheiro aos abrigos, assim como melhorar o bem-estar animal e a probabilidade de serem adotados.

Bybee, S. N., Scorza, A. V., & Lappin, M. R. (2011). Effect of the probiotic *Enterococcus faecium* SF68 on presence of diarrhea in cats and dogs housed in an animal shelter. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25, 856-860.



A ENTEROCOCCUS FAECIUM SF68 REDUZ A FLATULÊNCIA EM CÃES

Este estudo teve como objetivo determinar o efeito da suplementação com a estirpe probiótica *Enterococcus faecium* SF68 durante 14 dias na flatulência em cães.

Desenho do estudo: foram inscritos no estudo (10) cães adultos. Todos os cães foram alimentados com a mesma ração canina completa e equilibrada. Após uma colheita de amostra inicial no Dia 0, as dietas dos cães foram suplementadas com *Enterococcus faecium* SF68 diariamente durante 14 dias. Colocou-se em todos os cães um dispositivo que, de forma não invasiva, recolhia amostras de flatulência, o número de episódios de flatulência e as concentrações de sulfureto de hidrogénio a cada 4 segundos durante um período de quatro horas no Dia 0 e no Dia 14.

Resultados: a suplementação com *E. faecium* SF68 reduziu significativamente o número de episódios de flatulência e a quantidade máxima libertada de sulfureto de hidrogénio.

Discussão: a suplementação da dieta de cães adultos com a estirpe probiótica *Enterococcus faecium* SF68 durante duas semanas resultou na redução do número total de episódios de flatulência e da quantidade máxima de sulfureto de hidrogénio libertada pela flatulência.

Waldron, M., Kerr, W., Czarnecki-Maulden, G., & Davis, J. Supplementation with *Enterococcus faecium* SF68 reduces flatulence in dogs. Apresentado em: International Scientific Congress of the European Society of Veterinary and Comparative Nutrition; September 2012; Bydgoszcz, Poland



A ENTEROCOCCUS FAECIUM SF68 NÃO ALTERA A INGESTÃO DE COMIDA, O PESO CORPORAL, A COMPOSIÇÃO CORPORAL OU OS PARÂMETROS METABÓLICOS EM GATOS OBESOS OU COM EXCESSO DE PESO

Há uma evidência crescente a sustentar o papel do microbioma no tratamento do excesso de peso e da obesidade. Este estudo foi realizado para determinar os efeitos da estirpe probiótica *Enterococcus faecium* SF68 na ingestão de comida, no peso e composição corporal e no perfil metabólico de gatos obesos ou com excesso de peso sem comorbilidades.

Desenho do estudo: vinte (20) gatos com excesso de peso (classificação da condição corporal (CCC) de 5,5-7/9) ou obesidade (CCC 8-9/9) sem comorbilidades nem agentes patogênicos específicos foram divididos em dois grupos de 10 gatos cada com base no seu peso corporal e CCC. Após um período inicial e de adaptação de 4 semanas, os gatos no grupo do probiótico receberam *E. faecium* SF68 misturada na sua refeição matinal durante oito semanas. O período de intervenção foi seguido de um período de *washout* de seis semanas, tendo o estudo uma duração total de 18 semanas (4 semanas de adaptação, 8 de intervenção e 6 de *washout*). A ingestão de comida foi medida diariamente, ao passo que o peso corporal e a CCC foram avaliados semanalmente durante cada período. No final de cada um dos três períodos, calculou-se a massa gorda corporal e colheu-se sangue para analisar as concentrações de triglicerídeos, colesterol, frutamina, insulina, leptina e adiponectina.

Resultados: dezasseis gatos concluíram o estudo e foram incluídos nos dados analisados. Foram eliminados dois gatos de cada grupo por diversas razões. Todos os gatos no grupo do probiótico aceitaram e ingeriram a sua quantidade diária de *E. faecium* SF68. No final do período de aclimatização (antes da administração do probiótico), os níveis de insulina foram significativamente superiores e o peso corporal foi superior no grupo do probiótico, tendo estas diferenças sido mantidas durante o período de teste. Não houve diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos nos restantes parâmetros avaliados em nenhum dos três períodos.

Discussão: o uso a curto prazo do probiótico *E. faecium* SF68 não produziu efeitos na ingestão de comida, no peso corporal, na composição corporal nem nos parâmetros metabólicos de gatos obesos ou com excesso de peso sem agentes patogênicos específicos nem comorbilidades. Contudo, as diferenças nos grupos antes do período de teste serviram como fator confundidor. São necessários mais estudos para determinar se uma maior duração da administração, uma amostra maior, a restrição calórica simultânea ou o uso em gatos com tutores afetam a resposta. Neste estudo não foram colhidas fezes para análise do microbioma, mas esta poderia ter fornecido informações importantes sobre os microbiomas de gatos na resposta ao probiótico.

Kathrani, A., Larsen, J. A., Kass, P. H., & Fascetti, A. J. (2016). Effect of short-term probiotic *Enterococcus faecium* SF68 dietary supplementation in overweight and obese cats without comorbidities. *Veterinary Record Open*, 3, e000164. doi: 10.1136/vetreco-2015-000164



A ENTEROCOCCUS FAECIUM SF68 MELHORA A DIARREIA EM CÃES COM SOBRECRESCEMENTO BACTERIANO NO INTESTINO OU DIARREIA RESPONSIVA A ANTIBIÓTICOS

A diarreia do intestino delgado em cães pode representar um desafio diagnóstico para os médicos veterinários. Este estudo analisou se cães a sofrer de diarreia do intestino delgado causada por sobrecrecimento bacteriano intestinal ou diarreia responsiva a antibióticos beneficiariam da combinação de uma dieta entérica terapêutica^a com a estirpe probiótica *Enterococcus faecium* SF68.

Desenho do estudo: vinte e seis (26) cães adultos com tutor que apresentavam sinais clínicos compatíveis com diarreia do intestino delgado crônica com pelo menos 15 dias de duração que não pudesse ser atribuída a uma causa específica (p. ex., doença infecciosa, neoplasia, alergia alimentar ou intolerância alimentar, síndrome da má absorção, insuficiência pancreática exócrina) foram inscritos neste ensaio clínico controlado por placebo com dupla ocultação. Os cães foram aleatoriamente divididos em dois grupos: ambos foram alimentados com a ração entérica terapêutica, mas apenas o grupo de teste foi suplementado com *E. faecium* SF68 enquanto o grupo do placebo recebeu os mesmos ingredientes do suplemento de *E. faecium* SF68 mas sem o probiótico *E. faecium* SF68 em si. Os cães foram reavaliados clinicamente a cada 7 dias durante um período de 20 dias, incluindo exame físico completo, peso corporal, pontuação fecal e exame fecal microscópico, urianálise, hematologia e bioquímica sérica.

