



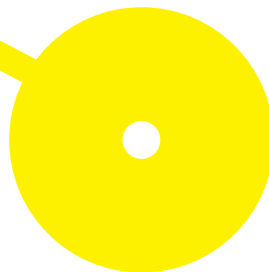
MESTRADO

FARMÁCIA - FARMACOTERAPIA E FARMACOEPIDEMIOLOGIA

Alimento Composto Complementar: Desenvolvimento de Formulação Teórica para Otimizar o Sistema Imunitário em Animais de Companhia

Bruna Vieira da Rocha Pereira

09/2024





ESCOLA
SUPERIOR
DE SAÚDE



Alimento Composto Complementar: Desenvolvimento de Formulação Teórica para Otimizar o Sistema Imunitário em Animais de Companhia

Autor

Bruna Vieira da Rocha Pereira

Orientador

Professora Doutora Cláudia Marta Libreiro de Pinho, REQUIMTE/LAQV, Escola Superior de Saúde, Instituto Politécnico do Porto

Dissertação apresentada para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Farmácia – Área de Especialização em Farmacoterapia e Farmacoepidemiologia pela Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto.

Agradecimentos

Os meus mais sinceros agradecimentos à Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto, pela oportunidade e suporte oferecidos ao longo deste percurso académico. Um agradecimento especial à minha orientadora, Professora Cláudia Pinho, pela sua orientação incansável, paciência e contributos inestimáveis para o desenvolvimento deste trabalho. Aos meus pais e irmãos, agradeço o apoio constante, compreensão e motivação ao longo deste caminho. Aos meus amigos, que sempre estiveram presentes nos momentos mais desafiantes, deixo o meu mais sincero reconhecimento pela amizade e incentivo. Sem vocês, este trabalho não seria possível.

"O trabalho enriquece o espírito, não pelo produto imediato que oferece, mas pela capacidade de transformar o esforço em significado e propósito, moldando a trajetória de uma vida com substância e dignidade." – Paulo Freire

Resumo

Sabendo que muitos lares portugueses têm pelo menos um animal de companhia e que um bom sistema imunitário permite uma vida longa e saudável, a existência de Alimentos Compostos Complementares (ACC) seguros e eficazes, para reforço da imunidade é importante. O trabalho teve como objetivo a recolha e análise dos ACC comercializados online para reforço da imunidade de animais de companhia, e elaborar uma formulação de um ACC. Na primeira parte, efetuou-se um estudo descritivo, transversal, com recolha dos ACC na plataforma Google® para reforço da imunidade, para cães e gatos, e análise dos ingredientes ativos. Seguiu-se a procura de evidências para os ingredientes identificados, para elaborar um novo ACC. Na recolha online, identificaram-se 73 ingredientes nos 44 ACC. A vitamina B6, ferro, taurina, equinácea, levedura-de-cerveja foram os ingredientes das diferentes categorias com mais destaque. As indicações de uso foram associadas à perda de apetite, convalescença, envelhecimento, situações de stress. Dos 73 ingredientes, observaram-se evidências para 16 ingredientes, em 21 estudos, para cães (maioria beagle). Assim, o ACC a desenvolver incluiu na composição/aditivos: *Echinacea angustifolia*, *Schizochytrium limacinum*, vitamina C, E, zinco e selénio. Apesar do consumo de ACC, sublinha-se a necessidade de desenvolver produtos inovadores para satisfazer este mercado emergente.

Palavras-chave: Alimento composto complementar; sistema imunitário; animais de companhia; cães; gatos

Abstract

Many portuguese households have at least one pet and it is known that a good immune system allows for a long and healthy life. Therefore, the existence of safe and effective Complementary Compound Foods (ACC) to boost immunity is important. This work aims to collect and analyse the ACC marketed online to boost the immunity of companion animals, and to develop a formulation of an ACC. At first, a descriptive, cross-sectional study was carried out, collecting ACC on the Google® for strengthening immunity, for dogs and cats. Then, a search for evidence for the ingredients identified, in order to design an ACC was performed. In the online search, 73 ingredients were identified in the 44 ACC. Vitamin B6, iron, taurine, echinacea and brewer's yeast were the most prominent ingredients in the different categories. Indications for use were associated with loss of appetite, convalescence, ageing, and stressful situations. Of the 73 ingredients, evidence was found for 16 ingredients in 21 studies for dogs (mostly beagles). Thus, the ACC to be developed included in its composition/additives: *Echinacea angustifolia*, *Schizochytrium limacinum*, vitamin C, E, zinc and selenium. Despite the consumption of ACC, we need to develop innovative products to satisfy this emerging market.

Keywords: Complementary compound foods; immune system; pets; dogs; cats

Lista de Abreviaturas, Acrónimos e Siglas

AC	Alimentos Compostos
ACC	Alimentos Compostos Complementares
AIM	Autorização de Introdução no Mercado
ALT	Alanina Transferase
BCAA	Aminoácidos de Cadeia Ramificada
BFSP	Hidrolisado proteico de larvas de mosca soldado negra
CADLI	Índice de Lesões de Dermatite Atópica Canina
CBD	Canabidiol
CE	Comunidade Europeia
COX	Ciclooxigenase
CuCp	Ceruloplasmina Plasmática
CXCL8	Quimiocina (motivo C-X-C) Ligando 8
DGAV	Direção Geral de Alimentação e Veterinária
DHA	Ácido Docosaenoico
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EPA	Ácido Eicosapentaenoico
FEDIAF	<i>European Pet Food Industry Federation</i>
IECA	Inibidores da Enzima Conversora de Angiotensina
Ig	Imunoglobulina
IL	Interleucina
INF	Interferão
LDL	Proteínas de Baixa Densidade
LOX	Lipoxigenase
MHC	Hemoglobina Corpuscular Média
NFKB1	Fator Nuclear Kappa B Subunidade 1
NK	<i>Natural Killer</i>
PFSC	Produto de Fermentação de <i>S. cerevisiae</i>
PTGS2	Prostaglandina-Endoperóxido Sintase 2
SOD2	Superóxido Dismutase Mitocondrial 2
TBARS	Ácido Tiobarbitúrico

Th	Células T <i>helper</i>
TNF	Fator de Necrose Tumoral
UE	União Europeia
VAS	Escala Visual Analógica
VRN	Valor de Referência do Nutriente

Índice de Tabelas

Tabela 1. Requisitos nutricionais para cães e gatos.....	2
Tabela 2. Principais normativos referentes à alimentação animal.	3
Tabela 3. Efeitos detetados em ensaios clínicos efetuados com vitaminas e minerais.....	11
Tabela 4. Principais formas de apresentação dos produtos analisados.....	18
Tabela 5. Alegações de saúde aprovadas para vitaminas e minerais presentes nos produtos analisados.....	21
Tabela 6. Partes da planta utilizadas nos produtos analisados.....	22
Tabela 7. Modo de utilização e de conservação referidos nos Alimentos Compostos Complementares analisados.....	25
Tabela 8. Precauções de uso/Interações/Efeitos adversos referidos nos Alimentos Compostos Complementares analisados.....	26
Tabela 9. Estudos com as plantas medicinais/extratos identificados nos Alimentos Compostos Complementares, em cães, com efeito no sistema imunitário.....	33
Tabela 10. Estudos com as algas identificadas nos Alimentos Compostos Complementares, em cães, com efeito no sistema imunitário.....	39
Tabela 11. Estudos com as cogumelos e leveduras identificados nos Alimentos Compostos Complementares, em cães, com efeito no sistema imunitário.....	44
Tabela 12. Estudos com minerais/vitaminas/outras ingredientes nos Alimentos Compostos Complementares, em cães, com efeito no sistema imunitário.....	50
Tabela 13. Composição teórica do Alimento Composto Complementar a desenvolver	56

Índice de Figuras

Figura 1. Diferentes categorias de alimentos para animais	5
Figura 2. Requisitos de rotulagem obrigatórios gerais e específicos para alimentos compostos.	8
Figura 3. Síntese dos resultados obtidos na recolha de Alimentos Compostos Complementares disponíveis no mercado online.....	17
Figura 4. Formas de dosagem veterinárias mais comuns de acordo com a via de administração.	19
Figura 5. Informações a disponibilizar ao consumidor sobre o Alimento Composto Complementar desenvolvido.	56
Figura 6. Design da embalagem.....	57

Índice

Agradecimentos.....	II
Resumo.....	IV
Abstract.....	V
Lista de Abreviaturas, Acrónimos e Siglas	VI
Índice de Tabelas.....	VIII
Índice de Figuras.....	IX
1. Introdução.....	1
1.1. Enquadramento Legal Referente à Alimentação Animal	2
1.2. Definição de Alimento Composto Complementar.....	4
1.3. Composição dos Alimentos Compostos Complementares.....	6
1.4. Rotulagem e Embalagem dos Alimentos Compostos.....	7
1.5. Mercado e Consumo de Alimentos para Animais de Companhia.....	8
1.6. Suplementação para Reforço do Sistema Imunitário em Animais.....	9
1.7. Desafios no Desenvolvimento de Alimentos Compostos Complementares.....	13
1.8. Objetivos	14
2. Métodos.....	15
3. Resultados e Discussão.....	17
3.1. Identificação e Análise dos Produtos Disponíveis Online.....	17
3.1.1. Formas de Apresentação.....	17
3.1.2. Composição	21
3.1.3. Expressões Associadas à Imunidade e Indicações de Uso.....	23
3.1.4. Modo de Utilização e Conservação dos Produtos.....	25
3.1.5. Precauções de Uso/Interações/Efeitos Adversos dos Produtos	26
3.2. Evidências Científicas dos Ingredientes Presentes nos Alimentos Compostos Complementares.....	29
4. Formulação Teórica de um Alimento Composto Complementar Para o Reforço Imunitário de Cães	53
5. Conclusão.....	58
Referências Bibliográficas.....	63
Anexo I	80

1. Introdução

O principal papel da dieta é fornecer os nutrientes suficientes para satisfazer as necessidades metabólicas, proporcionando, também, uma sensação de bem-estar. No entanto, para além de satisfazer as necessidades nutricionais, a alimentação pode modular várias funções do organismo e desempenhar um papel benéfico em algumas doenças. Os conceitos de nutrição estão a expandir-se, para incluir na utilização de alimentos a promoção de um estado de bem-estar, melhorias na saúde e a redução do risco de doenças (Bontempo, 2005).

Neste sentido, os animais de companhia não ficaram de fora destas considerações. Entende-se por animal de companhia ou de estimação “qualquer animal não utilizado na alimentação humana pertencente a espécies alimentadas, criadas ou mantidas, mas normalmente não utilizadas para consumo humano na Comunidade” (Regulamento (CE) n.º 767/2009 de 13 julho). São exemplos de animais de companhia, os cães e gatos, anfíbios, aves, furões, peixes ornamentais, pequenos roedores e coelhos, e répteis (Direção Geral de Alimentação e Veterinária [DGAV], 2024).

Devido a uma preocupação contínua com a saúde e nutrição, não é surpreendente que a manutenção da saúde dos animais de companhia e a procura de produtos nutricionais, por exemplo, para cães e gatos seja vista pelos donos dos animais como uma componente importante da relação entre dono e animal. De facto, os animais de companhia têm sido vistos como parte da família e, por isso, é da responsabilidade dos donos assegurar a longevidade e a qualidade de vida dos seus animais da melhor forma possível (Bontempo, 2005). No caso dos animais de companhia, os cães e gatos continuam a ser as espécies mais comuns (Watson et al., 2023).

As necessidades nutricionais, por exemplo, dos cães e gatos são muito diferentes das dos humanos e qualquer erro na alimentação pode ter consequências graves para a sua saúde. Uma dieta mal balanceada, composta por restos de comida pode causar problemas de saúde como obesidade, disfunção hepática, insuficiência renal, podendo mesmo reduzir o tempo de vida do animal. Para conseguir uma dieta equilibrada, os fabricantes de alimentos para animais de companhia misturam ingredientes como carne, peixe, cereais, vegetais, vitaminas e minerais, de forma a satisfazer as necessidades nutricionais desses animais (European Pet Food Industry Federation [FEDIAF], 2024).

Atualmente, a indústria oferece uma variedade de alimentos para animais de companhia, adaptados às necessidades dos diferentes tipos de animais. Desta forma, quer representem uma

ração diária (alimento completo) ou sejam utilizados em conjunto com outros alimentos (alimento complementar), os alimentos para animais de companhia preparados industrialmente contêm todos os componentes certos em proporções cuidadosamente prescritas para que um animal tenha uma vida saudável (European Pet Food Industry Federation [FEDIAF], 2024). No caso dos animais de companhia, nomeadamente os cães e gatos, a tabela seguinte exemplifica alguns requisitos alimentares importantes (Tabela 1).

Tabela 1. Requisitos nutricionais para cães e gatos (Adaptado de *European Pet Food Industry Federation* [FEDIAF], 2024).

Cães	Gatos
<ul style="list-style-type: none"> • Equilíbrio de cálcio/fósforo e vitamina D suficiente para ossos fortes e dentes saudáveis. • As gorduras e óleos são uma fonte de energia importante para cães grandes e ativos. • A proteína é necessária para manter os músculos do corpo. • No caso de cães idosos, o zinco é essencial para muitos sistemas biológicos, como a função imunológica. 	<ul style="list-style-type: none"> • Um gato precisa de quase o dobro de proteína comparativamente a um cão. • A vitamina A é necessária, mas dentro de limites precisos. Muito fígado (rico em vitamina A) pode ser prejudicial. • Um equilíbrio errado de ácidos gordos essenciais tirará o brilho da pelagem de um gato. • A taurina é essencial para prevenir doenças oculares e cardíacas.

1.1. Enquadramento Legal Referente à Alimentação Animal

A regulamentação relativa aos alimentos para animais é um fator essencial para garantir a produtividade agrícola e a sustentabilidade, mas também para assegurar a proteção da saúde pública e animal, o bem-estar dos animais e o ambiente (Diretiva n.º 2002/32/CE, 2002).

Assim, a entidade responsável pela regulação e supervisão da produção e comercialização dos Alimentos Compostos Complementares (ACC) em Portugal é a Direção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV), que apresenta como missão a definição, execução e avaliação das políticas de segurança alimentar, de proteção animal e de sanidade animal, proteção vegetal e fitossanidade. Os alimentos compostos não carecem de Autorização de Introdução no Mercado (AIM) prévia (Direção Geral de Alimentação e Veterinária [DGAV], 2024).

Os alimentos para animais só podem ser colocados no mercado e utilizados se forem seguros, não adulterados, adequados à utilização pretendida e de qualidade comerciável; não tiverem um efeito adverso direto sobre o ambiente ou sobre o bem-estar dos animais; e se forem devidamente embalados e rotulados (Direção Geral de Alimentação e Veterinária [DGAV], 2023). Na tabela seguinte (Tabela 2), encontram-se descritos os principais normativos que dizem respeito à alimentação animal e cujo estabelecimento e cumprimento em contexto nacional são de responsabilidade da DGAV.

Tabela 2. Principais normativos referentes à alimentação animal.

Diretiva n.º 2002/32/CE, de 7 de maio
<ul style="list-style-type: none">• Relativa a substâncias indesejáveis na alimentação animal.• Estabelece que este tipo de substâncias só pode estar presente nos produtos destinados à alimentação animal nas condições fixadas na diretiva em questão, não podendo ser usado de nenhum outro modo.• Institui a proibição da utilização ou a entrada em circulação de produtos destinados à alimentação animal com uma concentração de substâncias indesejáveis que exceda os limites máximos previstos no anexo I desta diretiva.
Portaria n.º 1460/2002, de 13 de novembro, retificada pela Declaração de Retificação n.º 31-O/2002, de 31 de dezembro
<ul style="list-style-type: none">• Fixa as tolerâncias admitidas em caso de desvio entre o resultado analítico do controlo oficial e o teor declarado do aditivo nas embalagens, rótulos, dísticos, etiquetas ou guias de remessa nos aditivos, nas pré-misturas e nos alimentos para animais.
Decreto-Lei n.º 105/2003, de 30 de maio
<ul style="list-style-type: none">• Estabelece a definição de “animais”, “animais de companhia”, tipos de alimentos para animais, “matérias-primas para alimentação animal”, “ração diária”, “data de durabilidade mínima de um alimento composto”, colocação em circulação e “autoridade competente”.• Determina as normas a que deve obedecer a comercialização de alimento composto e o seu acondicionamento e estabelece as contraordenações puníveis com coima relativas à sua comercialização.• Apresenta as menções obrigatórias e facultativas do rótulo, dístico ou etiqueta de um alimento composto; como deve ser feita a declaração das matérias-primas para alimentação animal e de que modo é feito o controlo oficial por parte das entidades responsáveis.
Regulamento (CE) n.º 1831/2003, de 22 de Setembro
<ul style="list-style-type: none">• Relativo aos aditivos destinados à alimentação animal.

Tabela 2. Principais normativos referentes à alimentação animal (Cont.).

Regulamento (CE) n.º 183/2005, de 12 de janeiro
<ul style="list-style-type: none">• Estabelece as normas gerais de higiene dos alimentos para animais, as condições e disposições para garantir a sua rastreabilidade e a aprovação dos estabelecimentos.• Apresenta a definição de “higiene dos alimentos para animais”, “operador de uma empresa do setor dos alimentos para animais”, “aditivos para alimentos para animais”, “estabelecimento”, “autoridade competente” e “produção primária de alimentos para animais”.
Regulamento (CE) n.º 767/2009, de 13 de Julho
<ul style="list-style-type: none">• Relativo à colocação no mercado e à utilização de alimentos para animais.
Regulamento (UE) n.º 2017/625, de 15 de março
<ul style="list-style-type: none">• Relativo aos controlos oficiais e outras atividades oficiais que visam assegurar a aplicação da legislação em matéria de géneros alimentícios e alimentos para animais e das regras sobre saúde e bem-estar animal, fitossanidade e produtos fitofarmacêuticos.• Desempenha um papel importante na garantia da segurança e conformidade dos alimentos para animais ao longo da cadeia alimentar na União Europeia (UE).
Regulamento (UE) n.º. 2022/1104, de 1 de julho
<ul style="list-style-type: none">• Altera o Regulamento (UE) n.º 68/2013 relativo ao Catálogo de matérias-primas para alimentação animal.

1.2. Definição de Alimento Composto Complementar

De acordo com o Regulamento (CE) n.º 767/2009 de 13 de julho, os alimentos para animais definem-se como “qualquer substância ou produto, incluindo os aditivos, transformado, parcialmente transformado ou não transformado, destinado a ser utilizado para a alimentação oral dos animais” (Regulamento (CE) n.º 767/2009 de 13 de julho). Existem vários tipos de alimentos para animais (Figura 1), nomeadamente:

- **Aditivos:** definidos pelo Regulamento (CE) n.º 1831/2003 de 22 setembro, como “substâncias, microrganismos ou preparados, que não sejam matérias para a alimentação animal nem pré-misturas, que sejam intencionalmente aditados aos alimentos para animais ou à água, nomeadamente a fim de desempenharem pelo menos uma das seguintes funções: alterar favoravelmente as características dos alimentos para animais; alterar favoravelmente as características dos produtos de origem animal; alterar

favoravelmente a cor dos peixes e aves ornamentais; satisfazer as necessidades nutricionais dos animais; influenciar favoravelmente as consequências da produção animal sobre o ambiente; influenciar favoravelmente a produção, o rendimento ou o bem-estar dos animais, influenciando particularmente a flora gastrointestinal ou a digestibilidade dos alimentos para animais; ou produzir um efeito coccidiostático ou histomonostático” (Regulamento (CE) n.º 1831/2003 de 22 setembro).

- Alimentos compostos (AC): definidos pelo Regulamento (CE) n.º 767/2009, de 13 julho, como “mistura de pelo menos duas matérias-primas para alimentação animal, com ou sem aditivos, para administração por via oral na forma de alimento completo ou complementar” (Regulamento (CE) n.º 767/2009 de 13 julho).

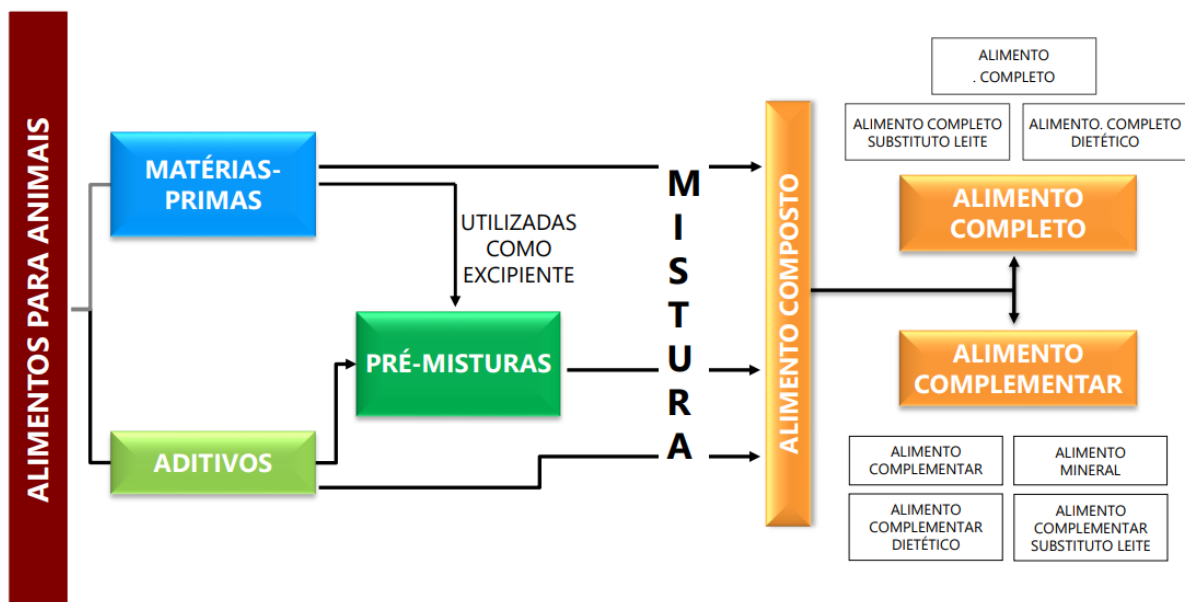


Figura 1. Diferentes categorias de alimentos para animais (Direção Geral de Alimentação e Veterinária [DGAV], 2023).

Dentro dos Alimentos Compostos existem os alimentos completos para animais e os alimentos complementares para animais. O presente trabalho incidirá nos **alimentos compostos complementares (ACC)** para animais, que se definem como “as misturas de alimentos contendo teores elevados de certas substâncias e que, pela sua composição, não asseguram a ração diária, senão quando associados a outros alimentos para animais” (Decreto-Lei 105/2003).

1.3. Composição dos Alimentos Compostos Complementares

De acordo com o Regulamento (CE) n.º 767/2009 de 13 de julho, as matérias-primas são produtos de origem vegetal ou animal cujo principal objetivo é preencher as necessidades nutricionais dos animais, no seu estado natural, fresco ou conservado, bem como os produtos derivados da sua transformação industrial e as substâncias orgânicas ou inorgânicas, com ou sem aditivos, destinadas a serem utilizadas na alimentação animal por via oral, quer diretamente, quer após transformação, ou para a preparação de alimentos compostos para animais ou ainda como excipiente em pré-misturas (Regulamento (CE) n.º 767/2009 de 13 de julho).

O número de matérias-primas utilizadas para a alimentação animal é elevado, no entanto, na prática, cada país recorre a um número mais limitado de matérias-primas, uma vez que estas podem apresentar uma elevada variabilidade nutricional, mas também quanto à presença de contaminantes, face a fatores ligados à sua produção ou processamento (Associação Portuguesa dos Industriais de Alimentos Compostos para Animais [IACA], 2022).

Em conformidade com as boas práticas referidas no artigo 4 do Regulamento (CE) n.º 183/2005, de 12 de janeiro, as matérias-primas para alimentação animal devem estar isentas de impurezas químicas resultantes do processo de fabrico e de adjuvantes tecnológicos, a não ser que esteja fixado um teor máximo específico. As substâncias cuja utilização é proibida em alimentos para animais, também não devem estar presentes. As matérias-primas para alimentação animal com resíduos tolerados devem ser acompanhadas de informações fornecidas pelos operadores de empresas do setor dos alimentos para animais (Regulamento (UE) n.º 68/2013 de 16 de janeiro).

