

## ESTUDO DA EFICÁCIA DO *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* EM QUADROS DE DIARRÉIA INDUZIDA POR *SALMONELLA TYPHIMURIUM* EM CÃES DA RAÇA BEAGLE

STUDY OF THE EFFECTIVENESS OF *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* IN DIARRHEA INDUCED BY *SALMONELLA TYPHIMURIUM* IN BEAGLE DOGS

Avaniel Marinho da Silva<sup>1</sup>, Marcela Albuquerque de Oliveira<sup>2</sup>, Marília Gabriela Muniz Arruda<sup>3</sup>, Karine da Silva Carvalho<sup>4</sup>, Suelen Cristina Lourenço de Barros<sup>5</sup>, Rômulo Carlos Dantas da Cruz<sup>6</sup>, Ivone Antonia de Souza<sup>7</sup>

**RESUMO:** Desconfortos gastrointestinais são um dos principais problemas de saúde que acometem animais em geral. Entre essas infecções, a parvovirose canina apresenta maior prevalência de morte em filhotes com menos de 6 meses de vida. O foco do tratamento se dá inicialmente nas medidas de controle dos sinais clínicos, bem como medicamentoso, a partir do uso de antieméticos e antibióticos, no entanto a resistência a antimicrobianos tem sido um dos principais problemas enfrentados das medidas de controle, geralmente relacionado ao uso indiscriminado, que em muitos casos pode evoluir para quadros mais graves da doença. O uso de probióticos (microrganismos vivos), que tem sido uma alternativa utilizada, vem demonstrando resultados promissores. Entre esses, *Saccharomyces cerevisiae*, conhecido popularmente como “levedura de cerveja”, tem sido utilizado como suplemento probiótico usado para prevenir ou tratar casos diarreicos. Diante do exposto o presente estudo investigou a eficácia clínica do produto em teste Diarril<sup>®</sup>, à base do *Saccharomyces cerevisiae*, frente a quadros de diarreia artificialmente induzida por *Salmonella typhimurium* em cães filhotes. Foram utilizados 22 cães da raça Beagle, machos e fêmeas, filhotes, com idade entre 4 e 8 meses de vida, divididos em 3 grupos experimentais. Os cães foram avaliados por meio de exames físicos e laboratoriais ao longo do ensaio, desde o período pré-teste (dia -7) até o último dia de avaliações, que variou de acordo com cada animal. A partir dos dados obtidos, foi constatado que o produto em teste Diarril<sup>®</sup> é eficaz contra casos de diarreia artificialmente induzida por *Salmonella typhimurium* em cães filhotes, quando administrado por via oral, durante 10 dias consecutivos, na dose de 01 (um) flaconete de 5 mL contendo 50 milhões de *Saccharomyces cerevisiae* por animal, sendo a administração dividida em dois períodos, manhã e tarde, conforme recomendações de rótulo e bula.

**Palavras-chave:** *Saccharomyces spp.* Probióticos. Antidiarreico.

**Área Temática:** Farmácia e afins.

<sup>1</sup> Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

<sup>2</sup> Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

<sup>3</sup> Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

<sup>4</sup> Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

<sup>5</sup> Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

<sup>6</sup> Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

<sup>7</sup> Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

**ABSTRACT:** Gastrointestinal discomforts are one of the main health problems that affect animals in general. Among these infections, canine parvovirus has a higher prevalence of death in puppies younger than 6 months of age. The focus of treatment is initially on measures to control clinical signs, as well as medication, from the use of antiemetics and antibiotics, however resistance to antimicrobials has been one of the main problems faced by control measures, usually related to the use indiscriminate, which in many cases can progress to more serious conditions of the disease. The use of probiotics (live microorganisms), which has been an alternative used, has shown promising results. Among these, *Saccharomyces cerevisiae*, popularly known as "brewer's yeast", has been used as a probiotic supplement used to prevent or treat diarrheal cases. Given the above, the present study investigated the clinical efficacy of the test product Diarril<sup>®</sup>, based on *Saccharomyces cerevisiae*, in cases of diarrhea artificially induced by *Salmonella typhimurium* in puppies. Twenty-two Beagle dogs, male and female, puppies, aged between 4 and 8 months, were divided into 3 experimental groups. The dogs were evaluated through physical and laboratory examinations throughout the trial, from the pre-test period (day -7) until the last day of evaluations, which varied according to each animal. From the data obtained, it was verified that the product under test Diarril<sup>®</sup> is effective against cases of diarrhea artificially induced by *Salmonella typhimurium* in puppies, when administered orally, during 10 consecutive days, at a dose of 01 (one) vial of 5 mL containing 50 million *Saccharomyces cerevisiae* per animal, the administration being divided into two periods, morning and afternoon, according to label and leaflet recommendations.

