

## **Efeito da dieta contendo farinha de mosca do soldado negro na função de barreira da pele, defesa antioxidante orgânica e bioquímica sanguínea canina**

### **RESUMO**

O uso de farinha de mosca soldado negro em dietas para animais de estimação está ganhando aceitação. Objetivo deste estudo foi avaliar o uso de farinha desengordurada de larva de mosca soldado negra (BSFL) e seu impacto nos parâmetros sanguíneos, marcadores bioquímicos, capacidade antioxidante orgânica, função de barreira cutânea e qualidade da pele e pelagem em cães. Duas dietas foram avaliadas em *cross-over*, com oito cães Beagles e dois períodos de 50 dias cada, com período de *washout* de sete dias entre eles. No estudo foram avaliadas duas dietas extrusadas isonutritivas, a primeira contendo 29,5% de farinha de BSFL e uma dieta controle com composição semelhante, mas contendo 26% de farinha de vísceras de aves (SPA) como fonte proteica. Antes do início e ao final de cada período, os cães foram submetidos à avaliação da pelagem e coleta de sangue para avaliação dos parâmetros do objetivo do estudo. A função da barreira cutânea foi avaliada pela medição da perda de água transepidermica (TEWL) e da hidratação do estrato córneo (SCH) na região abdominal e pavilhão auricular dos cães nos dias 0, 15, 30 e 45 de cada período. Uma redução significativa na capacidade de eliminação de radicais foi encontrada com a dieta SPA no ensaio DPPH ( $p=0,008$ ). Quando alimentados com dieta SPA, cães apresentaram aumento de triglicérides séricos e diminuição dos níveis de LDL após 50 dias de consumo, enquanto cães alimentados com BSFL apresentaram redução significativa de ALT ( $p>0,05$ ). A TEWL foi significativamente reduzida em ambos os locais do corpo ao longo do tempo quando os cães foram alimentados com BSFL, enquanto o aumento do SCH foi observado no mesmo período, indicando melhor capacidade dos cães de reter água e manter a umidade da pele. A melhoria da função da barreira cutânea pode estar relacionada ao conteúdo de ácido láurico na dieta BSFL e ao aumento dos lipídios sebáceos na pele; responsável por evitar a perda de água da pele e melhorar a proteção contra danos microbianos. A inclusão de BSFL como principal fonte de proteína na dieta para cães não promoveu alterações negativas na bioquímica sanguínea e teve menor efeito antioxidante em cães saudáveis, no entanto, foi eficaz para melhorar a função e a qualidade da barreira cutânea.

## INTRODUÇÃO

Devido a aceitação crescente das rações comerciais à base de insetos para pets, destaca-se a farinha da larva de mosca soldado negro (BSFL) como uma fonte promissora de proteínas e lipídeos, além de componentes bioativos como ácido láurico, quitina e peptídeos antimicrobianos, os quais já apresentam evidências científicas comprovadas (Veldkamp et al., 2022). Estudos *in vivo* e *in vitro* sugerem que dietas com BSFL podem oferecer atividade antioxidante e antimicrobiana, bem como serem úteis para animais com intolerâncias alimentares (Lei et al., 2019; Mouithys-Mickalad et al., 2020; Dong et al., 2021; Santos Neto et al., 2023). Porém, a segurança e validação dessas alegações ainda necessitam de mais evidências, com potencial para expandir o mercado de alimentos para animais de estimação à base de BSFL. Com isso, objetivo deste estudo foi de avaliar o impacto das dietas com a inclusão da farinha da BSFL nos parâmetros sanguíneos, na capacidade antioxidante orgânica e na qualidade da pele e pelagem de cães adultos e saudáveis, buscando corroborar algumas dessas afirmações.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA) (Protocolo nº 3149030322). Oito cães fêmeas da raça Beagle foram selecionados, com média de idade de  $3,2 \pm 1,4$  anos, peso corporal de  $10,9 \pm 1,4$ kg e escore de condição corporal de  $5,2 \pm 1,9$  na escala de 9 pontos (LaFlamme, 1997). Todos passaram por avaliação veterinária prévia para garantir boa saúde e ausência de dermatoses. Os cães foram alojados individualmente e alimentados duas vezes ao dia, conforme a necessidade energética de manutenção ( $NEM = 110 \times$  peso corporal) (NRC, 2006), e água *ad libitum*. O estudo utilizou um delineamento *cross-over* com duas dietas: 1) farinha de mosca soldado negro (BSFL); 2) farinha de subproduto de aves (SPA), ambas formuladas para atender às necessidades nutricionais de cães adultos, diferindo principalmente na fonte proteica (tabela 1). Cada período durou 50 dias, com um período de *washout* de 7 dias entre eles.