Relativamente à composição dos ACC, não existem diretrizes ou legislação específica para este tópico, nem a nível nacional nem a nível europeu. Assim sendo, as entidades produtoras deste tipo de alimentos regem-se, principalmente, pelo Regulamento (UE) n.º 2022/1104, de 1 de julho, que altera o Regulamento (UE) n.º 68/2013 de 16 de janeiro relativo às matérias-primas para alimentação animal. De acordo com este regulamento, as matérias-primas podem ser divididas em diferentes grupos, nomeadamente:

- Grãos de cereais e seus produtos derivados;
- Sementes ou frutos oleaginosos e seus produtos derivados;
- Sementes de leguminosas e seus produtos derivados;
- Tubérculos, raízes e seus produtos derivados;
- Outras sementes e frutos e seus produtos derivados;

- Forragens e outros alimentos grosseiros e seus produtos derivados;
- Outras plantas, algas, fungos e seus produtos derivados;
- Produtos lácteos e seus produtos derivados;
- Produtos de animais terrestres e seus produtos derivados;
- Peixes, outros animais aquáticos e produtos deles derivados;
- Minerais e seus produtos derivados;
- Produtos e coprodutos obtidos por fermentação utilizando microrganismos;
- Diversos.

1.4. Rotulagem e Embalagem dos Alimentos Compostos

As informações de rotulagem de alimentos para animais e as obrigações para fabrico e colocação no mercado de alimentos compostos encontram-se descritas no Regulamento (CE) n.º 767/2009, de 13 de julho e Regulamento (CE) n.º 183/2005, de 12 de janeiro, respetivamente. (Regulamento (CE) n.º 767/2009 de 13 de julho; Regulamento (CE) n.º 183/2005 de 12 de janeiro).

A rotulagem destina-se a preencher objetivos de aplicação da legislação, rastreabilidade e controlo. Além disso, deve prestar as informações necessárias aos consumidores, permitindo-lhes fazer a melhor escolha tendo em conta as suas necessidades. A rotulagem e a apresentação dos alimentos para animais não podem induzir em erro o consumidor quanto à utilização pretendida ou características do alimento, nomeadamente as respeitantes à sua natureza, ao método de fabrico ou produção, às propriedades, composição, quantidade, durabilidade, espécie ou categoria de animais para os quais foi concebido; e ao atribuírem ao alimento efeitos ou características que este não possui, ou ao sugerirem que este possui características especiais quando, de facto, todos os alimentos semelhantes possuem essas características (Regulamento (CE) n.º 767/2009 de 13 de julho).

A rotulagem contém informações obrigatórias e voluntárias. As informações obrigatórias integram requisitos de rotulagem de carácter geral e requisitos que se dirigem especificamente às matérias-primas para alimentação animal ou aos alimentos compostos para animais, respetivamente, assim como requisitos adicionais, em caso de alimentos dietéticos, matérias-primas contaminadas e alimentos para animais de companhia (Regulamento (CE) n.º 767/2009 de 13 de julho).

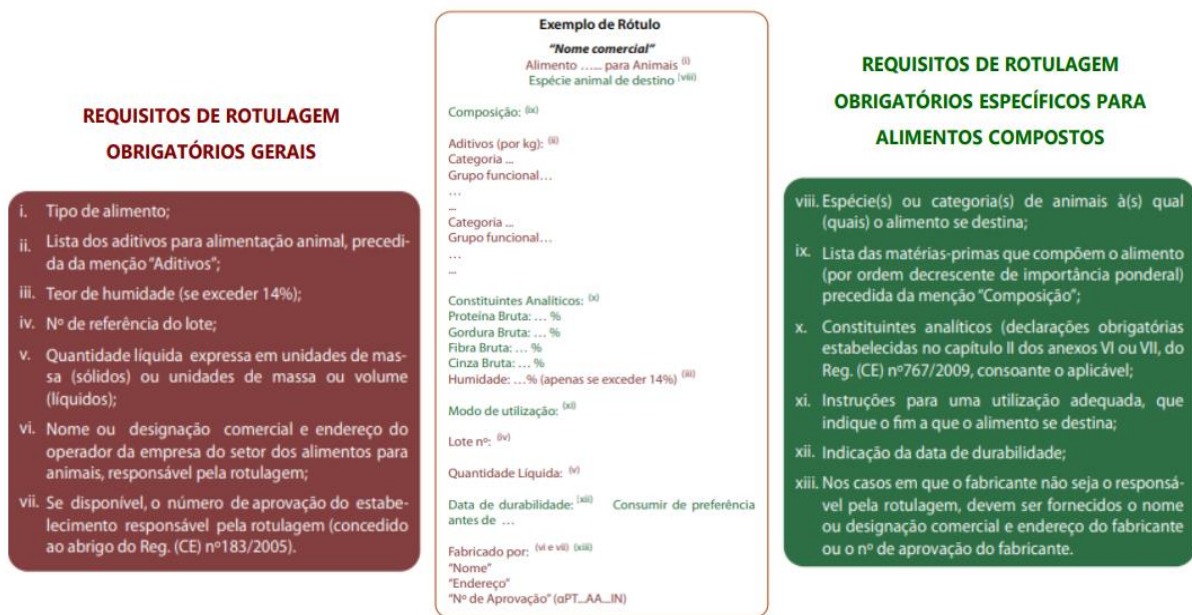


Figura 2. Requisitos de rotulagem obrigatórios gerais e específicos para alimentos compostos (Direção-Geral de Alimentação e Veterinária [DGAV], 2023).

Neste sentido, nenhuma matéria-prima para alimentação animal ou alimento composto pode ser colocado no mercado sem que constem da rotulagem os elementos obrigatórios que estão descritos na Figura 2. É também obrigatório que o rótulo dos alimentos para animais de companhia contenha um meio de comunicação adequado, através do qual, o comprador possa obter informações complementares quanto aos aditivos presentes nos alimentos para animais de companhia e às matérias-primas presentes nesses alimentos (Regulamento (CE) n.º 767/2009 de 13 de julho).

Relativamente às embalagens, as matérias-primas e os alimentos compostos para animais só podem ser colocados no mercado em embalagens ou recipientes invioláveis (Regulamento (CE) n.º 767/2009 de 13 de julho).

1.5. Mercado e Consumo de Alimentos para Animais de Companhia

Dados relativos a 2022 relatam um crescimento quanto à existência de animais de companhia, com 91 milhões de famílias europeias (46%) a ter um ou mais dos 340 milhões de animais de companhia da Europa. Este aumento reflete-se no crescimento do mercado. De acordo com dados de 2022 da *European Pet Food Industry Federation (FEDIAF)*, em Portugal existem 2.605.000 cães e 1.795.000 gatos (European Pet Food Industry Federation [FEDIAF],

2022). Em Portugal, em 2020, 39% dos agregados familiares (2,1 milhões) tinham, pelo menos, um cão e 32% dos agregados familiares (1,5 milhões) tinham um gato (European Pet Food Industry Federation [FEDIAF], 2022), revelando a importância dos animais de companhia para as famílias portuguesas.

As vendas globais de alimentos para animais de companhia atingiram US\$ 114,8 bilhões em 2021, em comparação com US\$ 78,1 bilhões em 2011. Dentro desta indústria, os alimentos para cães e gatos têm a maior participação de mercado, com US\$ 110,6 bilhões ou mais de 96% das vendas de alimentos para animais de companhia realizadas globalmente em 2021. As vendas poderão atingir US\$ 156,9 bilhões globalmente até 2026, com os alimentos para cães e gatos a contribuir com aproximadamente US\$ 152 bilhões (Euromonitor International 2022 Pet Care (2022)).

Neste sentido, são vários os fatores que têm contribuído para o aumento da popularidade deste tipo de produtos a nível mundial, com um reforço e fortalecimento do mercado global, tais como: o elevado valor nutricional dos ingredientes que contêm, o aumento da população de animais de companhia nas famílias, e a mudança de perceção dos consumidores com aumento da consciencialização para a saúde dos seus animais (Mordor Intelligence, 2023). Para além disso, o facto de os animais de companhia estarem, cada vez mais, a serem vistos e considerados como membros da família faz com que os donos estejam dispostos a aumentar as despesas anuais com produtos que beneficiem a sua saúde (Mordor Intelligence, 2023).

De acordo com o relatório do *Grand View Research*, o segmento das articulações e quadril deteve a participação dominante no mercado, com 58,4% de todas as vendas, em 2022. Por outro lado, o mesmo não se verificou no grupo do reforço imunitário e defesas, o que denota a sua falta de posição no mercado global (Mordor Intelligence, 2023).

Um outro estudo refere que, nos Estados Unidos da América, no caso de cães e gatos, os suplementos mais populares incluem os utilizados na saúde articular e digestiva, seguidos de suplementos para ajudar na cognição, na saúde da pele e do coração. Nos gatos, os suplementos para controlo de bolas de pêlo continuam com uma procura elevada, seguindo-se os suplementos específicos para infeções do trato urinário e doenças renais (Finno, 2020).

1.6. Suplementação para Reforço do Sistema Imunitário em Animais

O sistema imunitário é uma rede interativa de células, proteínas e agentes de sinalização concebidos para proteger o hospedeiro de agentes patogénicos ambientais, parasitas, células

malignas, alergénios e toxinas. O sistema imunitário pode ser dividido em duas partes: inata ou não específica do antígeno e adquirida ou específica do antígeno (Hayek et al., 2004).

A imunidade inata consiste em barreiras inespecíficas e mecanismos de defesa celulares e químicos (Hayek et al., 2004). A imunidade adquirida pode ainda ser dividida em imunidade humoral e imunidade mediada por células. A imunidade humoral inclui a produção de anticorpos (também designados por imunoglobulinas) a partir de células B. Existem cinco isotipos diferentes de imunoglobulinas (Ig), IgG, IgA, IgM, IgD e IgE, que consistem em diferentes subclasses dentro destes isotipos. A parte celular do sistema imunitário inclui a interação de macrófagos derivados da medula óssea e de células B, bem como de células T derivadas do timo. As células T podem ainda ser divididas em subconjuntos com base na expressão de proteínas da superfície celular. Estes subconjuntos incluem as células TCD4+ ou células T *helper* (Th) e as células TCD8+ ou células T-citotóxicas/supressoras. As células Th podem ainda ser classificadas com base nas citocinas que produzem. As células Th1 segregam interleucina (IL)-2, interferão (INF)- γ , fator de necrose tumoral (TNF) e IL12 e são importantes nas respostas bacterianas, enquanto as células Th2 segregam IL-4, IL-10 e IL-13 e são importantes nas infeções por parasitas. As células TCD8+ podem desempenhar um papel de célula assassina que ajuda na resposta a um antígeno viral e ao cancro ou um papel supressor para regular a resposta imunitária. Outro conjunto de células que desempenham um papel importante são as células *natural killer* (NK). As células NK podem ajudar a eliminar células tumorais e vírus do corpo (Hayek et al., 2004).

As barreiras físicas inespecíficas, como a pele e as membranas das mucosas, protegem contra a entrada inicial de agentes patogénicos, como bactérias, vírus e parasitas. No entanto, quando essas barreiras são ultrapassadas, é necessário um sistema imunitário funcional para criar uma resposta específica para eliminar a infeção e proteger o indivíduo (Hayek et al., 2004).

As interações entre a nutrição e imunidade estão bem documentadas. A nutrição desempenha um papel essencial na regulação da resposta imunológica, fornecendo nutrientes adequados em concentrações suficientes às células imunitárias. Muitos micronutrientes, como minerais e vitaminas, bem como alguns macronutrientes, como aminoácidos e ácidos gordos exercem um impacto positivo e específico na atividade imunológica adequada (Hayek et al., 2004; Munteanu & Schwartz, 2022).

A tabela seguinte (Tabela 3) resume alguns estudos efetuados com vitaminas e minerais, relacionados com a imunidade, em humanos (ensaios clínicos).

Tabela 3. Efeitos detetados em ensaios clínicos efetuados com vitaminas e minerais (Hayek et al., 2004).

Vitamina/Mineral	Efeito obtido
Vitamina B1	Aumento da motilidade dos neutrófilos
Vitamina B6	Aumento da proliferação de linfócitos em indivíduos mais jovens Manutenção da função imune em indivíduos mais velhos
Vitamina C	Aumento da motilidade dos neutrófilos Aumento da proliferação de linfócitos Aumento dos níveis séricos de IgG, IgM em mulheres jovens Redução da severidade de infeções virais
Vitamina E	Aumento da fagocitose das células polimorfonucleares Aumento da mitogénese das células T Aumento da produção de IL-2
Zinco	Aumento das células T circulantes
Selénio	Aumento da atividade de células NK

Os ingredientes presentes na alimentação podem ter um impacto na saúde dos animais de companhia de duas formas: em primeiro lugar, fornecendo o aporte nutritivo necessário e que deve ser adequado à idade e porte do animal, de modo a garantir uma ótima condição física e vitalidade; e, em segundo lugar, atuando como moléculas bioativas que, por exemplo, podem influenciar as funções digestivas, intestinais ou cognitivas, o estado antioxidante ou modular o sistema imunitário (Rutherford-Markwick et al., 2013).

Embora seja pouco provável que os animais de companhia saudáveis alimentados com uma dieta completa e equilibrada de boa qualidade sofram de deficiências nutricionais, a adição de certos ingredientes alimentares pode aumentar a sua imunidade. Por conseguinte, embora os animais de companhia possam estar adequadamente nutridos, os seus sistemas imunitários podem não estar a funcionar na sua plenitude (Rutherford-Markwick et al., 2013).

Existem várias condições na vida dos cães e gatos em que a resposta imunitária não está a funcionar com o máximo desempenho. Por exemplo, quando os animais nascem ficam expostos a um ambiente com microrganismos patogénicos e, infelizmente, os seus sistemas imunitários não estão totalmente desenvolvidos à nascença, necessitando de tempo para se tornarem totalmente funcionais. Como resultado, os animais recém-nascidos são mais vulneráveis a infeções nas primeiras semanas de vida, necessitando de assistência imunitária para sobreviver. Esta assistência pode ser prestada pelas suas mães com a transferência de anticorpos através

do colostro e leite. No entanto, para além de existirem casos em que esta transferência de imunidade da mãe para o recém-nascido não é possível, por volta das seis semanas de vida, dá-se o desmame, pelo que se torna urgente um sistema imunitário forte o mais cedo possível para garantir o crescimento e sobrevivência destes animais. Um estudo de Hayek et al. (2004) demonstrou que os cães que receberam uma dieta desde o desmame suplementada com antioxidantes (vitamina E, β -caroteno e luteína) apresentavam níveis mais elevados de ativação das células T e B às 14 e 22 semanas de idade, em comparação com os controlos da mesma idade (alimentados com uma dieta com níveis normais de vitamina E, sem adição de luteína ou β -caroteno) (Hayek et al., 2004).

O sistema imunitário dos animais sujeitos a níveis de exercício físico intenso também poderá ser alvo de alterações. O exercício tem sido reconhecido como um fator de stress, podendo alterar a resposta imunitária do hospedeiro e, portanto, a sua suscetibilidade à doença (Hines et al., 1996). Vários estudos sugerem impactos negativos deste tipo de exercício na saúde do animal, com desregulação da função dos neutrófilos; supressão da atividade dos macrófagos até 24 horas; aumento dos níveis de stress oxidativo e da resposta inflamatória em geral (Estruel-Amades et al., 2020; Hines et al., 1996; Ma & Ja, 1999; Nieman et al., 1995; Pyne et al., 1995). Neste sentido, a suplementação com compostos antioxidantes torna-se benéfica no alívio de alguns destes efeitos (Hayek et al., 2004). Por exemplo, a flavanona hesperidina tem demonstrado propriedades imunomoduladoras em condições fisiológicas e condições patológicas, assim como efeitos positivos no stress oxidativo induzido pelo exercício (Ruiz-Iglesias et al., 2020). No estudo de Ruiz-Iglesias et al., (2020), o consumo de um suplemento com hesperidina aumentou a citotoxicidade das células NK e a proporção de monócitos fagocíticos, atenuou a secreção de citocinas por macrófagos estimulados, preveniu a leucocitose induzida pela exaustão e aumentou a proporção de células Th no timo, sangue e baço (Ruiz-Iglesias et al., 2020).

Por fim, existe a questão do envelhecimento, em que a imunidade mediada por células é o componente do sistema imunitário mais afetado negativamente, principalmente as células T. A teoria dos radicais livres tem sido apresentada para tentar explicar o(s) mecanismo(s) responsável(eis) por este declínio. Segundo esta teoria, o envelhecimento é causado por reações dos radicais livres e pela acumulação de subprodutos reativos do oxigénio. Assim, tem sido feita investigação com animais em envelhecimento, analisando os antioxidantes dietéticos como um meio de reduzir estas reações e melhorar a qualidade de vida dos animais (Hayek et al., 2004; Manteca, 2011; Massimino et al., 2003; Pan et al., 2018).

1.7. Desafios no Desenvolvimento de Alimentos Compostos Complementares

Ao longo de anos, a relação entre cães e humanos evoluiu do simples uso dos animais para guarda e controlo de pragas, para o que agora é designado de "posse de animais de companhia ou estimação". Existem várias razões para adquirir um animal de companhia, incluindo a companhia para o tutor (Holland et al., 2022) ou para outras pessoas do agregado familiar (Packer et al., 2021) ou os benefícios relacionados com a saúde mental e física (Gee et al., 2021; Powell et al., 2019).

Desta forma, o interesse pela alimentação/suplementação animal, assim como na adequação dos alimentos para animais de companhia disponíveis no mercado tem vindo a crescer em todo o mundo. A segurança, qualidade e eficácia dos alimentos/ACC para animais de companhia são considerações importantes para veterinários e consumidores (Di Cerbo et al., 2017; Zicker, 2008).

Embora a quantidade de informação científica sobre a composição dos suplementos para animais de companhia (também comercializados como ACC) esteja a aumentar, continua a haver uma escassez de estudos relativos ao controlo de qualidade, segurança e eficácia para a maioria das substâncias comercializadas nos produtos. É também um facto de que, apesar da falta de evidências, o uso de suplementos para animais de companhia continua a aumentar (Finno, 2020). Além disso, a investigação científica sobre os suplementos ou ACC é muitas vezes associada a interesses comerciais face às elevadas exigências dos consumidores (Siddiqui & Moghadasian, 2020).

O desenvolvimento e comercialização de ACC envolve diferentes fases, nomeadamente:

- 1) a pesquisa de ingredientes a incluir na composição;
- 2) a procura de evidências científicas para os ingredientes selecionados;
- 3) a identificação dos aditivos e composição analítica;
- 4) o desenho do rótulo, com identificação dos elementos da rotulagem;
- 5) o desenvolvimento experimental;
- 6) a otimização da formulação tendo em conta características organolépticas e de estabilidade;
- 7) a estratégia de marketing para comercialização do produto (Sogame et al., 2019).

Desta forma, muitos desafios associados ao desenvolvimento ou comercialização de ACC podem ocorrer e incluem a identificação correta das matérias-primas (ex: no caso de plantas medicinais), a pureza do composto, a presença de outros compostos ativos, a qualidade das matérias-primas ou produto final, a falta de evidências experimentais, a publicidade muitas vezes enganosa dos produtos, os problemas de contaminação das matérias-primas, os efeitos

adversos nos animais, e as interações entre ACC e medicamentos (Siddiqui & Moghadasian, 2020).

1.8. Objetivos

Assim, e tendo em conta os seguintes pressupostos:

- A indústria dos ACC continua a ser uma indústria ainda pouco explorada.
- O consumo de ACC assume uma importância crucial, complementando as carências nutricionais dos animais que não são suprimidas pela alimentação comum, e ajudando no seu crescimento, desenvolvimento e qualidade de vida.
- Um bom sistema imunitário permite aos animais de companhia viverem vidas mais longas e saudáveis.
- Apesar dos produtos para o sistema imunitário em animais de companhia serem utilizados há muitos anos, continua a haver lacunas de conhecimento em relação à eficácia, segurança e dosagens adequadas.
- Os desafios que os laboratórios enfrentam para manter no mercado produtos inovadores, competitivos, seguros e de qualidade.

O trabalho apresenta como **objetivo principal** o desenvolvimento de uma formulação teórica de um ACC para reforço do sistema imunitário de animais de companhia, tendo em conta a legislação existente, as lacunas presentes no mercado relativas a estes produtos, e as evidências científicas existentes para ingredientes ativos, com benefício na imunidade. Em específico pretende-se que sejam cumpridos os seguintes pontos:

- Recolha e análise dos ACC para reforço do sistema imunitário de cães e gatos que se encontram comercializados e disponíveis para venda através de websites;
- Recolha de informação relativa a indicações de uso, composição, posologia e outras informações relevantes dos ACC (modo de utilização/conservação, precauções de uso, interações, efeitos adversos);
- Pesquisa bibliográfica de evidências científicas relativas aos ingredientes com efeito fisiológico benéfico, para inclusão na formulação teórica do ACC, em conformidade com a legislação;
- Elaboração de uma formulação teórica, com destaque para a composição do ACC a desenvolver.

2. Métodos

A metodologia na qual assenta este projeto encontra-se dividida em três partes.

Assim sendo, a primeira parte consistiu num estudo descritivo e transversal, com pesquisa e recolha online de ACC para reforço do sistema imunitário, para cães e gatos. De forma a simular a pesquisa de um consumidor comum, que utiliza poucos termos de pesquisa, visualiza um número reduzido de websites e raramente utiliza recursos de pesquisa avançada (Thakor et al., 2011), utilizaram-se poucos termos de pesquisa (“Suplementos”, “Alimentos Compostos Complementares”, “Imunidade”, “Reforço Sistema Imunitário”, “Animais de Companhia”, “Cães e Gatos”; “Compra”) e foram recolhidos os websites na plataforma Google®, correspondentes à primeira página, contendo ACC com indicação de uso no sistema imunitário.

Dos websites obtidos através desta pesquisa, foram selecionados apenas aqueles que disponibilizavam ao consumidor informações relativamente a, pelo menos, três tópicos: indicações de uso do produto, composição e posologia. Desta forma, foram recolhidos os produtos com referência a ACC, para reforço do sistema imunitário em cães e gatos, sendo incluídos ainda produtos para via oral, com diferentes formas de apresentação ao consumidor. Os produtos repetidos, assim como produtos com a mesma designação, mas quantidades a nível da embalagem diferentes (ex: 30 comprimidos ou 60 comprimidos) foram excluídos. Foram também excluídos websites meramente informativos e sem venda de produtos.

Para os produtos obtidos foram recolhidas as seguintes informações: indicações de uso; composição; posologia recomendada; outras informações disponibilizadas (ex: modo de utilização, modo de conservação, precauções de uso, interações, efeitos adversos). Os ACC recolhidos foram codificados, de forma a omitir o nome comercial.

Na segunda parte do trabalho foi realizada uma revisão clássica da literatura. Partindo dos ingredientes ativos obtidos na primeira parte do estudo, foi feita uma pesquisa de evidências científicas dos ingredientes incluídos em ACC utilizados para reforço do sistema imunitário em animais de companhia. Para tal, foi utilizada a base de dados PubMed, tendo sido pesquisados artigos em língua inglesa e sem restrições de data para os termos “*dogs*”, “*cats*”, “*immunity*”, “*immune system*” e cada um dos ingredientes ativos a estudar (obtidos na primeira parte do estudo), recorrendo aos operadores booleanos OR e AND. Pesquisaram-se estudos realizados em cães e gatos, com utilização de suplementos contendo os ingredientes identificados, extratos ou compostos isolados dos ingredientes. Incluíram-se ainda estudos relativos aos ingredientes isolados ou em mistura. Excluíram-se estudos *in vitro*, com culturas celulares.

Posteriormente a esta pesquisa, procedeu-se à **terceira parte** do trabalho, com a seleção dos ingredientes, formas de apresentação e doses a utilizar para a realização da formulação teórica (composição do ACC). Para a elaboração da formulação, selecionaram-se os ingredientes com base na 1ª e 2ª parte do trabalho.

A formulação teórica incluiu a composição do ACC; as respetivas doses; a espécie/categoria do animal; modo de utilização/conservação do produto; nome comercial; outras informações relevantes, e elaboração do design da embalagem.

3. Resultados e Discussão

3.1. Identificação e Análise dos Produtos Disponíveis Online

Em relação à primeira parte do trabalho, e começando pela identificação e análise dos ACC disponíveis no mercado através da venda online, para cães e gatos, a pesquisa inicial resultou em 14 websites. No entanto, 4 deles foram excluídos devido ao facto de não apresentarem informações completas sobre indicações de uso, composição e posologia recomendada dos produtos. Dos 10 websites resultantes, foram obtidos 102 ACC que, após se excluir os produtos repetidos, sobraram 44 ACC que foram alvo de análise (Figura 3).