**Keywords:** *Saccharomyces spp*, probiotics, antidiarrheal.

## INTRODUÇÃO

Sabe-se que entre as causas mais comuns de problemas digestivos em animais, em especial os cães, infecções por antígenos alimentares, agentes virais, bacterianos e parasitas são frequentes, e isso tem levado, na grande maioria das vezes, à necessidade de cuidados médicos e hospitalização (DECARO et al., 2020).

Entre essas infecções, a parvovirose canina tem sido relatada como uma das causas mais comuns de enterite infecciosa e acomete principalmente animais jovens, com prevalência de mortalidade em filhotes, menores de 6 meses (QI et al., 2020). Outra comorbidade que leva a casos de infecções por intoxicação alimentar, podendo, também, em casos mais raros levar à morte, é a Salmonelose, doença causada pela bactéria *Salmonella* (BRASIL, 2022). Segundo Hansson et al. (2018), a *Salmonella* foi a segunda maior causa de infecções no Brasil entre os anos de 2010 a 2018.

O tratamento para parvovirose geralmente está baseado nas medidas de controle dos sinais clínicos, isso se dá a partir da reposição de eletrólitos, de

medicamentos antieméticos e antibióticos (GERLACH et al., 2020). No entanto, a resistência antimicrobiana, principalmente pelo uso indiscriminado, tem sido motivo de preocupação para Saúde, no tratamento de casos mais graves da doença (CDC, 2022 ; CHRISTAKI et al., 2020).

Tendo em vista o pressuposto, o uso de probióticos, ter sido uma boa alternativa no tratamento, segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, (ANVISA), se ingeridos em quantidades adequadas, os probióticos (microrganismos vivos), que podem ser bactérias ou leveduras, beneficiam positivamente o organismo (ANVISA, 2018), podendo inclusive serem usados na promoção da saúde, atribuído a isso a sua capacidade de prevenir ou tratar diferentes doenças (SO et al., 2017).

*Saccharomyces cerevisiae*, conhecido popularmente como “levedura de cerveja” ou “fermento de padeiro”, tem sido utilizado como suplemento probiótico, usado para prevenir ou tratar casos diarreicos. Embora comumente não seja patogênico, alguns casos de infecções invasivas foram relatadas com o *Saccharomyces*, acredita-se que esses quadros infecciosos possam estar relacionados a fatores predisponentes, internações em leitos de UTI e uso indiscriminado de medicamentos antibióticos (FADHEL et al., 2019). Diante do exposto, o objetivo do presente estudo se deu em avaliar a eficácia clínica em cães filhotes do produto em teste, Diarril<sup>®</sup>, em quadros de diarreia artificialmente induzida por *Salmonella typhimurium*.

## METODOLOGIA

### 1. Alojamento dos Animais e Comitê de Ética em saúde animal

Todos os procedimentos experimentais realizados estão de acordo com as Leis brasileiras de experimentação animal e foram submetidos ao Comitê de Ética Animal, recebendo aprovação sob o número 00866/19. Foram utilizados 22 cães da raça Beagle, machos e fêmeas (1:1), filhotes, com idade entre 4 e 8 meses e peso médio de  $7,16 \pm 0,284$  kg no início do estudo, oriundos do Canil da Fazenda Experimental Ecolyzer, localizada em Resende – RJ, aclimatados às condições experimentais por 7 dias antes do início do estudo (do dia -7 ao dia -1). A dieta dos animais foi constituída por ração comercial para cães filhotes, no período da manhã e no final da tarde, em quantidade adequada ao peso e idade dos animais. Água fresca e potável foi fornecida em regime *ad libitum*.

## 2. Critérios de inclusão e exclusão

Foram inseridos no estudo Cães machos e fêmeas da raça Beagle, com idade entre 4 e 8 meses, que receberam colostro normalmente e apresentaram bom estado de saúde, atestado pelo médico veterinário, em avaliações de parâmetros vitais e exames laboratoriais realizados durante a triagem. Foram excluídos os animais com idade superior a 8 meses, que apresentaram algum problema de saúde, ou que não estivessem com o calendário de vacinação e vermifugação atualizados, ou tratados com o princípio ativo do produto-teste, ou qualquer medicação a partir dos 30 dias prévios ao início do estudo; também foram excluídos os animais com histórico de hipersensibilidade conhecida aos componentes da fórmula.

## 3. Delineamento experimental

Os animais foram divididos em 3 grupos experimentais: Teste (n=8, infectado e tratado com o produto teste); Controle 1 (n=8, infectado, porém não tratado) e Controle 2 (n=6, não infectado e não tratado). Considerando que nos grupos Teste e Controle 1 era importante que se tivesse um mínimo de 6 animais com sucesso na indução do quadro de diarreia, tais grupos tiveram um número maior de animais (CHOUDHARY, et al., 1985 adaptado). Também foi considerado o documento intitulado VICH GL 09 “Good Clinical Practice”, que apresenta recomendações para assegurar a integridade e precisão dos dados coletados na condução dos ensaios clínicos.