Resultados: os valores da hematologia e da bioquímica sérica mantiveram-se dentro dos limites normais em todos os cães ao longo do período do estudo. Durante a primeira semana do estudo, não foram detetadas diferenças significativas entre os grupos quanto à diarreia/pontuação fecal. Contudo, a diarreia ficou totalmente resolvida em 6/16 (37,5 %) dos cães do grupo que estava a receber a *E. faecium* SF68 comparativamente a nenhum dos cães no grupo do placebo. Depois do Dia 14, detetou-se uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos, com o grupo suplementado com *E. faecium* SF68 a apresentar resolução da diarreia ($p = 0,0002$) que se manteve durante a terceira semana da administração ($p = 0,0001$).

Discussão: a administração da estirpe probiótica *E. faecium* SF68 em combinação com uma dieta terapêutica especificamente formulada para problemas intestinais melhorou a diarreia após 14 dias em cães com suspeita de sobrecrecimento bacteriano intestinal ou diarreia responsiva a antibióticos comparativamente à administração de apenas a dieta terapêutica.

Rallis, T. S., Pardali, D., Adamama-Moraitou, K. K., & Kavarnos, I. (2016). Effect of *Enterococcus faecium* SF68® (FortifFlora®) administration in dogs with antibiotic responsive or small intestinal bacterial overgrowth diarrhoea. *Hellenic Journal of Companion Animal Medicine*, 5(2), 13-16.

a: Purina® Pro Plan® Veterinary Diets EN Gastroenteric® Canine Formula



A ENTEROCOCCUS FAECIUM SF68 PODERÁ MELHORAR OS RESULTADOS CLÍNICOS EM CÃES TRATADOS COM METRONIDAZOL PARA A DIARREIA

Este estudo foi realizado para determinar se a administração de uma estirpe específica de *Enterococcus faecium* (SF68) adicionalmente ao metronidazol melhoraria os resultados clínicos comparativamente a apenas o metronidazol em cães com diarreia.

Desenho do estudo: foram incluídos no estudo quarenta e oito (48) cães de um abrigo. Todos os cães foram alimentados com uma dieta padronizada e receberam metronidazol (25 mg/kg, PO, q12h) durante 7 dias de acordo com os protocolos do abrigo. Vinte e quatro (24) cães também receberam *E. faecium* SF68 com um intensificador de sabor (grupo de tratamento), enquanto os outros 24 cães receberam um placebo (apenas o intensificador de sabor) durante o tratamento com metronidazol.

O sistema de pontuação fecal padronizado foi aplicado em todas as amostras diariamente por um indivíduo com ocultação quanto à suplementação dos cães com *E. faecium* SF68 ou o placebo. Os cães também foram avaliados diariamente quanto à sua atitude (p. ex., vivacidade ou depressão) e ingestão de comida. O estudo não determinou a causa específica da diarreia dos cães, mas pretendeu replicar o ambiente de um abrigo típico onde muitas vezes o primeiro curso de tratamento para a diarreia é um curso de tratamento curto com metronidazol.

Resultados: todos os cães comeram bem a ração, o placebo e a *E. faecium* SF68. Não foram observados efeitos secundários do tratamento com metronidazol nem da administração de *E. faecium* SF68. Dezasseis cães de cada grupo concluíram o estudo e foram incluídos na análise estatística. Nos cães com pontuações fecais inferiores a 5 no dia 7, o tempo médio até às primeiras fezes normais foi de 2,5 dias no grupo da *E. faecium* SF68 e 3 dias no grupo do placebo, não sendo uma diferença significativa. No Dia 7, o número de cães com pontuações fecais inferiores a 5 era superior (11/16; 68,5 %) no grupo da *E. faecium* SF68 do que no grupo do placebo (6/16; 37,5 %), não sendo a diferença estatisticamente significativa. A média diária das pontuações de diarreia foi superior (mais diarreia) nos cães do grupo do placebo nos Dias 5, 6 e 7, mas os resultados não foram significativamente diferentes. A percentagem de amostras de fezes com uma pontuação <5 foi significativamente superior nos cães do grupo da *E. faecium* SF68 comparativamente aos do grupo do placebo nos Dias 4-7 (aproximadamente 60 % vs. aproximadamente 40 %, respetivamente; $p = 0,0496$). Os parasitas detetados nas fezes dos cães incluíram *Giardia*, *Cryptosporidium* e *Cystoisospora*, tendo vários cães sido co-infetados com dois ou mais destes parasitas. Ambos os cães infetados com *Giardia* no grupo da *E. faecium* SF68 responderam ao tratamento e resolveram as infeções, ao passo que a maioria (4/7) dos cães tratados com placebo ainda se mantiveram positivos para *Giardia* e com diarreia no Dia 7. Contudo, este pequeno número de cães impediu a comparação estatística.

Discussão: a estirpe probiótica *Enterococcus faecium* SF68 não é afetada pelo metronidazol, um antibiótico comumente usado para tratar cães com diarreia. A administração de *E. faecium* SF68 sugeriu um melhor efeito do tratamento do que a administração de apenas metronidazol. Os cães com a terapêutica dupla apresentaram percentagens significativamente superiores de dias com fezes normais, uma percentagem numericamente superior de cães com fezes normais no Dia 7 e pontuações de gravidade da diarreia numericamente inferiores nos Dias 5-7.



A ENTEROCOCCUS FAECIUM SF68 PODERÁ MELHORAR OS RESULTADOS CLÍNICOS EM CÃES TRATADOS COM METRONIDAZOL PARA A DIARREIA (CONT.)

Discussão (cont.): como no estudo não foi determinada a causa da diarreia específica dos cães, os investigadores não puderam descartar a possibilidade de enteropatia crônica, intolerância alimentar/alergia alimentar ou resistência antimicrobiana como causas da diarreia persistente em 15 dos cães no final do estudo. Seis cães do grupo do placebo estiveram persistentemente infetados com *Giardia* mesmo com o tratamento com metronidazol, o que sugere a possibilidade de estirpes resistentes. Seria necessário um estudo maior com cães infetados com *Giardia* para determinar se a combinação de metronidazol com *E. faecium* SF68 é melhor do que apenas metronidazol no tratamento da infecção com *Giardia*. A diarreia desencoraja a adoção, causa desconforto no cão e aperta muito os recursos dos abrigos. A administração de *E. faecium* SF68 em combinação com metronidazol parece ter benefícios clínicos.

