



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**EFEITO DA ALIMENTAÇÃO COM DIETA À BASE DE FARINHA DE LARVAS DE
MOSCA SOLDADO NEGRO NA FUNÇÃO DA BARREIRA CUTÂNEA, DEFESA
ANTIOXIDANTE ORGÂNICA E BIOQUÍMICA SANGUÍNEA EM CÃES**

RAFAELA SILVA CARVALHO

SALVADOR – BA
JUNHO/2024

RAFAELA SILVA CARVALHO

**EFEITO DA ALIMENTAÇÃO COM DIETA À BASE DE FARINHA DE LARVAS DE
MOSCA SOLDADO NEGRO NA FUNÇÃO DA BARREIRA CUTÂNEA, DEFESA
ANTIOXIDANTE ORGÂNICA E BIOQUÍMICA SANGUÍNEA EM CÃES**

Dissertação apresentada ao Programa de Mestrado em Zootecnia, da Universidade Federal da Bahia como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Área de Concentração: Produção de Monogástricos.

Orientador: Dra. Bruna Agy Loureiro, BSc, PhD.

Coorientador: Dr. Wilmer Alejandro Zamora Restan.

SALVADOR – BA

JUNHO/2024

Dados internacionais de catalogação-na-publicação
(SIBI/UFBA/Biblioteca Universitária Reitor Macedo Costa)

Carvalho, Rafaela Silva.

Efeito da alimentação com dieta à base de farinha de larvas de mosca soldado negro na função da barreira cutânea, defesa antioxidante orgânica e bioquímica sanguínea em cães / Rafaela Silva Carvalho. - 2024.

48 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Bruna Agy Loureiro.

Coorientador: Prof. Dr. Wilmer Alejandro Zamora Restan.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Salvador, 2024.

1. Zootecnia. 2. Nutrologia. 3. Nutrição animal. 4. Cães - Alimentação e rações. 5. Cães - Nutrição. 6. Farinhas como alimento. 7. Hermetia illucens. I. Loureiro, Bruna Agy. II. Universidade Federal da Bahia. Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia. III. Título.

CDD - 636.0897

CDU - 636.085

RAFAELA SILVA CARVALHO

**EFEITO DA ALIMENTAÇÃO COM DIETA À BASE DE FARINHA DE LARVAS DE
MOSCA SOLDADO NEGRO NA FUNÇÃO DA BARREIRA CUTÂNEA, DEFESA
ANTIOXIDANTE ORGÂNICA E BIOQUÍMICA SANGUÍNEA EM CÃES**

Rafaela Silva Carvalho

Dissertação defendida e aprovada pela Comissão Examinadora em 14 de junho de 2024

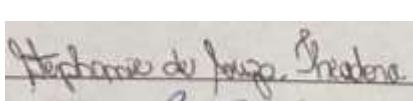
Comissão examinadora:



Drª. Bruna Agy Loureiro
Universidade Federal da Bahia (UFBA)
Orientadora / Presidente



Drª. Ananda Portella Félix
Universidade Federal do Paraná (UFPR)



Drª. Stephanie de Souza Theodoro
Universidade Estadual de São Paulo (UNESP)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer às forças do todo universo por ter permitido que eu tivesse saúde (física e mental) para não desaninar e desistir durante esse período de pós-graduação tanto na realização do experimento quanto na escrita.

Agradeço também à minha amada família. Aos meus pais, Creuza e Belmiro por todo amor, suporte, conselhos e puxões de orelha durante todos esses anos da minha vida e espero que por muitos que ainda virão. Ao meu irmão e melhor amigo, Vitor, por sempre estar comigo em todos os bons e maus momentos, nos dias de lutas e glórias.

Sou grata a minha orientadora Profª Drª Bruna Agy, por todo conhecimento, orientação durante o período de mestrado e confecção da dissertação. Agradeço ao meu co-orientador Drº Alejandro Restan, por ajudar na execução do projeto e auxiliar nas análises estatísticas. Agradeço às Doutoras da banca examinadora por terem aceitado o convite de avaliação da dissertação do mestrado e com toda a certeza, as Vossas avaliações contribuirão muito para este trabalho.