## 4. Período Pré-Teste

No dia -7 do estudo, foram realizadas avaliações dos parâmetros vitais (frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura retal, coloração das mucosas, tempo de preenchimento capilar e estado de hidratação) como medida de triagem e coletadas amostras de fezes diretamente do reto dos animais (com auxílio de suabe) para realização de cultivo para detecção de bactérias do gênero *Salmonella* spp. Caso algum deles apresentasse resultado positivo, o lote de animais não poderia ser utilizado e o estudo seria reiniciado, o que não foi necessário.

## 5. Posologia do Produto em Teste (tratamento)

Para cada animal do grupo teste, o produto Diarril<sup>®</sup> foi administrado de acordo com as recomendações do fabricante, por via oral (v.o) na dose de 01 (um) flaconete de 5mL (contendo 250 milhões de *Saccharomyces cerevisiae*) por animal, sendo administrado 2,5 mL pela manhã e 2,5 mL no período da tarde, desde o momento em que foi constatada a diarreia, durante 10 dias consecutivos (denominados DT<sub>1</sub> ao DT<sub>10</sub>). Cada animal foi submetido a apenas um ciclo de tratamento durante o estudo. Os animais do grupo Controle 1, que apresentaram diarreia, receberam por via oral 5 mL de água, por animal, durante 10 dias, simulando o manejo realizado para o tratamento dos animais do grupo Teste.

## 6 Período Teste

### 6.1 Parâmetros vitais e coleta sanguínea

No dia 0 (zero), os animais foram pesados e divididos em grupos experimentais de modo homogêneo de acordo com o peso. No dia seguinte ao término do tratamento, repetiu-se a pesagem (DPT<sub>1</sub>). Ainda no dia 0, os cães foram submetidos à avaliação dos parâmetros vitais (conforme realizado no dia -7, pré-teste). No mesmo dia foram feitas as coletas de sangue por meio de punção venosa, para realização de hemograma completo e coleta de urina por micção espontânea para a urinálise do tipo I.

### 6.2 Indução diarreica artificial

Após a alocação dos grupos experimentais, no dia 0 (zero), conforme realizado por Choudahry et al. (1985), os animais dos grupos Teste e Controle 1 foram infectados artificialmente inoculando-se 1 mL de uma solução contendo  $3,4 \times 10^8$  UFC/mL ( $3,4 \times 10^8$  UCFs totais) de *Salmonella typhimurium*, (v.o), com o auxílio de uma seringa estéril, imediatamente antes do jejum. Os animais do grupo Controle 2 permaneceram não infectados e não tratados, atestando que a causa de diarreia dos animais dos outros grupos não estava relacionada a outro fator, senão à infecção artificial realizada. no terceiro dia pós-inoculação já se obteve o número necessário de animais infectados por grupo.

### 6.3 Observação das fezes

O escore de fezes foi registrado diariamente durante todo o tratamento, com valores atribuídos de 1 a 5, sendo: 1 = fezes secas, duras e quebradiças; 1,5 = fezes secas e duras; 2 = fezes bem formadas, não deixam marca quando recolhidas; 2,5 = fezes bem formadas, com a superfície levemente úmida, deixam marca quando recolhidas; 3 = fezes úmidas e começando a perder a forma, deixam uma marca visível quando recolhidas; 3,5 = fezes muito úmidas, mas ainda possuem forma definida; 4 = fezes viscosas, a maior parte, ou totalmente sem forma; 4,5 = diarreia, com algumas áreas de consistência; 5 = diarreia líquida (MOXHAM, 2001). Após o término do estudo, os animais do grupo Controle 1 foram submetidos a tratamento e clinicamente acompanhados até a resolução do quadro.

## 7 Avaliações Laboratoriais

### 7.1 Avaliação Hematológica

Nas amostras de sangue total, foi utilizado o analisador automático de hematologia BC-2800vet, que realiza a contagem pelo método de impedância elétrica e apresenta resultados de determinação quantitativa dos parâmetros de eritrócitos, plaquetas e glóbulos brancos. Os leucócitos foram automaticamente classificados em neutrófilos segmentados, bastonetes, linfócitos, monócitos, eosinófilos e basófilos. Os resultados foram expressos em  $10^3/\mu\text{L}$ .

### 7.2 Bioquímica Sérica

Foi utilizado analisador bioquímico semiautomático da marca TP Analyzer Basic (espectrofotômetro) para mensuração dos parâmetros de função hepática e função renal nas amostras de soro sanguíneo. Para a prova de função hepática, foram efetuadas dosagens de Fosfatase Alcalina (ALP), transaminases (aminotransferases) ALT e AST séricas, e Gama-Glutamiltransferase (GGT). Para a prova de função renal, foram efetuadas dosagens de Ureia (U) e Creatinina (CRE) séricas.