Fenimore, A., Groshong, L., Scorza, V., & Lappin, M. R. (2017). Evaluation of metronidazole with and without *Enterococcus faecium* SF68 in shelter dogs with diarrhea. *Topics in Companion Animal Medicine*, 32, 100-103. doi: 10.1053/j.tcam.2017.11.001



A ENTEROCOCCUS FAECIUM SF68 INDUZ A IMUNOMODULAÇÃO EM CACHORROS

Um estudo anterior demonstrou que a estirpe probiótica *Enterococcus faecium* SF68 melhorava as respostas imunitárias à vacinação quando administrada a cachorros desde o desmame até ao primeiro ano de idade.¹ Este estudo foi realizado para avaliar o efeito da *E. faecium* SF68 em determinadas respostas imunitárias em cães adultos.

Desenho do estudo: foram selecionados para o estudo sete (7) beagles clinicamente saudáveis da mesma idade. Os cães foram divididos em dois grupos: um grupo recebeu *E. faecium* SF68 e o outro não recebeu. Colheu-se sangue de cada cão antes da suplementação e depois mensalmente durante 12 semanas para analisar células B, células T e citocinas.

Resultados: a suplementação com *E. faecium* SF68 resultou em respostas proliferativas significativamente maiores das células T à estimulação ($p = 0.03$). A suplementação aumentou significativamente o número de células B que expressavam IgG ligada à superfície ou complexo maior de histocompatibilidade de classe II (MHC II), assim como a gMFI de MHC II na Semana 4 comparativamente à Semana 0, tendo os níveis continuado aumentados até ao final do estudo na Semana 12. Comparativamente à Semana 0, as células T CD8+ CD11a+ e a gMFI de células T CD8+ e CD11a foram significativamente superiores nos cães suplementados com *E. faecium* SF68, mas o efeito não foi aparente na Semana 12. Não foram detetadas diferenças significativas nos níveis de citocina entre os grupos.

Discussão: a suplementação de beagles adultos com a estirpe probiótica *E. faecium* SF68 pode induzir imunomodulação logo desde as quatro semanas em cães.

Lappin, M. R., Coy, J., Hawley, J., & Dow, S. Effect of a commercially available probiotic on immune responses in healthy dogs. Apresentado em: American College of Veterinary Internal Medicine; June 8-10, 2017; National Harbor, Maryland. Abstract NMO5 2016

1. Benyacoub, J., Czarnecki-Maulden, G. L., Cavadini, C., Sauthier, T., Anderson, R. E., Schiffrin, E. J., & von der Weid, T. (2003). Supplementation of food with *Enterococcus faecium* (SF68) stimulates immune function in young dogs. *Journal of Nutrition*, 133, 1158-1162.



A ENTEROCOCCUS FAECIUM SF68 PODERÁ REDUZIR OS IMPACTOS NEGATIVOS DA AMOXICILINA/CLAVULANATO EM GATOS

Os antibióticos têm finalidades cruciais na saúde animal, mas podem produzir efeitos secundários indesejáveis e debilitantes (p. ex., diarreia, vômitos, perda de apetite) em alguns animais. Este estudo foi realizado para descrever os impactos clínicos e no microbioma da administração de amoxicilina/clavulanato (um antibiótico de largo espectro) em gatos e avaliar se a administração da estirpe probiótica *Enterococcus faecium* SF68 mitigaria esses efeitos.

Desenho do estudo: este foi um estudo controlado por placebo com ocultação. Trinta e quatro (34) gatos domésticos foram aleatoriamente atribuídos a 2 grupos de acordo com a condição corporal e foram alojados por grupo em duas salas separadas. Todos os gatos foram alimentados com a mesma dieta ao longo do estudo. Depois de um período de equilíbrio de 10 dias, todos os gatos foram alimentados com uma ração enlatada misturada com o placebo ou a *E. faecium* SF68 (dependendo do grupo a que pertencia o gato) na refeição matinal. Administrou-se amoxicilina/clavulanato (62,5 mg/kg oral) duas horas depois e novamente à noite durante 7 dias. A administração do placebo ou da *E. faecium* SF68 foi mantida durante 7 dias adicionais após a interrupção do antibiótico. A consistência fecal foi classificada de acordo com um sistema padronizado por observadores com ocultação quanto à condição. A hidratação, a atitude e o apetite foram classificados diariamente e foi registado qualquer vômito detetado nas jaulas. Colheram-se amostras de sangue para avaliar as concentrações séricas de cianocobalamina e folato e fezes para análise do microbioma antes do início do período de suplementação de 14 dias, na primeira manhã após o último dia da administração de antibiótico e 7 dias após o último dia da administração de antibiótico.

Resultados: treze gatos do grupo do probiótico e 14 gatos do grupo do placebo concluíram o estudo e foram incluídos na análise de dados. Os restantes gatos foram excluídos devido a uma predisposição para a diarreia por stress. Foi detetado pelo menos um episódio de vômito durante o período de administração do antibiótico em 53,8 % dos gatos do grupo do probiótico e 35,7 % dos gatos do grupo do placebo, não sendo o número total de episódios de vômito durante o período de administração do antibiótico significativamente diferente entre os grupos. Durante a administração do antibiótico e nos 4 dias seguintes, o número de gatos com diarreia não diferiu entre os grupos, mas os gatos do grupo do placebo mostraram mais diarreia grave. Houve menos gatos no grupo do probiótico a desenvolver pontuações fecais >5 do que no grupo do placebo (69,2 % vs. 85,7 %, respetivamente), mas a diferença não foi estatisticamente significativa. Relativamente à gravidade da diarreia, nenhum dos gatos no grupo do probiótico desenvolveu uma pontuação fecal >6, ao passo que 3 dos gatos no grupo do placebo apresentaram pontuações fecais >6 em pelo menos alguns dias. A pontuação total de diarreia nos Dias 1-11 foi significativamente inferior nos gatos do grupo do probiótico comparativamente aos do grupo do placebo. Houve alterações significativas no microbioma de ambos os grupos no Dia 7 da administração do antibiótico e estas alterações persistiam 7 dias após a interrupção do antibiótico. A administração do antibiótico alterou o microbioma ao reduzir significativamente o número de espécies observadas na análise do microbioma. As espécies *Bifidobacterium*, *Dialister* e *Peptococcus* diminuíram abundantemente durante a administração do antibiótico e não recuperaram depois da interrupção do antibiótico. As *Enterobacteriaceae* aumentaram significativamente durante a administração do antibiótico mas voltaram aos níveis iniciais após a descontinuação do antibiótico. Não houve diferenças entre os grupos do placebo e do probiótico em nenhum dos períodos analisados.



A ENTEROCOCCUS FAECIUM SF68 PODERÁ REDUZIR OS IMPACTOS NEGATIVOS DA AMOXICILINA/CLAVULANATO EM GATOS (CONT.)