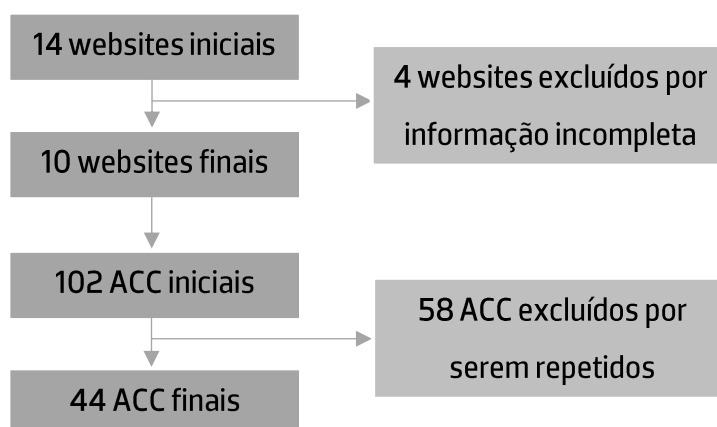


Figura 3. Síntese dos resultados obtidos na recolha de Alimentos Compostos Complementares disponíveis no mercado online.

3.1.1. Formas de Apresentação

Analisando as formas de apresentação dos ACC, verificou-se que estes se apresentavam, na sua maioria, sob a forma de comprimidos (14; 31,8%), soluções (13; 29,5%) e pós (8; 18,2%). Para além disso, também foram encontrados exemplos de ACC em pastas e géis, cápsulas, e snacks/guloseimas (Tabela 4).

Tabela 4. Principais formas de apresentação dos produtos analisados.

Forma de apresentação	Frequência	
Comprimidos	14	31,8%
Soluções orais	13	29,5%
Pós	8	18,2%
Pastas	5	11,4%
Géis	2	4,5%
Cápsulas	1	2,3%
Snacks/ guloseimas	1	2,3%
Total	44	100%

Os desafios a nível da formulação que afetam a indústria de produtos de saúde animal são semelhantes aos encontrados durante o desenvolvimento de produtos para uso humano. Além disso, a seleção das formas de apresentação e das formulações correspondentes reflete as necessidades específicas da espécie animal em causa, a variação potencial da raça e do tamanho do corpo, os hábitos alimentares das espécies, os desafios logísticos associados à utilização do produto, o custo para o utilizador final, a segurança ambiental e os estados de doença/saúde dos animais (e o seu impacto na ingestão ou na farmacocinética dos produtos) (Riviere & Papich, 2018).

Para responder a esta diversidade de necessidades, existe uma gama abrangente de formas de dosagem e sistemas de administração de matérias-primas para os cuidados e o bem-estar dos animais. Assim, os ingredientes de uso veterinário podem ser fabricados na mesma variedade de formas das de uso humano (Figura 4).

As formas de administração oral incluem líquidos (soluções, suspensões, emulsões, e xaropes), semissólidos (pastas) e sólidos (comprimidos, cápsulas, pós, grânulos, pré-misturas e blocos medicamentosos) e são geralmente destinadas a efeitos sistémicos resultantes da absorção pelo trato gastrointestinal (Robinson, 2023).

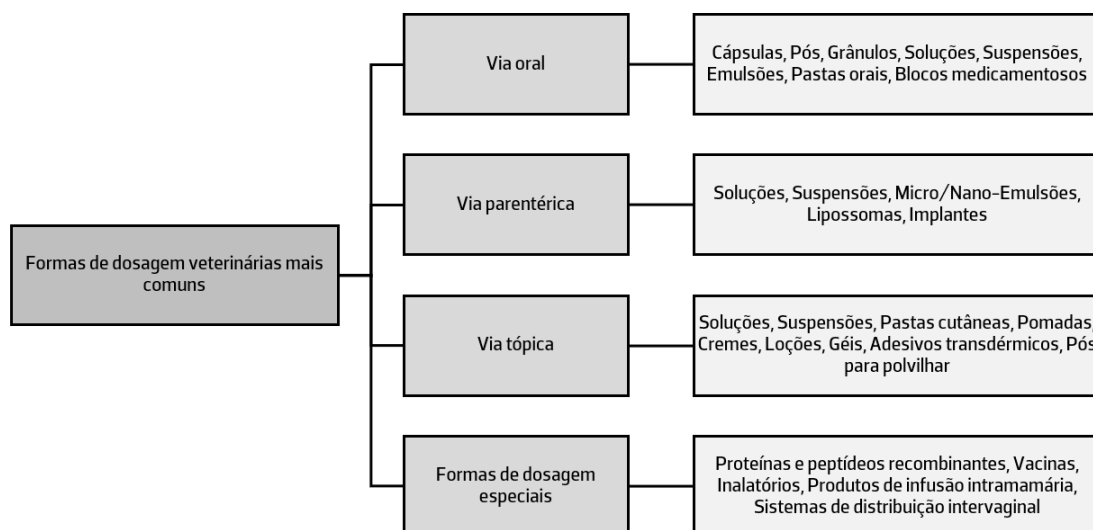


Figura 4. Formas de dosagem veterinárias mais comuns de acordo com a via de administração (Adaptado de Riviere & Papich, 2018).

Dos 14 ACC sob a forma de comprimidos presentes no estudo, em 6 deles (42,8%) verificou-se a indicação de serem comprimidos palatáveis, com aromas naturais agradáveis na sua composição (por exemplo, aroma de carne ou fígado), que tornam a administração mais fácil para o animal.

A formulação ideal deve ser consumida voluntariamente pelo animal, sendo particularmente importante, por exemplo, para situações que requerem a administração crónica de produtos. O desenvolvimento de uma formulação palatável, aromatizada e mastigável que seja aprovada para administração frequente é uma abordagem cada vez mais utilizada por empresas de saúde animal com o objetivo de: (1) ajudar os donos de animais de companhia a garantir a adesão à terapêutica/suplementação; (2) reduzir o stress sobre o animal de companhia e o dono, e (3) tornar a experiência geral da medicação/suplementação mais próxima à experiência de dar uma guloseima ao animal (Visser et al., 2022). Desta forma, a palatabilidade constitui um fator crucial para determinar o sucesso ou fracasso de um produto no mercado e a probabilidade do consumidor voltar a comprá-lo (Watson et al., 2023).

A estabilidade físico-química dos comprimidos é geralmente melhor do que a das formas líquidas, o que pode ser uma possível justificação para os valores encontrados no estudo. No entanto, os comprimidos também apresentam desvantagens como um início de ação

relativamente lento, e o facto de alguns compostos poderem causar irritação local da mucosa gastrointestinal (Robinson, 2023).

Logo a seguir aos comprimidos, as soluções foram a apresentação mais encontrada nos ACC analisados (13 em 44). As soluções consistem numa mistura de dois ou mais componentes que formam uma única fase homogénea e oferecem diversas vantagens sobre outras formas farmacêuticas. Assim, em comparação com as formas farmacêuticas sólidas, as soluções são absorvidas mais rapidamente e geralmente causam menos irritação da mucosa gastrointestinal. Além disso, a separação de fases no armazenamento não é uma preocupação no caso das soluções, como pode ser com as suspensões e emulsões. As soluções orais proporcionam um meio conveniente de administração de medicamentos/suplementos a neonatos e animais jovens (Robinson, 2023). Para além disso, as formulações líquidas parecem ser a forma de administração preferível para os gatos (Adenot & Abdelhakim, 2022). No entanto, o sabor de alguns compostos é mais desagradável quando em solução. Uma variedade de aditivos é comumente usada na formulação de soluções orais, incluindo edulcorantes, antioxidantes e conservantes (Robinson, 2023).

Dos 13 ACC sob a forma de solução presentes no estudo verificou-se que em 9 o problema de sabor desagradável pode ser contornado através da sua mistura na comida ou na água. Um dos produtos refere, ainda, que se for misturado na água, esta deve ser renovada, pelo menos, uma vez por dia, para não alterar as propriedades organoléticas do produto nem criar depósito.

Por fim, os ACC em pó foram a terceira forma de apresentação mais encontrada (8 em 44). Neste caso, temos uma formulação na qual um ingrediente ativo em pó é misturado com outros excipientes em pó para produzir um produto final para administração oral. Os pós têm melhor estabilidade química do que os líquidos e dissolvem-se mais rapidamente do que os comprimidos ou cápsulas, uma vez que não existe a questão da desintegração. Uma das suas desvantagens é o facto de sabores desagradáveis poderem ser mais pronunciados com pós do que com outras formas farmacêuticas, levando ao risco de uma ingestão variável da dose desejada. Além disso, os animais doentes comem frequentemente menos e, portanto, podem não ser tão suscetíveis ao tratamento com formulações em pó para mistura nas rações completas diárias (Robinson, 2023). Do mesmo modo que nas soluções orais, também nos ACC sob a forma de pó presentes no estudo verifica-se a recomendação de serem adicionados à comida do animal para tornar a sua administração mais fácil.

3.1.2. Composição

Nos 44 produtos analisados foram encontrados 73 ingredientes distintos. Estes foram divididos em categorias, nomeadamente: vitaminas, minerais, aminoácidos, plantas/extratos de plantas e outros (Anexo I).

Em termos de vitaminas, foram identificadas 13 vitaminas distintas nos ACC. As que se encontraram presentes num maior número de produtos foram as seguintes: vitamina B6 (20 em 44), vitamina B12 (17 em 44) e a vitamina E (13 em 44). Outras vitaminas presentes foram a vitamina A, B1, B2, B3, B5, B7, B9, C, D, K. As vitaminas B6 e B12 correspondem a vitaminas com a seguinte alegação de saúde aprovada, com base nos estudos em humanos: "Contribui para o funcionamento normal do sistema imunitário", o que pode justificar a ocorrência mais elevada, também nos produtos para animais de companhia (Tabela 5).

Nos minerais, foram identificados 11 minerais distintos nos ACC, tendo-se verificado a presença, em maior quantidade, do ferro (11 em 44), manganês e zinco (10 em 44). Observou-se ainda a presença de outros minerais como o selénio, cobre, iodo, potássio, sódio, cálcio, fósforo e magnésio. Também neste caso, o ferro e o zinco correspondem a minerais com a seguinte alegação de saúde aprovada "Contribui para o funcionamento normal do sistema imunitário", com base nos estudos em humanos, o que pode justificar a ocorrência mais elevada nos ACC (Tabela 5).

Tabela 5. Alegações de saúde aprovadas para vitaminas e minerais presentes nos produtos analisados.

Ingrediente	Alegações de saúde autorizadas
Vitamina B6 (piridoxina)	Contribui para o funcionamento normal do sistema imunitário
Vitamina B12 (cianocobalamina)	
Ferro	
Zinco	

Nos aminoácidos, foram identificados 11 aminoácidos distintos, tendo sido encontrados em maior quantidade nos ACC, a taurina (12 em 44), arginina (3 em 44) e o ácido glutâmico (2 em 44). Outros aminoácidos encontrados incluíram a valina, triptofano, niacina, metionina, lisina, leucina, histidina e fenilalanina.

No caso das plantas medicinais/extratos de plantas, encontraram-se ACC com 22 plantas diferentes, nomeadamente, cardo-mariano (*Silybum marianum*), açafrão (*Crocus sativus*),

bardana (*Arctium lappa*), alcaçuz (*Glycyrrhiza glabra*), erva-de-São-João (*Andrographis paniculata*), trevo-vermelho (*Trifolium pratense*), esculetária (*Scutellaria baicalensis*), cânhamo (*Cannabis sativa*), chia (*Salvia hispanica*), alecrim (*Rosmarinus officinalis*), rosa mosqueta (*Rosa rubiginosa*), romã (*Punica granatum*), mirtilo (*Vaccinium myrtillus*), ashwagandha (*Withania somnifera*), aveia (*Avena sativa*), calêndula (*Calendula officinalis*), chá-verde (*Camelia sinensis*), trigo-mole (*Triticum vulgare*), curcuma (*Curcuma longa*), equinácea (*Echinacea sp.*), ginkgo (*Gingko biloba*), e ginseng (*Panax ginseng*). No grupo das plantas, as que apresentaram maior frequência foram a equinácea (4 em 44), a aveia (3 em 44) e o chá-verde (3 em 44).

Das 22 plantas/extratos de plantas encontrados, apenas 10 (45,4%) apresentavam no website, a informação relativa à parte da planta utilizada no ACC, tal como descrito na Tabela 6.

Tabela 6. Partes da planta utilizadas nos produtos analisados.

Plantas presentes (nomes comuns)	Parte da planta utilizada
Açafrão, bardana, alcaçuz, esculetária, ashwagandha	Raíz
Cânhamo, chia	Sementes
Rosa mosqueta	Casca
Aveia	Farelo
Trigo-mole	Gérmen
Cardo-mariano, erva-de-São-João, trevo vermelho, alecrim, romã, mirtilo, calêndula, chá-verde, curcuma, equinácea, ginkgo, ginseng	Não mencionado

Por fim, quanto aos outros ingredientes, observou-se ACC com 16 ingredientes distintos, estando incluídos cogumelos/leveduras como o cogumelo-do-sol (*Agaricus blazei*), cogumelo cauda-de-peru (*Coriolus versicolor*), cogumelo maitake (*Grifola frondosa*), cogumelo Kira Jari ou Yakasumba (*Cordyceps sinensis*), cogumelo reishi (*Ganoderma lucidium*), cogumelo juba-de-leão (*Hericium erinaceus*), cogumelo de casco-preto (*Phellinus linteus*), cogumelo shiitake (*Lentinula edodes*), levedura-de-cerveja (*Saccharomyces cerevisiae*); ACC com algas como a alga-castanha (*Ascophyllum nodosum*), alga-vermelha (*Lithothamnium calcareum*), spirulina (*Arthrospira platensis*), e a alga *Schizochytrium sp.*; ACC com fontes animais como o krill, mexilhão-de-lábios-verdes (*Perna canaliculus*); e ACC com outros ingredientes ativos como a geleia real.

3.1.3. Expressões Associadas à Imunidade e Indicações de Uso

Ao analisar os 44 ACC foi possível encontrar as seguintes expressões associadas ao sistema imunitário, na informação disponível aos consumidores, nos websites: "melhora a resistência", "fortalece as defesas do organismo", "fortalece/estimula/protege/ajuda/ativa/apoia/suporta/otimiza o sistema imunitário", "melhora a resposta inata e adaptativa", "efeito imunoestimulante", "aumenta a vitalidade do animal", "contribui para um organismo saudável", "contribui para um normal funcionamento do sistema imunitário", "ajuda a aumentar os componentes celulares e humorais do sistema imunitário", "estimula a produção de linfócitos, promove a atividade bactericida dos neutrófilos e aumenta o número e a atividade dos macrófagos" e "aumenta a produção de anticorpos naturais".

As alegações num alimento composto podem ser feitas em relação a características específicas do próprio alimento composto ou em relação à presença de uma ou mais matérias-primas e/ou aditivos no alimento, ou ainda a uma função do mesmo. É ainda importante referir que as alegações presentes nos alimentos para animais não podem atribuir funções de prevenção, tratamento ou cura de doenças. Desta forma, são aceites palavras como "suporta", "mantém", "contribui", "otimiza", "fornece" "promove", o que vai de encontro a muitas das expressões descritas em cima. Além disso, palavras como "estimula", "aumenta", "melhora" ou "reforça" também podem ser aceites, a menos que se refiram a uma determinada função fisiológica (Regulamento (CE) nº 767/2009 de 13 de julho).

Estas expressões, disponíveis nos websites e associadas aos ACC, podem ser explicadas pelo facto de as vitaminas e minerais presentes, de forma predominante, na sua composição [ou seja, a vitamina B6 (encontrada em 20 do total de 44), a vitamina B12 (encontrada em 17 do total de 44), o ferro (encontrado em 11 do total de 44), e o zinco (encontrado em 10 de 44 ACC)] apresentarem alegações de saúde aprovadas, associadas ao sistema imunitário (Tabela 5). É, no entanto, de realçar, como já foi referido anteriormente, que as alegações descritas na Tabela 5 são alegações de saúde aprovadas, com base em estudos realizados em humanos, e utilizadas em géneros alimentícios.

Quanto às indicações de uso relacionadas com a imunidade, e encontradas nos websites associadas aos diferentes ACC, foi possível encontrar produtos comercializados para: situações de anorexia e perda de apetite; períodos de convalescença, por exemplo, pós cirurgias ou durante alguma doença; para a gestação e lactação; para situações de aumento das necessidades nutricionais (ex.: durante o crescimento); para combater as agressões de agentes externos; para

o pós-nascimento; para consumir antes e após vacinações; para períodos de cansaço ou exercício intenso; para situações de idade avançada dos animais; para épocas do ano mais frias; para situações em que o animal não ingira colostro suficiente; durante ou após períodos de hospitalização; para situações de stress (ex: viagens ou estadias em hotéis/canis); após administrações prolongadas de antibióticos; para situações de doenças imunodeficientes (ex: doenças virais, leishmaniose e parvovirose); e para consumir antes e depois de sessões de quimioterapia.

De acordo com dados da literatura, sabe-se que algumas destas situações beneficiam do consumo de ingredientes ativos ou compostos que contribuem para o bom funcionamento do sistema imunitário. Por exemplo, é amplamente reconhecido que a desnutrição resulta num comprometimento do sistema imunitário, com uma redução das respostas dos anticorpos e subpopulações de células Th defeituosas que podem ser revertidas através da alimentação com uma dieta rica em proteínas ou suplementação (Rutherford-Markwick & Thomas, 2016).

O envelhecimento e o stress são outras das principais causas de comprometimento da função do sistema imunitário. Em todas as espécies, considera-se que as alterações do sistema imunitário relacionadas com a idade têm impacto no aumento do risco de infeções e de doenças como o cancro, a diabetes e as doenças auto-imunes, o que faz destas alterações um dos principais fatores que influenciam a esperança de vida, a mortalidade e a sobrevivência dos animais de estimação. As alterações relacionadas com a idade incluem o comprometimento da resposta imunitária mediada por células, com redução da resposta proliferativa dos linfócitos sanguíneos aos mitógenos e redução da hipersensibilidade cutânea retardada. Além disso, verifica-se um declínio na resposta imunitária humoral, provavelmente relacionado com a diminuição da funcionalidade das células Th (Pereira et al., 2019; Rutherford-Markwick & Thomas, 2016). O stress crónico resulta, também, em imunossupressão, com respostas diminuídas às vacinas, uma redução do número de linfócitos devido à apoptose após a ativação do eixo IL-10/ STAT3, uma diminuição da proliferação de linfócitos induzida por mitógenos, uma diminuição da função das células NK, uma produção alterada de citocinas e uma diminuição da imunidade mediada por células da pele, o que conduz a uma cicatrização mais lenta das feridas e a um risco acrescido de doenças infecciosas, com a gravidade da doença a aumentar à medida que a duração do stress aumenta (Rutherford-Markwick & Thomas, 2016).

3.1.4. Modo de Utilização e Conservação dos Produtos

Ao analisar as informações associadas aos ACC, foram vários os modos de utilização dos produtos e formas de conservação, tal como descritos na tabela 7.

Tabela 7. Modo de utilização e de conservação referidos nos Alimentos Compostos Complementares analisados.

Modo de Utilização/Conservação	Frequência	
Guardar num local fresco e seco	16	36,4%
De preferência, dar com/sem comida	11	25,0%
Disponibilizar água fresca, potável e limpa ao animal	9	20,0%
Proteger da luz solar direta	4	9,1%
Agitar caso seja necessário	3	6,8%
Servir à temperatura ambiente	3	6,8%
Manter um intervalo de 2 horas entre o uso do ACC e outros medicamentos e preparações contendo vitamina C	2	4,5%
Depois de aberto, conservar em ambiente refrigerado e consumir até 2 dias	1	2,3%
Se misturado na água, esta deve ser renovada, pelo menos, uma vez por dia, para não alterar propriedades organoléticas do produto nem criar depósito	1	2,3%
Deve-se adicionar o ACC a carne crua ou cozinhada	1	2,3%
Não administrar o ACC diretamente na boca do animal	1	2,3%
Não misturar em alimentos completos (ex: comida húmida para gato)	1	2,3%
O pó pode ser misturado com um pouco de água ou óleo para a adição à ração seca ou caso seja necessário	1	2,3%
Os comprimidos podem ser fracionados, esmagados ou mastigados para facilitar a ingestão	1	2,3%
Se necessário, abrir a cápsula e misturar o conteúdo na ração. Se a ração for seca, humedecer ligeiramente, para assegurar boa absorção do conteúdo	1	2,3%

A informação para “guardar num local fresco e seco” foi o modo de conservação mais referido (16; 36,4%), enquanto que o “administrar o ACC com ou sem comida” foi o modo de utilização mais observado nos websites, estando associado a 11 produtos (25,0%). Esta informação prende-se, maioritariamente, com a absorção e efeitos gastrointestinais dos ingredientes. Um dos ACC continha na sua composição o cogumelo *C. versicolor*, sendo recomendada a administração antes das refeições. A justificação deve-se ao facto de os cogumelos medicinais serem melhor

absorvidos com o estômago vazio (Blagodatski et al., 2018). No entanto, são também exemplos de cogumelos medicinais o maitake (*G. frondosa*), o reishi (*G. lucidum*) e o shiitake (*L. edodes*), sendo que os ACC contendo na sua composição estes ingredientes não apresentavam esta precaução de uso, nos websites.

3.1.5. Precauções de Uso/Interações/Efeitos Adversos dos Produtos

A tabela seguinte (tabela 8) enumera as precauções de uso, interações e efeitos adversos associados aos produtos disponíveis para venda nos websites analisados.

Tabela 8. Precauções de uso/Interações/Efeitos adversos referidos nos Alimentos Compostos Complementares analisados.

Precaução de uso/Outras informações	Frequência	
É recomendada a consulta a um veterinário antes da utilização	7	15,9%
Manter fora do alcance de crianças e animais	6	13,6%
Não utilizar em gatas/cadelas grávidas ou lactentes	4	9,0%
Precaução especial no caso de animais que utilizem esteroides	1	2,3%
Em caso de overdose acidental, contactar logo um profissional de saúde	1	2,3%
Caso seja necessário utilizar antibiótico de largo espectro, a suplementação deve ser interrompida e reiniciada 14 dias após o término do antibiótico	1	2,3%
O uso do ACC a longo prazo pode causar ou contribuir para a retenção de água, hipertensão e outros efeitos colaterais semelhantes à cortisona	1	2,3%
Uso não recomendado em casos de intolerância hereditária ou hipersensibilidade a qualquer composto do produto	1	2,3%
Se a condição do animal piorar ou não melhorar, interromper o uso do ACC e consultar o veterinário	1	2,3%
Não administrar em animais com problemas gastrointestinais ou com patologias da tiroide (hipotireoidismo e hipertireoidismo)	1	2,3%

O facto de não se recomendar a utilização de alguns dos ACC em fêmeas grávidas ou lactentes deve-se ao facto de o uso seguro dos ACC em questão em animais com estas condições não ter sido comprovado.

A precaução de espaçar a administração do ACC relativamente a antibióticos e outros medicamentos e a de evitar a administração a animais de estimação com problemas da tiroide ou que estejam a utilizar esteroides está relacionada com o risco acrescido de interações farmacológicas. Sabe-se que o uso de produtos contendo vitaminas, minerais e fitoterápicos está a aumentar em humanos e animais. Assim sendo, e tal como nos humanos, também o risco de interações pode surgir na população animal, podendo estes produtos diminuir a absorção de medicamentos, inibir ou induzir a depuração dos medicamentos ou exacerbar os efeitos farmacológicos, como a atividade antiplaquetária ou anticoagulante. Apesar de a investigação sobre interações clinicamente relevantes entre medicamentos e suplementos estar a expandir, ainda são escassos os dados em animais (neste caso, animais de companhia). Desta forma, o risco de interações deve basear-se principalmente no que é conhecido em humanos e em modelos animais experimentais (Goodman & Trepanier, 2005).

Dos ACC analisados, apenas 2 deles disponibilizavam informações referentes a precauções relativas a potenciais interações entre o próprio produto e outros ingredientes/fármacos, nomeadamente com o uso antibióticos e vitamina C. Para além destas duas interações, existem outras na literatura e que não se encontram descritas nos produtos. Por exemplo, a interação potencialmente grave da vitamina E com anticoagulantes. A vitamina E pode exacerbar o efeito anticoagulante da varfarina. Num estudo em que cães tomavam varfarina diariamente e foram suplementados com 400 UI de vitamina E/dia, estes desenvolveram uma coagulopatia profunda que não estava presente em cães administrados apenas com varfarina. Assim, a suplementação de vitamina E deve ser evitada aquando do tratamento com varfarina ou outros anticoagulantes relacionados (Goodman & Trepanier, 2005).