#### 7.2.1 Função Hepática

##### ✓ Alanina Aminotransferase (ALT)

Foi utilizado o kit “ALT/GPT Liquiform Vet”, da marca Labtest Diagnóstica S.A<sup>®</sup>, para determinação de alanina aminotransferase ou transaminase glutâmico

pirúvica (GPT) por metodologia cinética UV-IFCC. A reação foi analisada à temperatura de 37°C, em espectrofotômetro, com leitura em comprimento de onda de 340 nm. Os resultados foram expressos em U/L no soro.

#### ✓ **Aspartato Aminotransferase (AST)**

Foi utilizado o kit “AST/GOT Liquiform”, da marca Labtest Diagnóstica S.A<sup>®</sup>, para determinação de aspartato aminotransferase (AST) ou transaminase glutâmico oxalacética (GOT) por metodologia cinética UV-IFCC. A reação foi analisada à temperatura de 37°C, em espectrofotômetro, com leitura em comprimento de onda de 340 nm. Os resultados foram expressos em U/L no soro.

#### ✓ **Fosfatase alcalina (ALP)**

Foi utilizado o kit “Fosfatase Alcalina Liquiform Vet”, da marca Labtest Diagnóstica S.A<sup>®</sup>, para determinação de fosfatase alcalina no soro em modo cinético, pelo método Bowers e Mc Comb modificado. A reação foi analisada à temperatura de 37°C, em espectrofotômetro, com leitura em comprimento de onda de 405 nm. Os resultados foram expressos em U/L no soro.

#### ✓ **Gama-Glutamiltransferase (GGT)**

Foi utilizado o kit “Gama GT Liquiform”, da marca Labtest Diagnóstica S.A<sup>®</sup>, para determinação quantitativa da atividade da gama-glutamiltransferase (GGT) no soro ou plasma (EDTA) por fotometria em modo cinético, pelo método Szasz modificado. A reação foi analisada à temperatura de 37°C, em espectrofotômetro, com leitura em comprimento de onda de 405 nm. Os resultados foram expressos em U/L no soro.

### **7.2.2 Função Renal**

#### ✓ **Ureia (U)**

Foi utilizado o kit “Ureia UV Liquiform Vet”, da marca Labtest Diagnóstica S.A<sup>®</sup>, sistema enzimático para determinação de ureia no soro, plasma e urina por fotometria em ultravioleta em modo cinético de dois pontos (tempo fixo). A reação foi analisada à temperatura de 37°C, em espectrofotômetro, com leitura em comprimento de onda de 340 nm. Os resultados foram expressos em mg/ dL no soro.

## ✓ Creatinina (CRE)

Foi utilizado o kit “Creatinina K Vet”, da marca Labtest Diagnóstica S.A<sup>®</sup>, para determinação da creatinina em soro, plasma, urina e líquido amniótico em modo cinético de dois pontos. A reação foi analisada à temperatura de 37°C, em espectrofotômetro, com leitura em comprimento de onda de 510 nm. Os resultados foram expressos em mg/ dL no soro.

### 7.3 Urinálise

Para exame químico (pH, albumina, glicose, corpos cetônicos, bilirrubina, urobilinogênio, hemoglobina, mioglobina, leucócito e nitrito), foram utilizadas fitas reagentes para análise urinária (10 parâmetros) da marca Guilin Medical Electronic Instrument Factory<sup>®</sup>. A reação foi analisada à temperatura ambiente comparando-se o resultado obtido após a imersão da tira reagente (por 2 segundos) com o quadro de escalas presente no rótulo do produto. O exame físico foi realizado através de inspeção (volume, cor, odor, aspecto, consistência) e de refratômetro manual para determinação da densidade da urina. A sedimentoscopia foi realizada após a centrifugação da amostra a 3.600 rpm por 5 a 8 minutos, em microscópio óptico com aumento de 40x para avaliação de células, hemácias, leucócitos, cilindros, cristais e bactérias.

## 8. Análise estatística

Foi utilizado o software *SPSS Statistics 21.0* da fabricante IBM<sup>®</sup>. Como suporte, foram utilizados os livros “Introdução à Bioestatística” (DORIA, 1999) e “Curso de Estatística” (MARTINS e FONSECA, 2006). Para o grupo Controle 2 (não infectado e nem tratado), foi avaliado do dia -7 ao 14 do estudo, portanto, foram considerados os dias -7, o (zero), 04 (DT<sub>1</sub>) e 14 (DPT<sub>1</sub>) para a realização das análises estatísticas. Para a análise dos parâmetros vitais, hematológicos, urinálise e temperatura retal, foi aplicado o teste de análise de variância ANOVA e o teste de comparação múltipla (post hoc) de Tukey, com intervalo de confiança de 95%. a partir da comparação das médias dos parâmetros (frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura retal), apresentadas pelos grupos Teste, Controle 1 e Controle 2 nos dias -7, o (zero), DT<sub>1</sub> (primeiro dia do tratamento) e DPT<sub>1</sub> (primeiro dia após o tratamento).



## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Parâmetros Vitais

Os resultados obtidos, a partir da comparação das médias dos parâmetros apresentadas pelos grupos Teste, Controle 1 e Controle 2 nos dias -7, 0 (zero), DT<sub>1</sub> e DPT<sub>1</sub>, demonstraram diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) para o parâmetro de temperatura retal, no dia 0 (zero) do ensaio entre os grupos Controle 1 e Controle 2, conforme apresentados na tabela 01.

**Tabela 01.** Comparação das médias dos parâmetros vitais entre os grupos experimentais.

Parâmetros	Dias de Avaliação	Grupo Teste		Grupo Controle 1		Grupo Controle 2	
		Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
Frequência Cardíaca	Dia -7	123,25	9,692	116,88	17,423	121,33	15,462
	Dia 0	98,25	13,382	104,25	10,444	102,33	7,448
	DT 1	99,50	11,747	99,13	6,917	102,50	4,930
	DPT 1	101,63	11,795	97,50	4,751	107,67	7,285
Frequência Respiratória	Dia -7	26,88	6,728	27,25	6,042	25,67	5,046
	Dia 0	27,13	4,086	24,63	3,815	25,17	4,916
	DT 1	28,00	4,721	25,75	4,862	25,67	4,502
	DPT 1	27,50	4,175	23,13	2,949	25,17	4,708
Temperatura Retal	Dia -7	38,29	0,467	38,24	0,338	38,43	0,388
	Dia 0*	38,86	0,513	38,99 <sup>A</sup>	0,476	38,38 <sup>B</sup>	0,147
	DT 1	38,78	0,282	38,94	0,529	38,52	0,519
	DPT 1	38,89	0,582	38,93	0,477	38,42	0,417

Médias com letras diferentes na mesma linha apresentam diferença estatística entre si.

\*Dia de avaliação com médias estatisticamente significantes pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

### Parâmetros Hematológicos

Em relação aos parâmetros hematológicos, utilizando os mesmos métodos de análise citados anteriormente, os resultados obtidos apresentaram diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) entre os grupos Controle 1 e 2 para os parâmetros de Eosinófilos, no dia 0 (zero) e ureia (U), no primeiro dia pós-tratamento (DPT<sub>1</sub>). Quanto à Concentração de Hemoglobina Celular Média (MCHC), Monócitos e Creatinina (CRE) ocorreu diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) no momento DPT<sub>1</sub> entre o grupo Controle 1 e os grupos Teste e Controle 2, conforme apresentados na tabela 02.

**Tabela 02.** Comparação das médias dos parâmetros Hematológicos e Bioquímicos entre os grupos experimentais.

Parâmetros	Dias de Avaliação	Grupo Teste		Grupo Controle 1		Grupo Controle 2	
		Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
RBC	Dia 0	6,94	0,812	6,81	0,554	6,97	0,963
	DPT 1	7,19	0,951	8,11	1,823	6,40	0,616
HGB	Dia 0	15,36	1,627	15,13	1,055	15,42	1,888
	DPT 1	15,85	1,871	17,68	3,623	14,35	1,237
HCT	Dia 0	46,06	4,904	45,35	3,216	46,22	5,649
	DPT 1	47,53	5,671	52,99	10,820	43,00	3,721
MCV	Dia 0	66,56	0,952	66,64	0,609	66,55	1,133
	DPT 1	66,33	1,136	65,76	1,997	67,15	0,817
MCH	Dia 0	21,04	0,933	21,16	0,605	20,67	0,991
	DPT 1	20,91	1,239	21,73	1,118	20,40	1,296
MCHC	Dia 0	34,04	1,080	33,60	1,062	33,37	0,774
	DPT 1*	34,68 <sup>B</sup>	0,927	32,98 <sup>A</sup>	0,349	34,03 <sup>B</sup>	0,615
Reticulócitos	Dia 0	0,73	0,392	0,94	0,338	0,60	0,540
	DPT 1	0,63	0,480	0,90	0,431	1,10	0,335
WBC	Dia 0	11,63	2,174	13,21	1,694	13,93	1,248
	DPT 1	14,10	2,467	15,19	3,470	12,90	1,513
Neutrófilos Segmentados	Dia 0	4,33	1,014	5,10	1,069	4,02	0,941
	DPT 1	5,01	0,905	4,58	1,244	5,28	1,144
Bastonetes	Dia 0	0,19	0,083	0,25	0,053	0,23	0,082
	DPT 1	0,21	0,099	0,24	0,052	0,18	0,075
Linfócitos	Dia 0	2,14	1,304	3,05	1,078	2,77	0,833
	DPT 1	2,89	1,225	3,46	1,082	2,80	1,018
Monócitos	Dia 0	0,73	0,430	0,75	0,313	0,70	0,386
	DPT 1*	0,45 <sup>B</sup>	0,395	1,45 <sup>A</sup>	0,180	0,77 <sup>B</sup>	0,498
Eosinófilos	Dia 0*	4,23	1,353	4,08 <sup>A</sup>	1,468	6,22 <sup>B</sup>	1,743
	DPT 1	5,54	2,221	5,43	2,423	3,87	1,581
Basófilos	Dia 0	0	0	0	0	0	0
	DPT 1	0	0	0	0	0	0
PLT	Dia 0	314,25	83,700	345,50	80,264	363,67	73,731
	DPT 1	289,38	78,496	329,13	107,301	340,50	113,259
MPV	Dia 0	8,45	1,551	8,24	1,172	8,88	1,548
	DPT 1	8,21	0,887	8,73	1,274	9,32	1,038
AST	Dia 0	38,25	11,486	45,88	12,357	36,50	7,450
	DPT 1	45,00	12,130	42,88	14,187	40,00	15,139
ALT	Dia 0	69,25	25,274	71,75	22,070	69,50	14,612
	DPT 1	60,75	17,019	71,25	23,511	73,17	15,536
ALP	Dia 0	105,00	34,748	102,63	39,075	65,17	26,925
	DPT 1	105,75	40,482	80,13	41,787	91,50	49,367
CRE	Dia 0	0,88	0,266	0,85	0,382	1,13	0,163
	DPT 1*	0,93 <sup>B</sup>	0,301	1,43 <sup>A</sup>	0,271	0,97 <sup>B</sup>	0,344
U	Dia 0	38,38	11,963	39,00	9,562	38,00	9,980
	DPT 1*	44,13	11,922	58,13 <sup>A</sup>	11,167	36,67 <sup>B</sup>	10,073
GGT	Dia 0	3,70	1,050	3,84	1,471	3,50	1,302
	DPT 1	3,35	1,573	3,49	1,108	4,33	1,613