Discussão: embora a análise não tenha detetado diferenças estatisticamente significativas entre os grupos do probiótico e do placebo, houve achados clinicamente relevantes que indicam ter havido benefícios da administração de *E. faecium* SF68:

- Houve menos gatos no grupo do probiótico a desenvolver diarreia grave: nenhum dos gatos no grupo do probiótico desenvolveu uma pontuação fecal >6, ao passo que 3 gatos no grupo do placebo tiveram pontuações fecais >6 em pelo menos alguns dias
 - As pontuações totais de diarreia nos Dias 1-11 foram significativamente inferiores nos gatos do grupo do probiótico
- A administração da amoxicilina/clavulanato altera o microbioma e o microbioma não recupera a condição inicial pelo menos até 7 dias após a interrupção do antibiótico. Este antibiótico é conhecido por inativar a *E. faecium* SF68, e isto poderá explicar os benefícios reduzidos do probiótico em combinação com este antibiótico comparativamente aos benefícios significativos observados com a coadministração com metronidazol, que não inativa a *E. faecium* SF68.

Torres-Henderson, C., Summers, S., Suchodolski, J., & Lappin, M. R. (2017). Effect of *Enterococcus faecium* SF68 on gastrointestinal signs and fecal microbiome in cats administered amoxicillin-clavulanate. *Topics in Companion Animal Medicine*, 32, 104-108. doi: 10.1053/j.tcam.2017.11.002



A ENTEROCOCCUS FAECIUM SF68 PRODUZ ALTERAÇÕES NÃO CLINICAMENTE RELEVANTES NOS NÍVEIS SÉRICOS DE COBALAMINA E FOLATO

A cobalamina e o folato são vitaminas B hidrossolúveis que abundam na dieta normal dos cães e gatos. Ambas estas vitaminas são consideradas marcadores da absorção intestinal por serem absorvidas no intestino delgado. Este estudo foi realizado para determinar o efeito da administração da estirpe probiótica *Enterococcus faecium* SF68 durante 14 dias nas concentrações séricas de cobalamina e folato em cães saudáveis.

Desenho do estudo: foram incluídos no estudo 36 cães adultos (2-5 anos de idade) saudáveis de tutores particulares. Os cães foram divididos por sexo e atribuídos aleatoriamente a um grupo de controlo ou ao grupo do probiótico, ficando 18 cães em cada grupo com uma distribuição quase equivalente de machos:fêmeas. Todos os cães foram alimentados com a mesma dieta equilibrada durante duas semanas antes do início do estudo e durante o estudo para minimizar a influência da dieta nos níveis de vitaminas, já que os níveis de cobalamina e folato na dieta não foram medidos. Os cães no grupo do probiótico receberam *E. faecium* SF68 uma vez por dia borrifada sobre a sua refeição matinal durante 14 dias. Foram obtidas amostras de sangue no Dia 1 (início; no início da administração do probiótico), no Dia 14 (quando a administração do probiótico terminou) e no Dia 28 (duas semanas após terminar a administração do probiótico) após um jejum de comida de 18 horas para determinar as concentrações séricas de cobalamina e folato. Também se determinou a classificação do índice de atividade da doença inflamatória intestinal canina (CIBDAI) com base na atitude geral, apetite, peso, consistência fecal, frequência de defecação e vômitos dos cães.

Resultados: o probiótico foi aceite e bem tolerado por todos os cães.

Cobalamina

O grupo do probiótico apresentou concentrações séricas de cobalamina significativamente inferiores no Dia 28 (duas semanas após a descontinuação do probiótico) em relação ao Dia 1, mas no último dia da administração do probiótico (Dia 14) não havia diferenças significativas nas concentrações séricas médias de cobalamina. Foi observada hipocobalínemia (definida como níveis séricos de cobalamina inferiores ao intervalo de referência normal) em quatro cães no Dia 14 e em oito cães no Dia 28, incluindo um cão que já tinha níveis iniciais abaixo do intervalo de referência normal. Os níveis séricos de cobalamina nos restantes cães mantiveram-se dentro do intervalo de referência normal. No grupo de controlo, as concentrações séricas de cobalamina não foram significativamente diferentes entre o início e o Dia 14 ou o Dia 28. Dois cães do grupo de controlo tinham níveis séricos iniciais de cobalamina abaixo do intervalo de referência normal e um deles manteve-se baixo até ao Dia 14 mas estava normal no Dia 28. Em três cães de controlo no Dia 14 e num cão de controlo no Dia 28 os níveis séricos de cobalamina encontravam-se abaixo do intervalo de referência normal. No Dia 28 (14 dias após a descontinuação do probiótico), as concentrações séricas de cobalamina tinham diminuído em 16/18 (89 %) e 4/18 (22 %) dos cães dos grupos do probiótico e de controlo, respetivamente. Os níveis séricos de cobalamina diminuíram em mais de 20 % em 9/18 (50 %) cães do grupo do probiótico e em 1/18 (5,6 %) cães do grupo de controlo. Embora as concentrações séricas médias de cobalamina tenham diminuído no grupo do probiótico nos Dias 14 e 28 em relação ao início, as comparações entre os grupos do probiótico e de controlo não foram significativas.



A ENTEROCOCCUS FAECIUM SF68 PRODUZ ALTERAÇÕES NÃO CLINICAMENTE RELEVANTES NOS NÍVEIS SÉRICOS DE COBALAMINA E FOLATO (CONT.)

Resultados (cont.):

Folato

As concentrações séricas médias de folato no grupo do probiótico no Dia 1 não foram significativamente diferentes das do Dia 14 (último dia da administração do probiótico) e das do Dia 28 (14 dias após a descontinuação do probiótico). Contudo, a média de folato sérico no Dia 28 foi significativamente inferior à do Dia 14. Não foram observadas diferenças significativas no grupo de controlo quando se compararam as concentrações de folato de todos os momentos.

Classificação do CIBDAI

O CIBDAI manteve-se inalterado com uma classificação de 0 ao longo do estudo.

Discussão: a administração a curto prazo da estirpe probiótica *Enterococcus faecium* SF68 foi associada a uma redução significativa da concentração média de cobalamina no Dia 28 (duas semanas após o probiótico ter sido descontinuado) em relação ao início. Apesar da redução, não foram detetadas diferenças significativas entre os grupos do probiótico e de controlo e todos os cães se mantiveram clinicamente normais. A administração do probiótico foi associada a um aumento não significativo do folato sérico e a uma redução significativa do folato sérico após a administração ter sido descontinuada. A *E. faecium* SF68 produz folato, o que pode explicar o aumento do folato durante a sua administração e a redução do folato associada à descontinuação do probiótico.