**Tabela 1.** Composição dos ingredientes e análise química das dietas experimentais contendo farinha de subproduto de aves (SPA) e farinha de larva de mosca soldado negro (BSFL)

	SPA	BSFL
<b>Ingredientes (%)</b>		
Farinha de subproduto de aves	26,00	-
Farinha BSFL	-	29,50
Ervilha desidratada	14,00	14,00
Aveia	16,00	16,00
Quirera de arroz	28,73	24,47
Gordura de frango	7,00	6,90
Polpa de beterraba	2,70	2,70
Cenoura desidratada	0,50	0,50
Palatante líquido	2,00	2,00
Fosfato dicálcico	1,00	1,10
Cloreto de potássio	0,50	0,80
Cloreto de sódio	0,75	0,75
Calcário	0,00	0,40
Premix vitamínico e mineral <sup>1</sup>	0,40	0,40
Antioxidante natural <sup>2</sup>	0,10	0,10
Ingredientes menores <sup>3</sup>	0,38	0,38
<b>Composição química analisada (%MS)</b>		
Matéria seca	93,05	93,57
Matéria orgânica	93,88	93,90
Proteína bruta	24,58	23,53
Etrato etéreo em meio ácido	13,20	13,78
Cinzas	6,11	6,09
Extrativos não nitrogenados	53,85	51,18
Fibra bruta	2,25	5,52
Energia metabolizável (kcal/kg) <sup>4</sup>	3870	3810

<sup>1</sup>Quantidade por quilograma de produto: vitamina A, 2.000 UI; vitamina B1 (mononitrato de tiamina), 500mg; vitamina B12, 6.250mcg; vitamina B2, 1000mg; vitamina B6 (cloridrato de piridoxina), 500mg; vitamina D3, 200.000 UI; vitamina E (DL-alfa tocoferol), 12.000 UI; ácido pantotênico (pantotenato de D-cálcio), 2.500mg; ácido fólico, 75mg; biotina, 6mg; sulfato de cobre, 1750mg; colina, 100g; sulfato ferroso, 20g; iodeto de sódio, 375mg; óxido manganês, 1250mg; niacina, 3750 mg; selenito de sódio, 40mg; óxido de zinco, 30g.

<sup>2</sup>Ingredientes: dióxido de silício, pirofosfato tetrassódico, óleos de canola e girassol refinados, concentrado de tocoferol, extrato de alecrim, extrato de chá verde e de hortelã e hortelã. <sup>3</sup>Extrato de mandioca, DL-metionina, cloreto de colina 60%, sorbato de potássio. <sup>4</sup>Estimado de acordo com NRC (2006).

Foram realizadas análises sanguíneas nos dias 0 e 50 de cada período, incluindo contagem de células sanguíneas e análises bioquímicas para avaliar aminotransferase sérica, alcalina fosfatase, creatinina, nitrogênio ureico sanguíneo, colesterol sérico, triglicerídeos, lipoproteína de densidade muito baixa, lipoproteína de baixa densidade, e lipoproteína de alta densidade, e para os parâmetros da capacidade antioxidante (malondialdeído, capacidade antioxidante total, DPPH, e vitamina E), além da avaliação adicional das amostras séricas na coleta do dia 50 da atividade das enzimas redox: superóxido dismutase; catalase; glutathione transferase; glutathione e peroxidação lipídica.