Também os minerais catiónicos divalentes ou multivalentes, como o cálcio, ferro e zinco podem interagir com medicamentos administrados por via oral por meio de quelação ou adsorção, tornando os medicamentos indisponíveis para absorção sistémica e reduzindo a sua eficácia. Os medicamentos que são significativamente afetados pela quelação com catiões multivalentes incluem fluoroquinolonas, tetraciclina, doxiciclina e penicilina. Por exemplo, quando a ciprofloxacina é administrada concomitantemente com antiácidos contendo alumínio ou magnésio em humanos, a biodisponibilidade deste antibiótico é de apenas 15%. Mesmo quando a ciprofloxacina é administrada 2 horas após o antiácido, a sua biodisponibilidade relativa é de apenas 23%. No entanto, administrar ciprofloxacina primeiro, seguida pelo antiácido 2 horas depois, não afeta negativamente a sua biodisponibilidade. Embora estudos comparáveis não

tenham sido conduzidos em cães e gatos, seriam esperadas interações semelhantes para fluoroquinolonas e antiácidos, quelantes de fosfato ou sucralfato em uso veterinário (Goodman & Trepanier, 2005).

A suplementação com potássio em animais que também utilizam terapêutica com inibidores da enzima conversora de angiotensina (IECA) ou espironolactona pode aumentar o risco de hipercalemia. Assim sendo, os níveis séricos de potássio devem ser monitorizados (Goodman & Trepanier, 2005).

Por último, o uso de certos fitoterápicos pode estar, também, associado a uma diminuição da eficácia de certos medicamentos. Um estudo de Doran et al. (2022) investigou a interação entre o canabidiol (CBD) e o fenobarbital, no tratamento da epilepsia e foi observado que a coadministração de CBD afetou os níveis plasmáticos de fenobarbital nos cães, sugerindo uma potencial interação farmacocinética e necessidade de monitoramento. Do mesmo modo, um estudo de Al-Jenoobi et al. (2015) avaliou o efeito do uso de feno-grego, do agrião e da semente preta na farmacocinética da teofilina em cães beagle, chegando-se à conclusão de que o uso concomitante destes fitoterápicos com a teofilina altera o seu comportamento farmacocinético. De notar que estas potenciais interações requerem mais estudos (Goodman & Trepanier, 2005).

A presença das potenciais interações/efeitos adversos na rotulagem é importante, tendo em consideração que os casos de envenenamento por plantas em animais são subnotificados e/ou mal diagnosticados. Apesar do reconhecimento de que muitas plantas são tóxicas para animais, como cães, incluindo azáleas (género *Rhododendron*), ranúnculos (género *Ranunculus*), cerejas, lírios do vale (género *Convallaria*) e ruibarbo (género *Rheum*), ainda é escassa a documentação sobre os possíveis efeitos adversos e interações de preparações à base de plantas usadas pelos donos de animais de companhia (Byard & Musgrave, 2021). Numa série de 47 cães que ingeriram um suplemento à base de plantas contendo guaraná e efedra, a maioria dos animais sofreu manifestações clínicas, incluindo alterações comportamentais, vômitos, taquicardia, hipertermia e convulsões, com a morte a ocorrer em 17% dos casos (Ooms et al., 2001). Também o poejo usado para tratar infestações de pulgas contém um componente que aparentemente poderá ter causado vômitos, diarreia e hemoptise, com a morte em 48 horas num cão medicado (Sudekum et al., 1992). O alho causou danos nos glóbulos vermelhos em cães e anemia em cavalos que foram alimentados com preparações liofilizadas (Lee et al., 2000). Para além disso, são cerca de 45 os casos de ingestão acidental de medicamentos contendo espécies de equinácea de 1992 a 2000 que causaram vômitos e produção salivar excessiva (Byard & Musgrave, 2021).

3.2. Evidências Científicas dos Ingredientes Presentes nos Alimentos Compostos Complementares

É importante realçar que os progressos registados nos últimos 20 anos no domínio da imunologia humana e dos animais de companhia permitiram aprofundar a investigação sobre a forma como a nutrição e a imunomodulação do hospedeiro estão interligadas para alterar a sua saúde. O interesse em relacionar a nutrição e a imunologia tem permitido compreender como a saúde/doença progredem ao longo do tempo e como a nutrição pode melhorar a imunidade. Considerando apenas a perspetiva imunológica, os compostos usados para investigar a imunidade dos animais de companhia ficam aquém dos disponíveis para os modelos humanos, porém avançaram bastante desde o início da década de 1990 (Bobeck, 2020).

Exemplos de alimentos que beneficiam a saúde incluem os ácidos gordos da série ómega-3, os produtos com levedura e alguns componentes das plantas, como as fibras e os óleos essenciais. Podem também ser incluídas algumas vitaminas e minerais que têm um benefício para a saúde. A dieta poder afetar a imunidade, tanto de forma positiva como de forma negativa: 1) nutrindo as células do sistema imunitário (que é o caso de todos os nutrientes); 2) nutrindo o agente patogénico (no caso da biotina/ferro); 3) modificando a resposta dos leucócitos (no caso dos ómegas, vitaminas A, D e E); 4) protegendo contra a imunopatologia (no caso dos ómegas e vitamina E); 5) influenciando a microbiota gastrointestinal (no caso das fibras); e 6) estimulando o sistema imunitário (no caso das lectinas e antigénios proteicos) (Bobeck, 2020).

Pela recolha online, realizada na primeira parte do trabalho, identificaram-se 73 ingredientes diferentes nos ACC para cães e gatos, com indicação de uso no sistema imunitário (13 vitaminas, 11 minerais, 11 aminoácidos, 22 plantas/extratos de plantas e 16 outros ingredientes).

Em relação às **plantas medicinais/extratos de plantas** presentes nos ACC, e após a pesquisa de evidências científicas quanto ao seu uso em cães, com efeitos no sistema imunitário, foram encontrados alguns estudos cuja análise encontra-se descrita na tabela 9.

Segundo o Regulamento (UE) n.º 2022/1104 de 1 julho, no caso das plantas e seus derivados, podem ser utilizadas na alimentação animal, as cascas, flores e folhas secas. Estas designações devem ser completadas, conforme adequado, com a espécie de planta (Regulamento (UE) n.º 2022/1104 de 1 de julho).

Foram analisados 7 estudos, todos realizados em cães, a maioria da raça beagle. Os estudos foram realizados com 8 das 22 plantas identificadas nos ACC, nomeadamente: o cânhamo (C.

sativa), ginseng (*P. ginseng*), equinácea (*Echinacea* sp.), aveia (*A. sativa*), mirtilo (*V. myrtillus*), curcuma (*C. longa*), cardo-mariano (*S. marianum*), e a esculetária (*S. baicalensis*).

O cânhamo é conhecido por ser rico em ácidos gordos e em compostos anti-inflamatórios. Atualmente, o desenvolvimento de aditivos para a nutrição animal tem atraído grande atenção, de modo a garantir a ingestão adequada de nutrientes. Entre estes, destaca-se o óleo de cânhamo como uma fonte benéfica de ácidos gordos, devido ao seu elevado teor em ácidos gordos poliinsaturados (80%). Em particular, a proporção de 3:1 de ómega-6 para ómega-3 tem sido recomendada para uma dieta saudável (Xin et al., 2022). São escassos os estudos sobre o óleo de cânhamo como suplemento dietético para animais de companhia, sendo estes estudos essenciais para a integração do cânhamo nos alimentos para animais de forma segura e eficaz. No estudo de Xin et. (2022), analisaram a suplementação de óleo de cânhamo nas dietas de cães, com avaliação da digestibilidade aparente dos nutrientes e determinação de parâmetros bioquímicos sanguíneos. O objetivo foi obter a quantidade ideal deste suplemento em animais de estimação, para um consumo seguro e de qualidade. Concluiu-se que a adição de óleo de cânhamo nas dietas dos cães melhorou a digestibilidade de nutrientes como matéria seca, proteína bruta e gordura bruta. Observou-se ainda que esta suplementação aumentou os níveis de proteínas totais, albumina e globulina no sangue, além de fortalecer o sistema imunológico dos cães, com um aumento nos níveis de IgE e de interferão γ . Adicionalmente, registou-se um aumento na capacidade antioxidante e uma redução nos marcadores de stress oxidativo. Com base nos resultados, recomenda-se uma suplementação de óleo de cânhamo entre 1-2% para otimizar os benefícios imunológicos, sem a ocorrência de efeitos adversos.

Relativamente ao enquadramento legal sobre a utilização de cânhamo e produtos derivados, incluindo o CBD, em alimentos para animais, tais como os alimentos para animais de companhia, deve seguir-se o descrito no Esclarecimento Técnico n.º 1/DGAV/2024 e no Regulamento (UE) n.º 2022/1104. De acordo com o Regulamento (UE) n.º 2022/1104 de 1 de julho, existem, atualmente, cinco entradas para produtos provenientes do cânhamo: 1) sementes de cânhamo, bagaço de cânhamo por pressão, óleo de sementes de cânhamo, farinha de cânhamo e fibra de cânhamo. Apenas as sementes de cânhamo provenientes de variedades controladas e certificadas, bem como os derivados das mesmas e caules, estão autorizadas como matérias-primas para a alimentação animal. Além disso, não existe autorização do CBD como aditivo, destinado à alimentação animal (Esclarecimento Técnico n.º 1/DGAV/2024; Regulamento (UE) n.º 2022/1104 de 1 de julho).

O ginseng foi outra planta analisada num estudo com cães. Trata-se de uma planta amplamente utilizada pelas suas propriedades adaptogénicas, podendo ajudar a modular o stress e a reforçar a imunidade, face aos seus compostos ativos, nomeadamente os ginsenósidos (Yoon et al., 2020). O estudo de Yoon et al. (2020) avaliou a suplementação de ginseng preto, tendo identificado mudanças significativas no perfil metabólico dos cães de raça beagle, que incluíram alterações nos níveis lipídicos e nos aminoácidos no sangue, sugerindo um impacto positivo no metabolismo geral. O ginseng preto pode ajudar no controlo da glicose e na saúde cardiovascular, apresentando também propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias. A administração deste extrato promoveu um aumento da concentração de aminoácidos de cadeia ramificada (BCAAs) no sangue dos cães suplementados, importantes no crescimento e proliferação de linfócitos (Yoon et al., 2020).

A equinácea é outra planta muito conhecida e utilizada para reforço do sistema imunitário, tanto em humanos como em animais. São três, as espécies vegetais de interesse medicinal, nomeadamente, a *E. angustifolia*, a *E. purpurea* e a *E. pallida* (Manayi et al., 2015). São vários os compostos ativos presentes nas raízes, folhas e flores da planta e que contribuem para os seus efeitos terapêuticos. Apesar de variarem ligeiramente consoante a espécie, incluem derivados do ácido cafeico, principalmente equinacósidos (com propriedades antioxidantes), as alcanidas (efeitos imunomoduladoras regulando as respostas do sistema imunológico e algumas infeções), os ácidos fenólicos e ácido rosmarínico (com propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes), e os poliacetilenos (com propriedades anticancerígenas). No caso da atividade imunoestimulante, todos os compostos parecem atuar em sinergia (S.-D. Lin et al., 2011; Manayi et al., 2015).

Os principais mecanismos envolvidos na atividade imunoestimulante são a ativação da fagocitose, a estimulação de fibroblastos e o aumento da atividade respiratória, que resulta no aumento da mobilidade dos leucócitos (Manayi et al., 2015; Sgorlon et al., 2016). No estudo de Sgorlon et al. (2016), a atividade do extrato de *E. angustifolia* (2%) foi evidenciada pela diminuição da expressão de TNF e NFkB1, e dos níveis de ceruloplasmina plasmática (CuCp) assim como pelo aumento do zinco plasmático. Por sua vez, Reichling et al. (2003) demonstraram que uma preparação padronizada de raiz em pó de *E. purpurea* pode ser um tratamento alternativo aceitável para infeções crónicas e sazonais do trato respiratório, em cães.

Relativamente à aveia, do que se sabe, o estudo de Ferreira et al. (2018) foi o primeiro a avaliar os efeitos do uso de β -glucanos extraídos da aveia, como suplemento alimentar para cães. Este estudo concluiu que o extrato contendo β -glucano pode ser utilizado como suplemento alimentar

para cães na dose de 10 g/kg de alimento, sendo eficaz na redução das concentrações sanguíneas de colesterol total, e das lipoproteínas de baixa densidade (LDL). Para além dos efeitos fisiológicos, nomeadamente na prevenção de doenças cardiovasculares, o β -glucano ativou os leucócitos/macrófagos e promoveu a função imunológica, aumentando os níveis de imunoglobulina e de células NK e *Tkiller* (Ferreira et al., 2018; Kim et al., 2021).

Outras plantas estudadas foram o mirtilo, a curcuma e o cardo-mariano. No caso do *V. myrtillus*, os seus frutos e folhas têm sido utilizados na medicina tradicional europeia para o tratamento de feridas, cólicas, diarreia, doenças renais, tratamento dos estadios iniciais da diabetes tipo II e da hipertensão (Skrovankova et al., 2015).

As antocianinas, responsáveis pela cor típica dos frutos, representam os principais compostos ativos, sendo responsáveis pela sua atividade antioxidante. No estudo de Sgorlon et al., (2016), o suplemento com *V. myrtillus* diminuiu os níveis de TNF, quimiocina (motivo C-X-C) ligando 8 (CXCL8), fator nuclear kappa B subunidade 1 (NFKB1) e prostaglandina-endoperóxido sintase 2 (PTGS2), assim como a CuCp (Sgorlon et al., 2016). Por sua vez, a *C. longa* é uma planta cujo rizoma contém curcuminóides, que incluem a curcumina. Os usos terapêuticos sugeridos para a curcumina baseiam-se nas suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias. No estudo de Sgorlon et al., (2016), a administração da planta causou uma diminuição de CuCp e um aumento de zinco plasmático, apesar de ter regulado negativamente os níveis de TNF, CXCL8, NFKB1 e PTGS2. O estudo corroborou a ação anti-inflamatória dos curcuminóides (Sgorlon et al., 2016). O *S. marianum* é uma planta cujo principal componente ativo é a silimarina, um fitocomplexo com diferentes flavonoides, entre os quais a silibina, isosilibina, silicristina e a silidianina. A silimarina tem várias ações benéficas no tratamento de doenças hepatobiliares, face às propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e antifibróticas. O estudo de Sgorlon et al., (2016), confirmou as suas atividades antioxidantes e protetoras do fígado. De realçar que tanto a curcuma, como o cardo-mariano foram fornecidos, no estudo analisado, na forma de um complexo fitossomal, para aumentar a biodisponibilidade dos seus compostos ativos (Sgorlon et al., 2016).

Por fim, analisou-se um estudo com uma mistura de duas plantas, a *S. baicalensis* e a *A. catechu*. A eficácia desta mistura é o resultado dos seus constituintes ativos, nomeadamente da baicalina e catequinas, respetivamente. Estes compostos possuem atividades anti-inflamatórias e antimicrobianas (Dinda et al., 2017), com efeito na doença periodontal (Yimam et al., 2019).

Tabela 9. Estudos com as plantas medicinais/extratos identificados nos Alimentos Compostos Complementares, em cães, com efeito no sistema imunitário.

Referência	Planta/Extrato ou Suplemento	Amostra	Tratamento	Principais Resultados
Xin et al., 2022	Óleo de cânhamo	25 cadelas saudáveis com idades entre 1 e 2 anos divididas em 5 grupos (A, B, C, D, E)	A suplementação de óleo de cânhamo na dieta foi de 0% (A – controlo), 0,5% (B), 1% (C), 2% (D) e 4% (E). <i>Duração do estudo:</i> 45 dias. Recolha de sangue para determinação de parâmetros bioquímicos.	<ul style="list-style-type: none"> • O óleo de cânhamo aumentou a capacidade imunitária relacionada com a IgE e γ-interferão (203–347 kU/L e 23,04–25,78 ng/L). • No geral, os suplementos com óleo de cânhamo melhoraram a digestibilidade de nutrientes, o metabolismo sanguíneo, a imunidade e capacidade antioxidante (dose recomendada: 1–2%).
Yoon et al., 2020	Extrato de ginseng preto (<i>Panax ginseng</i>)	4 cães beagle saudáveis (2 fêmeas e 2 machos), com idades entre 2 e 3 anos, e peso corporal entre 8 a 12 kg	<i>Grupo experimental:</i> cães alimentados com dois comprimidos de extrato de ginseng preto (400 mg/10 kg/dia), durante 8 semanas. Recolha de sangue após 0, 4, e 8 semanas.	<ul style="list-style-type: none"> • Aumento da isoleucina, leucina e valina (BCAAs) após a alimentação com ginseng preto. • Aumento da alanina, glutamina e histidina após a alimentação com extrato de ginseng preto. • Os BCAAs parecem estar relacionados com a função imune, participando no crescimento e proliferação de linfócitos. • As alterações observadas em alguns metabolitos são indicativas de melhorias na saúde, tais como aumento da imunidade e aumento do metabolismo energético.

Tabela 9. Estudos com as plantas medicinais/extratos identificados nos Alimentos Compostos Complementares, em cães, com efeito no sistema imunitário (Cont.).

Referência	Planta/Extrato ou Suplemento	Amostra	Tratamento	Principais Resultados
Yimam et al., 2019	Mistura (UP446) com baicalina (<i>S. baicalensis</i>) e catequinas (<i>A. catechu</i>)	20 beagles (machos e fêmeas) com doença periodontal induzida pela idade, divididos em 4 grupos (5 cães)	<p><i>Grupo placebo:</i> dieta normal para cães (25 g/kg/dia).</p> <p><i>Grupo controle:</i> dieta normal (25 g/kg/dia) e doxiciclina (5 mg/kg).</p> <p><i>Grupos experimentais:</i> (1) dieta regular contendo 0,1% de UP446; (2) dieta regular contendo 0,2% UP446.</p> <p><i>Duração do estudo:</i> 12 semanas.</p>	<ul style="list-style-type: none"> A doença periodontal é uma doença inflamatória gengival causada pela formação de placa bacteriana que desencadeia respostas imunitárias e inflamação. UP446 administrado a cães durante 12 semanas (0,1% e 0,2%) resultou em reduções significativas na gengivite e hemorragia gengival. UP446 possui atividade <i>in vitro</i>, com inibição da COX e LOX e diminuição da regulação da expressão dos genes COX-2, TNF-α, IL-1β, IL-6 e NF-κB.
Ferreira et al., 2018	Dieta suplementada com β -glucano extraído da aveia	14 cães beagle adultos saudáveis, com idade de 6,14 \pm 3,13 anos e peso de 16,2 \pm 3,2 kg, distribuídos por 2 grupos	<p><i>Grupo 1:</i> dieta controle.</p> <p><i>Grupo 2:</i> dieta suplementada com β-glucano a 1% (extraído da aveia).</p> <p><i>Duração do estudo:</i> 71 dias.</p> <p>Recolha de sangue (dias 0, 57 e 71) para determinação de parâmetros bioquímicos, fisiológicos, imunológicos.</p> <p>Dia 50: 1ª dose da vacina (Pneumodog®); dia 64: 2ª dose.</p>	<ul style="list-style-type: none"> Aumento do número de hemácias e concentração de hemoglobina, 7 dias após a segunda dose da vacina em animais que receberam a suplementação. A suplementação com β-glucano reduziu as concentrações séricas de IL-4 7 dias após a primeira dose da vacina. Este resultado sugere que o extrato de β-glucano é capaz de inibir o desenvolvimento de uma resposta Th2. Extrato com β-glucano, extraído de aveia, pode ser utilizado como suplemento dietético para cães na dose de 10 g/kg de alimento, com vantagem na estimulação da resposta imune de cães vacinados.

Tabela 9. Estudos com as plantas medicinais/extratos identificados nos Alimentos Compostos Complementares, em cães, com efeito no sistema imunitário (Cont.).

Referência	Planta/Extrato ou Suplemento	Amostra	Tratamento/Parâmetros Recolhidos	Principais Resultados
Sgorlon et al., 2016	Quatro suplementos, com uma das seguintes plantas: <ul style="list-style-type: none"> • <i>Echinacea angustifolia</i> • <i>Vaccinium myrtillus</i> • <i>Curcuma longa</i> • <i>Sylibum marianum</i> 	74 cães (> 2 anos de idade e de tamanho médio-largo) divididos em grupo controle e grupos experimentais	<p><i>Grupo controle</i>: dieta controle (21 cães)</p> <p><i>Grupos experimentais</i>: dieta controle + suplemento, por 60 dias:</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>E. angustifolia</i>, 0,10 mg/kg, como equinacósidos, 14 cães saudáveis; • <i>V. myrtillus</i>, 0,20 mg/kg, como antocianidinas, 13 cães saudáveis; • <i>C. longa</i>, 6,60 mg/kg, como curcumina, 18 cães com artrose; • <i>S. marianum</i>, 1,5 mg/kg, como silibina, 8 cães com hepatopatia. <p>Recolha de sangue para determinação de parâmetros bioquímicos e expressão de genes.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>V. myrtillus</i>: redução na regulação de TNF, CXCL8, NFKB1, PTGS2 e diminuição da CuCp. • <i>E. angustifolia</i>: diminuição da expressão de TNF e NFKB1 e dos níveis de CuCp; aumento do zinco plasmático. • <i>C. longa</i>: diminuição de CuCp, aumento de zinco e diminuição na regulação de TNF, CXCL8, NFKB1 e PTGS2, comprovando a ação anti-inflamatória dos curcuminóides. • <i>S. marianum</i>: após 60 dias, redução da atividade plasmática de ALT/GPT, aumento da paraoxonase, apoiando a atividade antioxidante da silimarina, confirmada pela regulação significativa da SOD2.
Torkan et al., 2015	<i>Echinacea</i> sp. (Extrato etanólico 50%)	14 cães machos de raças mistas saudáveis alocados a 2 grupos (tratamento e placebo)	<p><i>Grupo placebo</i>: 1 mL de água, 2x/dia, durante 2 meses.</p> <p><i>Grupo de tratamento</i>: 1 mL do extrato a 5%, 2x/dia, durante 2 meses.</p> <p>Recolha de sangue para determinação de parâmetros hematológicos e imunológicos.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • No grupo com extrato, os níveis de hemoglobina, glóbulos brancos e vermelhos, linfócitos, neutrófilos, assim como a percentagem de fagocitose e IgM aumentaram significativamente. • O extrato de <i>Echinacea</i> parece ter uma atividade imunoestimulante.

Tabela 9. Estudos com as plantas medicinais/extratos identificados nos Alimentos Compostos Complementares, em cães, com efeito no sistema imunitário (Cont.).

Referência	Planta/Extrato ou Suplemento	Amostra	Tratamento/Parâmetros Recolhidos	Principais Resultados
Reichling et al., 2003	Preparação em pó contendo a raiz de <i>Echinacea purpurea</i> (1:3)	41 cães de diferentes raças (23 machos e 18 fêmeas), (0,3-13 anos de idade e 3,5 kg-70 kg de peso) com pelo menos uma das situações: tosse do canil, bronquite, faringite/amigdalite	<i>Grupo de tratamento:</i> Equinácea em pó administrada aos cães, misturada com alimento húmido, numa dose diária de 1 g (correspondente a 0,3 g de Equinácea) por 10 kg de peso corporal, 1x/ dia. <i>Grupo controlo:</i> ausente. <i>Duração do estudo:</i> 8 semanas. Foram colhidas amostras de sangue para análise hematológica e química clínica.	<ul style="list-style-type: none"> A eficácia global demonstrou melhoria em 92% dos 39 cães após 4 semanas de tratamento e isto foi confirmado após 8 semanas. Após 4 semanas, reduções significativas da gravidade e resolução dos sintomas clínicos típicos de infeções respiratórias superiores, nomeadamente: diminuição das secreções nasais, do tamanho dos gânglios linfáticos, da tosse seca, dispneia e sons pulmonares secos. A <i>E. purpurea</i> modula e estimula de forma não específica o sistema imunitário por ativação da capacidade fagocítica dos granulócitos e macrófagos e sua secreção de citocinas.

ALT/GPT: alanine transferase; BCAAs: aminoácidos de cadeia ramificada; COX: cicloxigenase; CuCp: ceruloplasmina plasmática; CXCL8: quimiocina (motivo C-X-C) ligando 8; IgE: imunoglobulina E; IL-4: interleucina 4; IL-6: interleucina 6; IL-1 β : interleucina 1 beta; IgM: imunoglobulina M; LOX: lipoxigenase; NFKB1: fator nuclear kappa B subunidade 1; PTGS2: prostaglandina-endoperóxido sintase 2; SOD2: superóxido dismutase mitocondrial 2; Th2: células T auxiliares (*helper*) do tipo 2; TNF: fator de necrose tumoral; TNF- α : fator de necrose tumoral alfa.