Lucena, R., Olmedilla, A. B., Blanco, B., Novales, M., & Ginel, P. J. (2018). Effect of *Enterococcus faecium* SF68 on serum cobalamin and folate concentrations in healthy dogs. *Journal of Small Animal Practice*, 59, 438-443. doi: 10.1111/jsap.12845



A ENTEROCOCCUS FAECIUM SF68 NÃO ALTERA AS ENZIMAS HEPÁTICAS NOS CÃES

Os probióticos foram associados a alterações em alguns resultados de testes bioquímicos ao soro. Este estudo foi realizado para avaliar o efeito da estirpe probiótica *Enterococcus faecium* SF68 nos níveis de várias enzimas hepáticas, assim como nas concentrações de colesterol e triglicerídeos em cães saudáveis, e fez parte de um estudo do qual já foram publicados alguns resultados (os efeitos do probiótico nos níveis séricos de cobalamina e folato).¹

Desenho do estudo: foram incluídos neste estudo controlado com ocultação trinta e seis (36) cães adultos (2-5 anos de idade) saudáveis de tutores particulares. Os cães foram divididos por sexo e atribuídos aleatoriamente a um grupo de controlo ou ao grupo do probiótico, ficando 18 cães em cada grupo com uma distribuição praticamente equivalente de machos:fêmeas. Todos os cães foram alimentados com a mesma dieta equilibrada durante duas semanas antes do início do estudo e durante o estudo para minimizar a influência da dieta nos níveis de vitaminas, já que os níveis de cobalamina e folato na dieta não foram medidos. Os cães no grupo do probiótico receberam *E. faecium* SF68 uma vez por dia borrifada sobre a sua refeição matinal durante 14 dias. Foram obtidas amostras de sangue no Dia 1 (início; no início da administração do probiótico), no Dia 14 (quando a administração do probiótico terminou) e no Dia 28 (duas semanas após terminar a administração do probiótico) após um jejum de comida de 18 horas para determinar a atividade sérica da alanina transferase (ALT) e da fosfatase alcalina (ALP), assim como as concentrações séricas de colesterol total e triglicerídeos.

Resultados: o probiótico não induziu nenhuma alteração significativa nos níveis médios de ALT e ALP. Dois cães do grupo do probiótico apresentaram concentrações acima do intervalo de referência no Dia 14, mas ambos se mantiveram clinicamente normais e os seus níveis regressaram ao normal. A concentração sérica média de colesterol não sofreu alterações durante o período de administração de 14 dias, mas foi detetada uma redução significativa no colesterol no Dia 28 (14 dias após a descontinuação do probiótico). No entanto, esta alteração não foi clinicamente relevante porque todos os valores se mantiveram dentro do intervalo de referência. A concentração média de triglicerídeos aumentou progressivamente, tendo-se observado um aumento significativo no Dia 28. Contudo, estas alterações não foram clinicamente relevantes porque os valores mantiveram-se dentro do intervalo de referência. Um cão do grupo do probiótico desenvolveu hipertrigliceridemia (definida como níveis de triglicerídeos acima do intervalo de referência normal) no Dia 28 (duas semanas após a administração do probiótico ser descontinuada).

Discussão: a administração a curto prazo da estirpe probiótica *E. faecium* SF68 não alterou os níveis de duas importantes enzimas hepáticas e não produziu alterações clinicamente relevantes nas concentrações de colesterol ou triglicerídeos. Estes resultados indicam que o probiótico não afetaria os níveis destas enzimas se fosse administrado a cães com doença hepática e que poderá ser o probiótico de eleição em cães com doença hepática.

Lucena, R., Novales, M., Blanco, B., Hernández, E., & Ginel, P. J. (2019). Effect of probiotic *Enterococcus faecium* SF68 on liver function in healthy dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 33, 2628-2634. doi: 10.1111/jvim.15625

1. Lucena, R., Olmedilla, A. B., Blanco, B., Novales, M., & Ginel, P. J. (2018). Effect of *Enterococcus faecium* SF68 on serum cobalamin and folate concentrations in healthy dogs. *Journal of Small Animal Practice*, 59, 438-443. doi: 10.1111/jsap.12845



A ENTEROCOCCUS FAECIUM SF68 NÃO PERMITE A REDUÇÃO DA DOSAGEM DE OCLACITINIB EM CÃES COM DERMATITE ATÓPICA

Estudos anteriores sugeriram que a estirpe probiótica *Enterococcus faecium* SF68 teria um papel imunomodulador.¹ Um número limitado de estudos sugeriu que o aumento das espécies produtoras de ácido láctico no intestino, que foi demonstrado ocorrer com a suplementação com *E. faecium* SF68, poderá prevenir ou aliviar os sinais de dermatite atópica. Este estudo foi realizado para avaliar se a adição de *E. faecium* SF68 ao regime de tratamento para dermatite atópica crônica teria algum impacto nas classificações clínicas da doença.

Desenho do estudo: este foi um estudo controlado por placebo com ocultação. Foram incluídos vinte e um (21) cães de clientes particulares com dermatite atópica ambiental controlada durante a toma de oclacitinib. Os cães foram distribuídos aleatoriamente e com ocultação por dois grupos, tendo um dos grupos recebido uma administração bidiária de 1×10^8 UFC/g de *E. faecium* SF68 durante 12 semanas, enquanto o outro recebeu um placebo. Os cães foram mantidos com oclacitinib ao longo do estudo.

As classificações com base no índice de gravidade e extensão da dermatite atópica canina (CADESI-4) foram determinadas pelos investigadores na inscrição (Dia 0), Dia 56, Dia 70 e Dia 84 do estudo. Pediu-se aos clientes que registassem as classificações da escala visual analógica de prurido (PVAS) três vezes por semana durante as primeiras 6 semanas e depois diariamente nas restantes 6 semanas do estudo. A citologia da pele e do ouvido foi avaliada sempre que aplicável consoante as classificações anteriores e no caso de identificação de infeção, a mesma foi tratada adequadamente com medicação tópica. As “crises” da doença (aumentos numa ou em ambas as classificações) foram abordadas conforme necessário. A dose de oclacitinib foi reduzida em aproximadamente 25 % no Dia 56 ou no Dia 70 consoante as classificações estivessem iguais ou abaixo dos níveis iniciais. No caso de uma crise da doença, o cão tornava a receber a dose inicial.