A avaliação da pele e pelagem foi realizada através da avaliação subjetiva, nos dias 0 e 50 de cada período, seguindo a escala de qualidade proposta por Rees (2001) e uma média das quatro avaliações feitas em cada cão e em cada momento do estudo foi utilizada para análise estatística. A integridade e função da barreira cutânea foram avaliadas nos dias 0, 15, 30 e 45, através da medição da perda de água transepidermica (TEWL) e da hidratação do estrato córneo (SCH) usando o dispositivo do tipo câmara fechada, onde cinco medidas foram coletadas (abdômen e pavilhão auricular) e uma média foi utilizada para análise. Três mensurações sucessivas foram realizadas, e o valor médio foi calculado.

As análises estatísticas foram realizadas para todas as variáveis, verificando a distribuição normal pelo teste de Shapiro-Wilk. Foram utilizados testes de Mann-Whitney U e Kruskal Wallis, para variáveis não-paramétricas, enquanto a ANOVA pelo teste T foi empregada para dados de hematologia e enzimas redox. Os parâmetros bioquímicos séricos e antioxidantes foram avaliados com um delineamento misto considerando dieta e tempo, assim como para a função da barreira cutânea. Comparações pós-hoc foram conduzidas com o teste de Tukey-Kramer, e as análises foram realizadas com o software SigmaPlot v.12.0, com um nível de significância de 5%.

## **RESULTADOS**

Foi possível produzir dieta extrusada com 29,5% de inclusão de farinha BSFL. Apesar das dietas terem sido formuladas para apresentarem os mesmos teores nutricionais, pequenas diferenças foram encontradas na composição analisada, provavelmente devido a pequenos desvios na especificação dos

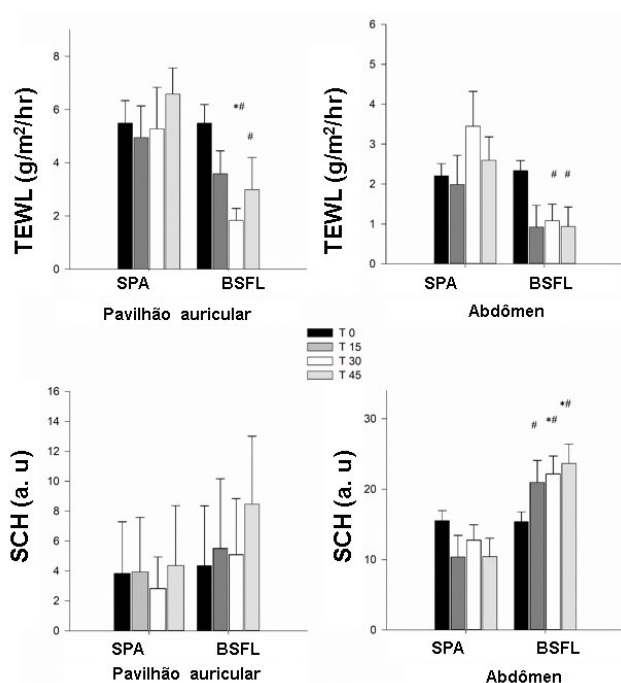
ingredientes. Todos os animais aceitaram bem as dietas, sem nenhum efeito adverso. O consumo alimentar médio durante o experimento foi de  $26,03 \pm 3,23$  g e  $25,77 \pm 3,82$  g/kg<sup>0,75</sup>/dia para as dietas SPA e BSFL, respectivamente.

Todos os parâmetros sanguíneos analisados neste estudo atingiram a faixa de referência normal e durante o período experimental, não foi observado efeito significativo da dieta, tempo ou interação dieta\*tempo. Os resultados dos parâmetros bioquímicos séricos obtidos alcançaram a faixa de referência para cães saudáveis e não apresentaram diferenças significativas para creatina, nitrogênio ureico sanguíneo, fosfatase alcalina, colesterol, lipoproteína de alta e muito baixa densidade para tempo, dieta e interação dieta\*tempo. Houve interação significativa entre dieta e tempo foi observado para alanina aminotransferase ( $p=0,018$ ), e aumentou significativamente na dieta BSFL em ambos os períodos ( $69,33 \pm 34,3$  U/L e  $41 \pm 11,26$  U/L, respectivamente) quando comparadas com a SPA ( $40,25 \pm 23,65$  U/L e  $51 \pm 26,2$  U/L, respectivamente). Triglicerídeos foram alterados significativamente pelo tempo ( $p=0,002$ ), com um aumento significativo quando os animais consumiram SPA ( $59,14 \pm 17,8$  mg/dL,  $p=0,004$ ). Uma interação significativa ( $p=0,017$ ) entre dieta e período foi observado para lipoproteína de baixa densidade, que reduziu na dieta SPA no final do período ( $61,8 \pm 7,86$  mg/dL,  $p=0,037$ ).