Para o grupo das algas, a pesquisa identificou 3 estudos sobre o seu uso para reforço da imunidade em cães (Tabela 10). Satyaraj et al. (2021) investigaram os efeitos da *spirulina*, destacando as suas propriedades imunomoduladoras. É uma alga rica em antioxidantes (ex: β -caroteno, tocoferóis) e proteínas, com resultados promissores na modulação da resposta imunitária, nomeadamente ao nível do aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias, sugerindo um efeito positivo na ativação da resposta imune inata (Satyaraj et al., 2021). Nos últimos anos, têm sido identificados benefícios da *spirulina*, incluindo efeitos imunoestimulantes, antioxidantes, anti-inflamatórios, antibacterianos e antivirais. A *spirulina* pode ainda modular as respostas imunitárias celulares e humorais. Em termos de respostas imunitárias celulares, há relatos de que esta alga tem uma ação específica nos monócitos e nas células NK, componentes do sistema imunitário inato (Hayashi et al., 1994; Satyaraj et al., 2021). O estudo analisado, de Satyaraj et al. (2021) demonstrou que a suplementação de 0,2% de *S. platensis* em pó, na dieta de cães, foi associada a uma melhoria significativa da saúde imunitária e intestinal.

Segundo o Regulamento (UE) n.º 2022/1104, de 1 de julho, no caso das algas e seus derivados podem utilizar-se na alimentação animal algas vivas ou processadas, incluindo algas frescas, refrigeradas ou congeladas; assim como algas secas. Pode ainda ser utilizado o bagaço, óleo e farinha de algas marinhas (Regulamento (UE) n.º 2022/1104 de 1 de julho).

Do mesmo modo, o estudo com *Schizochytrium sp.*, uma alga rica em ácidos gordos ómega-3, destacou-se pelos seus efeitos positivos na resposta imunitária em cães, ainda que menos evidentes em comparação com a *spirulina* (Souza et al., 2019). A inclusão de ómega-3 em dietas melhora o perfil nutricional e modula a resposta inflamatória. Neste sentido, os ácidos gordos eicosapentaenóico (EPA) e docosahexaenóico (DHA) são importantes, sendo precursores de eicosanóides (prostaglandinas, leucotrienos, tromboxanos e prostaciclina), reduzindo a inflamação (Calder, 2012). O DHA modula a resposta inflamatória, a capacidade cognitiva, o neurodesenvolvimento, e o sistema imunológico. Quando o consumo de DHA é insuficiente nos cães, torna-se necessário o consumo de alimentos ou suplementos ricos neste ácido gordo (Lenihan-Geels et al., 2013). As microalgas do género *Schizochytrium* são potenciais alternativas às fontes convencionais de ómega-3, dado o seu valor nutricional e alta concentração de DHA (aproximadamente 20%) (Souza et al., 2019). O estudo de Souza et al. (2019) demonstrou que a inclusão de 0,4% da microalga na dieta influenciou positivamente a taxa de ingestão e a primeira escolha pelos cães, tratando-se de um ingrediente palatável. É possível que o sabor da microalga (peixe) tenha sido responsável pelo interesse dos cães e influenciado na preferência alimentar. A

adição da microalga na dieta como fonte de DHA é palatável para cães e aumenta a digestibilidade dos nutrientes. Além disso, aumenta as células fagocíticas e a intensidade de fagocitose de monócitos no sangue e exibe estabilidade oxidativa superior ao óleo de anchova. No entanto, não altera as características fecais, o perfil bioquímico e o hemograma sanguíneo de cães (Souza et al., 2019). Também o estudo de Wei et al. (2024) analisou os efeitos da *Schizochytrium sp.*. Neste caso, esta microalga encontrava-se presente na dieta numa mistura com um hidrolisado proteico da larva da mosca soldado negra (Wei et al., 2024).

As proteínas de insetos têm sido cada vez mais consideradas como uma alternativa à farinha de frango e peixe na indústria de dietas comerciais. Um exemplo recente é o das larvas da mosca soldado negra (BFSP), que possuem um enorme potencial como novo substituto, especialmente no mercado de animais de estimação, devido à sua composição nutricional única, incluindo elevado teor proteico, abundância de aminoácidos, ácido dodecanóico, minerais e vitaminas essenciais (Belghit et al., 2018). Recentemente, a síntese deste hidrolisado e a sua identificação funcional têm atraído grande atenção na indústria. O BFSP apresenta menor alergenicidade, contém uma grande quantidade de aminoácidos essenciais e, após hidrólise enzimática, produz pequenos péptidos bioativos, como antioxidantes e componentes imunoestimulantes. Além disso, o BFSP apresenta uma potente capacidade antioxidante, reduzindo a produção de espécies reativas de oxigénio e aliviando o stress oxidativo (Leni et al., 2020). A adição de 1% de BFSP à dieta também pode melhorar o desempenho de crescimento, aumentar a resistência a doenças, potenciar a capacidade antioxidante e promover a saúde intestinal e a microbiota, como demonstrado em estudos com robalo (Xu et al., 2021).

O estudo de Wei et al., (2024) tinha como objetivo avaliar a palatabilidade, a presença de diarreia, efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios, e a função imunológica em cães beagle ao suplementar uma mistura de hidrolisado proteico de BFSP e *Schizochytrium sp.*, nas suas dietas. Os resultados mostraram que o hidrolisado apresentou uma alta aceitabilidade, indicando tratar-se de uma boa fonte de proteína em termos de palatabilidade. Para além disso, as dietas impactaram positivamente os níveis de metabolitos sanguíneos, o que sugere um melhor aproveitamento dos nutrientes. Com o aumento significativo das concentrações de IgA e IgG no plasma sanguíneo dos cães dos grupos de 10% e 15% de BFSP, concluiu-se que as estas dietas suplementadas aumentaram significativamente a palatabilidade, a função imunológica e a capacidade antioxidante e anti-inflamatória para aliviar a diarreia e melhorar a saúde geral dos cães beagle.

Tabela 10. Estudos com as algas identificadas nos Alimentos Compostos Complementares, em cães, com efeito no sistema imunitário.

Referência	Alga	Amostra	Tratamento	Principais Resultados
Wei et al., 2024	Mistura de hidrolisado proteico de larvas de mosca-soldado-negro (BFSP) e <i>Schizochytrium sp.</i> na dieta	<i>Experiência I:</i> 24 cães beagle jovens (16 machos e 8 fêmeas; 4-5 meses; peso: 6,40 ± 0,15 kg). <i>Experiência II:</i> 18 cães beagle jovens (12 machos e 6 fêmeas; 4-5 meses; 6,40 ± 0,15 kg).	<i>Experiência I:</i> cães divididos aleatoriamente em quatro grupos: (1) controlo (CON), (2) 5% BFSP, (3) 10% BFSP, (4) 15% BFSP. Duração: 28 dias. <i>Experiência II:</i> três dietas contendo 5%, 10% e 15% de BFSP avaliadas comparando-as com uma dieta basal (CON) para avaliar a palatabilidade. Recolha do peso corporal, amostras fecais e de sangue.	<ul style="list-style-type: none"> • As concentrações de IgA e IgG no plasma sanguíneo nos grupos de cães suplementados com 10% e 15% de BFSP aumentaram significativamente. • Menores teores de IL-8 foram observados nas dietas BFSP, comparativamente à dieta CON. • As dietas suplementadas com BFSP melhoraram significativamente a palatabilidade, a função imunológica, a capacidade antioxidante e anti-inflamatória, melhorando a saúde geral dos cães beagle.
Satyraj et al., 2021	Spirulina seca (<i>Arthrospira platensis</i>)	30 cães adultos (média de 2,9 anos de idade)	Todos cães vacinados contra o vírus da raiva e foram divididos em 2 grupos. <i>Grupo controlo:</i> recebeu uma dieta nutricionalmente completa, mas sem suplementação. <i>Grupo teste:</i> dieta suplementada com 0,2% de spirulina seca por pulverização, administrada 2x/dia. <i>Duração do estudo:</i> 42 semanas	<ul style="list-style-type: none"> • Os cães alimentados com dietas suplementadas com spirulina demonstraram um melhor estado imunológico, apresentando uma resposta à vacina significativamente mais elevada e níveis mais elevados de IgA fecal em comparação com o grupo controlo. • A suplementação com spirulina também resultou num aumento significativo da estabilidade da microbiota intestinal no grupo teste.

Tabela 10. Estudos com as algas identificadas nos Alimentos Compostos Complementares, em cães, com efeito no sistema imunitário (Cont.).

Referência	Alga	Amostra	Tratamento	Principais Resultados
Souza et al., 2019	<i>Schizochytrium sp.</i> (pó)	16 cães beagle adultos (8 machos, 8 fêmeas, média de 1,5 anos de idade e 10,5 ± 1,8 kg de peso)	Os cães foram divididos em 2 grupos. <i>Grupo controle:</i> recebeu uma dieta nutricionalmente completa, mas sem suplementação. <i>Grupo teste:</i> dieta suplementada com 0,4% de <i>Schizochytrium sp.</i>	<ul style="list-style-type: none"> A percentagem circulante de linfócitos T- CD4 não diferiu entre os grupos, no entanto o número de monócitos e granulócitos foi superior nos animais alimentados com 0,4% da microalga <i>Schizochytrium sp.</i> Observou-se que o DHA derivado de <i>Schizochytrium sp.</i> influenciou positivamente os índices imunológicos e inflamatórios dos cães, sugerindo-se que esta microalga pode ser uma alternativa promissora para suplementação de DHA em dietas de cães, oferecendo benefícios potenciais para a saúde digestiva, imunológica e inflamatória dos animais

BFSP: hidrolisado proteico de larvas de mosca soldado negra; CON: controle; DHA: ácido docosahexaenoico; IgA: imunoglobulina A; IgG: imunoglobulina G; IL-8: interleucina 8; T-CD4: linfócitos auxiliares do tipo CD4

Relativamente ao grupo dos **cogumelos e leveduras**, a pesquisa realizada encontrou 6 estudos para a levedura *S. cerevisiae*, todos eles também realizados em cães (5 com cães da raça beagle e 1 com cães da raça pastor alemão) (Tabela 11).

Segundo o Regulamento (UE) n.º 2022/1104, no caso dos cogumelos e seus derivados podem utilizar-se na alimentação animal fungos secos (cogumelos e/ou micélio secos derivados de fungos comestíveis, ricos em fibras, aminoácidos e polissacáridos). No caso dos produtos e coprodutos obtidos por fermentação utilizando microrganismos, podem utilizar-se leveduras inativadas obtidas, por exemplo, de *S. cerevisiae*, e produtos de leveduras obtidas por rompimento e/ou fracionamento de células de levedura de, por exemplo, *S. cerevisiae*, (Regulamento (UE) n.º 2022/1104 de 1 de julho).

Entre os diversos componentes dietéticos com potencial para modular e estimular a resposta imune, é possível destacar-se a parede celular da levedura *S. cerevisiae* e as suas frações ativas, nomeadamente os mananoligossacarídeos e os β -glucanos (Kroll et al., 2020). As manoproteínas e o seu componente de hidrato de carbono (α -D-manose) são responsáveis pelo reconhecimento, interação célula a célula, interação com o ambiente e especificidade de antigénio de leveduras (Kroll et al., 2020).

Neste sentido, a suplementação com manoproteínas desta levedura pode revelar-se vantajosa na alteração da resposta imune de cães, o que foi alvo de estudo por parte de Kroll et al., (2020) que avaliaram os efeitos de dois níveis de ingestão de manoproteínas nos parâmetros imunológicos de cães adultos e idosos. Chegou-se à conclusão de que os cães alimentados com 400 mg/kg de frações ativas de *S. cerevisiae* obtiveram uma maior atividade fagocítica neutrofílica comparativamente com os cães alimentados com 800 mg/kg (Kroll et al., 2020).

Por sua vez, Stropfová et al. (2021) constataram o efeito prebiótico desta levedura a nível da microbiota intestinal, numa concentração de 0,3% e Wilson et al. (2022) demonstraram que uma dieta suplementada com 0,13% desta levedura levou a uma modulação das populações de linfócitos circulantes, apoiando os principais sistemas de defesa antioxidante através da modulação de algumas enzimas (Wilson et al., 2022).

O estudo de Stuyen et al. (2010) foi o primeiro a avaliar o efeito adjuvante de β -1,3/1,6-glucanos, provenientes da parede celular de *S. cerevisiae*, administrados oralmente em cães saudáveis nas concentrações totais de IgM, IgA e IgG no soro; as concentrações de IgA em lágrimas e saliva; e a resposta de anticorpos específicos do isotipo contra a bactéria *Bordetella*, responsável pela Traqueobronquite Infeciosa dos cães ("Tosse dos Canis"), através da vacinação

com Pneumodog[®] na segunda experiência (Stuyven et al., 2010). Neste estudo, a administração oral de 150 mg de β -1,3/1,6-glucanos de *S. cerevisiae* influenciou a resposta imunológica, dos cães suplementados, de uma forma específica. Observou-se um aumento na concentração sérica de IgM, que é um anticorpo essencial nas respostas imunes iniciais, indicando que os β -glucanos estimularam a ativação precoce do sistema imunitário. Por outro lado, houve uma diminuição nas concentrações de IgA, tanto na mucosa quanto no soro. Como a IgA é crucial para a defesa das superfícies mucosas, nomeadamente o intestino e vias respiratórias, esta redução sugere que os β -glucanos modularam o equilíbrio das respostas imunitárias, possivelmente redirecionando a atividade para outras áreas. No entanto, não se observou qualquer alteração nas concentrações de IgG, o que indica um efeito mais localizado no sistema imunitário da mucosa, sem afetar a imunidade sistêmica a longo prazo mediada por IgG. Concluindo, os dados sugerem que a administração de 150 mg deste ingrediente influencia a resposta imune humoral, possivelmente pela interação inicial das partículas com macrófagos e células dendríticas no intestino, iniciando uma cascata de eventos imunológicos (Stuyven et al., 2010).

Um estudo de de Souza Theodoro et al., (2024) avaliou e comparou os efeitos de duas fontes distintas de β -glucanos: uma fonte purificada extraída da parede celular de *S. cerevisiae* com β -1,3/1,6-glucanos e uma fonte constituída por *E. gracilis* seca com β -1,3-glucanos (de Souza Theodoro et al., 2024). Os polissacarídeos de algas marinhas têm atraído interesse devido às suas potenciais propriedades biológicas (Pomin & Mourão, 2008). A alga unicelular *Euglena gracilis* é considerada uma fonte potencial de β -1,3-glucano, particularmente após o desenvolvimento de métodos de cultivo em larga escala (de Souza Theodoro et al., 2024). Neste sentido, de Souza Theodoro et al. (2024) formularam quatro dietas distintas no seu estudo e chegaram à conclusão de que ambas as fontes de β -glucano, *S. cerevisiae* e *E. gracilis*, têm a capacidade de modular parâmetros imunológicos e inflamatórios em cães. A ingestão de β -1,3/1,6-glucano de *S. cerevisiae* mostrou ativação mediada por células do sistema imunológico, como evidenciado pelos níveis séricos aumentados de IL-2 e índice fagocítico de neutrófilos, enquanto o β -1,3-glucano de *E. gracilis* atuou no sistema imunológico aumentando a produção de óxido nítrico por monócitos, índice fagocítico de monócitos e neutrófilos e concentração sérica de proteína C reativa (de Souza Theodoro et al., (2024).

Para além disso, a suplementação com o produto de fermentação de *S. cerevisiae* (PFSC) foi também avaliada, neste caso por C.-Y. Lin et al., em 2019. Trata-se de um produto seco produzido por fermentação de *S. cerevisiae*, que inclui células de levedura residuais, fragmentos de parede

celular de levedura, metabólitos de fermentação e meios usados durante a fermentação, e que pode servir como um ingrediente funcional devido aos seus benefícios nos animais. Ao utilizar duas dietas com concentrações distintas de PFSC, este estudo chegou à conclusão que o PFSC pode atuar como um ingrediente funcional e ter efeitos positivos na saúde intestinal e na função imunológica em cães. Verificou-se uma modulação ligeira da composição e da atividade da microbiota fecal, com aumento dos níveis de *Bifidobacterium*, diminuição de *Fusobacterium* e redução dos níveis de inflamação intestinal. Assim se conclui que o PFSC pode ser usado em alimentos para cães para melhorar a saúde intestinal, alterando a microbiota intestinal positivamente, elevando a capacidade imunológica e diminuindo a inflamação. A aplicação de PFSC pode ser mais benéfica para cães bebês, cães geriátricos ou cães que apresentem condições inflamatórias, uma vez que estas populações podem apresentar uma microbiota intestinal instável e/ou sistemas imunitários comprometidos (C.-Y. Lin et al., 2019)

Tabela 11. Estudos com as cogumelos e leveduras identificados nos Alimentos Compostos Complementares, em cães, com efeito no sistema imunitário.

Referência	Cogumelo/levedura	Amostra	Tratamento	Principais Resultados
Kroll et al., 2020	Frações ativas de manoproteínas obtidas através da extração e fracionamento das paredes celulares da levedura <i>S. cerevisiae</i>	36 cães beagle (12 machos e 24 fêmeas)	Através da extração e fracionamento das paredes celulares da levedura <i>S. cerevisiae</i> obteve-se frações ativas de manoproteínas que foram distribuídas por 3 dietas em diferentes concentrações: 0 mg/kg, 400 mg/kg e 800 mg/kg.	<ul style="list-style-type: none"> • Verificou-se que os cães alimentados com 400 mg/kg das frações ativas da levedura tenderam a ter maior atividade fagocítica neutrofílica do que os cães alimentados com 800 mg/kg e observou-se que as frações ativas de manoproteínas aumentaram tanto a atividade da imunidade inata quanto da adquirida nos cães estudados. • O estudo concluiu que as frações ativas de manoproteínas derivadas da parede celular de leveduras podem ser eficazes em estimular tanto a imunidade inata quanto a adquirida em cães adultos e idosos.
Strompfová et al., 2021	<i>S. cerevisiae</i> hidrolisada	20 cães raça pastor alemão	Os cães foram divididos em dois grupos, em que um deles recebeu uma dieta suplementada com 0,3% da dieta em <i>S. cerevisiae</i> hidrolisada.	<ul style="list-style-type: none"> • Observou-se um aumento significativo na abundância de bifidobactérias, bactérias do ácido lático e clostrídios. Estas modificações na microbiota intestinal dos cães após a administração da levedura hidrolisada, indicam um potencial efeito prebiótico. • Observou-se que a suplementação não alterou adversamente os parâmetros hematológicos ou bioquímicos séricos, sugerindo segurança do suplemento.

Tabela 11. Estudos com as cogumelos e leveduras identificados nos Alimentos Compostos Complementares, em cães, com efeito no sistema imunitário (Cont.).

Referência	Cogumelo/levedura	Amostra	Tratamento	Principais Resultados
Wilson et al., 2022	Produto seco obtido pela fermentação de <i>S. cerevisiae</i>	16 cães adultos (8 machos, 8 fêmeas, com idade média de 6,7 anos e peso corporal médio de 25,9 kg).	Antes do estudo, todos os cães receberam uma vacina (Duramune Max 5®). Depois foram distribuídos por 2 grupos, em que um era o controle e no outro receberam uma dieta suplementada com 0,13% de <i>S. cerevisiae</i> .	<ul style="list-style-type: none"> • Observou-se um aumento da resposta a linfócitos inespecíficos com modulação das populações de linfócitos circulantes e houve evidências de redução nos marcadores de stress oxidativo nos cães alimentados com a dieta suplementada, sugerindo um efeito antioxidante do suplemento. • Os resultados sugerem que a suplementação de <i>S. cerevisiae</i> apoia os principais sistemas de defesa antioxidante através da modulação de algumas enzimas.
Stuyven et al., 2010	β -1,3/1,6-glucanos de <i>S. cerevisiae</i>	29 cães beagle saudáveis (fêmeas dos 3 aos 4 anos)	<p><i>1ª Experiência:</i> 10 cães alocados no grupo tratamento (β-glucano) e 9 no grupo controle.</p> <p><i>2ª Experiência:</i> 5 cães alocados no grupo tratamento (β-glucano) e 5 cães no grupo controle. Diferença: nesta experiência todos os cães foram vacinados com Pneumodog®.</p> <p><i>Grupo tratamento:</i> comprimidos de MacroGard via oral, com 150 mg deste β-glucano, 1x/dia, durante 4 semanas.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • No final das 4 semanas, o nível sérico total de IgA diminuiu significativamente no grupo tratado com o β-glucano em comparação com o grupo controle, bem como em comparação com as concentrações antes da suplementação. Em contraste, o nível sérico total de IgM aumentou significativamente e não ocorreu nenhum efeito no nível de IgG. • Foram observadas alterações semelhantes na IgA e IgM após a vacinação, durante o período de suplementação.

Tabela 11. Estudos com as cogumelos e leveduras identificados nos Alimentos Compostos Complementares, em cães, com efeito no sistema imunitário (Cont.).

Referência	Cogumelo/levedura	Amostra	Tratamento	Principais Resultados
de Souza Theodoro et al., 2024	β -1,3/1,6-glucanos isolados de <i>S. cerevisiae</i> e β -1,3-glucanos isolados de <i>Euglena gracilis</i>	32 cães beagle saudáveis (8 por dieta); 8 do sexo masculino e 24 do sexo feminino, com idades entre 1 e 6 anos ($2,8 \pm 2,3$ anos) e $10,7 \pm 1,4$ kg	4 Dietas - Controlo sem β -glucanos (CON); 0,115% de β -1,3/1,6-glucanos provenientes de <i>S. cerevisiae</i> (B-Y15); 0,155% de β -1,3-glucanos de <i>E. gracilis</i> (B-S15); 0,310% de β -1,3-glucanos <i>E. gracilis</i> (B-S30). Recolha de sangue e fezes no início e fim do período.	<ul style="list-style-type: none"> • Observou-se um maior índice fagocítico de monócitos em cães com a dieta B-S15 face aos alimentados com as outras dietas, e um maior índice fagocítico de neutrófilos para B-S15 e B-Y15 do que em cães alimentados com a dieta CON. • O β-1,3/1,6-glucano mostrou ativação celular do sistema imunológico, com aumento do índice fagocítico sérico de IL-2 e neutrófilos, enquanto o β-1,3-glucano atuou no sistema imunológico aumentando a produção de óxido nítrico.
C.-Y. Lin et al., 2019	Produto de fermentação de <i>S. cerevisiae</i> (PFSC), utilizado como suplemento	12 cães beagle adultos (fêmeas; idade média = $3,3 \pm 0,8$ anos; peso médio = $10,3 \pm 0,68$ kg)	<p>Cães alimentados com a mesma dieta, mas suplementados com três níveis de PFSC (125, 250 e 500 mg/dia ou um placebo (sacarose) através de cápsulas de gelatina, por 21 dias.</p> <p>Recolhidas amostras fecais para análise digestibilidade de nutrientes e características fecais, assim como de populações microbianas e de sangue para os índices imunológicos.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Ao comparar o controlo vs. todos os tratamentos com PFSC, os cães suplementados com PFSC apresentaram um melhor complexo de histocompatibilidade classe II, com populações de células B e monócitos, face aos cães controlo. • Observou-se um aumento linear na IgE sérica com o PFSC. • Os resultados sugerem que a suplementação com PFSC pode ser benéfica para cães adultos, alterando positivamente a microbiota intestinal, aumentando a capacidade imunológica e reduzindo a inflamação.

CON: controlo; IgA: imunoglobulina A; IgE: imunoglobulina E; IgG: imunoglobulina G; IgM: imunoglobulina M; IL-2: interleucina 2; PFSC: produto de fermentação de *S. cerevisiae*

No caso dos **minerais, vitaminas e outros ingredientes**, da pesquisa realizada obtiveram-se 5 estudos: um para o **zinco**, um para o **selênio**, um para uma mistura de **vitamina C e vitamina E**, um para uma mistura de **vitamina C, E, taurina, luteína, licopeno e β -caroteno** e um para uma mistura de **ómeegas e vitamina E** (Tabela 12). A utilização de aditivos naturais e minerais na indústria alimentar para cães e gatos é uma estratégia para melhorar a sua saúde, uma vez que possuem propriedades antioxidantes e modulam os sistemas imunitário e metabólico (Dworzański et al., 2021).

