



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal

Rejane Gonçalves Monteiro

**ANÁLISE NA LITERATURA DA AÇÃO PREBIÓTICA DOS  
EXOPOLISSACARÍDEOS OBTIDOS A PARTIR DE BACTÉRIAS ÁCIDO LÁTICAS**

Recife  
2021



Rejane Gonçalves Monteiro

**ANÁLISE NA LITERATURA DA AÇÃO PREBIÓTICA DOS  
EXOPOLISSACARÍDEOS OBTIDOS A PARTIR DE BACTÉRIAS ÁCIDO LÁTICAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Biociência Animal.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Taciana Cavalcanti Vieira Soares

Área de concentração: Biotecnologia

Recife

2021

Rejane Gonçalves Monteiro

**ANÁLISE NA LITERATURA DA AÇÃO PREBIÓTICA DOS  
EXOPOLISSACARÍDEOS OBTIDOS A PARTIR DE BACTÉRIAS ÁCIDO LÁTICAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Biociência Animal.

Área de concentração: Biotecnologia

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Taciana Cavalcanti Vieira Soares – UFRPE  
(Orientadora)

---

Profa. Dra. Ana Lúcia Figueiredo Porto UFRPE  
(Banca Examinadora)

---

Profa. Dra. Raquel Pedrosa Bezerra UFRPE  
(Banca Examinadora)

---

Profa. Dra. Juanize Matias UFRPE  
(Banca Examinadora)

Recife, 31 de agosto de 2021.

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a minha família, por sempre ter me apoiado nessa trajetória, e a Deus que é minha luz e meu guia.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente quero agradecer a Deus por sua bondade infinita em me permitir chegar até aqui e por me guiar pelos melhores caminhos e à Nossa Senhora, minha mãe protetora que sempre ilumina meus passos.

A minhas filhas, Gabryelle e Nathalie, por todo apoio e incentivo, sem vocês não sou nada.

Ao meu esposo, Fabiano, pela paciência e companheirismo nessa jornada.

Aos meus pais, Rosinete e Lusinaldo (*in memoriam*), que sempre incentivaram e estiveram presentes nas minhas conquistas diárias.

As minhas primas, Ana, Bel e Gedalva, que me acolheram em suas casas com tanto carinho todas as vezes que precisei ir a Recife.

A minha orientadora, prof. Dr.<sup>a</sup> Maria Taciana Cavalcanti Vieira Soares, pela oportunidade, confiança no meu trabalho, respeito e pela imprescindível orientação.

A minha irmã, Roseli, que sempre me incentivou a correr atrás dos meus sonhos e toda minha família pelo carinho e pela torcida.

A minha amiga, Ana Paula, que acreditou no meu potencial pela amizade e por estar sempre ao meu lado.

A minha amiga do Laboratório, Elaine, pela disponibilidade em ajudar, pela agradável convivência e pela amizade.

E por fim, a Universidade Federal Rural de Pernambuco, pelo espaço físico, a todos os funcionários e professores.

## RESUMO

O uso de novos produtos na indústria alimentícia obtidos a partir de microrganismos é crescente, devido especificidade deles e também possibilidade de alterar parâmetros de fermentação otimizando a produção, além da melhoria organolépticas no produto final. As bactérias ácido lácticas representam os principais organismos utilizados pela a indústria, com capacidade de converter açúcares, ácidos orgânicos, proteínas ou gorduras em substâncias que agregam sabor, aroma e melhoram a textura e a viscosidade de produtos fermentados devido a produção de Exopolissacarídeos (EPS). O objetivo desse estudo foi analisar na literatura a ação prebiótica dos Exopolissacarídeos obtidos a partir de bactérias ácido lácticas. Para isto foi realizado uma revisão sistemática com artigos entre 2011 e 2020, adotando a estratégia PRISMA, usando as bases de dados *Web of Science*, *Science Direct*, *Scopus* e *Medline/Pubmed*. Para os cruzamentos de dados foram utilizados os operadores “or” e “and” e os seguintes descritores: “exopolysaccharides”, “prebiotics”, “prebiotic potential”, “prebiotic effects”, “lactic acid bacteria” e “probiotics”. Como critério de inclusão foram selecionados estudos primários publicados em língua inglesa que associaram a administração de Exopolissacarídeos com ação prebiótica em ensaios *in vitro*. Dentro dos 7 artigos analisados todos afirmaram que existe uma função prébiótica dos EPS, entretanto precisa-se de estudos mais profundos para verificar os seus efeitos e determinar a duração e dosagens adequadas para o consumo e incorporação do EPS em alimentos tornando-os funcionais.

**Palavras-chave:** Bactéria Ácido Lácticas. Exopolissacarídeo. Prebiótico.

## **ABSTRACT**

The use of new products in the food industry obtained from microorganisms is growing, due to their specificity and also the possibility of changing fermentation parameters, optimizing production, in addition to the organoleptic improvement in the final product. Lactic acid bacteria represent the main organisms used by industry, with the ability to convert sugars, organic acids, proteins or fats into substances that add flavor, aroma and improve the texture and viscosity of fermented products due to the production of Exopolysaccharides (EPS) . The aim of this study was to analyze in the literature the prebiotic action of exopolysaccharides obtained from lactic acid bacteria. For this, a systematic review was carried out with articles between 2011 and 2020, adopting the PRISMA strategy, using the Web of Science, Science Direct, Scopus and Medline/Pubmed databases. For data crossings the operators “or” and “and” and the following descriptors were used: “exopolysaccharides”, “prebiotics”, “prebiotic potential”, “prebiotic effects”, “lactic acid bacteria” and “probiotics”. As inclusion criteria, primary studies published in English that associated the administration of Exopolysaccharides with prebiotic action in in vitro assays were selected. Within the 7 articles analyzed, all stated that there is a prebiotic function of EPS, however more in-depth studies are needed to verify its effects and determine the appropriate duration and dosages for the consumption and incorporation of EPS in foods, making them functional.

**Keywords:** Lactic Acid Bacteria. Exopolysaccharide. Prebiotic.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>8</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>10</b>
<b>2.1 Bactérias Ácido-Lática (BAL) .....</b>	<b>10</b>
<b>2.2 Exopolissacarídeos.....</b>	<b>12</b>
<b>2.3 Prebiótico.....</b>	<b>14</b>
<b>3 OBJETIVOS .....</b>	<b>18</b>
<b>3.1 Objetivo geral .....</b>	<b>18</b>
<b>3.2 Objetivos específicos.....</b>	<b>18</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>19</b>
<b>CAPÍTULO I .....</b>	<b>23</b>
<b>Introdução .....</b>	<b>25</b>
<b>Materiais e métodos .....</b>	<b>25</b>
<b>Diretrizes.....</b>	<b>25</b>
<b>Crítérios de elegibilidade.....</b>	<b>25</b>
<b>Estratégias de pesquisa e identificação do estudo .....</b>	<b>26</b>
<b>Resultados .....</b>	<b>26</b>
<b>Artigos pesquisados.....</b>	<b>26</b>
<b>Efeito prebiótico .....</b>	<b>30</b>
<b>Produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) .....</b>	<b>30</b>
<b>Degradação do exopolissacarídeo na simulação do sistema gastrointestinal.....</b>	<b>31</b>
<b>Discussão.....</b>	<b>31</b>
<b>Conclusão .....</b>	<b>32</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>33</b>
<b>ANEXO 1 - Instrução aos autores – Revista PUBVET .....</b>	<b>35</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A mudança no estilo de vida das pessoas e o aumento na expectativa de vida, desencadearam a procura por uma alimentação saudável e a prática de exercícios, e por isso é necessário o desenvolvimento de pesquisas e tecnologias que produzam novos conhecimentos sobre o assunto. Os estudos sobre alimentos que possuem prebióticos e probióticos são promissores nesse sentido, pois contribuem com essa busca constante de alimentos que otimizem as funções fisiológicas, garantam o bem-estar e reduzam o surgimento de doenças ao longo da vida (MELO et al, 2016).

Entre os probióticos encontramos as Bactérias Ácido Lácticas (BAL), que são microrganismos vivos que quando administrados de forma e em quantidades corretas, conferem benefícios capazes de impactar positivamente o hospedeiro. Estas bactérias constituem um grupo heterogêneo de microrganismos capazes de produzir bacteriocinas, que são peptídeos antimicrobianos e seguros, reconhecidos pela FDA (*Food and Drug Administration*), além de várias outras substâncias (ALVAREZ-SIEIRO et al., 2016).

Além das características citadas, as BALs são capazes de sintetizar polímeros extracelulares, conhecidos como exopolissacarídeos (EPS), que apresentam diversas funções tecnológicas e de saúde (IBARBURU et al., 2015).

Os EPS se destacam por desenvolverem texturas e propriedades organolépticas melhorando a qualidade dos produtos fabricados nas indústrias alimentícias (LYNCH et al., 2018), devido às características físicas e químicas, como biocompatibilidade, degradabilidade e atoxicidade que contribuem para qualidade e conservação dos alimentos (NACHTIGALL et al., 2020). Além dessas características o EPS tem grande potencial para atuar como um prebiótico.

Prebióticos são definidos como carboidratos não digeríveis que beneficiam o hospedeiro, estimulando a proliferação e funções de bactérias não patogênicas no cólon (PEREIRA E LUSNE, 2019). Os prebióticos não são degradados nas etapas do processo digestório, sendo assim, resistentes a ação das enzimas (LUDIMILLA & FABIOLA, 2015).

Em relação ao mercado de prebióticos, a Global Market Insights, Inc. (Delaware, EUA), afirmou que está aumentando, e projetou uma estimativa de que esse aditivo alimentar ultrapasse US \$ 8,5 bilhões até 2021 (FONTELES e

RODRIGUES, 2018). Entretanto, esse valor foi provavelmente ainda maior, pois de acordo com o relatório publicado em 16 de julho de 2021, ([www.absolutereports.com/enquiry/request-sample/13104815](http://www.absolutereports.com/enquiry/request-sample/13104815)), e não totalmente liberado ao público, citado no site Herald Del La Mango ([www.heraldolamango.com](http://www.heraldolamango.com)), mostrou o grande potencial comercial dos prebióticos, com grandes empresas produzindo e lançando no mercado, tais como a Cargil AS e Dupont Danisco, estima-se uma taxa de crescimento de 10,8 vezes maior até 2023. Vale ressaltar a importância do mercado brasileiro, que se apresenta na quinta posição no ranking mundial de utilização de prebiótico. Os prebióticos já consolidados e utilizados comercialmente são a inulina, oligofrutose e a polidextrose (KONAR *et al.*, 2016).