Médias com letras diferentes na mesma linha apresentam diferença estatística entre si.

\*Dia de avaliação com médias estatisticamente significantes pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

## Urinálise

Para a análise estatística da urinálise foram considerados os parâmetros: densidade (exame físico), pH (exame químico), células, hemácias e leucócitos (sedimentoscopia). Para o parâmetro de células, foi realizada uma correspondência numérica de acordo com os seguintes critérios: ausentes (o) e raras (1). Conforme apresentado na Tabela 03, não houve diferença estatística significativa ( $p > 0,05$ ) entre os grupos experimentais para os parâmetros avaliados.

**Tabela 03.** Comparação das médias de parâmetros urinários entre os grupos experimentais.

Parâmetros	Dias de Avaliação	Grupo Teste		Grupo Controle 1		Grupo Controle 2	
		Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
Densidade	Dia 0	1,032	0,010	1,030	0,010	1,030	0,010
	DPT 1	1,024	0,007	1,030	0,009	1,034	0,007
pH	Dia 0	6,81	0,577	6,31	0,569	6,58	0,662
	DPT 1	6,55	0,441	6,54	0,534	6,38	0,512
Células	Dia 0	0	0	1,000	0	0	0
	DPT 1	0	0	1,000	0	0	0
Hemácias	Dia 0	0	0	1,000	0	0	0
	DPT 1	0	0	1,000	0	0	0
Leucócitos	Dia 0	0	0	1,000	0	0	0
	DPT 1	0	0	1,000	0	0	0

## Escore Fecal

Quanto à análise estatística do escore fecal, não foram considerados os dias 02 e 03 de avaliação, tendo em vista que alguns animais só apresentaram como primeiro dia da diarreia, os dias 01 e 02, sendo tratados (DT<sub>1</sub>) nos dias seguintes, sendo assim, não se avaliou o escore fecal nesses dias, sendo a avaliação seguinte no DT<sub>1</sub> (primeiro dia do tratamento). Conforme apresentado na Tabela 04, ocorreu diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) entre o grupo Controle 2 e os grupos Teste e Controle 1, nos dias DT<sub>1</sub>, DT<sub>2</sub> e DT<sub>3</sub> do ensaio. Por fim, entre o grupo Controle 1 e os grupos Teste e Controle 2, houve diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) do dia DT<sub>4</sub> ao DPT<sub>1</sub> do ensaio.