Na avaliação do sistema antioxidante não foi observado efeitos significativos para dieta, tempo ou interação para MDA, CAT e vitamina E ( $P<0,05$ ). O DPPH foi afetado significativamente pelo fator tempo ( $p=0,008$ ), reduzindo ao longo do tempo quando alimentados com a dieta SPA ( $38,78 \pm 8,6$   $\mu$ M no T50), enquanto para a dieta BSFL não apresentou mudanças. Para as enzimas do sistema redox, os resultados não diferiram depois de 50 dias de consumo ( $P<0,05$ ).

Uma interação significativa foi observada para condição de pelo ( $p=0,041$ ). As análises post-hoc indicam que a pontuação da qualidade de pelo aumentou no grupo BSFL de  $2,87 \pm 0,64$  para  $3,51 \pm 0,75$  ( $p=0,030$ ), com melhora na maciez e brilho. A pontuação da condição da pele foi similar entre as dietas e permaneceu a mesma durante todo o estudo ( $P>0,05$ ). Nos resultados da função da barreira (figura 1), foi observada uma interação significativa para TEWL (g/m<sup>2</sup>/h) ( $p=0,035$ ) e reduziu significativamente no grupo TEWL ( $p=0,006$ ) depois de 30 dias de consumo da dieta, e este parâmetro foi significativamente diferente para as dietas

SPA e BSFL no T30 ( $p=0,024$ ) e T45 ( $p=0,018$ ) com redução da TEWL em cães alimentados com BSFL no pavilhão auricular. Um efeito significativo de dieta ( $p=0,025$ ) também foi observado no abdômen. A TEWL no grupo BSFL foi menor do que no SPA no T30 ( $p=0,004$ ) e T45 ( $p=0,047$ ). Uma interação significativa entre dieta e tempo foi observada para SCH (a. u) no abdômen ( $p=0,003$ ), com valores mais altos no grupo BSFL comparadas com o SPA no T15 ( $p=0,005$ ), T30 ( $p=0,011$ ) e T45 ( $p<0,001$ ). O efeito intragrupo indicou que a SCH melhorou em cães alimentados com BSFL no T30 ( $p=0,046$ ) e T45 ( $0,012$ ). Este parâmetro na região do pavilhão auricular foi semelhante entre dietas e não afetou através do tempo.



**Figura 1.** efeitos do consumo das dietas 0, 15, 30 e 45 dias na perda transepidermica de água (TEWL) e hidratação do estrato córneo (SCH) dos cães beagles. Os resultados estão expressos como valores da média±desvio padrão (DP). #indica diferenças estatísticas entre grupos. \*indica diferenças estatísticas entre momentos ( $p<0,05$ ).

## DISCUSSÃO

A BSFL é um ingrediente promissor na indústria de alimentos para animais de estimação, sendo sustentável e com concentrações significativas de proteínas e lipídeos, além de propriedades funcionais (Kotob et al., 2022; Jian et al., 2022). Este estudo confirma que o consumo de dietas com alta inclusão de farinha de BSFL é seguro para cães adultos, sem déficits nutricionais (Freel et al., 2021; Jian