Dentre os inúmeros benefícios destacam-se que a suplementação alimentar humana com prebióticos aumenta a altura das vilosidades em diferentes segmentos intestinais nas primeiras semanas de vida, aumentando o ganho de peso e melhorando a taxa de conversão alimentar (LEMOS *et al.*, 2016).

Assim, é necessário um estudo das condições de cultivo das BALS para a produção de EPS, no sentido de aperfeiçoar seu rendimento e melhorar as condições de cultivo para verificar a possível ação prebiótica do EPS e sua capacidade de atuar como um potencial aditivo alimentar. Com base nestas definições e características, o objetivo deste trabalho foi analisar por meio de revisão sistemática o potencial prebiótico dos exopolissacarídeos produzidos a partir de bactérias ácido lácticas.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Bactérias Ácido Láctica (BAL)

Bactérias Ácido Lácticas (BAL) são Gram-positivas, catalase negativa, não formadoras de esporos, aeróbicas ou anaeróbias estritas ou facultativas, são divididas em dois grupos: homofermentativas, que produzem unicamente ácido láctico ao fermentar a glicose; e heterofermentativas, que geram outros produtos além do lactato, como o dióxido de carbono, ácido acético, diacetil e etanol (QUADRO 1) (SHOKRYAZDAN, 2017).

Considerando o grupo das homofermentativas, o ácido láctico produzido da fermentação acelera a atividade antimicrobiana, contribui na conservação dos alimentos e no desenvolvimento das características sensoriais (ANTONIO E BORELLI, 2020). A determinação das espécies de BAL é importante, pois o tipo de bactéria influencia nas características sensoriais do produto final (PEREIRA, SANTANA e SANTOS, 2020).

Quadro 1: Grupos de bactérias ácido lácticas de acordo com o tipo de fermentação

Tipo de fermentação	Principais Produtos da Fermentação	Micro-organismos
Homofermentativa	Lactato	<i>Lactobacillus bavaricus</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Enterococcus faecalis</i>
Homofermentativa	Lactato	<i>Pediococcus pentosaceus</i>
Homofermentativa	Lactato	<i>Lactobacillus plantarum</i>
Heterofermentativa	Lactato, etanol, CO <sub>2</sub>	<i>Lactobacillus brevis</i>
Heterofermentativa	acetato, etanol, CO <sub>2</sub>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>

Fonte: Pereira, Santana e Santos (2020).

As bactérias ácido lácticas podem ser classificadas como mesofílicas quando sua temperatura ótima para multiplicação é de 30°C e termofílicas quando essa temperatura é de 42°C. Elas atuam com dupla função na fermentação dos alimentos contribuindo na extensão da vida útil, devido a degradação dos carboidratos, e na diminuição do pH, dificultando o desenvolvimento de patógenos (PEREIRA, SANTANA e SANTOS, 2020).

Estão associadas à conservação de alimentos predominantemente lácteos, por causarem alterações neles devido a produção de: ácidos orgânicos; exopolissacarídeos; compostos aromáticos; bioativos; peptídeos; bacteriocinas ou conversão de metabólitos indesejados (COLOMBO; NERO; TODOROV, 2020), além de inibirem a formação de biofilme a partir de patógenos (NACHTIGALL *et al.*, 2020).

Várias BALs têm atividade antagonista contra microrganismos deteriorantes e patógenos, como *L. monocytogenes* ou *S. aureus*, pois possuem potencial de aplicação na conservação de vários alimentos (BEUX *et al.*, 2020). A interferência de BAL sobre esses patógenos acontece de diversas maneiras, tais como: competição por nutrientes; oxigênio; sítios de ligação e principalmente por produção de substâncias antagonistas (FERREIRA; RIBEIRO E SOUZA, 2021). Elas possuem também propriedades metabólicas que causam uma ação inibitória no crescimento e na produção de toxinas de várias outras espécies de bactérias (DA COSTA *et al.*, 2016).

Alguns tipos de BAL influenciam também na diminuição da intolerância a lactose nos humanos, pois produzem a  $\beta$ -galactosidase (DE VRESE *et al.*, 2014). Elas conseguem catalisar a hidrólise da lactose e estruturas relacionadas com glicosídeos, e reações de transgalactosilação (BATISTA *et al.*, 2018) que servem para produção de oligossacarídeos que muitas vezes possuem a característica de prebióticos, substância capaz de estimular de forma seletiva o crescimento de probiótico (PEREIRA E LUSNE, 2019).

Com todo o potencial tecnológico já descrito anteriormente, as BAL podem se apresentar com ação probiótica, que deve ser avaliada com base em todas as características de um microrganismo probiótico. Vários estudos demonstram o potencial probiótico de BAL, por estarem associadas com melhoras em quadros de obesidade (AAZMI *et al.*, 2015); tolerância à lactose (SILANIKOVE, LEITNER e MERIN, 2015); melhora da digestão (BOKHORST *et al.*, 2015); alergias; inflamação do trato gastrointestinal; equilíbrio da microbiota intestinal; aumento da utilização de nutrientes; estimulação do sistema imunológico, entre outros (REUBEN *et al.*, 2020).

As bactérias ácido lácticas são capazes de produzir polissacarídeos extracelulares chamados Exopolissacarídeos, que serão abordados no próximo tópico.

## 2.2 Exopolissacarídeos

Constituídos por monossacarídeos e seus derivados, os exopolissacarídeos (EPS) são biopolímeros secretados por microrganismos com funções diversas para a célula produtora e outras ações biotecnológicas que são aproveitadas pelas indústrias. Possuem grande variedade de combinações em sua estrutura, dando origem a diferentes propriedades e possibilidades de sua aplicação (PRIYANKA *et al.*, 2015).

Os EPS são formados dentro das células e então excretados ao ambiente como uma cápsula ou biofilme (MOSCOVICI, 2015). São classificados como homopolissacarídeos formado por um único tipo de monossacarídeo, o dextrano ou levano e os heteropolissacarídeos formados por vários tipos de monossacarídeos como xantanos ou gelanos que constituem a maioria dos EPS bacterianos (NELSON e COX, 2017).

Além dessas características e propriedades, a produção dos EPS por cultivos microbianos possui altas taxas de crescimento de microrganismos, produtividade e alto rendimento. Dessa forma, possibilita controlar as condições de produção e manipulação de suas propriedades (MARQUES *et al.*, 2017).

Diante disso, o meio de cultivo é importante para a produção de EPS, pois ele que vai estimular essa produção, sendo normalmente composto por açúcares, como a glicose e sacarose. Outros meios de cultivos derivados de resíduos de indústrias alimentícias ou da agricultura possibilita uma melhora na rentabilidade e propriedades das fontes de carbono (FREITAS; TORRES; REIS, 2017).

Apesar dos EPS extraídos de plantas e macroalgas serem muito utilizados pela indústria, os EPS bacterianos apresentam mais vantagens, pois tem sua produção e extração mais curta e simples, além de não serem afetados por fatores ambientais, como umidade, temperatura, entre outros. Desse modo, se torna mais fácil o controle dos parâmetros de produção, garantindo um resultado de alta qualidade no produto final (ROCA *et al.*, 2015; FREITAS; TORRES; REIS, 2017).

As novas explorações de EPS chamam atenção de pesquisadores em ramos como os de cosméticos e alimentos. O uso de EPS de diferentes origens têm aumentado gerando uma boa procura no mercado em todo o mundo. Dentre as empresas que comercializam produtos com adição de EPS estão: Dencril; Unilever;

CURACTEC, entre outras. No Quadro 2 é especificado alguns tipos de EPS e suas respectivas aplicações na indústria.

Quadro 2: EPSs e suas utilizações em produtos comerciais na indústria.

EPS	Tipo de micro-organismo	Composição estrutural	Empresa	Produto	Aplicação	Referência
Alginato	<i>Azotobacter spp.</i> <i>Pseudomonas spp.</i>	Ácido gulurônico e ácido manurônico	Alginato Dencrigel Dencril	-	Molde para próteses	Dencril, 2018
			Sorvete KIBON UNILEVER	-	Estabilizante	Unilever, 2018
			GRINDSTED Alginate - Dupont	PROTANAL LFR 60	Antirefluxo (suspensão)	DANISCO DUPONT, 2018
Celulose	<i>Acetobacter spp.</i> , <i>Gluconacetobacter xylinus</i>	Glicose	CEKOL CP Kelco	Cekol Cellulose Gum	Melhoria de textura em bebidas; uso em cosméticos	CPKELCO, 2018
Curdiana	<i>Agrobacterium spp.</i> , <i>Agrobacterium biovar 1</i> , <i>Rhizobium spp.</i> , <i>Cellulomonas spp.</i>	Glicose	Curdlan 424 Noshly	Curdlan 424	Reafirmante, gelificante, estabilizante e espessante em alimentos	Noshly, 2018
Dextrana	<i>Leuconostoc spp.</i> , <i>Streptococcus spp.</i>	Glicose, Manose, Glicuronato, piruvato	PHARMACOS MOS	Dextran 1	Excipiente para formulações farmacêuticas	Pharmacosmos, 2018
Gelana	<i>Sphingomonas spp.</i>	Glicose, Ramnose, Ácido glucurônico (glucuronato)	CPKelco	Gelzan	Gelificante, texturizante, estabilizante, suspensor, formador de filme e estruturador. (Matriz de crescimento para organismos clínicos e não clínicos)	CPKELCO, 2018
Levana	<i>Alcaligenes viscosus</i> , <i>Zymomonas mobilis</i> , <i>Bacillus subtilis</i>	Frutose	MONTANA POLYSACCHARIDES	Fructans	Filmes para aumentar a validade de alimentos, adesivos e cosméticos	Montana Polysaccharides, 2018
Xantana	<i>Xanthomonas spp.</i>	Glicose, manose, glucoronato, piruvato	GRINDSTED Xanthan	Grindsted Xanthan SAV	Espessante e suspensor (maionese, molhos, ketchup, sopas)	DANISCO DUPONT, 2018
				Grindsted Xanthan SAV SOFT		

Fonte: Botelho (2018), adaptado pelo autor.