Aos amigos Diana e Rafael, por sempre estarem presentes nesses tantos anos de amizade. Obrigada por todos os momentos incríveis de viagens, almoços e jantares, passeios aleatórios, perrengues e pelos conselhos também. Um agradecimento mais que especial à Luna e Mirna, por todo o apoio (e abrigo) durante nossa estadia em João Pessoa, e por toda colaboração nesses 2 anos de mestrado (fora os quase 10 anos de amizade). Agradeço também à Ingrid e Mayra por esses anos de amizade e apoio. Agradeço à Rayssa e Elias, por toda colaboração no canil, laboratório e elaboração da escrita. À Paloma e Bruna, por ter me abrigado em sua casa quando estive em Areia, sou muito grata.

Agradeço à CAPES pela concessão da bolsa de estudos, à Protix, à Universidade Federal da Bahia e aos professores do programa de Pós Graduação em Zootecnia da UFBA.

E agradeço a todos que contribuíram direta ou indiretamente durante esse período de dois anos da Pós-Graduação.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição dos ingredientes e análise química das dietas experimentais contendo farinha de subproduto de aves (FVA) e farinha de larva de mosca soldado negra.....	21
Tabela 2. Composição dos ácidos graxos das farinhas de subproduto de aves (FVA), larva de mosca soldado negra (BSFL) e das dietas experimentais (FVA e BSFL)	22
Tabela 3. Valores médios dos parâmetros sanguíneos de cães alimentados com as dietas experimentais durante 50 dias (FVA e BSFL)	27
Tabela 4. Parâmetros da bioquímica sérica de cães alimentados com dietas experimentais durante 50 dias (FVA e BSFL). Média ± desvio padrão	29
Tabela 5. Parâmetros antioxidantes de cães alimentados com dietas experimentais durante 50 dias (FVA e BSFL). Média ± desvio padrão	30
Tabela 6. Tabela de perda de água transepidérmica (TEWL – <i>trans epidermal water loss</i>) e hidratação do estrato córneo (SCH – <i>stratum corneum hydratation</i>)	32

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. (A). Locais anatômicos (1: pavilhão auricular; 2: abdômen) utilizados para medir a perda de água transepidérmica (TEWL) e a hidratação do estrato córneo (SCH). (B). Medição de TEWL e SCH no pavilhão auricular de um cão	26
Figura 2. Efeitos do consumo das dietas experimentais (FVA e BSFL) por 0, 15, 30 e 45 dias sobre a perda de água transepidérmica (TEWL) e a hidratação do estrato córneo (SCH) de cães.....	33

LISTA DE ABREVIATURAS

% MS – Porcentagem de Matéria Seca

ABST – 2,2-azinobis 3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato

AGs – Ácidos Graxos

AGCM – Ácidos Graxos De Cadeia Média

ALT – Alanina Aminotransferase

ALKP – Fosfatase Alcalina (do inglês – *Alkaline Phosphatase*)

BSF – Mosca Soldado Negro (do inglês – *Black Soldier Fly*)

BSFL – larva de mosca soldado negra (do inglês – *Black Soldier Fly Larvae*)

CAT – Capacidade Antioxidante Total

CAT – Catalase

CONCEA – Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal

CEUA – Comitê de Ética do Uso Animal

Crea – Creatinina

DPPH – 2,2-difenil-1-picril-hidrazil

ECC – Escore de Condição Corporal

EROs – Espécies Reativas ao Oxigênio

FVA – Farinha de Vísceras de Aves

GSH – Glutatona

GST – Glutatona Transferase

HDL – Lipoproteína De Alta Densidade (do inglês – *High Density Lipoprotein*)

MDA - Malondialdeído

NEM – Necessidade de Energia Metabolizável

LDL – Lipoproteína de Baixa Densidade (do inglês – *Low Density Lipoprotein*)

LPO – Peroxidação Lipídica

SCH – Hidratação do Estrato Córneo (do inglês – *Stratum Corneum Hydratation*)

SOD – Superóxido Dismutase

TEWL – Perda De Água Transepídérmita (do inglês – *Trans Epidermal Water Loss*)

TMP – 1,1,3,3-tetrametoxipropano hidrolisado

VLDL – Lipoproteína de Muito Baixa Densidade (do inglês – *Very Low Desnsity Lipoprotein*)