et al., 2022). Após 50 dias de consumo da dieta com BSFL, não foram observadas alterações negativas nos parâmetros sanguíneos em cães saudáveis. Entretanto, foram observadas alterações significativas em alguns parâmetros bioquímicos, como alanina aminotransferase, triglicerídeos e lipoproteína de baixa densidade, que podem ser atribuídas às diferentes características e composições dos ácidos graxos presentes nas fontes proteicas avaliadas, principalmente os ácidos graxos de cadeia média (Bach et al., 1996; Trevizan et al., 2010; Jian et al., 2022). A capacidade antioxidante deste ingrediente, embora não tenha sido observada na análise do DPPH, foi destacada em estudos anteriores (Mouithys-Mickalad et al., 2020), sugerindo um efeito positivo na saúde do fígado e na redução do estresse oxidativo (Kim et al., 2017; Nahle et al., 2022). A dieta BSFL também teve impacto na melhoria da barreira cutânea dos cães, reduzindo a perda de água transepidermica e aumentando a hidratação do estrato córneo, o que pode ser atribuído aos ácidos graxos presentes na dieta, como o ácido linoleico (efeito benéfico já conhecido na literatura) e láurico, que além de ser um componente do sebo da pele, é um ácido graxo importante na manutenção dos microrganismos benéficos e saúde da pele (Nakatsuji et al., 2010; Momota et al., 2016; Siddiqui et al., 2023). Além disso, a dieta promoveu melhoras na qualidade da pelagem, aumentando o brilho e maciez, indicando uma possível melhoria na produção sebácea e hidratação do pelo. Estudos futuros são necessários para explorar mais a fundo o papel da larva de mosca soldado negro na saúde da pele e na qualidade da pelagem, especialmente em cães com pele sensível ou com desordens cutâneas.

## **CONCLUSÃO**

Esta pesquisa traz resultados da avaliação da dieta contendo BSFL em cães saudáveis. A inclusão deste ingrediente como fonte principal de proteína na dieta seca não promoveu impacto negativo através do consumo da dieta BSFL na saúde, apresentou efeitos antioxidantes benéficos e houve melhora na função da barreira e qualidade cutânea. Isso sugere que este ingrediente pode ser uma alternativa viável para substituir ingredientes proteicos e lipídicos tradicionais em dietas para cães, especialmente aqueles com pele sensível.

## REFERÊNCIAS

BACH, A. C.; INGENBLEEK, Y.; FREY, A. The usefulness of dietary medium-chain triglycerides in body weight control: fact or fancy? **Journal of Lipid Research**, v. 37, n. 4, p. 708–726, abr. 1996. doi: [https://doi.org/10.1016/S0022-2275\(20\)37570-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2275(20)37570-2)

DONG, L.; ARIËNS, R. M. C.; AMERICA, A. H. P.; PAUL, A.; VELDKAMP, T.; MES, J. J.; WICHERS, H. J.; GOVERS, C. *Clostridium perfringens* suppressing activity in black soldier fly protein preparations. **LWT**, v. 149, p. 111806, set. 2021. doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111806>

FREEL, T. A.; MCCOMB, A.; KOUTSOS, E. A. Digestibility and safety of dry black soldier fly larvae meal and black soldier fly larvae oil in dogs. **Journal of Animal Science**, v. 99, n. 3, 15 fev. 2021. doi: <https://doi.org/10.1093/jas/skab047>

JIAN, S.; ZHANG, L.; DING, N.; YANG, K.; XIN, Z.; HU, M.; ZHOU, Z.; ZHAO, Z.; DENG, B.; DENG, J. Effects of black soldier fly larvae as protein or fat sources on apparent nutrient digestibility, fecal microbiota, and metabolic profiles in beagle dogs. **Frontiers in Microbiology**, v. 13, 25 nov. 2022. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1044986>

KIM, S.; LEE, H.; LEE, S.; LEE, J.; HA, J.; CHOI, Y.; YOON, Y.; CHOI, K.-H. Invited review: Microbe-mediated aflatoxin decontamination of dairy products and feeds. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 2, p. 871–880, fev. 2017. doi: <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11264>

KOTOB, G.; SLUCZANOWSKI, N.; ANUSHA SIDDIQUI, S.; MARTIN TOME, N.; DALIM, M.; VAN DER RAAD, P.; AARTS, K.; PAUL, A. Potential application of black soldier fly fats in canine and feline diet formulations: A review of literature. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 25, n. 4, p. 101994, dez. 2022. doi: <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2022.101994>

LAFLAMME, D. R. P. C.. Development and validation of a body condition score system for dogs. **Canine Practice**, v. 22, p. 10-15, 1997.