Além das aplicações industriais, como visto no Quadro 2, os EPSs possuem algumas funções na célula produtora atuando no reconhecimento celular e de proteção à célula microbiana contra dessecação, fagocitose, antibióticos ou compostos tóxicos, protozoários, estresse osmótico, adesão em superfícies sólidas e formação de biofilmes (BOTELHO, 2018). Além disso, por ser carboidrato, pode ter um potencial como prebiótico.

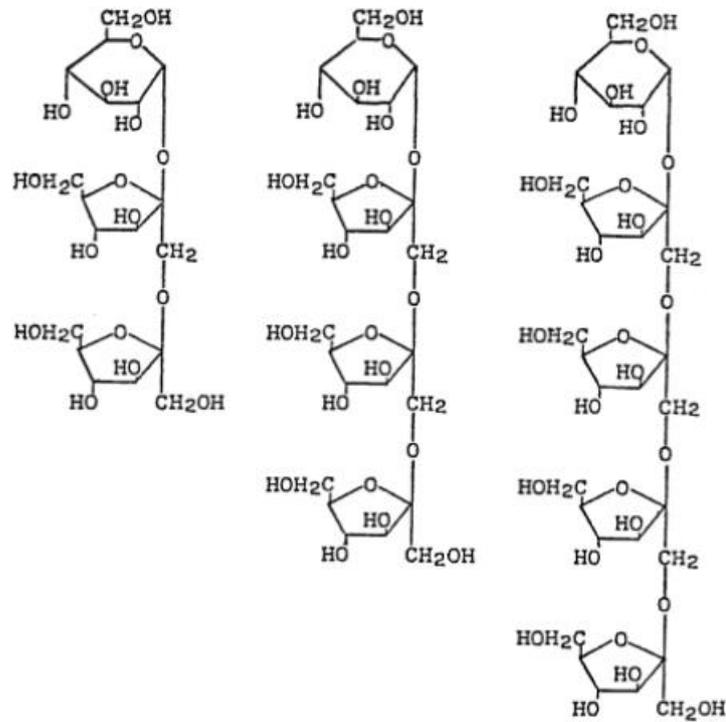
### 2.3 Prebiótico

Prebióticos são estudados desde a década de 50 com o intuito de compreender suas funções e a potencialidade deste aditivo na alimentação animal (BRITO *et al.*, 2014), porém apenas em 1995 foram denominados prebióticos e considerados benéficos para a saúde do hospedeiro. Um novo conceito foi definido pela Associação Científica Internacional para Probióticos e Prebióticos (ISAPP) classificando-o como substrato usado por microrganismos do hospedeiros (GIBSON *et al.*, 2017). Eles atuam como extratos para as bactérias benéficas que estão no cólon intestinal estimulando a produção de ácido láctico, ácidos graxos de cadeia curta e inibindo a proliferação de microrganismos patógenos, trazendo assim um equilíbrio para microbiota intestinal (MORAES *et al.*, 2014).

Os prebióticos são carboidratos produzidos através da lactose, amido e sacarose como matéria-prima para cultivo. Possuem características como: não são digeríveis; são fermentáveis por bactérias benéficas do cólon; possuem resistência a enzimas intestinais; estimulam a seleção de bactérias probióticas e conseguem secretar citocinas (TIWARI *et al.*, 2021).

Podem ser encontrados na forma natural em alimento dietéticos como a chicória, cevada, soja, leite humano e de vaca, mel, trigo, centeio, aspargos, tomate, beterraba sacarina, entre outros (DAVANI-DAVARI *et al.*, 2019). A maioria são oligossacarídeos não digeríveis extraídos de plantas, incluindo frutooligossacarídeo (FOS), galactooligossacarídeo (GOS), mananoligossacarídeos (MOS) e xilooligossacarídeo (XOS), oligofrutose e inulina (BATISTA *et al.*, 2020). FOS é o nome dado apenas a oligômeros de frutose que são compostos de 1-kestose, nistose e frutofuranosil nistose (Figura 1), em que as unidades de frutossil são ligadas na posição beta 2,1 da sacarose, o que os distingue de outros oligômeros (GOMES, 2019).

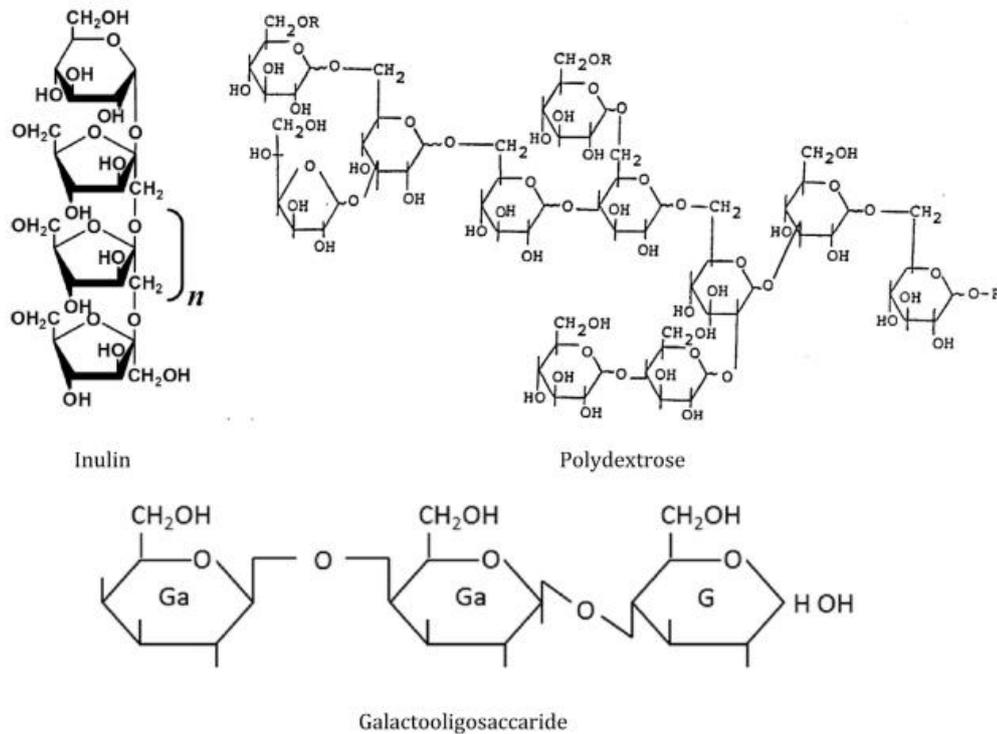
Figura 1: Estrutura química dos principais frutooligossacarídeos: 1-kestose, nistose e frutofuranosil nistose, respectivamente.



Fonte: Rosa e Cruz, 2017.

Dentre os grupos citados, destacam-se: os frutanos (inulina e fruto-oligossacarídeos/oligofrutose), os quais são associados a propagação de bactérias ácido lácticas e os galacto-oligossacarídeos, que estimulam a produção de *Bifidobactérias*, *Lactobacilos*, *Enterobactérias*, *Bacteroidetes* e *Firmicutes* (LOUIS *et al.*, 2016; CHUNG *et al.*, 2016). A Figura 2 apresenta a estrutura química de alguns prebióticos citados.

Figura 2: Estrutura química da Inulina, Polidextrose e Galacto-oligossacarídeo.



Fonte: Konar et al., 2016.

Os prebióticos estimulam de forma seletiva a proliferação ou atividade das populações bacterianas desejáveis no cólon dos hospedeiros. A produção dessas bactérias ocorre através de dois mecanismos de ação, sendo ele denominado direto quando envolve a interação do prebiótico com a mucosa intestinal; e o indireto quando afeta o epitélio intestinal e o sistema imune via produção de AGCC (Ácidos Graxos de Cadeia Curta), acetato, butirato e propionato (BROSSEAU *et al.*, 2019). E assim, influenciando na imunidade inata, adaptativa, na expressão gênica, diferenciação, proliferação e apoptose celular (DAVANI-DAVARI *et al.* 2019).

É importante mencionar que, os efeitos dos prebióticos são sistêmicos, e de forma indireta, podendo atuar em vias metabólicas e processos fisiológicos do hospedeiro. Devido as suas características, quando ingeridos em quantidades adequadas tornam-se importantes agentes preventivos e terapêuticos em algumas doenças, sendo essencial o seu consumo habitual (PATEL & DUPONT, 2015).

Os prebióticos também proporcionam inúmeros benefícios por meio da produção de mucina, gerando compostos fermentáveis que auxiliam na diminuição da incidência de translocação bacteriana (BATISTA *et al.*, 2020).

Os prebióticos à base de lactose reduzem o desenvolvimento da osteoporose, controla os níveis de lipídeos na corrente sanguínea e nos tecidos, colabora para oxidar ácidos graxos no músculo, fígado e tecido adiposo. Além disso, influencia no nível de glicose plasmática por aumentar a síntese de hormônios intestinais, suprimindo assim a inflamação sistêmica, reduzindo o estresse oxidativo e a produção de aminoácidos (NATH *et al.*, 2018).