**Tabela 04.** Comparação das medidas da consistência das fezes entre os grupos experimentais.

Parâmetros	Dia de Avaliação	Grupo Teste			Grupo Controle 1			Grupo Controle 2		
		Média	Mediana	Desvio Padrão	Média	Mediana	Desvio Padrão	Média	Mediana	Desvio Padrão
Score Fecal	Dia -7	2,00	2,000	0	2,06	2,000	0,177	2,00	2,000	0
	Dia 0	2,13	2,000	0,231	2,44	2,000	1,050	2,17	2,000	0,258
	Dia 01	4,56	4,500	0,417	4,13	4,250	0,954	2,17	2,000	0,258
	DT1*	4,38	4,500 <sup>B</sup>	0,354	4,63	4,500 <sup>B</sup>	0,354	2,08	2,000 <sup>A</sup>	0,204
	DT2*	4,13	4,500 <sup>B</sup>	0,835	4,69	4,750 <sup>B</sup>	0,372	2,25	2,250 <sup>A</sup>	0,274
	DT3*	3,50	3,750 <sup>B</sup>	0,926	4,94	5,000 <sup>B</sup>	0,177	2,17	2,000 <sup>A</sup>	0,258
	DT4*	3,38	3,500 <sup>B</sup>	0,641	4,88	5,000 <sup>A</sup>	0,231	2,17	2,000 <sup>B</sup>	0,258
	DT5*	3,13	3,000 <sup>B</sup>	0,354	4,88	5,000 <sup>A</sup>	0,231	2,08	2,000 <sup>B</sup>	0,204
	DT6*	2,31	2,250 <sup>B</sup>	0,372	4,81	5,000 <sup>A</sup>	0,259	2,08	2,000 <sup>B</sup>	0,204
	DT7*	2,25	2,250 <sup>B</sup>	0,267	4,81	5,000 <sup>A</sup>	0,259	2,17	2,000 <sup>B</sup>	0,258
	DT8*	2,19	2,000 <sup>B</sup>	0,259	4,88	5,000 <sup>A</sup>	0,231	2,08	2,000 <sup>B</sup>	0,204
	DT9*	2,13	2,000 <sup>B</sup>	0,231	4,94	5,000 <sup>A</sup>	0,177	2,00	2,000 <sup>B</sup>	0,0
	DT10*	2,00	2,000 <sup>B</sup>	0	5,00	5,000 <sup>A</sup>	0	2,00	2,000 <sup>B</sup>	0,0
DPT1*	2,00	2,000 <sup>B</sup>	0	2,06	2,000 <sup>A</sup>	0,177	2,00	2,000 <sup>B</sup>	0	

Medianas com letras diferentes na mesma linha apresentam diferença estatística entre si.

\*Dia de avaliação com medianas estatisticamente significantes pelo teste de Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$ ).

Nos últimos anos, pesquisas voltadas à saúde animal, têm demonstrado avanços, principalmente no período de pandemia, onde embora o número de abandonos tenha sido acentuado, notou-se um aumento de cerca de 30% no número de adoções de pets, de acordo com o Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para a Saúde Animal (SINDAN, 2021).

No quesito bem-estar animal, produtos voltados para um bom funcionamento da microbiota têm sido um dos pontos trabalhados nos estudos atuais. Quando se fala em microbiota, automaticamente tende-se a associar ao equilíbrio formado pelo conjunto de micro-organismos existentes em um lugar específico, influenciando a homeostase e desempenhando um papel significativo no trato gastrointestinal (MACEDO et al., 2017; SUCHODOLSKI, 2016). Quando ocorre o desequilíbrio, pode ocasionar problemas de desordens gastrointestinais e uma das alternativas para a restauração do bom funcionamento são os probióticos, que têm apresentado resultados satisfatórios as últimas décadas, como melhorias na saúde de humanos e animais (SAFRA et al., 2018). Além disso, o uso não apresenta contraindicação, podendo ser utilizado em cães, por exemplo, em qualquer fase da vida (AVELAR et al., 2017).

De acordo com os achados no presente estudo, com o produto testado Diarril® (*Saccharomyces cerevisiae*), não foram observados sinais clínicos antes e após a administração do produto; bem como, não houve registros de efeitos colaterais nos animais avaliados, com exceção dos sintomas relacionados à diarreia por *Salmonella spp.* Também não foram observadas alterações no consumo de alimento e água dos animais.

Entre os parâmetros vitais, apesar da análise estatística ter apontado diferença na temperatura retal e discreto quadro de desidratação em alguns animais dos grupos teste e controle 1, a maioria dos resultados dos exames físicos estava dentro do esperado para a espécie em estudo. Segundo Tilley (2015), as alterações podem ser consideradas dentro do esperado, uma vez que, em casos de diarreia, o animal pode apresentar com mais frequência desidratação e letargia, e até mesmo febre e fraqueza, não atribuído ao produto teste.

Em relação aos parâmetros hematológicos, embora a análise estatística ter apresentado diferença significativa para alguns parâmetros, a maioria dos resultados apresentados nos exames estavam dentro dos valores esperados para a espécie em estudo. Valores como concentração de Hemoglobina, Hematócrito, Leucócitos, Monócitos, Creatinina e Ureia, por exemplo, quando apresentam alterações, podem estar relacionadas ao quadro clínico apresentado pelos animais, uma vez que, em casos de diarreia, pode haver a presença de anemia (TILLEY, 2015). Além disso, infecções podem favorecer o aparecimento de quadros inflamatórios, que é um dos fatores responsáveis por alterações no sistema imunológico, desencadeando respostas, como a liberação de mediadores químicos que atuam no aumento do fluxo sanguíneo, exsudação e migração de leucócitos (KHAN et al., 2019).