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	12
2.	REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1	Uso de insetos na alimentação animal	14
2.2	Uso da mosca soldado negra (<i>Hermetia illucens</i>) na indústria pet food	15
2.3	Propriedades funcionais da farinha de BSF na saúde de cães	17
3.	MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1	Protocolo de ética no uso de animais e local do experimento	20
3.2	Animais, instalações, alimentação e delineamento experimental	20
3.3	Dietas experimentais	21
3.4	Coleta de sangue e análises	23
3.5	Avaliação do sistema de defesa antioxidante orgânico	23
3.6	Avaliação do escore de pele e pelagem	25
3.7	Avaliação da função da barreira cutânea	25
3.8	Análises estatísticas	26
4.	RESULTADOS	27
4.1	Parâmetros sanguíneos	27
4.2	Parâmetros bioquímicos	28
4.3	Parâmetros da capacidade antioxidante orgânica	28
4.4	Sistema de escore da pele e pelagem	31
4.5	Qualidade da barreira cutânea	31
5.	DISCUSSÃO	34
6.	CONCLUSÃO	38
7.	REFERÊNCIAS	39

Efeito da alimentação com dieta à base de farinha de larvas de mosca soldado negro na função da barreira cutânea, defesa antioxidante orgânica e bioquímica sanguínea em cães

RESUMO

A farinha de mosca soldado negro (BSFL) nas dietas de animais de estimação está ganhando aceitação. Este estudo teve como objetivo avaliar o uso de farinha desengordurada de larvas de mosca soldado negro e seu impacto nos parâmetros sanguíneos, marcadores bioquímicos, capacidade antioxidante orgânica, função da barreira cutânea e qualidade da pele e pelagem em cães. Um estudo cruzado envolveu oito cães Beagles adultos com dois períodos de 50 dias cada e um período de *washout* de sete dias entre eles. Duas dietas extrusadas aproximadamente isonutritivas foram avaliadas, a primeira contendo 29,5% de farinha de BSFL, e uma dieta controle contendo 26% de farinha de vísceras de aves (FVA) como fonte de proteína. Avaliações da pele e pelagem e coletas de sangue foram realizadas ao início e ao final de cada período. A função da barreira cutânea foi avaliada pela medição da perda de água transepidermica (TEWL) e hidratação do estrato córneo (SCH) no abdômen e orelhas dos cães nos dias 0, 15, 30 e 45 de cada período. Uma tendência de maior efeito antioxidante foi encontrada na dieta com BSFL através da medição de malondialdeído e vitamina E no soro dos cães ($p=0,057$ e $p=0,051$, respectivamente). Quando alimentados com a dieta FVA, os cães exibiram redução nos níveis de colesterol sérico e LDL após 50 dias. A TEWL foi significativamente reduzida nas orelhas ao longo do tempo quando os cães foram alimentados com BSFL, e a TEWL no abdômen foi significativamente menor nos cães alimentados com BSFL em comparação com FVA. O SCH também foi maior para o grupo BSFL ao longo do período de alimentação em comparação com FVA, indicando uma capacidade melhorada dos cães em reter água e manter a umidade da pele. A melhora na função da barreira cutânea pode estar relacionada aos ácidos graxos da BSFL e ao aumento dos lipídios sebáceos na pele. Estes são responsáveis por evitar a perda de água e melhorar a proteção da pele contra danos microbianos. A inclusão de BSFL como fonte de proteína não promoveu mudanças negativas na bioquímica sanguínea e no efeito antioxidante em cães saudáveis. No entanto, provou ser eficaz em melhorar a função da barreira cutânea, tornando a BSFL uma fonte alternativa valiosa para cães, particularmente aqueles com pele sensível ou alergias que se manifestam na pele.

Palavras-chave: canina; *Hermetia illucens*; hidratação do estrato córneo; perda de água transepidermica; propriedades funcionais

Effect of feeding black soldier fly larvae meal-based diet on canine skin barrier function, organic antioxidant defense and blood biochemistry

ABSTRACT

Black soldier fly meal in pet diets is gaining acceptance. This study aimed to assess the use of black soldier fly larvae defatted meal (BSFL) and its impact on blood parameters, biochemical markers, organic antioxidant capacity, skin barrier function and skin and coat quality. A cross-over study involved eight beagle dogs with two periods of 50 days each and a washout period of seven days in between. Two approximately iso-nutritive extruded diets were evaluated, the first containing 29.5% BSFL meal, and a control diet containing 26% poultry by-product meal (PBP) as protein source. Skin and coat evaluations and blood collections were conducted before and after each period. Skin barrier function was assessed by measurement of trans epidermal water loss (TEWL) and stratum corneum hydration (SCH) in belly and pinna of the dogs on days 0, 15, 30, and 45 of each period. A trend for higher antioxidant effect was found for BSFL diet through malondialdehyde and Vitamin E measurement in dog's serum. When fed PBP diet dogs exhibited reduction on serum cholesterol and LDL levels after 50 days. TEWL was significantly reduced in pinna over time when dogs were fed BSFL, and TEWL in belly was significantly lower in dogs fed BSFL in comparison to PBP. SCH was also higher for the BSFL group along the feeding period in comparison to PBP, indicating improved ability of the dogs to retain water and keep skin moisture. Improvement skin barrier function could be related to fatty acids from BSFL and increased sebaceous lipids in skin. These are responsible for avoiding water loss and improve skin protection against microbial insults. Inclusion of BSFL as protein source did not promote negative changes in blood biochemistry and had minor antioxidant effect in healthy dogs. However, it proved effective in improving skin barrier function, making BSFL a valuable alternative protein and fat source for dogs, particularly those with sensitive skin or allergies manifesting on the skin.