Sendo assim, se faz necessário uma revisão sobre a capacidade dos EPS produzidos por bactérias ácido lácticas estimular o crescimento seletivo de microbiota intestinal, conferindo diversos benefícios ao hospedeiro.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

Realizar uma revisão sistemática sobre o uso dos Exopolissacarídeos (EPS) produzidos a partir de bactérias ácido lácticas como prebiótico.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- a) Realizar levantamento bibliográfico de acordo com metodologia para revisão sistemática do tema escolhido;
- b) Analisar os artigos científicos obtidos a partir de metodologia estabelecida para revisão sistemática do tema;
- c) Comparar os dados encontrados nos artigos selecionados de acordo com a metodologia estabelecida para revisão sistemática do tema;
- d) Avaliar os resultados apresentados nos artigos selecionados sobre desempenho dos exopolissacarídeos produzido por bactérias ácido lácticas como prebióticos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AAZMI, S., *et al.* (2015). Comparison of the anti-obesity and hypocholesterolaemic effects of single *Lactobacillus casei* strain Shirota and probiotic cocktail. *Int. J. Food Sci. Technol.* 50:1589–1597.
- ALVAREZ-SIEIRO, P. *et al.* (2016). Bacteriocins of lactic acid bacteria: extending the family. *Appl Microbiol Biotechnol*, [s. l.].
- AMANI, K. D. *et al.* (2015). Efeito do Oligossacarídeo Prebiótico de Manano (MOS) na Dieta sobre o Desempenho do Crescimento, Microflora Intestinal, Composição Corporal, Parâmetros Hematológicos e Bioquímicos do Soro Sanguíneo de Juvenis de Truta Arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Fish. Aquat. Sci.* V.10 255–265.
- ANTONIO, M. B. de; BORELLI, B. M. (2020). A importância das bactérias lácticas na segurança e qualidade dos queijos minas artesanais. *Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes.* v. 75, n. 3, p. 204-221. 2020.
- BATISTA, R. A. B. *et al.* (2018). Lactose em alimentos industrializados: avaliação da disponibilidade da informação de quantidade. *Ciência & Saúde Coletiva*, 23(12):4119-4128, 2018.
- BATISTA, V. L. *et al.* (2020). Probióticos, prebióticos, simbióticos e paraprobióticos como alternativa terapêutica para a mucosite intestinal. *Frontiers in Microbiology.* V. 11. 544490.
- BEUX, S. *et al.* (2020). Selection of raw cow's milk *thermophilic* lactic acid bacteria obtained from southwest Parana, Brazil, with potential use as autochthonous starter. *Braz. J. Food Technol.*, v. 23, p. 1-11.
- BOKHORST, V. V., *et al.* (2015). Improving the digestive tract robustness of probiotic *lactobacilli*. in *Probiotics and Prebiotics: Current Research and Future Trends*. Caister Academic Press, Norfolk, UK. p.195–204.
- BOTELHO, P. de S. (2018). Caracterização estrutural de dois exopolissacarídeos obtidos dos fermentados de leite e extrato de soja por grãos de Kefir. *Doutorado em Biotecnologia. Universidade Federal Rural de Pernambuco.* 143 p. 2018.
- BRITO, J. M. de. *et al.* (2014). Probióticos, prebióticos e simbióticos na alimentação de não-ruminantes – Revisão. *Revista eletrônica nutritime.* V. 11. N 01. P. 3070-3084. 2014.
- BROSSEAU, C., *et al.* (2019). Prebiotics: Mechanisms and Preventive Effects in Allergy. *Nutrients*, 11(8).
- CHUNG, W. S., *et al.* (2016). Modulation of the human gut microbiota by dietary fibres occurs at the species level. *BMC biology.* 14, 3.

- COLOMBO, M.; NERO, L. A.; TODOROV, S. D. (2020). Safety profiles of beneficial lactic acid bacteria isolated from dairy systems. *Brazilian Journal of Microbiology*, [s. l.], 2020.
- CPKELCO. CPKelco A HUBER COMPANY, 2018. Disponível em: <https://www.cpkelco.com>. Acesso em: 14/08/2021.
- DA COSTA, E. F.; PORTO, A. L. F.; CAVALCANTI, M. T. H. (2016). Queijos artesanais: fonte de bactérias ácido lácticas selvagens para formulação de fermentos tradicionais. 2016.
- DANISCO® DUPONT™. DUPONT NUTRITION & HEALTH, 2018. Disponível em: <http://www.danisco.com/food-beverages/>. Acesso em: 14/08/2021.
- DAVANI-DAVARI, D., et al. (2019). Prebiotics: Definition, Types, Sources, Mechanisms, and Clinical Applications. *Foods*. 8(3), 92.
- DENCRIL. ALGINATO DENCRIGEL®, 2018. Disponível em: <http://www.dencril.com.br/portal/>. Acesso em: 14/08/2021.
- DE VRESE, M. *et al.* (2014). Combination of acid lactase from *Aspergillus oryzae* and yogurt bacteria improves lactose digestion in lactose maldigesters synergistically: A randomized, controlled, double-blind cross-over trial. *Clinical Nutrition*, v.14, p.1-6, 2014.
- FERREIRA, G. M. das V.; RIBEIRO, J. L.; SOUZA, S. M. de O. (2021). Avaliação do potencial antagonista de bactérias ácido lácticas frente à *Listeria monocytogenes* e *Salmonella enteritidis*. *REVISTA CIENTÍFICA DE MEDICINA VETERINÁRIA DO UNICEPLAC.*, [s. l.], v. 6, ed. 1, p. 47-53.
- FONTELES, T. V.; RODRIGUES, S. (2018). Prebiotic in fruit juice: processing challenges, advances, and perspectives. *Current Opinion in Food Science*, v. 22, p. 55–61, 2018.
- FREITAS, F.; TORRES, C. A. V.; REIS, M. A. M. (2017). Engineering aspects of microbial exopolysaccharide production. *Bioresource Technology*, v. 245, p. 1674–1683, 2017.
- GIBSON, G. *et al.* (2017). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. v. 14 p.491–502, 2017.
- GOMES, R. (2019). Produção biotecnológica de frutooligossacarídeos: Review. *R. Eletrônica Científica Inovação e Tecnologia*. V.10, n. 25, p 1 – 17, 2019.
- IBARBURU, I. *et al.* (2015). Production and partial characterization of exopolysaccharides produced by two *Lactobacillus suebicus* strains isolated from cider. *International Journal of Food Microbiology*, v. 214, p. 54-62, 2015.

- KONAR, N. *et al.* (2016). Improving functionality of chocolate: A review on probiotic, prebiotic, and/or synbiotic characteristics. *Trends in Food Science & Technology*, v.49, p.35-44, 2016.
- LEMOS, M.J. de; *et al* (2016). Uso de aditivo alimentar equilibrador da flora intestinal em aves de corte e de postura. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.83, e0862014, 2016.
- LOUIS, P., FLINT, H. J., & MICHEL, C. (2016). How to Manipulate the Microbiota: Prebiotics. *Advances in experimental medicine and biology*, 902, 119–142.
- LUDIMILLA, A. P., & FABIOLA, F. S. C. (2015). Colonização da microbiota intestinal e sua influência na saúde do hospedeiro. *Universitas: Ciências da Saúde*, 14(1), 85-96.
- LYNCH, Kieran M; *et al.* (2018). Exopolysaccharide producing lactic acid bacteria: Their technofunctional role and potential application in gluten-free bread products. *Food Research International*. 110. (2018). 52-61.
- MARQUES, R.; *et al.* (2017). Hybrid modeling of microbial exopolysaccharide (EPS) production: The case of *Enterobacter* A47. *Journal of Biotechnology*, v. 246, p. 61–70, 2017.
- MELO, I.A., *et al.* (2016). Levantamento e caracterização dos produtos probióticos disponíveis no mercado varejista da região metropolitana do Rio de Janeiro. *Revista Rede de Cuidados em Saúde*. 2016; 10.
- MONTANA POLYSACCHARIDES. MONTANA POLYSACCHARIDES CORP, 2018. Disponível em: [http://www.polysaccharides.us/aboutlevan\\_background.php](http://www.polysaccharides.us/aboutlevan_background.php). Acesso em: 14/08/2021.
- MORAES, A. C. F. *et al.* (2014). Microbiota intestinal e risco cardiometabólico: mecanismos e modulação dietética. *Arq Bras Endocrinol Metab*. V.58, n.4, p. 317-327, 2014.
- MOSCOVICI, M. (2015). Present and future medical applications of microbial exopolysaccharides. *Frontiers in Microbiology*, v. 6, n. 1, p. 1–11, 2015.
- NACHTIGALL, C. *et al.* (2020). Production and molecular structure of heteropolysaccharides from two lactic acid bacteria. *Carbohydrate Polymers*, [s. l.], v. 236, p. 116019, 2020.
- NATH, A., *et al.* (2018). Biological Activities of Lactose-Based Prebiotics and Symbiosis with Probiotics on Controlling Osteoporosis, Blood-Lipid and Glucose Levels. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*. 54(6).
- NELSON, D. L.; COX, M. M. (2017). *Lehninger Principles of Biochemistry*. 7ª ed. [S.l.]: W. H. Freeman, 2017.

- NOSHLY. ©2011-2018 Noshly Pty. Ltd, 2018. Disponível em: <https://noshly.com/additive/424/firming-agent-plus/424/#.W607i2hKjIV> Acesso em: 14/08/2021.
- PATEL, R., & DUPONT, H. L. (2015). New Approaches for Bacteriotherapy: Prebiotics, new- generation probiotics, and synbiotics. *Clin Infect Dis*. 60(2), 108–121
- PHARMACOSMOS A/S. The Global Leader in Pharmaceutical Dextran, 2018. Disponível em: <https://www.dextran.com>. Acesso em: 14/08/2021.
- PENG, K. (2020). Recent insights in the impact of emerging technologies on lactic acid bacteria: A review. *Food Research International* 137 (2020) 109544.
- PEREIRA, A. A. R.; LUSNE, A. P. I. (2019). Probióticos e prebióticos na prevenção e tratamentos de doenças. *Revista Brasileira Multidisciplinar*. v. 22, n. 3, p. 162 – 176, 2019.
- PEREIRA M. T.; SANTANA E. H. W. DE; SANTOS J. S. DOS. (2020). Importância das Bactérias Ácido Lácticas e não Starter (NSLAB) na Tecnologia de Produção dos Derivados Lácteos. *Ensaio*, v. 24, n. 4, p. 348-352, 2020.
- PRIYANKA, P.; *et al.* (2015). Versatile properties of an exopolysaccharide R-PS18 produced by *Rhizobium sp.* PRIM-18. *Carbohydrate Polymers*, v. 126, n. 1, p. 215–221, 2015.
- REUBEN, R. C. *et al.* (2020). Characterization and evaluation of lactic acid bacteria from indigenous raw milk for potential probiotic properties. *American Dairy Science Association*, v. 103, ed. 2, 2020.
- ROSA, L. P. de S.; CRUZ, D. de J. (2017). Aplicabilidade dos frutooligossacarídeos como alimento funcional. *Nutrivisa – Revista de Nutrição e Vigilância em Saúde*. V.4, n.1, p. 68-79. 2017.
- SCJOHNSON. A family company at work for a better world. Pronto® Limpador Madeiras, 2018. Disponível em: <https://www.whatsinsidescjohnson.com/pt/pt/brands/pronto/pronto-limpadormadeiras>. Acesso em: 14/08/2021.
- SHOKRYAZDAN, P. (2017). Probiotics: From Isolation to Application. *Journal of the American College of Nutrition*, [s. l.], p. 1541-1087, 2017.
- SILANIKOVE, N., G. LEITNER, E U. MERIN. (2015). The interrelationships between lactose intolerance and the modern dairy industry: Global perspectives in evolutionary and historical backgrounds. *Nutrients* 7:7312–7331.
- UNILEVER. Sorvete KIBON® Sorveteria Tentação, 2018. Disponível em: <https://www.kibon.com.br/nossas-marcas/sorveteria/sorveteriatenta%C3%A7%C3%A3o.html>. Acesso em: 14/08/2021.