Para os parâmetros urinários analisados, não houve diferença estatística ( $p > 0,05$ ) entre os grupos experimentais para as avaliações realizadas durante o estudo. Os resultados de volume, cor, odor, aspecto, consistência, e demais parâmetros analisados, estão dentro do esperado para a espécie em estudo.

Após as análises do escore fecal, os dados coletados demonstraram que os animais do grupo tratado (grupo teste), voltaram aos padrões de normalidade ao final do estudo, com escore final 2, ou seja, com a consistência das fezes bem formada,

igualmente aos valores apresentados pelo grupo controle 2, formado por animais saudáveis, livres de diarreia. Quanto ao grupo não tratado (grupo controle 1), apresentaram evolução no escore fecal, atingindo o nível 5 (diarreia líquida), evidenciando o quadro diarreico nos animais não tratados. A análise do exposto demonstra que o produto teste Diarril<sup>®</sup> apresentou melhora e remissão do quadro de diarreia ocasionado por bactérias do gênero *Salmonella* spp.

## CONCLUSÃO

De acordo com os resultados apresentados acima, conclui-se que o produto em teste Diarril<sup>®</sup>, apresentou eficácia significativa no tratamento de casos de diarreia artificialmente induzida por *Salmonella typhimurium* em cães filhotes. De acordo com a metodologia adotada, o resultado esperado foi atingido quando administrado por via oral, durante 10 dias consecutivos, na dose de 01 (um) flaconete de 5 mL por animal, 2 x ao dia, conforme recomendações de rótulo e bula. Após o término do estudo, os animais do grupo controle 1 foram tratados clinicamente e acompanhados até a resolução do quadro de diarreia. Portanto, o produto em teste se mostrou eficaz na melhora da condição fecal dos animais tratados, uma vez que estes apresentaram escore dentro da normalidade e semelhante ao grupo saudável, ao final do ensaio.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA. Agência nacional de vigilância sanitária. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias/anvisa/2021/publicadasegunda-versao-do-guia-de-probioticos>. Acesso em 02 de novembro de 2022.

AVELAR, Y. Alimentação Natural Pet. Saúde do Intestino. Disponível em: <http://anpetalimentacaonatural.com.br/saude-do-intestino/> Acesso em: 02/11/2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. 04 de novembro de 2022. Brasília, 2022.

CHOUDHARY, S. et al. Observations on natural and experimental salmonellosis in dogs. **Journal of diarrhoeal diseases research**, v.3, p. 149-153, 1985.

CHRISTAKI, E. et al. Antimicrobial Resistance in Bacteria: Mechanisms, Evolution, and Persistence. **Rev. Journal of Molecular Evolution**, [S.L], v. 88, n. 1, p. 26-40, 2020.

DECARO, N. et al. Canine parvovirus vaccination and immunisation failures: Are we far from disease eradication. **Rev. Veterinary Microbiology**, p. 108760, 2020.

FADHEL, M. et al. *Saccharomyces cerevisiae* fungemia in a critically ill patient with acute cholangitis and long term probiotic use. **Rev. Mycology case reports**, v. 23, p. 23-25, 2019.

GERLACH, M. et al. Therapie de kaninen Parvovirose – Übersicht und aktuelle Erkenntnisse. **Rev. Tierärztliche Praxis Ausgabe K: Kleintiere/Heimtiere**, v. 48, n. 01, p. 26-37, 2020.

HANSSON, I. et al. Knowledge gaps in control of Campylobacter for prevention of campylobacteriosis. **Rev. Transboundary and Emerging Diseases**, [S.L], v. 65, p. 30-48, 2018.

KHAN, A. et al. Investigation of the preliminary mechanism of action for the acute anti-inflammatory activity of the methanol extract of Smilax ornata Lem. **Journal of Ethnopharmacology**, n. October, p. 112-360, 2019.

MACEDO H.T. et al. Microbioma de cães. In. **Novos desafios da pesquisa em nutrição e produção animal**, p. 190-203, 2017.

QI, S. et al. Mini-Review on the Epidemiology of Canine Parvovirus in China. **Rev. Frontiers in Veterinary Science**, v. 7, p. 1-10, 2020.

SAFRA, M.E.D. et al. A utilização de probióticos e prebióticos em rações caninas e felinas. **Nutritime Revista eletrônica**. v. 15, n. 1, p. 8073-8080, Janeiro, 2018.

SINDAN. Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para a Saúde Animal. 2021. Disponível em : [//https://sindan.org.br/](https://sindan.org.br/). Acesso em 02/11/2022.

SO, S. et al . Probiotics- mediated suppression of cancer. **Current Opinion**, Finlândia, v. 29, n. 1, p. 62-72, 2017.

SUCHODOLSKI, J. S. Diagnosis and interpretation of intestinal dysbiosis in dogs and cats. **The Veterinary Journal**, v. 215, p. 30-37, 2016.