LEI, X. J.; KIM, T. H.; PARK, J. H.; KIM, I. H. Evaluation of Supplementation of Defatted Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Larvae Meal in Beagle Dogs. **Annals of Animal Science**, v. 19, n. 3, p. 767–777, 1 jul. 2019. doi: <https://doi.org/10.2478/aoas-2019-0021>

MOMOTA, Y; SHIMADA, K.; NOGUCHI, A.; SAITO, A.; NOZAWA, S.; AYAKA NIINA; TANI, K.; DAIGO AZAKAMI; KATSUMI ISHIOKA; SAKO, T. The modified corneocyte surface area measurement as an index of epidermal barrier properties: inverse correlation with transepidermal water loss. **Veterinary Dermatology**, v. 27, n. 2, p. 67–67, 2 fev. 2016. doi: <https://doi.org/10.1111/vde.12287>

MOUITHYS-MICKALAD, A.; SCHMITT, E.; DALIM, M.; FRANCK, T.; TOME, N. M.; VAN SPANKEREN, M.; SERTEYN, D.; PAUL, A. Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Larvae Protein Derivatives: Potential to Promote Animal Health. **Animals**, v. 10, n. 6, p. 941, 29 maio 2020. doi: <https://doi.org/10.3390/ani10060941>

Nacional Research Council (US). Nutrient Requirements of Dogs and Cats. Washington (DC): Rev. National Academies Press, 2006.

NAHLE, S.; EL KHOURY, A.; SAVVAIDIS, I.; CHOKR, A.; LOUKA, N.; ATOUI, A. Detoxification approaches of mycotoxins: by microorganisms, biofilms and enzymes. **International Journal of Food Contamination**, v. 9, n. 1, 25 abr. 2022. Acesso em: 15 jun. 2022. doi: <https://doi.org/10.1186/s40550-022-00089-2>

NAKATSUJI, T.; KAO, M. C.; ZHANG, L.; ZOUBOULIS, C. C.; GALLO, R. L.; HUANG, C.-M. Sebum Free Fatty Acids Enhance the Innate Immune Defense of Human Sebocytes by Upregulating  $\beta$ -Defensin-2 Expression. **The Journal of investigative dermatology**, v. 130, n. 4, p. 985–994, 1 abr. 2010. doi: <https://doi.org/10.1038/jid.2009.384>

REES, C. A.; BAUER, J. E.; BURKHOLDER, W. J.; KENNIS, R. A.; DUNBAR, B. L.; BIGLEY, C. E. Effects of dietary flax seed and sunflower seed supplementation on normal canine serum polyunsaturated fatty acids and skin and hair coat condition scores. **Veterinary Dermatology**, v. 12, n. 2, p. 111–117, 24 abr. 2001. doi: [10.1046/j.1365-3164.2001.00234.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-3164.2001.00234.x)

SANTOS NETO, E. L.; CARDOSO, R. K. N.; SANTOS, L. A. T. A.; SAMPAIO, F. C.; SANTOS, E. M.; RESTAN, W. A. Z.; AARTS, K.; PAUL, A.; LOUREIRO, B. A. Black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal based extruded diets: potential to improve canine oral health. **Journal of insects as food and feed**, p. 1–13, 11 out. 2023. *doi*: <https://doi.org/10.1163/23524588-20230098>

SIDDIQUI, S. A.; BRUNNER, T. A.; TAMM, I.; VAN DER RAAD, P.; PATEKAR, G.; ALIM BAHMID, N.; AARTS, K.; PAUL, A. Insect-based dog and cat food: A short investigative review on market, claims and consumer perception. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, v. 26, n. 1, p. 102020, mar. 2023. *doi*: <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2022.102020>

TREVIZAN, L.; DE MELLO KESSLER, A.; BIGLEY, K. E.; ANDERSON, W. H.; WALDRON, M. K.; BAUER, J. E. Effects of dietary medium-chain triglycerides on plasma lipids and lipoprotein distribution and food aversion in cats. **American Journal of Veterinary Research**, v. 71, n. 4, p. 435–440, 1 abr. 2010. *doi*: <https://doi.org/10.2460/ajvr.71.4.435>

VELDKAMP, T.; DONG, L.; PAUL, A.; GOVERS, C. Bioactive properties of insect products for monogastric animals – a review. **Journal of Insects as Food and Feed**, p. 1–14, 1 jul. 2021. *doi*: <https://doi.org/10.3920/JIFF2021.0031>