## CAPÍTULO I

Revista PUBVET, Qualis B4



## O efeito dos exopolissacarídeos obtidos a partir de bactérias ácido lácticas como prebiótico: uma revisão sistemática

Rejane Gonçalves Monteiro<sup>1\*</sup> , Elaine Cristina da Silva<sup>1</sup> , Anna Larissa Cerqueira Martins<sup>1</sup> , Ana Lúcia Figueiredo Porto<sup>1</sup> , Maria Taciana Cavalcanti Vieira Soares<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE, Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n, 5211-900 Recife, PE, Brasil.

\*Autor para correspondência, E-mail: [Rejane\\_bio@hotmail.com](mailto:Rejane_bio@hotmail.com)

**Resumo.** Exopolissacarídeos de bactérias ácido lácticas são biopolímeros conhecidos pela diversidade estrutural e devido a isto eles apresentam vários efeitos benéficos a saúde humana, podendo atuar como imunomoduladores, antioxidantes, antitumorais etc. Sabe-se que os exopolissacarídeos também auxiliam no equilíbrio da microbiota intestinal, porém ainda não há constatação de que seja por efeito prebiótico. Sendo assim, este estudo teve por objetivo avaliar o desempenho dos exopolissacarídeos produzidos por Bactérias ácido lácticas como prebióticos por meio de uma revisão sistemática de literatura. A revisão foi realizada adotando a estratégia PRISMA. Foram coletados estudos realizados entre 2011 e 2020, utilizando 4 diferentes bases de dados. As palavras chaves empregadas foram: “exopolysaccharides”, “prebiotics”, “prebiotic potential”, “prebiotic effects”, “lactic acid bacteria” e “probiotics”. Foram analisadas ao todo, 7 referências relativas aos efeitos prebióticos de EPS em geral, e destes poucos realizaram estudos clínicos randomizados e controlados. Embora os EPS estudados tenham apresentado características típicas de um prebiótico, ainda há a necessidade de estudos futuros com melhor delineamento experimental para verificar com maior precisão esses efeitos, bem como a determinação da duração e dosagens adequadas.

**Palavras-chaves:** bactéria ácido láctica, exopolissacarídeo, prebiótico

## *The effect of exopolysaccharides obtained from lactic acid bacteria as a prebiotic: a systematic review*

**Abstract.** Exopolysaccharides from lactic acid bacteria are biopolymers known for their structural diversity and because of this they have several beneficial effects on human health, and can act as immunomodulators, antioxidants, antitumors etc. It is known that exopolysaccharides also help in the balance of the intestinal microbiota, but there is still no evidence that it is due to a prebiotic effect. Therefore, this study aimed to evaluate the performance of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria as prebiotics through a systematic literature review. The review was carried out adopting the PRISMA strategy. Studies carried out between 2011 and 2020 were collected, using 4 different databases. The key words used were: “exopolysaccharides”, “prebiotics”, “prebiotic potential”, “prebiotic effects”, “lactic acid bacteria” and “probiotics”. A total of 7 references were analyzed regarding the prebiotic effects of EPS in general, and of these few, randomized and controlled clinical studies were carried out. Although the EPS studied have presented typical characteristics of a prebiotic, there is still a need for future studies with a better experimental design to verify these effects with greater precision, as well as to determine the appropriate duration and dosages.

**Keywords:** lactic acid bacteria, exopolysaccharide, prebiotic

## Introdução

Os exopolissacarídeos (EPS) produzidos por Bactérias Ácido Láticas (BAL) possuem características físico-químicas, através das quais proporcionam melhorias nas texturas e nas propriedades organolépticas melhorando a qualidade do produto fabricado nas indústrias alimentícias, de cosméticos, entre outras (LYNCH *et al.*, 2018).

Para a indústria, os EPS são de grande interesse comercial, pois ajudam na purificação ao final dos bioprocessos, possuem propriedades físico-químicas reprodutíveis, além de existirem em grande abundância (JINDAL, SINGH e KHATTAN, 2018). Também são considerados essenciais fontes de hidrocolóides (gomos alimentares) por proporcionar estrutura e estabilidade quando aplicados na produção de alimentos (GAO *et al.*, 2017).

Existem muitas aplicações industriais potenciais para EPS originado por BAL, como seu papel como gelificante, espessantes, emulsificantes, estabilizantes, aglutinantes de água e agentes viscosificantes. Além disso, o EPS produzido pela BAL tem um papel potencial na preparação de produtos lácteos e à base de cereais (DABA, ELNAHAS e ELKHATEEB, 2021).

No âmbito de reologia, os EPS influenciam na capacidade de biopolímero, pois dão maior uniformidade na estrutura química do composto, considerando o tamanho e a frequência das ramificações e a massa molecular (ZHOU *et al.*, 2018). Podem ter ação prebiótica, propriedade esta, que ainda se encontra em estudo para garantir sua eficácia (CAGGIANIELLO *et al.*, 2016).

A ação prebiótica diz respeito ao crescimento de forma seletiva de microrganismos benéficos da microbiota intestinal assim como de probióticos. A modulação dessa microbiota, e a inclusão de probióticos na dieta, podem ser aproveitadas em terapias alternativas para a prevenção e tratamento de doenças (CARMO, 2019) e vêm se tornando cada vez mais comum nos suplementos alimentícios para favorecer a saúde em geral dos seres humanos (RENSCHLER *et al.*, 2020).

Assim, o objetivo dessa revisão sistemática foi investigar o uso de exopolissacarídeos produzidos a partir das bactérias ácido láticas como prebióticos.

## Materiais e métodos

### Diretrizes

Esta revisão sistemática seguiu às diretrizes determinadas pelo *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA). (MOHER *et al.*, 2009).

### Crítérios de elegibilidade

Os artigos científicos selecionados para esta revisão sistemática foram aqueles que desenvolviam estudos primários, publicados em língua inglesa nos últimos 10 anos, 2011 a 2020, que associaram a administração de exopolissacarídeo produzidos por Bals com ação prebiótica em ensaios *in vitro*. Foram excluídos da revisão sistemática artigos de estudo secundário (revisões, relatórios e livros) e duplicados, assim como estudos que não possuíam todos os critérios de elegibilidade, tais como: ensaios *in vivo*, que não utilizaram o exopolissacarídeo como prebiótico em teste.

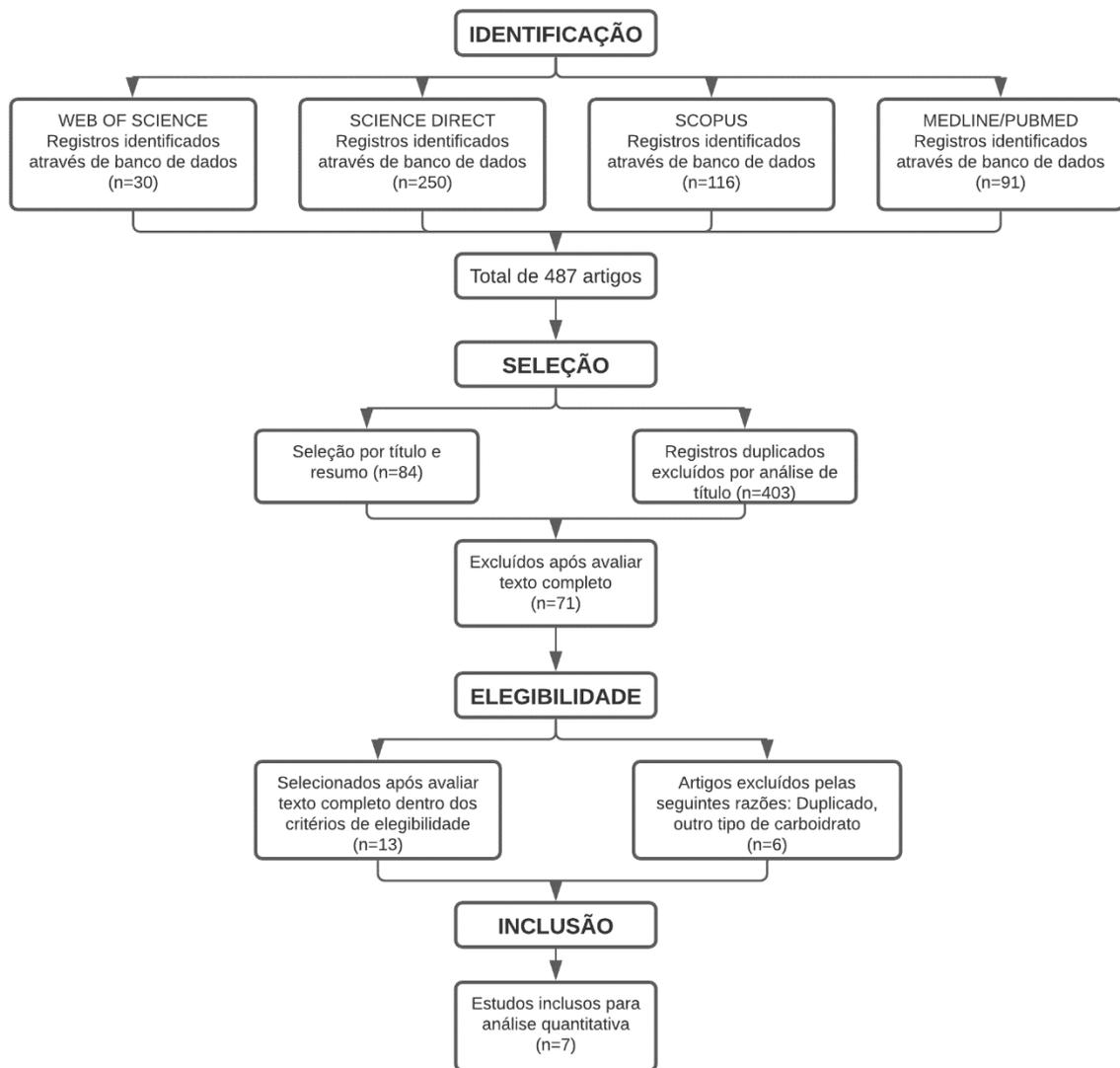
## **Estratégias de pesquisa e identificação do estudo**