Resultados: dezanove cães concluíram o estudo: 10 do grupo do probiótico e 9 do grupo do placebo, tendo um cão do grupo do probiótico sido removido no Dia 56 e um cão do grupo do placebo sido removido no Dia 70. Cinco (5) dos 11 cães que estavam originalmente no grupo do probiótico qualificaram-se para uma redução do oclacitinib e três dos cinco mantiveram-se controlados com uma dose mais baixa. Oito (8) dos 10 cães do grupo do placebo qualificaram-se para uma redução da dose e sete desses oito mantiveram-se controlados com a dose mais baixa. Não houve diferenças significativas nos efeitos da redução do oclacitinib entre os grupos do probiótico e do placebo. Sete cães (4 no grupo do probiótico, 3 no grupo do placebo) sofreram crises da doença antes da redução da dose do oclacitinib. Destes sete cães, um de cada grupo qualificou-se para a redução da dose de oclacitinib e ambos se mantiveram controlados com a dose reduzida. Dois cães (um de cada grupo) sofreram uma crise da doença no Dia 56 em resposta à redução da dose de oclacitinib e melhoraram quando foi reposta a dose inicial de oclacitinib. As classificações do CADESI-4 foram significativamente inferiores no grupo do placebo comparativamente ao grupo do probiótico no Dia 56 e as classificações no grupo do placebo diminuíram significativamente entre o início e o Dia 84. Contudo, no final do estudo não houve diferenças estatísticas nas classificações da doença clínica. As classificações da PVAS não sofreram alterações significativas em nenhum grupo em nenhum momento em relação ao início.



A ENTEROCOCCUS FAECIUM SF68 NÃO PERMITE A REDUÇÃO DA DOSAGEM DE OCLACITINIB EM CÃES COM DERMATITE ATÓPICA (CONT.)

Discussão: com base nos resultados deste estudo piloto, a *E. faecium* SF68 não foi eficaz na redução da dosagem de oclacitinib com uma simultânea manutenção ou redução da classificação de doença clínica ou prurido. Isto poderá ter sido influenciado por uma série de fatores, incluindo o pequeno tamanho da amostra, uma dosagem subótima do probiótico ou duração insuficiente da sua administração, a escolha da estirpe probiótica, a variabilidade de doentes, incluindo a natureza cíclica da dermatite atópica, a variação nos tratamentos sistêmicos e tópicos durante o estudo e o cumprimento pelos clientes. Para além disso, acredita-se que as propriedades imunomoduladoras da *E. faecium* SF68 se devem a uma atividade anti-patogénica no trato gastrointestinal, o que seria expectável que afetasse a sua eficácia relativamente à dermatite atópica. São necessários mais estudos de larga escala para determinar o papel dos probióticos no tratamento da dermatite atópica em cães.

Yamazaki, C., Rosenkrantz, W., & Griffin, C. (2019). Pilot evaluation of *Enterococcus faecium* SF68 as adjunctive therapy for oclacitinib-responsive adult atopic dermatitis in dogs. *Journal of Small Animal Practice*, 60(8), 499-506. doi: 10.1111/jsap.13042

1. Benyacoub, J., Czarnecki-Maulden, G. L., Cavadini, C., Sauthier, T., Anderson, R. E., Schiffrin, E. J., & von der Weid, T. (2003). Supplementation of food with *Enterococcus faecium* (SF68) stimulates immune function in young dogs. *Journal of Nutrition*, 133, 1158-1162.



O MICROBIOMA ORAL CANINO MANTÉM-SE ESTÁVEL NO TEMPO E NÃO É AFETADO PELA SUPLEMENTAÇÃO COM ENTEROCOCCUS FAECIUM SF68

A administração de um probiótico oral afeta o microbioma oral dos humanos, mas tal ainda não foi avaliado em cães. O objetivo deste estudo foi determinar os organismos essenciais de um microbioma oral canino normal e avaliar os efeitos da administração da estirpe probiótica *Enterococcus faecium* SF68 no microbioma oral de cães saudáveis.

Desenho do estudo: foram incluídos neste estudo cães de trabalho na fase de treino. Os cães foram atribuídos ao grupo de teste ou ao de controlo e habituados a uma de três rações comerciais durante pelo menos 30 dias antes do estudo. Após a habituação, os cães do grupo de teste receberam diariamente suplementação com *E. faecium* SF68 enquanto os cães de controlo não receberam suplementação durante 7 semanas. Colheram-se amostras através de esfregaços orais semanalmente para a análise do microbioma. Houve ocultação dos treinadores dos cães e dos responsáveis pela colheita das amostras relativamente ao grupo a que cada cão pertencia.

Resultados: foram incluídos neste estudo treze (13) cães de trabalho na fase de treino. A idade média dos cães era de 13,5 meses e o seu peso médio era de 26 kg. As raças do estudo incluíram pastor-alemão, pastor-belga-malinois, pastor-holandês e labrador-retriever. Não havia evidência de doença oral em nenhum dos cães. Os cães ficaram alojados individualmente em canis durante o dia 5 dias por semana e em casas de acolhimento durante a noite e aos fins de semana. Foram atribuídos seis (6) cães ao grupo de teste e sete (7) ao grupo de controlo. Após a habituação dos cães à sua dieta, não foram feitas alterações alimentares durante todo o estudo.

O microbioma oral era dominado por oito filos que representavam mais de 99 % da abundância relativa:

- | | |
|----------------------------------|---|
| ■ <i>Proteobacteria</i> (43,8 %) | ■ <i>Fusobacteria</i> (3,6 %) |
| ■ <i>Bacteroidetes</i> (22,5 %) | ■ <i>Gracilibacteria</i> (2,1 %) |
| ■ <i>Firmicutes</i> (18,9 %) | ■ <i>SR1 Absconditabacteria</i> (1,5 %) |
| ■ <i>Actinobacteria</i> (6,1 %) | ■ <i>Saccharibacteria</i> (1,3 %) |

Nem a dieta nem a administração do probiótico afetaram a abundância relativa da composição microbiana do microbioma oral. Os dados mostraram haver táxons ubíquos, ou seja, presentes em todos os cães e em todas as amostras independentemente da raça, do sexo, da dieta, do tratamento ou outros fatores. Estes géneros foram os seguintes: *Actinomyces*, *Corynebacterium*, *Capnocytophaga*, *Flavobacterium*, *Gemella*, *Abiotrophia*, *Streptococcus* e *Frederiksenia*.

Discussão: com base nos resultados deste estudo, o microbioma oral canino é notavelmente estável (altamente conservado) ao longo do tempo e o microbioma oral de cães de trabalho normais saudáveis não foi afetado pela dieta, pelo tempo nem pela administração da estirpe probiótica *E. faecium* SF68. Este estudo identificou os organismos essenciais, oito filos, que representam mais de 99 % do microbioma oral.

Bell, S. E., Nash, A. K., Zanghi, B. M., Otto, C. M., & Perry, E. B. (2020). An assessment of the stability of the oral canine microbiota after probiotic administration in healthy dogs over time. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, 616. doi: 10.3389/fvets.2020.00616

4. PROBIÓTICOS E O EIXO INTESTINO-CÉREBRO

A microbiota gastrointestinal afeta a função cerebral e o comportamento, e o cérebro, por sua vez, influencia a microbiota através de uma intercomunicação bidirecional. A alteração da microbiota intestinal por intervenções nutricionais tem o potencial de facilitar a comunicação entre o intestino e o cérebro e influenciar o comportamento e o estado de espírito.