O **zinco** é um constituinte ou ativador de pelo menos 200 enzimas conhecidas, incluindo enzimas importantes para a pele e cicatrização de feridas, replicação celular, síntese de proteínas e imunocompetência (McFadden et al., 2017). As consequências da deficiência de zinco na pele, seja pela redução da ingestão, absorção ou metabolismo, foram descritas em cães e incluem uma pior cicatrização de feridas, eritema, alopecia, crostas e descamação. Neste sentido, e tendo em conta os efeitos adversos das terapêuticas mais eficazes (glucocorticoides e ciclosporina), o uso de tratamentos combinados e adjuvantes pode permitir uma redução na quantidade de medicamentos anti-inflamatórios necessários para controlar os sinais clínicos da dermatite atópica canina (McFadden et al., 2017). No estudo de McFadden et al. (2017), os cães que receberam o suplemento de zinco e ciclosporina apresentaram um menor índice de lesões cutâneas, acontecendo o mesmo para os cães que receberam suplementação e glucocorticoides, com a adição da diminuição do prurido. Estes resultados sugerem que a suplementação de zinco parece ter contribuído para uma resposta inflamatória mais equilibrada, reduzindo a hiperatividade imunológica que caracteriza a dermatite atópica (McFadden et al., 2017).

O **selênio** é um oligoelemento essencial na dieta de animais e humanos, desempenhando funções indispensáveis em vários processos fisiológicos (Combs, 2001). Este mineral apresenta uma atividade antioxidante, anti-inflamatória, anticancerígena, antiviral e antibacteriana, sendo que a sua função biológica é alcançada pela inserção deste mineral numa família de proteínas designadas de selenoproteínas. O selênio exerce uma atividade imunomoduladora pronunciada, e baixos níveis deste mineral estão ligados a um sistema imunológico debilitado. Da mesma forma, o selênio está envolvido de forma não específica na resposta imune, sendo importante para a atividade fagocitária. Em relação à atividade dos macrófagos, o selênio atenua os efeitos das espécies reativas de oxigênio, reduz a replicação de agentes patogénicos intracelulares, aumenta o número de macrófagos e o seu potencial fagocítico (Pecoraro et al., 2022). Waters et al., (2003) observaram que a suplementação com selênio apresentou um efeito anticancerígeno

ao reduzir o stress genotóxico que ocorre naturalmente na próstata envelhecida. Neste estudo, após 7 meses de tratamento, a percentagem de células epiteliais da próstata e de linfócitos do sangue periférico com danos no ácido desoxirribonucleico (DNA) foi estatisticamente mais baixa nos cães que tomaram o suplemento de selénio do que no grupo de controlo (Waters et al., 2003).

Por fim, Heaton et al., (2002) estudaram os efeitos de uma mistura antioxidante de **vitaminas**, e carotenoides (**vitamina C, E, taurina, luteína, licopeno e β -caroteno**) numa população mista de cães adultos.

A **vitamina C** é sintetizada no fígado da maioria das espécies, incluindo cães e gatos, e é amplamente distribuída através dos tecidos do corpo. A vitamina C tem um papel fisiológico importante em numerosas funções metabólicas, incluindo o crescimento e manutenção dos tecidos, a melhoria do stress oxidativo e a regulação imunitária. Os estudos em animais de companhia são escassos, mas os possíveis benefícios, o baixo risco de efeitos adversos, e o baixo custo deste tratamento fazem da terapia/suplementação com vitamina C uma área promissora de investigação em cães e gatos doentes (Gordon et al., 2020).

A **vitamina E** é um antioxidante lipossolúvel que pode proteger as membranas celulares da oxidação, regular a produção de espécies reativas de oxigénio e nitrogénio e modular a transdução de sinal (A. D. Smith et al., 2018). Os mecanismos pelos quais a vitamina E melhora a resposta imunitária ainda não foram totalmente explicados; no entanto, as provas sugerem que a vitamina E atua reduzindo a síntese de prostaglandinas, diminuindo a formação de radicais livres, ou ambos (Hall et al., 2003). As espécies reativas de oxigénio, especialmente o peróxido de hidrogénio (H_2O_2), que é produzido por macrófagos ativados, deprimem a proliferação de linfócitos. Foi demonstrado que a vitamina E diminui a formação de H_2O_2 pelas células polimorfonucleares. Além disso, o efeito imunossupressor da deficiência de vitamina E parece estar ligado ao aumento das reações dos radicais livres, que conduzem a uma maior produção de prostaglandina E_2 (Hall et al., 2003).

O estudo de Hall et al. (2003) avaliou como a suplementação com ómega-6 e ómega-3 e vitamina E (acetato de α -tocoferol) afetou a resposta imunológica em cães geriátricos saudáveis. Foram obtidos resultados como uma maior atividade das células NK e uma resposta melhorada das células T. Assim, concluiu-se que uma quantidade ótima de concentração de acetato de α -tocoferol na dieta, independentemente da relação entre os ácidos gordos n-6 e n-3 da dieta, estimula a população de células T CD8+. Uma proporção adequada entre ácidos gordos ómega-

6 e ômega-3 (que atuam de forma sinérgica com a vitamina E) na dieta é crucial para equilibrar a resposta inflamatória e melhorar a função imunológica (Hall et al., 2003).

Relativamente aos ômegas, sabe-se que a fonte mais potente e eficiente de EPA e DHA é o óleo de peixe. Este é mais concentrado do que outros produtos ricos em ácido linoleico, como o óleo de linhaça, por exemplo (Lenox & Bauer, 2013). Alguns ingredientes encontrados nos ACC são igualmente ricos em ômega-3, como as algas do género *Schizochytrium sp.*, já referidas.

Os ácidos gordos ômega-3 do óleo de peixe têm sido investigados quanto aos seus benefícios no tratamento de doenças em animais de companhia, sendo recomendados para o tratamento de problemas, que incluem neoplasias (Ogilvie et al., 2000), doenças dermatológicas (Mueller et al., 2005), hiperlipidemias (J. E. Bauer, 1995), doenças cardiovasculares (C. E. Smith et al., 2007), renais (Brown et al., 1998), gastrointestinais (Trepanier, 2009) e ortopédicas (Fritsch et al., 2010).

Quando os ômega-3 do óleo de peixe são administrados, eles podem ser fornecidos como um suplemento separado da dieta (como um líquido ou cápsula contendo óleo de peixe) ou como parte da dieta do animal. A quantidade de ácidos gordos ômega-3 suplementada pode ser expressa como uma quantidade absoluta (miligramas totais de EPA e DHA), uma dosagem de miligrama por quilograma ou como uma proporção dietética de ômega-6 para ômega-3 (n-6:n-3). O n-6:n-3 total deve ser usado com cautela, porque não reflete a quantidade total de ácidos gordos ômega-3 presentes na dieta ou o tipo de ácidos presentes (Lenox & Bauer, 2013).

As faixas-alvo para EPA e DHA variam bastante de acordo com as diferentes condições, mas geralmente ficam entre 50 e 220 mg/kg de peso corporal. As dosagens mais altas são, normalmente, usadas para reduzir as concentrações séricas de triglicerídeos, enquanto dosagens mais baixas são mais comumente usadas para condições inflamatórias, doenças renais e doenças cardíacas (Lenox & Bauer, 2013).

Hesta et al. (2009) avaliaram a atividade antioxidante da **vitamina C**, assim como a capacidade desta vitamina aumentar o potencial antioxidante e imunoestimulante da vitamina E, em cães saudáveis. Desta forma, 15 cães foram testados quanto aos efeitos da administração oral de vitamina E (60 mg de acetato de dl- α -tocoferol) em combinação com vitamina C (0, 30 ou 60 mg de ácido ascórbico cristalino). Os autores concluíram que não houve evidência clara de um efeito da vitamina C sobre a capacidade antioxidante em cães saudáveis alimentados com uma dieta com concentrações de vitamina E acima das recomendações. No entanto, um número limitado de parâmetros imunológicos foi ligeiramente afetado (Hesta et al., 2009).

Tabela 12. Estudos com minerais/vitaminas/outras ingredientes nos Alimentos Compostos Complementares, em cães, com efeito no sistema imunitário.

Referência	Mineral	Amostra	Tratamento	Principais Resultados
McFadden et al., 2017	Zinco (metionina)	27 cães com dermatite atópica crônica a receberem tratamento com ciclosporina ou glucocorticoides foram divididos em 2 grupos	<p><i>Grupo controle:</i> cães receberam comprimidos com 2 mg de biotina, 128,7 mg de EPA e 85,8 mg de DHA.</p> <p><i>Grupo experimental:</i> cães receberam comprimidos que continham 2 mg de biotina, 128,7 mg de EPA e 85,8 mg de DHA + 30 mg de zinco.</p> <p><i>Duração do estudo:</i> 24 semanas.</p>	<ul style="list-style-type: none"> 44% dos cães que receberam o suplemento de zinco e ciclosporina, ($n = 7$) tiveram um CADLI significativamente reduzido de 11,9 para 6,0 sem nenhuma alteração significativa no VAS de prurido. 55% dos cães que receberam o suplemento de zinco e glicocorticoides ($n = 6$) tiveram um CADLI significativamente reduzido de 10,9 para 5,0 e VAS de prurido de 7,4 para 3,2. A suplementação de zinco parece ter contribuído para uma resposta inflamatória mais equilibrada, reduzindo a hiperatividade imunológica que caracteriza a dermatite atópica.
Waters et al., 2003	Selênio (selenometionina)	49 cães machos, idosos (8,5 - 10,5 anos e 9-18 kg) foram divididos em 4 grupos	<p><i>Grupo controle:</i> receberam a dieta de manutenção com 6 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dia}$ de selênio. Os <i>grupos experimentais</i> recebiam a dieta de manutenção + 3 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dia}$ de selenometionina (grupo 1)/+ 6 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dia}$ de selenometionina (grupo 2)/+3 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dia}$ de levedura rica em selênio (grupo 3)/+6 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dia}$ de levedura rica em selênio (grupo 4).</p>	<ul style="list-style-type: none"> Após 7 meses de tratamento, a % de células epiteliais da próstata e linfócitos do sangue periférico com danos extensos ao DNA foi significativamente menor nos cães suplementados com selênio do que nos cães controle (79,1% versus 57,2%). A suplementação diária com doses não tóxicas de selenometionina ou levedura rica em selênio está associada a uma redução na acumulação de danos genotóxicos. Assim, o selênio pode ser benéfico ao diminuir a acumulação de danos ao DNA em células epiteliais, mesmo antes de apresentarem alterações citológicas sugestivas de malignidade.

Tabela 12. Estudos com minerais/vitaminas/outras ingredientes nos Alimentos Compostos Complementares, em cães, com efeito no sistema imunitário (Cont.).

Referência	Mineral	Amostra	Tratamento	Principais Resultados
Hesta et al., 2009	Cápsulas de vitamina E (acetato de dl- α tocoferol) com adição de vitamina C (ácido ascórbico cristalino)	15 cães beagle adultos (7 machos, 8 fêmeas, entre 8,6 e 18,4 kg) foram divididos em 3 grupos	<p><u>Grupo 1 (controle)</u>: os cães eram alimentados com uma ração comercial completa e balanceada + 1 cápsula de 60 mg de vitamina E antes da refeição + 0 mg de vitamina C. <u>Grupo experimental 2</u>: ração + 1 cápsula de 60 mg de vitamina E + 30 mg de vitamina C. <u>Grupo experimental 3</u>: ração + 1 cápsula de 60 mg de vitamina E + 60 mg de vitamina C.</p> <p><i>Duração do estudo</i>: 3 períodos de 36 dias.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Não houve evidência de que o tratamento dietético alterou nem as outras concentrações plasmáticas de vitamina E nem as concentrações de TBARS e ácido úrico nem as subpopulações de linfócitos, exceto o número de linfócitos T-CD4+ que aumentaram com a suplementação de vitamina C. Os parâmetros hematológicos não foram alterados pela suplementação de vitamina C, exceto para MCH. • Não houve evidência clara de um efeito da vitamina C dietética na capacidade antioxidante em cães saudáveis alimentados com uma dieta com concentrações de vitamina E bem acima das recomendações.
Heaton et al., 2002	Mistura de vitamina C, vitamina E, taurina, luteína, licopeno e β -caroteno	2 grupos de 20 cães adultos de raça mista, com idades (média de 4,4 anos e 1,85 anos) e sexos compatíveis, saudáveis	<p>Um grupo era o controle (dieta normal) e o outro recebeu uma dieta suplementada com uma mistura de vitamina C, vitamina E, taurina, luteína, licopeno e β-caroteno, cujas concentrações não foram descritas.</p> <p><i>Duração do estudo</i>: 16 semanas</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Após 8 semanas de suplementação houve uma redução significativa nos danos endógenos e exógenos ao DNA, no grupo suplementado com a mistura de antioxidantes. • Esta redução dos danos endógenos pode indicar um aumento da proteção do DNA pelos antioxidantes presentes no suplemento contra o ataque dos radicais livres e/ou um aumento das taxas de reparação do DNA danificado.

Tabela 12. Estudos com minerais/vitaminas/outras ingredientes nos Alimentos Compostos Complementares, em cães, com efeito no sistema imunitário (Cont.).

Referência	Mineral	Amostra	Tratamento	Principais Resultados
Hall et al., 2003	Dieta suplementada com rácio de ácidos gordos ω -6: ω -3 e vitamina E (acetato de α -tocoferol)	32 fêmeas geriátricas beagles saudáveis (7-10 anos de idade e 8,1-15,9 kg de peso corporal) foram divididas em 6 grupos (1 controlo e 5 experimentais)	<p><u>Grupo controlo</u>: cães recebiam um alimento constituído por um alto teor de ω-6:ω-3 (1,4:1) e um baixo teor de vitamina E.</p> <p><u>Grupo 1</u>: baixo teor de ω-6:ω-3 (40:1) + baixo teor de vitamina E (17 mg/kg de alimento).</p> <p><u>Grupo 2</u>: baixo teor de ω-6:ω-3 + médio teor de vitamina E (101 mg/kg de alimento).</p> <p><u>Grupo 3</u>: baixo teor de ω-6:ω-3 + alto teor de vitamina E (447 mg/kg de alimento).</p> <p><u>Grupo 4</u>: alto teor de ω-6:ω-3 + médio teor de vitamina E.</p> <p><u>Grupo 5</u>: alto teor de ω-6:ω-3 + alto teor de vitamina E.</p> <p><i>Duração do estudo</i>: 17 semanas.</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Após 12 semanas, os cães que consumiram baixas concentrações de acetato de α-tocoferol apresentaram percentagens mais baixas de células T CD8+, em comparação com os cães que consumiram concentrações médias ou elevadas de acetato de α-tocoferol. • No dia 4 da semana 15, a percentagem de células T CD8+ era mais elevada nos cães alimentados com concentrações médias de acetato de α-tocoferol, em comparação com outros cães; no entanto, o rácio de células T CD4+ para CD8+ era mais elevado apenas nos cães alimentados com concentrações baixas de acetato de α-tocoferol com concentrações elevadas de ácidos gordos ω-3. • Os cães que consumiram baixas concentrações de ácidos gordos ω-3 com concentrações médias de acetato de α-tocoferol apresentaram a maior resposta ao teste cutâneo de hipersensibilidade de tipo retardado.

ALT: alanina transferase; CADLI: índice de lesões de dermatite atópica canina; DHA: ácido docosahexaenoico; DNA: ácido desoxirribonucleico; EPA: ácido eicosapentaenoico; IFN- γ : interferão-gama; IgA: imunoglobulina A; IgG: imunoglobulina G; IL: interleucina; MHC: hemoglobina corpuscular média; TBARS: ácido tiobarbitúrico; T-CD4+: linfócitos auxiliares do tipo CD4; TNF- α : fator de necrose tumoral alfa; VAS: escala visual analógica

4. Formulação Teórica de um Alimento Composto Complementar Para o Reforço Imunitário de Cães

Para a formulação teórica de um ACC com vista à otimização do sistema imunitário cruzou-se informação da Parte 1 e Parte 2 do presente trabalho.

A formulação a elaborar é apenas para cães. Esta escolha deve-se ao crescente aumento da procura por cuidados preventivos no mercado atual, em que os tutores estão cada vez mais preocupados em reforçar o sistema imunitário dos seus cães de forma natural e eficaz, minimizando a dependência de fármacos. Além disso, face à tendência crescente por produtos naturais e ao aumento da longevidade dos animais de companhia, torna-se evidente a necessidade de soluções que promovam a saúde a longo prazo.

A crescente sensibilização dos consumidores para a saúde integral dos seus animais, aliada à forte concorrência no setor, torna o desenvolvimento de uma formulação inovadora uma oportunidade estratégica para responder a este mercado em expansão. Além disso, os estudos obtidos na Parte 2 do presente trabalho, para procura de evidências dos ingredientes identificados (na Parte 1) foram realizados todos em cães.

Os cães parecem ser omnívoros como os seres humanos, no entanto, partilham algumas características carnívoras com os gatos, uma vez que ambos carecem de amilase salivar, têm um trato gastrointestinal curto e são incapazes de sintetizar vitamina D. Em contraste, existem três genes (AMY2B, MGAM e SGLT1) que evoluíram apenas nos cães durante a domesticação e estão envolvidos na digestão do amido e na captação de glicose. Outra característica do sistema digestivo dos cães é que eles podem sintetizar vários nutrientes essenciais, como a niacina, taurina e arginina (Bosch et al., 2015; Di Cerbo et al., 2017).

Para a elaboração da composição em ingredientes ativos a integrar um ACC, selecionaram-se os ingredientes que apresentaram maior suporte científico, ou seja, aqueles para os quais foram observados estudos em animais, e com efeitos positivos na imunidade. Assim sendo, do total dos 73 ingredientes iniciais o novo ACC vai incluir na sua composição: a planta **equinácea** (*Echinacea angustifolia*) e uma alga do género *Schizochytrium*, assim como aditivos (as vitaminas: C e E, e os minerais: **selénio** e **zinco**).

As preparações de **equinácea** são consideradas eficazes para doentes humanos que sofrem de condições em que um estimulante imunológico é indicado (V. R. Bauer et al., 1988). São escassos os estudos com espécies de equinácea em animais de companhia. No entanto, entre as

três espécies de equinácea, a *E. angustifolia* apresenta a maior concentração em fitoquímicos, em particular o teor de equinacósidos, ausente nas restantes (Senchina et al., 2006; Zhai et al., 2007).

Os efeitos imunomoduladores conhecidos da *E. angustifolia* são a ativação de macrófagos e granulócitos polimorfonucleares (Sgorlon et al., 2016), resultando num aumento da atividade fagocítica. A administração de suplementos com *E. angustifolia* constitui uma estratégia interessante para modular a resposta imune, de forma a melhorar a condições de saúde dos animais. Os poucos resultados com equinácea em cães confirmam a modulação do sistema imune já comprovada. Desta forma, selecionou-se a *E. angustifolia* para o ACC.

O consumo de fontes de **ómega-3** por humanos ou animais tem demonstrado diminuir a proliferação de linfócitos, a citotoxicidade mediada por células T, a atividade das células NK, citotoxicidade mediada por macrófagos, a quimiotaxia de monócitos e neutrófilos, e a produção de citocinas pró-inflamatórias (IL-1, IL-6 e fator de necrose tumoral) (Calder, 1998). Estudos em cães e outras espécies demonstraram que o DHA modula a resposta inflamatória, o neurodesenvolvimento, a capacidade cognitiva e o sistema imunitário (Hall et al., 2003; Souza et al., 2019).

Como referido anteriormente, as microalgas pertencentes ao género *Schizochytrium* são potenciais alternativas para fontes convencionais de **ómega-3**, devido ao seu valor nutricional e elevada concentração de DHA. Apesar de ser um ingrediente ainda pouco conhecido e utilizado, a adição desta microalga na dieta ou como suplemento é palatável para os cães e consegue aumentar a digestibilidade de nutrientes. Além disso, pode aumentar as células fagocitárias e a intensidade da fagocitose dos monócitos no sangue (Souza et al., 2019). O género *Schizochytrium* contém pelo menos três espécies das quais *S. limacinum* é talvez o mais conhecido. A espécie *S. limacinum* SR21 tem sido extensivamente caracterizada para a produção de DHA, sendo considerada segura para a produção de óleos ricos em DHA para consumo humano (EFSA Panel on Nutrition et al., 2021).

No caso da **vitamina C**, as células imunes e inflamatórias contêm altas concentrações de vitamina C, muitas vezes 50 a 100 vezes maiores do que as concentrações plasmáticas. A vitamina C tem demonstrado melhorar a quimiotaxia e a fagocitose, a proliferação linfocítica e parece auxiliar na morte neutrofílica oxidativa de bactérias (Gordon et al., 2020). Apesar da vitamina C não ser um elemento essencial na dieta dos cães, a taxa de síntese desta vitamina no fígado é menor nos cães comparativamente com outras espécies animais. Além disso, durante

situações de stress ou exercício intenso, os requisitos desta vitamina podem exceder a capacidade de síntese do fígado. Nos cães, a vitamina C tem vindo a ser suplementada com o objetivo de tentar melhorar a saúde e o desempenho dos animais (Gordon et al., 2020).

Outro aspeto importante e que justifica a junção da **vitamina C** e **E** no presente trabalho, é o facto da vitamina C poder aumentar a atividade antioxidante da vitamina E. Neste sistema, a vitamina E provavelmente atua como antioxidante primário e a vitamina C pode regenerar o radical de vitamina E produzido (Hesta et al., 2009; Jewell et al., 2024). É ainda importante realçar que altas doses de ácido ascórbico podem atuar como pro-oxidantes e aumentar a peroxidação lipídica, podendo este efeito ser reduzido com um aumento de vitamina E (National Research Council of the National Academies, 2006). Sabe-se que cães e gatos alimentados com misturas antioxidantes incluindo vitamina E, vitamina C e β -caroteno podem melhorar a imunidade, observado através da redução da degradação celular e redução dos sinais de oxidação, com o aumento das concentrações dos antioxidantes (Jewell et al., 2024).

O **zinco** foi outro mineral selecionado, uma vez que é necessário para os principais processos biológicos que afetam o crescimento normal, desenvolvimento, reparação, metabolismo, integridade/funcionalidade celular e tolerância imunológica nos sistemas imunológico inato e adaptativo (Ibs & Rink, 2003). A suplementação com zinco reconstitui a função imunitária, no entanto, doses elevadas podem provocar efeitos negativos no sistema imunitário. Quando o zinco está em excesso, a função das células T e B é suprimida, e os macrófagos são ativados diretamente (Bobeck, 2020).

A formulação teórica que se segue inclui:

- 1) a tabela com a composição do ACC a desenvolver (ingredientes ativos e doses, aditivos nutritivos e aditivos organoléuticos) (Tabela 13);
- 2) a informação a disponibilizar ao consumidor no ACC (com a espécie/categoria do animal, o modo de utilização e conservação do produto, o nome comercial e outras informações/menções relevantes) (Figura 5);
- 3) a elaboração do design da embalagem (Figura 6).

Tabela 13. Composição teórica do Alimento Composto Complementar a desenvolver.

Ingredientes	Dose
<i>Echinacea angustifolia</i> (raiz)	20%
Polissacarídeos	7%
Equinacósidos	0,4%
<i>Schizochytrium limacinum</i>	10%
Óleo rico em ómega-3	8%
DHA	4%
EPA	2%
β-Glucanos	0,5%
Aditivos nutritivos (por Kg): vitamina E (acetato de α-tocoferol) 80 mg; vitamina C (ácido L-ascórbico) 12 mg; zinco (sulfato de zinco) 25 mg; selénio (selenito de sódio) 0,5 mg.	
Aditivos organoléticos: Compostos aromatizantes: aroma de frango	



IMUNODOGS®
Alimento Composto Complementar



INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO



O reforço imunitário para o seu cão



- Este produto foi **formulado especificamente para cães**, como tal, não deve ser administrado a gatos ou outras espécies de animais, a menos que recomendado por um veterinário.
- ImunoDogs® é uma formulação líquida pronta a utilizar e altamente palatável **com sabor a frango**, o que pode não ser apropriado para espécies com restrições alimentares específicas (por exemplo, animais com sensibilidade a proteínas animais).
- Não exceder a dose diária recomendada.
- Não indicado como substituto de uma dieta completa e balanceada.
- Conservar em local fresco e seco.
- Manter fora do alcance das crianças e evitar o consumo humano.
- Utilizar antes da data de validade indicada na embalagem.
- Consultar um veterinário antes de usar, especialmente em casos de animais com condições de saúde específicas, por exemplo, gravidez ou amamentação.