A seleção dos artigos foi realizada por três revisores que o fizeram de forma independente, tomando como base três etapas: título, seguida de resumo e por fim o texto completo, a fim de verificar os critérios de elegibilidade. Na pesquisa de dados as seguintes palavras-chave foram utilizadas: “exopolysaccharides”, “prebiotics”, “prebiotic potential”, “prebiotic effects”, “lactic acid bacteria” e “probiotics”. Para obter maior alcance dos resultados, os termos foram interligados com a inserção dos operadores “or” e “and”. Devido a heterogeneidade dos estudos selecionados e qualidade do ensaio, não foi feita uma meta-análise, logo os resultados foram resumidos em texto.

## **Resultados**

### **Artigos pesquisados**

Na Figura 1 encontra-se um fluxograma para melhor entendimento do processo de seleção dos trabalhos. Onde, podemos observar que dos 487 artigos, inicialmente obtidos nas bases de dados Pubmed/ Medline/Web of science/ Scopus /Science Direct, a partir da utilização dos critérios de seleção e elegibilidade, restaram 7 artigos que passaram por uma leitura cuidadosa.



**Figura 1:** Fluxograma de identificação e seleção dos artigos para revisão sistemática sobre o efeito prebiótico de exopolissacarídeos, 2011-2020.

Os artigos incluídos analisaram a influência dos exopolissacarídeos com ação prebiótica na microbiota intestinal em ensaios in vitro. Na Tabela 1 tem-se um compilado de informações relevantes sobre os artigos analisados e os pontos principais para análise desse efeito prebiótico do EPS.

Referências	Microrganismos produtores de EPS	EPS	Carboidrato padrão para crescimento dos probióticos	Concentração do EPS como prebiótico	Produção de ácido graxo	Tempo de crescimento dos microrganismos probióticos	Resultados (Efeito Prebiótico)
Liu <i>et al.</i> , (2020)	<i>Erwinia sp. 10119</i>	Levana	Inulina	NR	Aumento do acetato e do butirato, respectivamente, de 14.16 mM para 30.37 mM e de 26.03 mM para 65.41 mM.	48h	A levana influenciou no crescimento da população de <i>Bifidobacterium</i> , mas não houve mudança significativa na população de <i>Lactobacillus</i> .
Tang <i>et al.</i> (2020A)1	<i>Lactobacillus delbrueckii ssp. e Lactobacillus bulgaricus.</i>	NR	Inulina	1%	Ao final das 48h de fermentação, o total de AGCC de r-eps 1, r-eps 2 e inulina foram, respectivamente, 145 mM, 135mM e 130 mM.	48h	Os EPSs testados apresentaram forte efeito prebiótico em comparação ao padrão.

Tang <i>et al.</i> , (2020B)2	<i>Lactobacillus delbrueckii bulgaricus</i> ssp.	NR	Inulina e Glicose	NR	NR	48h	Não foi observado crescimento de <i>Bifidobacterium</i> .
Hussein <i>et al.</i> , (2015)	<i>Lactobacillus delbrueckii bulgaricus</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i> e <i>Lactobacillus casei</i>	NR	NR	NR	NR	24h, 48h, 72h, 96h, 120 h	Maior efeito prebiótico com o EPS de <i>Lactobacillus delbrueckii bulgaricus</i> .
Das <i>et al.</i> , (2014)	<i>Lactobacillus plantarum DM5</i>	Glucano	Inulina	1%	NR	24h	Aumento significativo das populações de <i>Bifidobacterium Infantis</i> e <i>Lactobacillus. sp.</i>
Grosu-Tudor <i>et al.</i> , (2013)	<i>Lactococcus lactis</i> , <i>Leuconostoc citreum</i> , <i>Weissella confusa/cibaria</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i>	NR	Lactose	5 g/L	A produção de acetato foi de 12 mM/L.	92h	Apenas os HoPs mostraram efeito bifidogênico.
Hongpattarakera <i>et al.</i> , (2012)	<i>Weissella cibaria</i> , <i>Weissella confusa</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> e <i>Pediococcus pentosaceus</i>	NR	Glicose	1%	Após 24 h de simulação, a produção de ácido acético foi de 10 L.	24h, 48h	O EPS de <i>Weissella cibaria</i> foi o substrato que estimulou o crescimento de <i>Bifidum bifido</i> , de 6.17 para 7.54 log CFU/mL.

NR= Não referenciado.

**Tabela 1.** Dados avaliados nos artigos utilizados neste estudo.

## Efeito prebiótico

A maioria dos estudos demonstram que o exopolissacarídeo tem efeito prebiótico devido ao seu efeito bifidogênico e ao estímulo do crescimento das bactérias ácido lácticas, como *Lactobacillus* spp. (HONGPATTARAKEREA *et al.*, 2012; DAS *et al.*, 2014; TANGA *et al.*, 2020A).

De acordo com estudos avaliados foi observado a falta ou baixo estímulo do crescimento de bactérias patogênicas como *Clostridium* spp., *Escherichia coli* e Bacteroides com as suplementações de exopolissacarídeos aos meios de cultura. O não crescimento desses microrganismos sugere que o prebiótico serve como fonte de carbono apenas para probióticos, atingindo assim sua funcionalidade final (HONGPATTARAKEREA *et al.*, 2012; GROSU-TUDOR *et al.*, 2013; DAS *et al.*, 2014; LIU *et al.*, 2020; TANGA *et al.*, 2020B).

Foi identificado que os exopolissacarídeos que serviram como melhores fontes de carbono para bactérias probióticas foram os homopolissacarídeos, devido o mesmo ser resistente a passagem gastrointestinal e não sofrer degradações significativas, podendo-se dizer que possuem efeito de fibra (GROSU-TUDOR *et al.*, 2013 e TANGA *et al.*, 2020<sup>1</sup>). Entretanto, foi observado que heteropolissacarídeos formados por glicose e arabinose, produzidos por *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus*, apresentam alto índice como prebiótico (HUSSEIN *et al.*, 2015).

O estudo de Das *et al.* (2014) é pioneiro na análise da ação prebiótica do *glucano DM5* produzido a partir de *L. plantarum DM5*. O *glucano DM5* em comparação com a goma de guar, que já é muito utilizada na indústria, se mostra como bom biofloculante e emulsificante, por suportar altas temperaturas, ter uma boa retenção de água, e apresentar uma estrutura formada por polissacarídeos. Ele também estimula o crescimento de *L. plantarum DM5*, *L. acidophilus* NRRL B-4496 e *B. infantis* NRRL B-41661, em comparação com a inulina, que já é considerado prebiótico.

Foi analisado a taxa de crescimento de *Bifidobacterium* a partir de EPS produzidos por *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* SRFM-1 (Tanga *et al.*, 2020<sup>1</sup>; HUSSEIN *et al.*, 2015), *Lactococcus lactis* (GROSU-TUDOR *et al.*, 2013), *Weissella cibaria* A2 (HONGPATTARAKEREA *et al.*, 2012) e *Erwinia* spp. 10119 (LIU *et al.*, 2020) e em todos os casos houve aumento populacional significativo, o que demonstra uma eficácia da ação prebiótica dos EPS produzidos por essas cepas.

Estudos que analisaram frações de exopolissacarídeos produzidas por *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* SRFM-1 mostram sua eficiência como fontes de carbono para o crescimento de bactérias do gênero *Lactobacillus*, como a *L. plantarum 70810* e a *L. casei* ssp. *rhamnosus* LS-8. Assim como conseguem reduzir o volume de células de *Escherichia coli* e não estimulam o crescimento de *Streptococcus thermophilus* (TANGA *et al.*, 2020<sup>2</sup>).

## Produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC)

Os ácidos graxos de cadeia curta são essenciais para a saúde do hospedeiro, e por isso a avaliação de sua produção oriunda da fermentação de prebióticos se torna um fator importante na análise do potencial destes suplementos. Alguns exemplos da atuação dos AGCC no

organismo são: o ácido butírico, que previne contra o câncer colo retal e é fonte de energia para a microbiota intestinal, o ácido propiônico que reduz a síntese de colesterol no fígado e aumenta o metabolismo de lipídeos e o ácido acético que é oxidado pelo coração (GIBSON *et al.*, 2017).

A concentração de ácidos graxos de cadeia curta, principalmente de ácido acético, foi um parâmetro avaliado nos resultados da suplementação de exopolissacarídeo como prebiótico, pois, esses são produzidos a partir da fermentação de fontes de carbono pela microbiota intestinal e, como supracitado, tem um grande fator de importância para a saúde do hospedeiro (HONGPATTARAKERIA *et al.*, 2012; GROSU-TUDOR *et al.*, 2013; LIU *et al.*, 2020; TANGA *et al.*, 2020<sup>1</sup>).