Weimaraner



A ESTIRPE PROBIÓTICA DA BIFIDOBACTERIUM LONGUM TEM EFEITOS ANSIOLÍTICOS

A ansiedade em animais de companhia é uma grande preocupação de tutores de animais de companhia, podendo a ansiedade crônica e os problemas comportamentais afetar negativamente o bem-estar animal e a ligação entre o animal de companhia e o tutor. Existe uma evidência crescente de que o microbioma intestinal pode influenciar o comportamento através do eixo intestino-cérebro. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da suplementação com a estirpe probiótica *Bifidobacterium longum* BL999 no comportamento ansioso em cães.

Desenho do estudo: este foi um estudo cruzado controlado por placebo com ocultação. Foram incluídos no estudo vinte e quatro (24) labradores-retriever com ansiedade. Todos os cães foram habituados a uma dieta completa e equilibrada. Um grupo de cães foi suplementado com a estirpe probiótica *B. longum* BL999 e o outro grupo foi suplementado com um placebo durante seis (6) semanas. Após um período de *washout* de 3 semanas, o grupo que tinha recebido o probiótico passou a receber o placebo, e vice-versa, durante mais 6 semanas. Durante cada fase, observou-se o comportamento típico dos cães em resposta a estímulos do dia-a-dia para se detetar uma série predefinida de comportamentos de ansiedade. Além disso, todos os cães foram submetidos a um teste formal de ansiedade no final de cada fase. A atividade cardíaca foi registada durante todo o teste de ansiedade e as concentrações salivares de cortisol foram avaliadas antes e depois do teste de ansiedade.

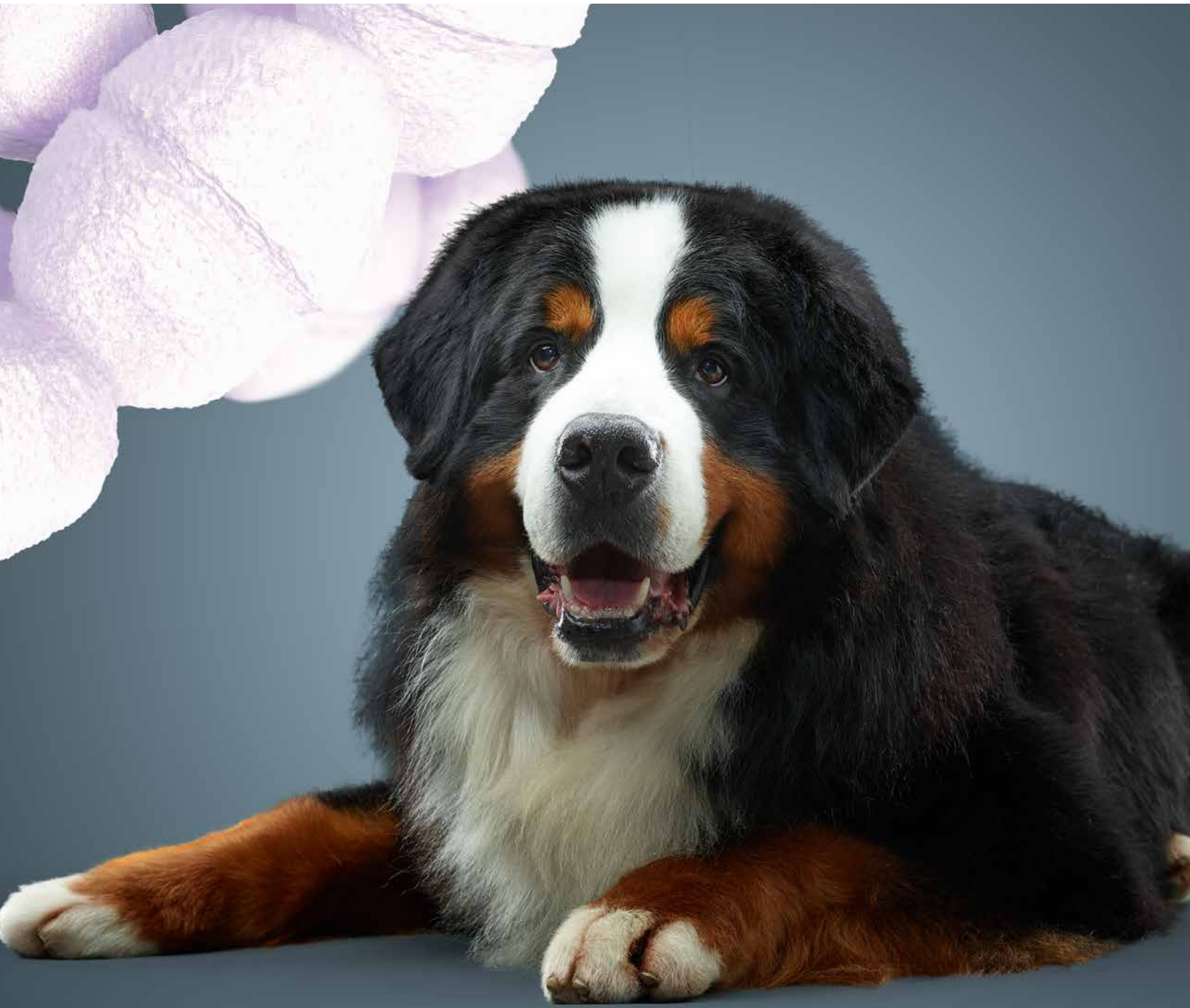
Resultados: os cães suplementados com *B. longum* BL999 demonstraram melhorias significativas em quatro comportamentos de ansiedade do dia-a-dia (ladrar, saltar, girar sobre si mesmo e andar de um lado para o outro) comparativamente a quando foram suplementados com o placebo. Durante o teste formal de ansiedade, os cães suplementados com a *B. longum* BL999 apresentaram um maior comportamento exploratório num ambiente novo, uma menor frequência cardíaca média e uma maior variabilidade da frequência cardíaca comparativamente a quando foram suplementados com o placebo. Os cães também apresentaram uma redução significativa das concentrações de cortisol salivar em resposta a exercício e a estímulos indutores de ansiedade quando foram suplementados com *B. longum* BL999.

Discussão: os cães suplementados com *B. longum* BL999 estiveram menos reativos (expressado por menores níveis de cortisol), mais calmos (expressado por menores frequências cardíacas médias) e potencialmente num melhor estado emocional (expressado pelo aumento da variabilidade da frequência cardíaca) quando expostos a estímulos provocadores de ansiedade do que quando foram suplementados com um placebo. Além disso, os cães apresentaram menos comportamentos de ansiedade do dia-a-dia quando foram suplementados com *B. longum* BL999 do que quando foram suplementados com o placebo. A suplementação com *B. longum* BL999 teve um efeito ansiolítico em cães ansiosos e poderá ser uma ferramenta útil num plano abrangente de controlo da ansiedade.