Modo de administração:
ImunoDogs® pode ser administrado diretamente na boca do cão, utilizando uma seringa doseadora. Agitar antes de usar. Deve ser sempre disponibilizada água limpa e fresca ao animal.

Dosagem recomendada:

- Cães de pequeno porte (até 10 kg): 2 mL/dia
- Cães de médio porte (10 a 25 kg): 5 mL/dia
- Cães de grande porte (mais de 25 kg): 10 mL/dia

*Usar a seringa doseadora

Benefícios de ImunoDogs®

- ✓ **Melhora a resistência**
- ✓ **Aumenta o apetite**
- ✓ **Contém óleo de *Schizochytrium sp***

Categoria animal: Cães
Frasco: 120 mL

Figura 5. Informações a disponibilizar ao consumidor sobre o Alimento Composto Complementar desenvolvido.

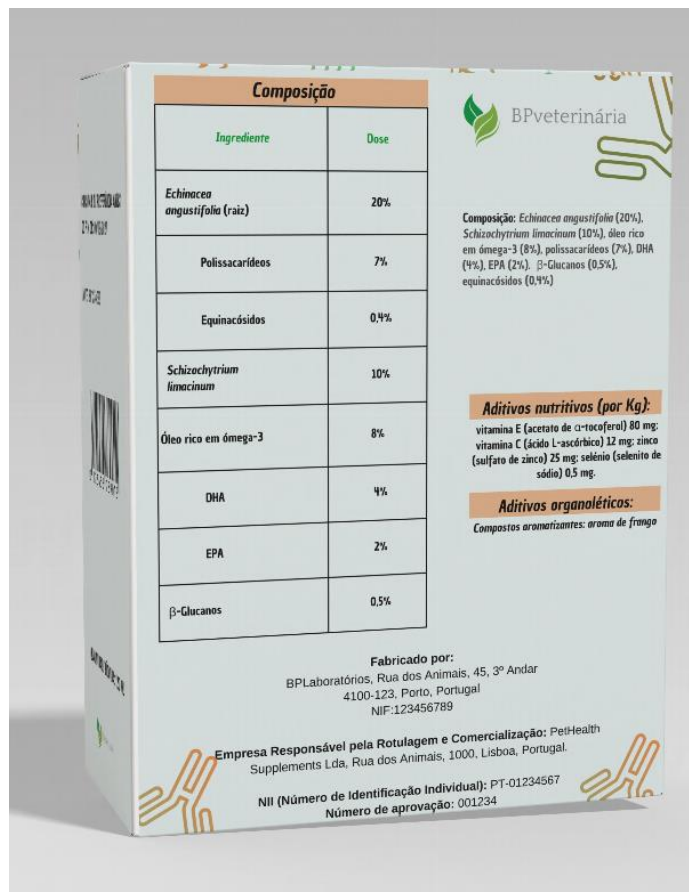


Figura 6. Design da embalagem.

5. Conclusão

A inclusão de suplementos na dieta da população humana, e animais de companhia ganhou popularidade nas últimas décadas, existindo no mercado muitos suplementos ou alimentos contendo uma grande variedade de extratos vegetais, compostos puros e, no geral, compostos funcionais.

A atividade dos suplementos ou ACC pode ser direcionada para o sistema imunológico. Os ACC podem desempenhar um papel essencial no reforço do sistema imunitário dos animais de companhia, assegurando uma saúde equilibrada e melhor qualidade de vida. Frequentemente, a alimentação comum não é suficiente para suprir todas as necessidades nutricionais destes animais, sendo a suplementação um complemento fundamental para o fortalecimento das suas defesas naturais. No mercado atual, a procura por produtos que potenciem a imunidade dos animais de companhia tem vindo a aumentar, impulsionada pela crescente preocupação dos tutores com o bem-estar dos seus animais. Contudo, apesar deste crescimento, ainda existem lacunas em termos de variedade e evidências científicas que comprovem a eficácia de muitos produtos, sublinhando a necessidade de se desenvolver suplementos inovadores e devidamente validados para satisfazer este mercado emergente.

O presente trabalho teve como objetivo principal o desenvolvimento de uma formulação teórica de um ACC para reforço do sistema imunitário de cães, com base na análise do mercado existente, evidências científicas e legislação aplicável.

Relativamente ao primeiro objetivo específico, que consistiu na recolha e análise dos ACC comercializados para reforço do sistema imunitário de cães e gatos, procedeu-se à análise de 44 produtos disponíveis em diversos websites, a maioria sob a forma de comprimidos e soluções orais. Do total de ACC sob a forma de comprimidos, em 6 deles (42,8%) verificou-se a indicação de serem comprimidos palatáveis, uma característica importante para a adesão do produto por parte do animal e um fator de compra decisivo para o dono.

Quanto ao segundo objetivo específico, que consistiu na recolha de informação relativa a indicações de uso, composição, posologia e outras informações relevantes dos ACC, nos 44 produtos analisados foram encontrados 73 ingredientes distintos pertencentes a cinco categorias (vitaminas, minerais, aminoácidos, plantas/extratos de plantas e outros). A vitamina B6, o ferro, a taurina, a equinácea, e a levedura-de-cerveja foram os ingredientes de cada categoria que mais se destacaram. Quanto às indicações de uso relacionadas com a imunidade, e associadas aos diferentes ACC, foi possível encontrar produtos comercializados para situações

como perda de apetite, períodos de convalescença, para períodos de cansaço ou exercício intenso; para situações de envelhecimento; para situações de stress, ou após administrações prolongadas de antibióticos. A informação para “guardar num local fresco e seco” foi o modo de conservação mais referido, enquanto que o “administrar o ACC com ou sem comida” foi o modo de utilização mais observado nos ACC.

A identificação das principais informações disponíveis nos ACC, como a composição, indicações de uso, posologia e forma de administração, revelou tanto as tendências de mercado como as lacunas nos produtos, nomeadamente em termos de variedade, informação disponível e evidências científicas que comprovem a eficácia dos ingredientes que integram os ACC.

A partir da análise da informação nos produtos, verificou-se a ausência de informações detalhadas sobre a biodisponibilidade dos nutrientes, a origem dos ingredientes (como a qualidade das fontes de ácidos gordos ómega-3 ou antioxidantes). Além disso, notou-se que poucos produtos apresentam certificações de qualidade, como ingredientes de origem sustentável ou isentos de alergénios, e falta transparência em relação aos métodos de extração usados nos ingredientes.

No que concerne ao terceiro objetivo específico, referente à pesquisa bibliográfica sobre os ingredientes ativos com efeitos fisiológicos benéficos, foi realizada uma revisão da literatura que permitiu identificar, do total de 73 ingredientes identificados na 1ª parte do estudo, aqueles com maior suporte científico para o reforço do sistema imunitário de cães e gatos. Da pesquisa feita, encontraram-se evidências, apenas para cães, e para os seguintes ingredientes: cânhamo (rico em ácidos gordos poliinsaturados), ginseng (rico em ginsenosídeos e com propriedades adaptogénicas), equinácea (rica em equinacósidos e polissacarídeos com propriedades imunomoduladoras), aveia (rica em β -glucanos), mirtilo (rico em antocianidinas), curcuma (rica em curcumina), cardo-mariano (rico em silimarina), a esculetária (rica em baicalina), a spirulina (rica em antioxidantes como β -carotenos e tocoferóis), a *Schizochytrium sp.* (rica em ómega-3, DHA e EPA), a levedura-de-cerveja (rica em β -glucanos), o zinco (constituente ou ativador de pelo menos 200 enzimas conhecidas), o selénio (antioxidante e com ação na imunidade), a vitamina C (papel fisiológico no crescimento e manutenção dos tecidos, na melhoria do stress oxidativo e na regulação imunitária), vitamina E (propriedades antioxidantes) e a taurina (propriedades antioxidantes). Assim sendo, o grupo das plantas medicinais/extratos de plantas apresentou 7 estudos; as algas, 3 estudos; cogumelos e leveduras, 6 estudos; e os minerais, vitaminas e outros

ingredientes, 5 estudos (21 estudos no total, todos eles realizados em cães, na sua maioria, da raça beagle).

Em relação ao terceiro objetivo, que visou a elaboração de uma formulação teórica para um ACC, foi criada uma tabela com a composição do ACC, e compilada informação a disponibilizar no ACC, nomeadamente, o nome comercial, indicações de uso, modo de utilização/conservação do produto e um desenho da futura embalagem.

Limitações do trabalho

Como limitações do trabalho, destaca-se a ausência de estudos específicos para gatos. Esta lacuna compromete a validade das extrapolações dos resultados obtidos para cães, uma vez que as diferenças fisiológicas e metabólicas entre estas espécies podem influenciar a eficácia e segurança dos produtos. Sem evidências diretas para gatos, não é possível assegurar a adequação das formulações e dosagens, nem avaliar adequadamente os riscos de efeitos adversos. A falta de dados específicos para gatos ressalta a necessidade de investigação adicional para desenvolver recomendações e protocolos baseados em evidências científicas robustas para esta espécie.

Outra limitação prende-se com o facto de que a maior parte dos cães alvos de estudo são da raça beagle. Esta raça apresenta características fisiológicas e metabólicas específicas que podem não ser representativas de outras raças de cães, podendo apresentar variações substanciais em termos de resposta a suplementos, necessidades nutricionais e predisposições a doenças. Além disso, a utilização predominantemente de beagles pode introduzir viés nos resultados dos estudos, uma vez que as respostas aos suplementos podem não refletir as necessidades ou reações de raças com diferentes tamanhos, idades ou estados de saúde.

Em termos da metodologia dos estudos, surgem mais limitações como a curta duração dos estudos, a variação nas dosagens, as amostras limitadas. Estudos a curto prazo podem não captar os efeitos a longo prazo dos suplementos e não serem suficientes para avaliar os efeitos completos dos produtos ou ingredientes em estudo. A heterogeneidade nas dosagens utilizadas nos estudos pode dificultar a comparação direta entre os ingredientes e a determinação de qual é mais eficaz.

A falta de informações sobre possíveis efeitos adversos dos suplementos/ingredientes pode ser uma limitação importante, especialmente em relação à segurança a longo prazo. Por fim, a presença de misturas dificulta a identificação e avaliação dos efeitos individuais de cada

ingrediente. Para além disso, as interações entre os ingredientes podem resultar em efeitos sinérgicos ou antagonistas que não seriam evidentes se os ingredientes fossem testados isoladamente. No entanto, o presente estudo incluiu misturas no sentido de se obter um maior número de resultados, face à escassez de dados em animais de companhia.

Perspetivas futuras

Existem diversas áreas que podem ser exploradas em trabalhos futuros, permitindo aprofundar o conhecimento e maximizar o impacto do desenvolvimento de ACC para o reforço do sistema imunológico de cães e gatos.

Uma das possíveis áreas de interesse é a avaliação a longo prazo do impacto da suplementação no sistema imunológico e na saúde geral dos animais de companhia. Estudos longitudinais poderão fornecer dados sobre os efeitos cumulativos da suplementação, incluindo a prevenção de doenças e a melhoria da qualidade de vida dos animais.

Além disso, parcerias com laboratórios especializados podem ser estabelecidas para a identificação e análise de aditivos tecnológicos e organoléuticos, com o objetivo de melhorar a estabilidade, a conservação e a palatabilidade do suplemento. A composição analítica detalhada dos produtos poderá também ser aprofundada, permitindo um controlo rigoroso dos compostos ativos, garantindo a biodisponibilidade e a eficácia dos nutrientes. Estas colaborações permitirão a realização de estudos complementares, tais como a avaliação da forma de apresentação mais adequada (pó, comprimidos, líquidos), e o desenvolvimento de métodos de encapsulação que preservem os ingredientes ativos durante o armazenamento e administração.

Também seria relevante investigar os efeitos a longo prazo da suplementação regular sobre a resposta imunitária inata e adaptativa, bem como sobre a microbiota intestinal, uma vez que esta desempenha um papel fundamental na regulação do sistema imunológico. Por fim, estudos clínicos com amostras maiores poderão validar de forma mais robusta os benefícios dos suplementos desenvolvidos e abrir caminho para futuras inovações no setor da nutrição veterinária.

Outros estudos futuros poderão focar-se na formulação de ACC para outras patologias ou sintomas, ou outro tipo de animais de companhia, nomeadamente os exóticos, em que os estudos sobre as suas necessidades nutritivas são ainda mais escassos. Uma recolha exaustiva na literatura sobre reações adversas a ingredientes presentes nos ACC, e interações entre

ingredientes, alimentos e fármacos, no caso dos animais de companhia, poderá também ser melhor explorado.

A rápida evolução do setor dos ACC e das descobertas científicas oferece oportunidades para a integração de novos ingredientes ativos com potenciais benefícios imunológicos, assim como o desenvolvimento de fórmulas adaptadas a necessidades específicas, como animais com condições crónicas ou aqueles em fases críticas da vida, como o envelhecimento.

Referências Bibliográficas

- Adenot, C. C., & Abdelhakim, H. E. (2022). Palatability assessment of oral dosage forms for companion animals: A systematic review. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 77, 103841. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2022.103841>
- Al-Jenoobi, F. I., Ahad, A., Mahrous, G. M., Al-Mohizea, A. M., AlKharfy, K. M., & Al-Suwayeh, S. A. (2015). Effects of fenugreek, garden cress, and black seed on theophylline pharmacokinetics in beagle dogs. *Pharmaceutical Biology*, 53(2), 296–300. <https://doi.org/10.3109/13880209.2014.916312>
- Associação Portuguesa dos Industriais de Alimentos Compostos para Animais. (2022). Fichas Técnicas – Caracterização de Matérias-Primas para Alimentação Animal. Disponível em <https://www.iaca.pt/fichas-tecnicas-caracterizacao-materias-primas-alimentacao-animal/>
- Bauer, J. E. (1995). Evaluation and dietary considerations in idiopathic hyperlipidemia in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 206(11), 1684–1688.
- Bauer, V. R., Jurcic, K., Puhlmann, J., & Wagner, H. (1988). [Immunologic in vivo and in vitro studies on Echinacea extracts]. *Arzneimittel-Forschung*, 38(2), 276–281.
- Belghit, I., Liland, N., Gjesdal, P., Biancarosa, I., Menchetti, E., Li, Y., Waagbø, R., Krogdahl, A., & Lock, E.-J. (2018). Black soldier fly larvae meal can replace fish meal in diets of sea-water phase Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 503. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.12.032>
- Blagodatski, A., Yatsunskaya, M., Mikhailova, V., Tiasto, V., Kagansky, A., & Katanaev, V. L. (2018). Medicinal mushrooms as an attractive new source of natural compounds for future cancer therapy. *Oncotarget*, 9(49), 29259–29274. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.25660>

- Bobeck, E. A. (2020). NUTRITION AND HEALTH: COMPANION ANIMAL APPLICATIONS: Functional nutrition in livestock and companion animals to modulate the immune response. *Journal of Animal Science*, 98(3), skaa035. <https://doi.org/10.1093/jas/skaa035>
- Bontempo, V. (2005). Nutrition and Health of Dogs and Cats: Evolution of Petfood. *Veterinary Research Communications*, 29(S2), 45–50. <https://doi.org/10.1007/s11259-005-0010-8>
- Bosch, G., Hagen-Plantinga, E. A., & Hendriks, W. H. (2015). Dietary nutrient profiles of wild wolves: Insights for optimal dog nutrition? *The British Journal of Nutrition*, 113 Suppl, S40–54. <https://doi.org/10.1017/S0007114514002311>
- Brown, S. A., Brown, C. A., Crowell, W. A., Barsanti, J. A., Allen, T., Cowell, C., & Finco, D. R. (1998). Beneficial effects of chronic administration of dietary omega-3 polyunsaturated fatty acids in dogs with renal insufficiency. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 131(5), 447–455. [https://doi.org/10.1016/s0022-2143\(98\)90146-9](https://doi.org/10.1016/s0022-2143(98)90146-9)
- Byard, R., & Musgrave, I. (2021). The potential side effects of herbal preparations in domestic animals. *Forensic Science, Medicine and Pathology*, 17, 1–3. <https://doi.org/10.1007/s12024-021-00418-5>
- Calder, P. C. (1998). Immunoregulatory and anti-inflammatory effects of n-3 polyunsaturated fatty acids. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research = Revista Brasileira De Pesquisas Medicas E Biologicas*, 31(4), 467–490. <https://doi.org/10.1590/s0100-879x1998000400002>
- Calder, P. C. (2012). Long-chain fatty acids and inflammation. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 71(2), 284–289. <https://doi.org/10.1017/S0029665112000067>

- Combs, G. F. (2001). Considering the mechanisms of cancer prevention by selenium. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 492, 107–117. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-1283-7_9
- Decreto-Lei n.º 105/2003, de 30 de maio. (2003). *Diário da República n.º 125/2003, Série I-A de 2003-05-30*. Disponível em <https://diariodarepublica.pt/dr/detalhe/decreto-lei/105-2003-542413>
- Decreto-Lei n.º 181/99, de 22 de maio. (1999). *Diário da República n.º 119/1999, Série I-A de 1999-05-22*. Disponível em <https://diariodarepublica.pt/dr/detalhe/decreto-lei/181-321692>
- Decreto-Lei n.º 289/99, de 29 de julho. (1999). *Diário da República n.º 175/1999, Série I-A de 1999-07-29*. Disponível em <https://diariodarepublica.pt/dr/detalhe/decreto-lei/289-1999-346078>
- Decreto-Lei n.º 314/2003, de 17 de dezembro. (2003). *Diário da República n.º 290, I Série A*. Disponível em <https://diariodarepublica.pt/dr/legislacao-consolidada/decreto-lei/2003-118813641-118290838>
- Di Cerbo, A., Morales-Medina, J. C., Palmieri, B., Pezzuto, F., Cocco, R., Flores, G., & Iannitti, T. (2017). Functional foods in pet nutrition: Focus on dogs and cats. *Research in Veterinary Science*, 112, 161–166. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2017.03.020>
- Dinda, B., Dinda, S., DasSharma, S., Banik, R., Chakraborty, A., & Dinda, M. (2017). Therapeutic potentials of baicalin and its aglycone, baicalein against inflammatory disorders. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 131, 68–80. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.03.004>
- Direção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV). (2024). Detenção de animais de companhia. Consultado a 10 de fevereiro de 2024. Disponível em

<https://www.dgav.pt/animais/conteudo/animais-de-companhia-2/animais-de-companhia/>

Direção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV) (2024). Esclarecimento Técnico Conjunto DGAV/DGAE n.º 1/2024. Disponível em <https://www.dgav.pt/destaques/noticias/esclarecimento-tecnico-conjunto-dgav-dgae-n-o-1-2024-colocacao-no-mercado-de-excrementos-de-insetos-de-criacao/>

Direção-Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV). (março de 2023). Classificação e Características Nutricionais dos Alimentos para Animais – Enquadramento Legal. Disponível em https://saaf.dgadr.gov.pt/images/3.JMCosta_-_CLASSIFICA%C3%87%C3%83O_E_CARACTER%C3%8DSTICAS_NUTRICIONAIS_DO_S_ALIMENTOS_PARA_ANIMAIS_ENQUADRAMENTO_LEGAL.pdf

Diretiva n.º 2002/32/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, de 7 de maio. (2002). JO L 140 de 30.5.2002, p.10. Disponível em <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/?uri=CELEX%3A32002L0032>

Doran, C. E., McGrath, S., Bartner, L. R., Thomas, B., Cribb, A. E., & Gustafson, D. L. (2022). Drug-drug interaction between cannabidiol and phenobarbital in healthy dogs. <https://doi.org/10.2460/ajvr.21.08.0120>

Dworzański, W., Sembratowicz, I., Cholewińska, E., Tutaj, K., Fotschki, B., Juśkiewicz, J., & Ognik, K. (2021). Effects of Different Chromium Compounds on Hematology and Inflammatory Cytokines in Rats Fed High-Fat Diet. *Frontiers in Immunology*, 12, 614000. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.614000>

EFSA Panel on Nutrition, N. F. and F. A. (NDA), Turck, D., Castenmiller, J., Henauw, S. D., Hirsch-Ernst, K. I., Kearney, J., Maciuk, A., Mangelsdorf, I., McArdle, H. J., Naska, A., Pelaez, C., Pentieva, K., Siani, A., Thies, F., Tsabouri, S., Vinceti, M., Cubadda, F., Frenzel, T., Heinonen,

- M., ... Knutsen, H. K. (2021). Safety of oil from *Schizochytrium limacinum* (strain FCC-3204) for use in infant and follow-on formula as a novel food pursuant to Regulation (EU) 2015/2283. *EFSA Journal*, 19(1). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6344>
- Estruel-Amades, S., Camps-Bossacoma, M., Massot-Cladera, M., Pérez-Cano, F. J., & Castell, M. (2020). Alterations in the innate immune system due to exhausting exercise in intensively trained rats. *Scientific Reports*, 10(1), 967. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-57783-4>
- Euromonitor International 2022 Pet Care: Euromonitor from Trade Sources/National Statistics. Consultado a 8 de fevereiro de 2023. Disponível em <https://www-portal-euromonitor-com.ezproxy.massey.ac.nz/portal/statisticsevolution/index>
- FEDIAF European Pet Food Industry Federation. (2022). Facts and Figures 2022. Consultado a 10 de abril de 2024. Disponível em https://europeanpetfood.org/wp-content/uploads/2023/06/FEDIAF_Annual-Report_2023_Facts-Figures.pdf
- FEDIAF European Pet Food Industry Federation. (2024). Nutritional Requirements. Consultado a 12 de abril de 2024. Disponível em <https://europeanpetfood.org/pet-food-facts/nutritional-requirements/>
- Ferreira, L. G., Endrighi, M., Lisenko, K. G., de Oliveira, M. R. D., Damasceno, M. R., Claudino, J. A., Gutierrez, P. G., Peconick, A. P., Saad, F. M. de O. B., & Zangeronimo, M. G. (2018). Oat beta-glucan as a dietary supplement for dogs. *PloS One*, 13(7), e0201133. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201133>
- Finno, C. J. (2020). Veterinary Pet Supplements and Nutraceuticals. *Nutrition Today*, 55(2), 97–101. <https://doi.org/10.1097/nt.0000000000000399>

- Fritsch, D., Allen, T. A., Dodd, C. E., Jewell, D. E., Sixby, K. A., Leventhal, P. S., & Hahn, K. A. (2010). Dose-titration effects of fish oil in osteoarthritic dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 24(5), 1020–1026. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2010.0572.x>
- Gee, N. R., Rodriguez, K. E., Fine, A. H., & Trammell, J. P. (2021). Dogs Supporting Human Health and Well-Being: A Biopsychosocial Approach. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 630465. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.630465>
- Goodman, L., & Trepanier, L. (2005). Potential Drug Interactions with Dietary Supplements. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*. 780–790.
- Gordon, D. S., Rudinsky, A. J., Guillaumin, J., Parker, V. J., & Creighton, K. J. (2020). Vitamin C in Health and Disease: A Companion Animal Focus. *Topics in Companion Animal Medicine*, 39, 100432. <https://doi.org/10.1016/j.tcam.2020.100432>
- Hall, J. A., Tooley, K. A., Gradin, J. L., Jewell, D. E., & Wander, R. C. (2003). Effects of dietary n-6 and n-3 fatty acids and vitamin E on the immune response of healthy geriatric dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 64(6), 762–772. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2003.64.762>
- Hayashi, O., Katoh, T., & Okuwaki, Y. (1994). Enhancement of antibody production in mice by dietary *Spirulina platensis*. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 40(5), 431–441. <https://doi.org/10.3177/jnsv.40.431>
- Hayek, M. G., Massimino, S. P., & Ceddia, M. A. (2004). Modulation of immune response through nutraceutical interventions: Implications for canine and feline health. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 34(1), 229–247. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2003.09.002>
- Heaton, P. R., Reed, C. F., Mann, S. J., Ransley, R., Stevenson, J., Charlton, C. J., Smith, B. H. E., Harper, E. J., & Rawlings, J. M. (2002). Role of dietary antioxidants to protect against DNA damage