Grosu-Tudor *et al.* (2013) relacionou a baixa produção de ácido acético, 12mM/litro, ao baixo crescimento de *Bifidobacterium* spp. o qual foi suplementado com exopolissacarídeo produzido por *Lactococcus lactis* 1.8 após 24 horas.

Por fim, Tanga *et al.* (2020<sup>1</sup>) demonstrou o aumento da concentração de todos os ácidos graxos de cadeia curta (fórmico, acético, propiônico e butírico), após 48h de fermentação das frações de exopolissacarídeo obtidos de *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* SRFM-1.

### **Degradação do exopolissacarídeo na simulação do sistema gastrointestinal**

Tanga *et al.* (2020)<sup>1 2</sup> verificaram, em ambos estudos, que após a simulação *in vitro* da digestão no sistema gastrointestinal, 2 frações de EPS (r-eps 2 e r-eps3) sintetizadas por *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* SRFM-1 apresentaram redução de 13.4% e 10.6% das massas, respectivamente, ao mesmo tempo a fração r-eps1 apresentou insignificante variação, esta foi a que obteve melhores taxas de fermentação por bactérias probióticas.

No estudo realizado por Grosu-Tudor *et al.* (2013), todos os seis exopolissacarídeos selecionados ao passarem pela simulação do trato gastrointestinal superior não sofreram degradação, tanto os homopolissacarídeos, quanto os heteropolissacarídeo.

Foi observado por Hongpattarakerea *et al.* (2012) baixa percentagem de degradação do EPS *W.cibaria* A2 quando submetido a simulação gástrica intestinal. Já para Das *et al.* (2014), os percentuais de digestão de exopolissacarídeo *Lactobacillus plantarum* DM5 foram irrelevantes.

### **Discussão**

Apesar do acelerado crescimento de conhecimentos e da literatura científica sobre microbiota intestinal e prebióticos, esta revisão sistemática mostrou que as informações são muito limitadas no que se refere ao potencial do EPS de agir como um prebiótico. Não foi encontrada nenhuma revisão sistemática sobre esse tema.

Nos trabalhos analisados não há uma homogeneidade nos microrganismos utilizados para análise da produção de EPS, assim, torna-se difícil comparar os resultados e as diferenças na microbiota intestinal em cada estudo analisado.

Foi observado que os homopolissacarídeos (HOPS) apresentaram melhores resultados no estímulo do crescimento de bactérias não patogênicas *Bifidobacterium bifidum*, exceto os produzidos por *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, que não apresentaram desenvolvimento de *Bifidobacterium bifidum* nos seus resultados.

Em todos os estudos, não houve degradação significativa dos EPSs homopolissacarídeos e heteropolissacarídeos que foram submetidos à simulação gastrointestinal. Isso se deve ao fato desses EPS possuírem efeito de fibra, ou seja, nenhum deles foi degradado durante a simulação pela passagem no sistema gastrointestinal, e com isso, eles podem atingir cólon sem serem hidrolisados ou absorvidos na parte superior do trato gastrointestinal (GROSU-TUDOR *et al.*, 2013).

É importante a avaliação da produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) oriundos da fermentação de prebióticos, pois é um fator essencial para qualificar o potencial destes suplementos, visto que eles auxiliam na saúde do hospedeiro, como na criação de uma barreira para substâncias nocivas, assim como na redução de inflamação e de risco de câncer no intestino (GIBSON *et al.*, 2017).

Entretanto, apesar dos estudos mostrarem que houve produção de ácido graxo, essa quantidade não foi especificada, e os trabalhos de Grosu-Tudor *et al.* (2013) e Hussein *et al.* (2015), não expõem se houve produção. Logo, não é possível chegar a uma conclusão em como de fato esse parâmetro interferiu nos estudos analisados.

As diferentes metodologias empregadas para a análise da ação prebiótica do EPS na microbiota intestinal dos ensaios estudados e as diferentes espécies de bactérias avaliadas inviabilizaram a determinação de um padrão específico que garanta a eficiência da ação prebiótica do EPS em sua totalidade.

Outros aspectos que dificultam a comparabilidade dos resultados obtidos são a variabilidade das fontes de carbono utilizadas nos estudos. Porém, se observa que os trabalhos que usaram como fonte de carbono a sacarose, a produção de EPS foi muito significativa, então sugere-se que em futuros trabalhos a sacarose seja utilizada como única fonte de carbono.

Diante da heterogeneidade dos ensaios *in vitro*, evidencia-se a necessidade de padronização dos critérios e definições utilizados para permitir a comparação entre os microrganismos e sua produção de EPS, conforme mencionado na literatura. Portanto, independentemente das análises realizadas, não pode-se afirmar apenas com esses trabalhos que o EPS possui ação prebiótica em todos os casos.

## **Conclusão**

A presente revisão sistemática constatou que EPS produzido por BAL apresentou influência no crescimento de Bifidobactérias assim como em cepas de bactérias ácido lácticas probióticas, tais como as do gênero *Lactobacillus*. Tal influência não foi observada para o crescimento de bactérias não probióticas e patogênicas. Além disso, alguns do EPS testados possuem baixa degradação frente a passagem no sistema gastrointestinal. Com isso, o presente estudo sugere a incorporação de EPS em alimentos funcionais com o título de prebiótico, porém existe a necessidade de mais estudos para confirmar o tipo de EPS, duração do efeito e a dose de suplementação, a fim de aumentar as evidências dos resultados descritos pelos estudos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADESULU-DAHUNSI, A. T. *et al.* (2018). Production of exopolysaccharide by strains of *Lactobacillus plantarum* YO175 and OF101 isolated from traditional fermented cereal beverage. *PeerJ*. Doi <https://doi.org/10.7717/peerj.5326>
- CAGGIANIELLO, G. *et al.* (2016). Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria: from health-promoting benefits to stress tolerance mechanisms. *Appl Microbiol Biotechnol*. Doi [10.1007/s00253-016-7471-2](https://doi.org/10.1007/s00253-016-7471-2)
- ZHOU, Q., *et al.* (2018). Characterization of a dextran produced by *Leuconostoc pseudomesenteroides* XG5 from homemade wine. *International Journal of Biological Macromolecules*. V.107. P 2234-2241, 2018. Doi <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.10.098>
- DABA, G. M.; ELNAHAS M. O.; ELKHATEEB, W. A. (2021). Contributions of exopolysaccharides from lactic acid bacteria as biotechnological tools in food, pharmaceutical, and medical applications. *International Journal of Biological Macromolecules*. V. 173. P.79-89, 2021. DOI <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.01.110>
- DAS, D. *et al.* (2014). A food additive with prebiotic properties of an -d-glucan from *Lactobacillus plantarum* DM5. *International Journal of Biological Macromolecules*. 69. 20–26. Doi <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.05.029>
- GAO, Z. *et al.* (2017). Hydrocolloid-food component interactions. *Food Hydrocolloids*. V. 68, p. 149–156. Doi <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.08.042>
- GIBSON, G. *et al.* (2017). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. v. 14 p.491–502. Doi [10.1038/nrgastro.2017](https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017)
- GROSU-TUDOR, S. S. *et al.* (2013). Prebiotic potential of some exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *Romanian Biotechnological Letters*. Vol. 18, N. 5.
- GUARNER, F. *et al.* (2017). Probiotics and prebiotics. *World gastroenterology organization*.
- HONGPATTARAKEREA, T. *et al.* (2012). In vitro prebiotic evaluation of exopolysaccharides produced by marine isolated lactic acid bacteria. *Carbohydrate Polymers*. 87. 846–852. Doi <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.08.085>
- HUSSEIN, M. M. *et al.* (2015). Production and prebiotic activity of exopolysaccharides derived from some probiotics. *Egyptian Pharmaceutical Journal*. 14. 1-9. Doi [10.4103/1687-4315.154687](https://doi.org/10.4103/1687-4315.154687)
- JINDAL, N.; SINGH KHATTAR, J. (2018). Microbial Polysaccharides in Food Industry. *In: Biopolymers for Food Design*. Elsevier, p. 95–123. Doi <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811449-0.00004-9>

LIU, C. *et al.* (2020). An evaluation of the prebiotic potential of microbial levans from *Erwinia* sp.10119. *Journal of Functional Foods*. 64. 103668. Doi <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103668>

LYNCH, K. M; *et al.* (2018). Exopolysaccharide producing lactic acid bacteria: Their technofunctional role and potential application in gluten-free bread products. *Food Research International*. 110. 52-61. Doi <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.03.012>

MOHER, D. *et al.* (2009). Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *PLoS medicine*, v. 6, n. 7, p. e1000097. Doi <https://doi.org/10.1136/bmj.m2632>

RENSCHLER, M. A. *et al.* (2020). Using nitrous acid-modified de Man, Rogosa, and Sharpe medium to selectively isolate and culture lactic acid bacteria from dairy foods. *American Dairy Science Association*. V. 103 N. 2. Doi <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17041>

TANGA, W.; *et al.* (2020<sup>1</sup>). In vitro digestion and fermentation of released exopolysaccharides (r-EPS) from *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* SRFM-1. *Carbohydrate Polymers*. 230. 115-593. Doi <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115593>

TANGA, W.; *et al.* (2020<sup>2</sup>). Selective fermentation of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus* SRFM-1 derived exopolysaccharide by *Lactobacillus* and *Streptococcus* strains revealed prebiotic properties. *Journal of Functional Foods*. 69.103952. Doi <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103952>

## ANEXO 1 - Instrução aos autores – Revista PUBVET

I. Modelo de apresentação de artigo

ii. Relato de caso

iii. Revisão de literatura

### I. Modelo de apresentação do artigo original

**O título** (Fonte Times New Roman, estilo negrito, tamanho 16, somente a primeira letra da sentença em maiúscula, o mais breve possível – máximo 15 palavras)

**José Antônio da Silva<sup>1</sup>**, **Carlos Augusto Fonseca<sup>2\*</sup>**

**Nomes de autores** (ex., José Antônio da Silva<sup>1</sup>). Todos com a primeira letra maiúscula e o número 1, 2, 3,... sobrescrito. Informar o hiperlink do Orcid  (exemplo, <https://orcid.org/0000-0003-1058-7020>), ou informar o hiperlink do currículo lattes  (exemplo, <http://lattes.cnpq.br/5319908010656500>).de cada autor. A quantidade de autores fica a critério do pesquisador.