McGowan, R. T. S., Barnett, H. R., Czarnecki-Maulden, G., Si, X., Perez-Camargo, G., & Martin, F. Tapping into those 'gut feelings': Impact of BL999 (*Bifidobacterium longum*) on anxiety in dogs. ACVB Veterinary Behavior Symposium; July 12, 2018; Denver, Colorado.

5. SIMBIÓTICOS

Os simbióticos são combinações de prebióticos e probióticos cujo propósito é introduzir populações bacterianas benéficas (os probióticos) e promover a proliferação de espécies bacterianas benéficas ao fornecer fontes preferenciais de energia e alimento para as bactérias (na forma de prebióticos).



Boieiro-de-Berna e *Enterococcus faecium*



O SIMBIÓTICO PRODUZ EFEITOS BENÉFICOS NO MICROBIOMA DOS CÃES E REDUZ A PREVALÊNCIA DE DIARREIA EM CÃES DE TRENÓ NA FASE DE TREINO

Os simbióticos são combinações de prebióticos e probióticos cujo propósito é introduzir populações bacterianas benéficas (os probióticos) e promover a proliferação de espécies bacterianas benéficas ao fornecer fontes preferenciais de energia e alimento para as bactérias (na forma de prebióticos). O objetivo deste estudo foi examinar as alterações na qualidade fecal, nos ácidos gordos de cadeia curta (AGCC) e no microbioma fecal em dois grupos de cães de trenó em fase de treino que receberam um simbiótico ou um placebo. O estudo avaliou cães de trenó porque estes apresentam uma grande prevalência de diarreia durante eventos atléticos.

Desenho do estudo: este foi um estudo prospetivo controlado por placebo e com dupla ocultação. Vinte cães de trenó em fase de treino clinicamente saudáveis com 2-6 anos de idade foram aleatoriamente distribuídos por dois grupos com equivalência quanto ao género. Os cães no grupo de teste foram alimentados com uma dieta suplementada com um simbiótico^a enquanto os cães no grupo de controlo foram alimentados com a mesma dieta suplementada com um placebo durante 6 semanas. Os cães foram alojados individualmente, mas não foram segregados em grupos de tratamento durante o treino ou viagens. Avaliou-se a pontuação fecal no início (10 dias antes do período de teste) e todos os dias durante o período de teste. Estimou-se o pH fecal e as concentrações de AGCC (acetato, propionato e butirato) nas fezes e analisou-se os microbiomas dos cães no início e após duas semanas de tratamento com o simbiótico ou o placebo.

Resultados: dezassete (17) cães completaram o estudo: 9 cães do grupo do simbiótico e 8 cães do grupo de controlo. Foram excluídos do estudo três cães por lesões agudas durante o treino. Uma análise microbiana inicial do simbiótico confirmou a presença de organismos viáveis. No final do estudo, apenas era possível fazer culturas de *E. faecium* SF68 a partir do suplemento simbiótico. Os cães no grupo do simbiótico apresentaram um aumento significativo de *Lactobacillaceae* após 2 semanas de tratamento. Este aumento esteve correlacionado a um aumento geral da concentração de butirato. As espécies *Lactobacillus* e *Bifidobacteria* encontravam-se significativamente aumentadas nos cães alimentados com o simbiótico após duas semanas de suplementação, mas estas alterações não foram observadas no grupo do placebo. Não houve diferenças significativas no pH fecal entre os dois grupos. Entre as Semanas 4 e 5 da administração, os cães no grupo do simbiótico apresentaram uma pontuação fecal melhor e menos dias de diarreia. Isto coincidiu com um surto de diarreia presumivelmente contagiosa no canil. Relativamente à comparação do número total de dias de diarreia entre os dois grupos, o grupo do simbiótico teve significativamente menos dias de diarreia que o grupo do placebo.

Discussão: com base nos resultados deste estudo, o uso deste simbiótico resultou num aparente efeito benéfico no microbioma dos cães e numa redução da prevalência de diarreia em cães de trenó na fase de treino. Foram observados menos dias de diarreia quando ocorreu um surto de diarreia presumivelmente contagioso nos cães suplementados com o simbiótico durante a Semana 5 de tratamento, reforçando o indício de um efeito benéfico.

Gagné, J. W., Wakshlag, J. J., Simpson, K. W., Dowd, S. E., Latchman, S., Brown, D. A.,...Fahey, G. D. (2013). Effects of a synbiotic on fecal quality, short-chain fatty acid concentrations, and the microbiome of healthy sled dogs. *BMC Veterinary Research*, 9, 246. doi: 10.1186/1746-6148-9-246

a: O simbiótico continha as seguintes estirpes bacterianas probióticas: *Enterococcus faecium* SF68, *Bacillus coagulans* e *Lactobacillus acidophilus*. O simbiótico também continha fruto-oligossacarídeos e mananoligossacarídeos como prebióticos. Consulte o manuscrito completo para uma descrição exaustiva dos ingredientes.

LIDERANÇA DA PURINA NO MICROBIOMA

A Purina foi a primeira a oferecer um suplemento probiótico de longa duração com a comprovação de promover um sistema imunitário saudável e fornecer um meio de tratamento alimentar de cães e gatos com diarreia. Este probiótico, uma estirpe específica de *Enterococcus faecium* à qual chamamos *E. faecium* SF68 (NCIMB 10415 4b1705), continua a ser o probiótico mais estudado em medicina veterinária com base nas publicações até à data. A Purina também foi a primeira a oferecer um probiótico de longa duração (*Bifidobacterium longum* BL999, NCC 3001) com a comprovação de ajudar os cães a manterem um comportamento calmo. Para além da investigação dedicada ao desenvolvimento de produtos, a Purina realiza e financia investigações que promovem o avanço do conhecimento científico sobre a saúde do microbioma e o impacto da nutrição.

Como parte da Nestlé, a Purina tira partido da inigualável colheita de culturas e de décadas de investigação do microbioma e dos probióticos (refletida em mais de 300 publicações revistas pelos pares até à data) para avaliar potenciais estirpes probióticas relevantes para a medicina veterinária e a saúde dos animais de companhia.



Advancing Science for Pet Health

Saiba mais em
PurinaInstitute.com

AS MARCAS COMERCIAIS DA PURINA PERTENCEM À SOCIÉTÉ DES PRODUITS NESTLÉ S.A.
AS RESTANTES MARCAS SÃO PROPRIEDADE DOS SEUS RESPECTIVOS DETENTORES. EC/CRCR