- in adult dogs. *The Journal of Nutrition*, 132(6 Suppl 2), 1720S–4S.
<https://doi.org/10.1093/jn/132.6.1720S>
- Hesta, M., Ottermans, C., Krammer-Lukas, S., Zentek, J., Hellweg, P., Buyse, J., & Janssens, G. P. J. (2009). The effect of vitamin C supplementation in healthy dogs on antioxidative capacity and immune parameters. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 93(1), 26–34. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2007.00774.x>
- Hines, M. T., Schott, H. C., Bayly, W. M., & Leroux, A. J. (1996). Exercise and immunity: A review with emphasis on the horse. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 10(5), 280–289.
<https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.1996.tb02063.x>
- Holland, K. E., Mead, R., Casey, R. A., Upjohn, M. M., & Christley, R. M. (2022). Why Do People Want Dogs? A Mixed-Methods Study of Motivations for Dog Acquisition in the United Kingdom. *Frontiers in Veterinary Science*, 9, 877950.
<https://doi.org/10.3389/fvets.2022.877950>
- Ibs, K.-H., & Rink, L. (2003). Zinc-altered immune function. *The Journal of Nutrition*, 133(5 Suppl 1), 1452S–6S. <https://doi.org/10.1093/jn/133.5.1452S>
- Jewell, D. E., Motsinger, L. A., & Paetau-Robinson, I. (2024). Effect of dietary antioxidants on free radical damage in dogs and cats. *Journal of Animal Science*, 102, skae153.
<https://doi.org/10.1093/jas/skae153>
- Kim, I.-S., Hwang, C.-W., Yang, W.-S., & Kim, C.-H. (2021). Multiple Antioxidative and Bioactive Molecules of Oats (*Avena sativa* L.) in Human Health. *Antioxidants*, 10(9), Artigo 9.
<https://doi.org/10.3390/antiox10091454>
- Kroll, F. S. A., Putarov, T. C., Zaine, L., Venturini, K. S., Aoki, C. G., Santos, J. P. F., Pedrinelli, V., Vendramini, T. H. A., Brunetto, M. A., & Carciofi, A. C. (2020). Active fractions of mannoproteins derived from yeast cell wall stimulate innate and acquired immunity of

- adult and elderly dogs. *Animal Feed Science and Technology*, 261, 114392.
<https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2020.114392>
- Lee, K. W., Yamato, O., Tajima, M., Kuraoka, M., Omae, S., & Maede, Y. (2000). Hematologic changes associated with the appearance of eccentrocytes after intragastric administration of garlic extract to dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 61(11), 1446–1450. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2000.61.1446>
- Leni, G., Tedeschi, T., Faccini, A., Pratesi, F., Folli, C., Puxeddu, I., Migliorini, P., Gianotten, N., Jacobs, J., Depraetere, S., Caligiani, A., & Sforza, S. (2020). Shotgun proteomics, in-silico evaluation and immunoblotting assays for allergenicity assessment of lesser mealworm, black soldier fly and their protein hydrolysates. *Scientific Reports*, 10(1), 1228. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-57863-5>
- Lenihan-Geels, G., Bishop, K. S., & Ferguson, L. R. (2013). Alternative sources of omega-3 fats: Can we find a sustainable substitute for fish? *Nutrients*, 5(4), 1301–1315. <https://doi.org/10.3390/nu5041301>
- Lenox, C. E., & Bauer, J. E. (2013). Potential adverse effects of omega-3 Fatty acids in dogs and cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 27(2), 217–226. <https://doi.org/10.1111/jvim.12033>
- Lin, C.-Y., Alexander, C., Steelman, A. J., Warzecha, C. M., de Godoy, M. R. C., & Swanson, K. S. (2019). Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product on fecal characteristics, nutrient digestibility, fecal fermentative end-products, fecal microbial populations, immune function, and diet palatability in adult dogs¹. *Journal of Animal Science*, 97(4), 1586–1599. <https://doi.org/10.1093/jas/skz064>

- Lin, S.-D., Sung, J.-M., & Chen, C.-L. (2011). Effect of drying and storage conditions on caffeic acid derivatives and total phenolics of *Echinacea Purpurea* grown in Taiwan. *Food Chemistry*, 125(1), 226–231. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.09.006>
- Ma, C., & Ja, W. (1999). Exercise suppresses macrophage antigen presentation. *Journal of Applied Physiology* (Bethesda, Md. : 1985), 87(6). <https://doi.org/10.1152/jappl.1999.87.6.2253>
- Manayi, A., Vazirian, M., & Saeidnia, S. (2015). *Echinacea purpurea*: Pharmacology, phytochemistry and analysis methods. *Pharmacognosy Reviews*, 9(17), 63–72. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.156353>
- Manteca, X. (2011). Nutrition and Behavior in Senior Dogs. *Topics in Companion Animal Medicine*, 26(1), 33–36. <https://doi.org/10.1053/j.tcam.2011.01.003>
- Massimino, S., Kearns, R. J., Loos, K. M., Burr, J., Park, J. S., Chew, B., Adams, S., & Hayek, M. G. (2003). Effects of age and dietary beta-carotene on immunological variables in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 17(6), 835–842. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2003.tb02523.x>
- McFadden, R. A., Heinrich, N. A., Haarstad, A. C., & Tomlinson, D. J. (2017). A double-blinded, randomized, controlled, crossover evaluation of a zinc methionine supplement as an adjunctive treatment for canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 28(6), 569–e138. <https://doi.org/10.1111/vde.12466>
- Mordor Intelligence. (2023). Global Pet Dietary Supplements Market 2023–2028. Disponível em <http://www.mordorintelligence.com>
- Mueller, R. S., Fettman, M. J., Richardson, K., Hansen, R. A., Miller, A., Magowitz, J., & Ogilvie, G. K. (2005). Plasma and skin concentrations of polyunsaturated fatty acids before and after supplementation with n-3 fatty acids in dogs with atopic dermatitis. *American Journal of Veterinary Research*, 66(5), 868–873. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2005.66.868>

- Munteanu, C., & Schwartz, B. (2022). The relationship between nutrition and the immune system. *Frontiers in Nutrition*, 9, 1082500. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1082500>
- National Research Council of the National Academies, 2006a: Vitamins. *Nutrient Requirements of Dogs and Cats*, Animal Nutrition Series. National Academies Press, Washington, DC, pp. 234–235
- Nieman, D. C., Simandle, S., Henson, D. A., Warren, B. J., Suttles, J., Davis, J. M., Buckley, K. S., Ahle, J. C., Butterworth, D. E., & Fagoaga, O. R. (1995). Lymphocyte proliferative response to 2.5 hours of running. *International Journal of Sports Medicine*, 16(6), 404–409. <https://doi.org/10.1055/s-2007-973028>
- Ogilvie, G. K., Fettman, M. J., Mallinckrodt, C. H., Walton, J. A., Hansen, R. A., Davenport, D. J., Gross, K. L., Richardson, K. L., Rogers, Q., & Hand, M. S. (2000). Effect of fish oil, arginine, and doxorubicin chemotherapy on remission and survival time for dogs with lymphoma: A double-blind, randomized placebo-controlled study. *Cancer*, 88(8), 1916–1928.
- Ooms, T. G., Khan, S. A., & Means, C. (2001). Suspected caffeine and ephedrine toxicosis resulting from ingestion of an herbal supplement containing guarana and ma huang in dogs: 47 cases (1997–1999). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 218(2), 225–229. <https://doi.org/10.2460/javma.2001.218.225>
- Packer, R. M. A., Brand, C. L., Belshaw, Z., Pegram, C. L., Stevens, K. B., & O'Neill, D. G. (2021). Pandemic Puppies: Characterising Motivations and Behaviours of UK Owners Who Purchased Puppies during the 2020 COVID-19 Pandemic. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*, 11(9), 2500. <https://doi.org/10.3390/ani11092500>
- Pan, Y., Kennedy, A. D., Jönsson, T. J., & Milgram, N. W. (2018). Cognitive enhancement in old dogs from dietary supplementation with a nutrient blend containing arginine, antioxidants, B

- vitamins and fish oil. *The British Journal of Nutrition*, 119(3), 349–358.
<https://doi.org/10.1017/S0007114517003464>
- Pecoraro, B. M., Leal, D. F., Frias-De-Diego, A., Browning, M., Odle, J., & Crisci, E. (2022). The health benefits of selenium in food animals: A review. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 13(1), 58. <https://doi.org/10.1186/s40104-022-00706-2>
- Pereira, M., Valério-Bolas, A., Saraiva-Marques, C., Alexandre-Pires, G., Pereira da Fonseca, I., & Santos-Gomes, G. (2019). Development of Dog Immune System: From in Uterus to Elderly. *Veterinary Sciences*, 6(4), 83. <https://doi.org/10.3390/vetsci6040083>
- Pomin, V. H., & Mourão, P. A. S. (2008). Structure, biology, evolution, and medical importance of sulfated fucans and galactans. *Glycobiology*, 18(12), 1016–1027.
<https://doi.org/10.1093/glycob/cwn085>
- Portaria n.º 1460/2002, de 13 de novembro. (2002). *Diário da República* n.º 262/2002, Série I-B de 2002-11-13. Disponível em <https://diariodarepublica.pt/dr/detalhe/portaria/1460-2002-449964>
- Powell, L., Edwards, K. M., McGreevy, P., Bauman, A., Podberscek, A., Neilly, B., Sherrington, C., & Stamatakis, E. (2019). Companion dog acquisition and mental well-being: A community-based three-arm controlled study. *BMC Public Health*, 19(1), 1428.
<https://doi.org/10.1186/s12889-019-7770-5>
- Pyne, D. B., Baker, M. S., Fricker, P. A., McDonald, W. A., Telford, R. D., & Weidemann, M. J. (1995). Effects of an intensive 12-wk training program by elite swimmers on neutrophil oxidative activity. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 27(4), 536–542.
- Regulamento (CE) n.º 1069/2009 do Parlamento Europeu e do Conselho de 21 de outubro de 2009. (2009). *Jornal Oficial da União Europeia*. Disponível em <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/pt/TXT/?uri=CELEX%3A32009R1069>

Regulamento (CE) n.º 183/2005 do Parlamento Europeu e do Conselho de 12 de janeiro de 2005.

(2005). Jornal Oficial da União Europeia. Disponível em <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/ALL/?uri=CELEX%3A32005R0183>

Regulamento (CE) n.º 1831/2003 do Parlamento Europeu e do Conselho de 22 de setembro de

2003. (2003). Jornal Oficial da União Europeia. Disponível em <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/ALL/?uri=CELEX%3A32003R1831>

Regulamento (CE) n.º 767/2009 do Parlamento Europeu e do Conselho de 13 de julho de 2009.

(2009). Jornal Oficial da União Europeia. Disponível em <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/?uri=CELEX%3A32009R0767>

Regulamento (UE) n.º 2017/625 do Parlamento Europeu e do Conselho de 15 de março de 2017.

(2017). Jornal Oficial da União Europeia. Disponível em <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2017/625/oj/por>

Regulamento (UE) n.º 2022/1104 da Comissão de 1 de julho de 2022. (2022). Jornal Oficial da

União Europeia. Disponível em <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/?uri=CELEX%3A32022R1104>

Regulamento (UE) n.º 68/2013 da Comissão de 16 de janeiro de 2013. (2013). Jornal Oficial da

União Europeia. Disponível em <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/pt/TXT/?uri=CELEX%3A32013R0068>

Reichling, J., Fitzi, J., Fürst-Jucker, J., Bucher, S., & Saller, R. (2003). Echinacea powder: Treatment

for canine chronic and seasonal upper respiratory tract infections. *Schweizer Archiv Fur Tierheilkunde*, 145(5), 223–231. <https://doi.org/10.1024/0036-7281.145.5.223>

Riviere, J., & Papich, M. (2018). *Veterinary Pharmacology and Therapeutics* (10.a ed.). Wiley-Blackwell.

- Robinson, M. (2023). Routes of Administration and Dosage Forms of Drugs—Pharmacology. MSD Veterinary Manual. <https://www.msdrvetermanual.com/pharmacology/pharmacology-introduction/routes-of-administration-and-dosage-forms-of-drugs>
- Ruiz-Iglesias, P., Estruel-Amades, S., Camps-Bossacoma, M., Massot-Cladera, M., Franch, À., Pérez-Cano, F. J., & Castell, M. (2020). Influence of Hesperidin on Systemic Immunity of Rats Following an Intensive Training and Exhausting Exercise. *Nutrients*, 12(5), 1291. <https://doi.org/10.3390/nu12051291>
- Rutherford-Markwick, K. J., Hendriks, W. H., Morel, P. C. H., & Thomas, D. G. (2013). The potential for enhancement of immunity in cats by dietary supplementation. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 152(3–4), 333–340. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2013.01.007>
- Rutherford-Markwick, K. J., & Thomas, D. (2016). Effects of Nutrient Supplementation on Immune Function in Cats and Dogs. From the Purina Companion Animal Nutrition Summit: Pet Nutrition: Beyond Essential. 77–78
- Satyaraj, E., Reynolds, A., Engler, R., Labuda, J., & Sun, P. (2021). Supplementation of Diets With Spirulina Influences Immune and Gut Function in Dogs. *Frontiers in Nutrition*, 8, 667072. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.667072>
- Senchina, D. S., Flagel, L. E., Wendel, J. F., & Kohut, M. L. (2006). PHENETIC COMPARISON OF SEVEN Echinacea SPECIES BASED ON IMMUNOMODULATORY CHARACTERISTICS. *Economic Botany*, 60(3), 205–211. [https://doi.org/10.1663/0013-0001\(2006\)60\[205:pcoses\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1663/0013-0001(2006)60[205:pcoses]2.0.co;2)

- Sgorlon, S., Stefanon, B., Sandri, M., & Colitti, M. (2016). Nutrigenomic activity of plant derived compounds in health and disease: Results of a dietary intervention study in dog. *Research in Veterinary Science*, *109*, 142–148. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2016.10.005>
- Siddiqui, R. A., & Moghadasian, M. H. (2020). Nutraceuticals and Nutrition Supplements: Challenges and Opportunities. *Nutrients*, *12*(6), 1593. <https://doi.org/10.3390/nu12061593>
- Skrovankova, S., Sumczynski, D., Mlcek, J., Jurikova, T., & Sochor, J. (2015). Bioactive Compounds and Antioxidant Activity in Different Types of Berries. *International Journal of Molecular Sciences*, *16*(10), 24673–24706. <https://doi.org/10.3390/ijms161024673>
- Smith, A. D., Panickar, K. S., Urban, J. F., & Dawson, H. D. (2018). Impact of Micronutrients on the Immune Response of Animals. *Annual Review of Animal Biosciences*, *6*, 227–254. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-022516-022914>
- Smith, C. E., Freeman, L. M., Rush, J. E., Cunningham, S. M., & Biourge, V. (2007). Omega-3 fatty acids in Boxer dogs with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, *21*(2), 265–273. [https://doi.org/10.1892/0891-6640\(2007\)21\[265:ofaibd\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1892/0891-6640(2007)21[265:ofaibd]2.0.co;2)
- Sogame, M., Naraki, Y., Sasaki, T., Seki, M., Yokota, K., Masada, S., & Hakamatsuka, T. (2019). Quality Assessment of Medicinal Product and Dietary Supplements Containing *Vitex agnus-castus* by HPLC Fingerprint and Quantitative Analyses. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, *67*(6), 527–533. <https://doi.org/10.1248/cpb.c18-00725>
- Souza, C. M. M., de Lima, D. C., Bastos, T. S., de Oliveira, S. G., Beirão, B. C. B., & Félix, A. P. (2019). Microalgae *Schizochytrium* sp. as a source of docosahexaenoic acid (DHA): Effects on diet digestibility, oxidation and palatability and on immunity and inflammatory indices in

- dogs. *Animal Science Journal = Nihon Chikusan Gakkaiho*, 90(12), 1567–1574.
<https://doi.org/10.1111/asj.13294>
- Strompfová, V., Kubašová, I., Mudroňová, D., Štempelová, L., Takáčová, M., Gąsowski, B., Čobanová, K., & Mađari, A. (2021). Effect of Hydrolyzed Yeast Administration on Faecal Microbiota, Haematology, Serum Biochemistry and Cellular Immunity in Healthy Dogs. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 13(5), 1267–1276.
<https://doi.org/10.1007/s12602-021-09765-9>
- Stuyven, E., Verdonck, F., Van Hoek, I., Daminet, S., Duchateau, L., Remon, J. P., Goddeeris, B. M., & Cox, E. (2010). Oral administration of beta-1,3/1,6-glucan to dogs temporally changes total and antigen-specific IgA and IgM. *Clinical and Vaccine Immunology: CVI*, 17(2), 281–285. <https://doi.org/10.1128/CVI.00344-09>
- Sudekum, M., Poppenga, R. H., Raju, N., & Braselton, W. E. (1992). Pennyroyal oil toxicosis in a dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 200(6), 817–818.
- Thakor, V., Leach, M. J., Gillham, D., & Esterman, A. (2011). The quality of information on websites selling St. John's wort. *Complementary Therapies in Medicine*, 19(3), 155–160.
<https://doi.org/10.1016/j.ctim.2011.05.005>
- Trepanier, L. (2009). Idiopathic inflammatory bowel disease in cats. Rational treatment selection. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11(1), 32–38.
<https://doi.org/10.1016/j.jfms.2008.11.011>
- Visser, M., Walsh, K., King, V., Sture, G., & Caneva, L. (2022). Acceptance of oclacitinib maleate (Apoquel®) chewable tablets in client-owned dogs with allergic and atopic dermatitis. *BMC Veterinary Research*, 18(1), 103. <https://doi.org/10.1186/s12917-022-03210-x>
- Waters, D. J., Shen, S., Cooley, D. M., Bostwick, D. G., Qian, J., Combs, G. F., Glickman, L. T., Oteham, C., Schlittler, D., & Morris, J. S. (2003). Effects of dietary selenium supplementation on DNA

- damage and apoptosis in canine prostate. *Journal of the National Cancer Institute*, 95(3), 237–241. <https://doi.org/10.1093/jnci/95.3.237>
- Watson, P. E., Thomas, D. G., Bermingham, E. N., Schreurs, N. M., & Parker, M. E. (2023). Drivers of Palatability for Cats and Dogs–What It Means for Pet Food Development. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*, 13(7), 1134. <https://doi.org/10.3390/ani13071134>
- Wei, Y., Xue, L., Ma, D., Weng, Y., Liu, M., Li, L., Dai, Z., Zhao, Z., Wang, H., & Xu, X. (2024). The Effect of Dietary Protein Hydrolysate from Black Soldier Fly Larvae and Schizochytrium on Palatability, Nutrient Metabolites and Health Status in Beagle Dogs. *Metabolites*, 14(3), 165. <https://doi.org/10.3390/metabo14030165>
- Wilson, S. M., Oba, P. M., Koziol, S. A., Applegate, C. C., Soto-Diaz, K., Steelman, A. J., Panasevich, M. R., Norton, S. A., & Swanson, K. S. (2022). Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* fermentation product-supplemented diet on circulating immune cells and oxidative stress markers of dogs. *Journal of Animal Science*, 100(9), skac245. <https://doi.org/10.1093/jas/skac245>
- Xin, G., Yang, J., Li, R., Gao, Q., Li, R., Wang, J., Zhang, J., & Wang, J. (2022). Dietary supplementation of hemp oil in teddy dogs: Effect on apparent nutrient digestibility, blood biochemistry and metabolomics. *Bioengineered*, 13(3), 6173–6187. <https://doi.org/10.1080/21655979.2022.2043018>
- Xu, F.-M., Hou, S.-W., Wang, G.-X., Gong, J.-Y., Zhou, L., Huang, Y.-H., Huang, X.-D., & Liu, L. (2021). Effects of zymolytic black soldier fly (*Hermetia illucens*) pulp as dietary supplementation in largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Aquaculture Reports*, 21, 100823. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100823>

- Yimam, M., Brownell, L., Do, S.-G., Lee, Y.-C., Kim, D. S., Seo, K., Jeong, M., Kim, S., & Jia, Q. (2019). Protective Effect of UP446 on Ligature-Induced Periodontitis in Beagle Dogs. *Dentistry Journal*, 7(2), 33. <https://doi.org/10.3390/dj7020033>
- Yoon, D., Kim, Y. J., Lee, W. K., Choi, B. R., Oh, S. M., Lee, Y. S., Kim, J. K., & Lee, D. Y. (2020). Metabolic Changes in Serum Metabolome of Beagle Dogs Fed Black Ginseng. *Metabolites*, 10(12), 517. <https://doi.org/10.3390/metabo10120517>
- Zhai, Z., Liu, Y., Wu, L., Senchina, D. S., Wurtele, E. S., Murphy, P. A., Kohut, M. L., & Cunnick, J. E. (2007). Enhancement of Innate and Adaptive Immune Functions by Multiple Echinacea Species. *Journal of medicinal food*, 10(3), 423–434. <https://doi.org/10.1089/jmf.2006.257>
- Zicker, S. C. (2008). Evaluating pet foods: How confident are you when you recommend a commercial pet food? *Topics in Companion Animal Medicine*, 23(3), 121–126. <https://doi.org/10.1053/j.tcam.2008.04.003>

Anexo I

	Ingrediente ativo	Frequência	Ingrediente ativo	Frequência
Vitaminas	Vitamina B6 (piridoxina)	20/44	Vitamina B7 (H ou biotina)	11/44
	Vitamina B12 (cianocobalamina)	17/44	Vitamina D3	11/44
	Vitamina E (alfa-tocoferol)	13/44	Vitamina B5 (D-pantotenato de cálcio)	10/44
	Vitamina A (acetato de retinol)	12/44	Vitamina B3 (niacinamida ou nicotinamida)	9/44
	Vitamina C (ácido L-ascórbico)	12/44	Vitamina B2 (riboflavina)	8/44
	Vitamina B9 (ácido fólico)	12/44	Vitamina K	1/44
	Vitamina B1 (tiamina)	11/44		
Minerais	Ferro	11/44	Iodo	2/44
	Manganésio	10/44	Magnésio	2/44
	Zinco	10/44	Sódio	2/44
	Selênio	8/44	Cálcio	1/44
	Cobre	7/44	Fósforo	1/44
	Potássio	3/44		
Aminoácidos	Taurina	12/44	Lisina	2/44
	Arginina	3/44	Valina	1/44
	Metionina	3/44	Leucina	1/44
	Ácido glutâmico	2/44	Histidina	1/44
	Triptofano	2/44	Fenilalanina	1/44
	Niacina	2/44		
Plantas/ extratos de plantas	Equinácea (<i>Echinacea sp</i>)	4/44	Trevo-vermelho (<i>Trifolium pratense</i>)	1/44
	Chá-verde (<i>Camelia sinensis</i>)	3/44	Cardo-mariano (<i>Silybum marianum</i>)	1/44
	Aveia (<i>Avena sativa</i>)	3/44	Açafrão (<i>Crocus sativus</i>)	1/44
	Ashwagandha (<i>Withania somnifera</i>)	2/44	Bardana (<i>Arctium lappa</i>)	1/44
	Esculetária (<i>Scutellaria baicalensis</i>)	2/44	Alcaçuz (<i>Glycyrrhiza glabra</i>)	1/44
	Cânhamo (<i>Cannabis sativa</i>)	2/44	Gingko (<i>Gingko biloba</i>)	1/44
	Alecrim (<i>Rosmarinus officinalis</i>)	2/44	Chia (<i>Salvia hispanica</i>)	1/44
	Erva-de-São-João (<i>Andrographis paniculata</i>)	1/44	Ginseng (<i>Panax ginseng</i>)	1/44
	Rosa mosqueta (<i>Rosa rubiginosa</i>)	1/44	Romã (<i>Punica granatum</i>)	1/44
	Curcuma (<i>Curcuma longa</i>)	1/44	Mirtilo (<i>Vaccinium myrtillus</i>)	1/44
	Trigo-mole (<i>Triticum vulgare</i>)	1/44	Calêndula (<i>Calendula officinalis</i>)	1/44
Outros	Levedura-de-cerveja (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	7/44	Cogumelo Kira Jari ou Yakasumba (<i>Cordyceps sinensis</i>)	1/44
	Cogumelo shiitake (<i>Lentinula edodes</i>)	2/44	Cogumelo juba-de-leão (<i>Heridium erinaceus</i>)	1/44
	Cogumelo cauda-de-peru (<i>Coriolus versicolor</i>)	2/44	Cogumelo do casco-preto (<i>Phellinus linteus</i>)	1/44
	Cogumelo-do-sol (<i>Agaricus blazei</i>)	1/44	Cogumelo Reishi (<i>Ganoderma lucidium</i>)	1/44
	Cogumelo maitake (<i>Grifola frondosa</i>)	1/44	Spirulina (<i>Arthrospira platensis</i>)	1/44
	Alga-castanha (<i>Ascophyllum nodosum</i>)	2/44	<i>Schizochytrium sp</i>	1/44
	Alga-vermelha (<i>Lithothamnium calcareum</i>)	1/44	Krill	2/44
	Mexilhão-de-lábios-verdes (<i>Perna canaliculus</i>)	2/44	Geleia real	2/44