**Afiliações.** *Filiações dos autores devem estar logo abaixo dos nomes dos autores usando os números 1, 2, 3,... sobrescrito e o símbolo \* para o autor de correspondência. Instituição (Universidade Federal do Paraná), incluindo departamento (Departamento de Zootecnia), cidade (Curitiba), estado (Paraná) e país (Brasil). Todos com a primeira letra maiúscula e E-mail eletrônico. (Fonte Times New Roman, estilo Itálico, tamanho 9.)*

<sup>1</sup>Professor da Universidade Federal do Paraná, Departamento de Zootecnia. Curitiba –PR Brasil. E-mail: [contato@pubvet.com.br](mailto:contato@pubvet.com.br)

<sup>2</sup>Pesquisador da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Cidade, Estado e País) – E-mail: [exemplo@embrapa.com.br](mailto:exemplo@embrapa.com.br)

\*Autor para correspondência

**Resumo.** A palavra resumo em negrito. Fonte New Times Roman, Tamanho 11, Parágrafo justificado com recuo de 1 cm na direita e 1 cm na esquerda. O resumo consiste não mais que 2.500 caracteres (caracteres com espaços) em um parágrafo único, com resultados em forma breve e compreensiva, começando com objetivos e terminando com uma conclusão, sem referências citadas. Abreviaturas no resumo devem ser definidas na primeira utilização.

**Palavras chave:** ordem alfabética, minúsculo, vírgula, sem ponto final

### *Título em inglês*

**Abstract.** Resumo em inglês. A palavra abstract em negrito.

**Keywords:** Tradução literária do português

### *Título em espanhol (Opcional)*

**Resumen.** Resumo em espanhol. A palavra Resumen em negrito

**Palabras clave:** Tradução literária do português

### **Introdução**

A palavra introdução deve estar em negrito e sem recuo. A introdução não deve exceder 2.000 caracteres (caracteres com espaço) e justifica brevemente a pesquisa, especifica a hipótese a ser testada e os objetivos. Uma extensa discussão da literatura relevante deve ser incluída na discussão.

### **Material e métodos**

É necessária uma descrição clara ou uma referência específica original para todos os procedimentos biológico, analítico e estatístico. Todas as modificações de procedimentos devem ser explicadas. Dieta, dados de atividades experimentais se apropriado, animais (raça, sexo, idade, peso corporal, e condição corporal [exemplo, com ou sem restrição de alimentação a água]), técnicas cirúrgicas, medidas e modelos estatísticos devem ser descritos clara e completamente. Informação do fabricante deve ser fornecida na primeira menção de cada produto do proprietário utilizado na pesquisa (para detalhes, ver Produto Comercial). Devem ser usados os métodos estatísticos apropriados, embora a biologia deva ser usada. Os métodos estatísticos comumente utilizados na ciência animal não precisam ser descritos em detalhes, mas as adequadas referências devem ser fornecidas. O modelo estatístico, classe, blocos e a unidade experimental devem ser designados.

### **Resultados e discussão**

Na PUBVET os autores têm a opção de combinar os resultados e discussão em uma única seção.

### **Resultados**

Os resultados são representados na forma de tabela ou figuras quando possível. O texto deve explicar ou elaborar sobre os dados tabulados, mas números não devem ser repetidos no texto. Dados suficientes, todos com algum índice de variação incluso (incluindo nível significância, ou seja, P-valor), devem ser apresentados para permitir aos leitores interpretar os resultados do experimento. Assim, o P-valor (exemplo,  $P = 0.042$  ou  $P < 0.05$ ) pode ser apresentado, permitindo desse modo que os leitores decidam o que rejeitar. Outra probabilidade (alfa) os níveis podem ser discutidos se devidamente qualificado para que o leitor não seja induzido ao erro (exemplo as tendências nos dados).

### **Discussão**

A discussão deve interpretar os resultados claramente e concisa em termo de mecanismos biológicos e significância e, também deve integrar os resultados da pesquisa como o corpo de literatura publicado anteriormente para proporcionar ao leitor base para que possa aceitar ou rejeitar as hipóteses testadas. A seção de discussão independente não deve referir-se nenhum número ou tabela nem deve incluir o P-valor (a menos que cite o P-valor de outro trabalho). A discussão deve ser consistente com os dados da pesquisa.

### **Tabelas e figuras**

Tabelas e figuras devem ser incluídas no corpo do texto. Abreviaturas devem ser definidas (ou redefinida) em cada tabela e figura. As tabelas devem ser criadas usando o recurso de tabelas no Word MS. Consultar uma edição recente da PUBVET para exemplos de construção de tabela. Quando possível as tabelas devem ser organizadas para caberem em toda a página (exemplo, retrato layout) sem ultrapassar as laterais da borda (exemplo, paisagem). Cada coluna deve ter um cabeçalho (exemplo, Dias de maturação, método de embalagem, valor de P). As unidades devem ser separadas cabeçalhos por uma vírgula ao invés de ser mostrado em parênteses (exemplo, ABTS, %). Limitar o campo de dados ao mínimo necessário para a comparação significativa dentro da precisão dos métodos. No corpo das

referências da tabela para as notas de rodapé devem ser numerais. Cada nota deve começar em uma nova linha. Para indicar diferenças significativas entre as médias dentro de uma linha ou coluna são usadas letras maiúsculas sobrescritas.

**Tabela 1.** Exemplo de construção de tabela. Criada usando o recurso de tabelas no Word MS. Exemplo, Efeito do método de embalagem e tempo de maturação sobre a atividade antioxidante da carne de bovinos terminados em confinamento

	Dias de maturação	Métodos de embalagens		EPM*	P > Valor
		Filme	Vácuo		
ABTS <sup>1</sup> , %	1	45,61A	45,61A	1,830	0,765
	3	48,45A	48,73A	1,891	0,651
	7	60,99B	60,72B	1,777	0,554
	14	63,86B	68,08B	1,645	0,556
	EPM	2,334	2,441		
	P < Valor	0,001	0,001		

\*Erro padrão da média.

<sup>1</sup>2,2'-azinobis- (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid).

Médias seguidas de letras maiúsculas nas colunas são diferentes (P < 0,05).

## Abreviaturas

Abreviaturas no texto devem ser definidas no primeiro uso. Os autores devem usar o padrão das abreviaturas internacionais de elementos. Abreviaturas definidas pelo autor devem sempre ser usadas exceto para começar uma frase. A abreviação definida pelo autor precisa ser redefinida no primeiro uso no corpo do artigo, em cada tabela, e em cada figura

## Citações no texto

No corpo do manuscrito, os autores referem-se da seguinte forma: (Ferraz & Felício, 2010) ou Ferraz & Felício (2010). Se a estrutura da frase exige que os nomes dos autores sejam incluídos entre parênteses, o formato correto é (Ferraz & Felício, 2012a, b). Quando há mais de 2 autores no artigo o primeiro nome do autor é entre parênteses pela abreviação et al. (Moreira et al., 2004). Os artigos listados na mesma frase ou parênteses devem estar primeiro em ordem alfabética e ordem cronológica para 2 publicações no mesmo ano. Livros (AOAC, 2005; Van Soest, 1994) e capítulos de livros (Van Soest, 2019) podem ser citados. Todavia, trabalhos publicados em anais, CDs, congressos, revistas de vulgarização, dissertações e teses devem ser evitados.

## Referências bibliográficas

### 1. Artigos de revista

Ferraz, J. B. S. & Felício, P. E. (2010). Production systems – An example from Brazil. *Meat Science*, 84, 238-243. Doi <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.06.006>.

Moreira, F. B., Prado, I. N., Cecato, U., Wada, F. Y. & Mizubuti, I. Y. (2004). Forage evaluation, chemical composition, and in vitro digestibility of continuously grazed star grass. *Animal Feed Science and Technology*, 113,239-249. Doi <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2003.08.009>.

### 2. Livros

AOAC – *Association Official Analytical Chemist*. (2005). *Official Methods of Analysis* (18th ed.) edn. AOAC, Gaitherburg, Maryland, USA.

Van Soest, P. J. (1994). *Nutritional ecology of the ruminant*. Cornell University Press, Ithaca, NY, USA. <https://doi.org/10.7591/9781501732355>.

### 3. Capítulos de livros

Van Soest, P. J. (2019). Function of the Ruminant Forestomach. In: Van Soest, P. J. (ed.) *Nutritional Ecology of the Ruminant*. 230-252. Cornell University Press, Ithaca, NY, USA. Doi: <https://doi.org/10.7591/9781501732355-016>.

## II. Relato de caso

Deve conter os seguintes elementos:

Título, nome (s) de autor (es), filiação, resumo, palavras chave, introdução, relato do caso clínico, discussão e conclusão. Os elementos anteriores devem seguir as mesmas normas do artigo original.

## III. Revisão

Deve conter os seguintes elementos:

Título, nome(s) de autor (es), filiação, resumo, palavras chave, introdução, subtítulos do tema e considerações finais. Os manuscritos devem seguir as mesmas normas do artigo original, à exceção de Material e métodos, Resultados e discussão; no seu lugar, utilize títulos e subtítulos sobre o tema.

## Envio de artigo

O envio de artigos pode ser realizado pelo site <http://www.pubvet.com.br/envios> ou enviar diretamente no e-mail [contato@pubvet.com.br](mailto:contato@pubvet.com.br).

Para enviar o artigo pelo site você deve cadastrar o e-mail no [pubvet.com.br/cadastro](http://pubvet.com.br/cadastro). Caso já possuía cadastro basta entrar no [pubvet.com.br/login](http://pubvet.com.br/login), em seguida acessar em artigo e clicar em cadastrar novo, preencher o formulário, anexar o arquivo em Word e salvar depois de preencher todos os dados. O autor que realiza a submissão fica automaticamente cadastrado como autor para correspondência.

---

### Ficou com alguma dúvida?

Entre em contato com nossa equipe no seguinte e-mail: [contato@pubvet.com.br](mailto:contato@pubvet.com.br).