Keywords: dogs; *Hermetia illucens*; functional properties; stratum corneum hydration; trans epidermal water loss

1. INTRODUÇÃO

O aumento da população dos animais de companhia, especialmente de cães no Brasil, é crescente ao longo dos últimos anos segundo dados da ABINPET (2022). Consequentemente, os tutores vêm tratando os pets como parte da família, e assim, buscam diversas formas de proporcionar a estes animais uma melhor qualidade de vida, especialmente pela alimentação, sendo o setor do mercado pet que mais cresce no país gerando um faturamento de mais de 38 bilhões de reais em 2021 (ABINPET, 2022).

Atualmente os tutores procuram alimentos para seus animais que promova uma melhor qualidade de vida e que aumente a sua longevidade, além de buscar fontes que causem menor impacto ambiental. Ingredientes alternativos como farinha hidrolisada de vísceras de aves, algas e insetos se destacam no mercado pet food, pois além de serem fontes consideradas mais sustentáveis, quando comparadas com os ingredientes tradicionais comumente utilizados tanto na alimentação humana quanto na animal, são ingredientes funcionais que apresentam proporções adequadas de nutrientes e auxiliam na melhora de algum aspectos na saúde de cães e gatos (França et al., 2010; Prata, 2022; Oba et al. 2023; Stefanutti et al., 2023).

As rações comerciais para cães e gatos à base de insetos estão ganhando rápida aceitação no mundo. Um recente estudo indicou que atualmente há mais de 40 empresas ativas, principalmente na Europa, comercializando rações compostas por farinha de larvas de mosca soldado negro (BSFL) (Siddiqui et al., 2023). A farinha deste ingrediente apresenta em sua composição níveis interessantes de proteína e lipídios para atender os requisitos nutricionais de cães e gatos. Adicionalmente, a farinha BSFL também possui componentes bioativos como o ácido láurico, quitina e peptídeos antimicrobianos que são conhecidos por seu potencial de melhorar a saúde animal (Veldkamp et al., 2022).

Na literatura existem estudos *in vivo* e *in vitro* mostrando evidências a respeito da capacidade das dietas contendo BSFL na atividade antioxidante em cães. Mouithys-Mickalad et al. (2020) mostraram evidências sobre a atividade antioxidante da farinha BSFL através da eliminação de radicais, mieloperoxidase e modulação da resposta de neutrófilos por meio de avaliação do ingrediente por modelo *in vitro*. Já Lei et al. (2019), indicaram que cães alimentados com dietas com baixa inclusão de 1 e 2% de BSFL resultou no aumento da concentração de alguns marcadores antioxidantes no sangue como a glutationa peroxidase e superóxido dismutase.

A atividade antimicrobiana da farinha de larva de mosca soldado negro é baseada nos achados *in vitro* de uma pesquisa realizada por Dong et al. (2021), na qual foi observado que a fração contendo inseto inibiu o crescimento da *Clostridium perfringens*, induziu a secreção de AG de cadeia curta pela microbiota saudável e identificou peptídeos antimicrobianos nestas frações; e foi evidenciada recentemente em um estudo de Santos Neto et al. (2023) envolvendo o efeito da BSFL (29,5% de inclusão) na saúde oral de cães, que promoveu uma redução de bactérias maléficas e induziu a redução do mau hálito nos animais estudados. Adicionalmente, algumas dietas contendo alguma inclusão de BSFL tem sido desenvolvida para animais com algum tipo de intolerância ou hipersensibilidade alimentar (Siddiqui et al., 2023). A justificativa para isto está relacionada com a proteína advinda de inseto é considerada inédita e deve limitar a reatividade cruzada no sistema imune de cães e gatos (Bosch & Swanson., 2021).

O conhecimento sobre a segurança do uso de ingredientes BSFL e a validação de algumas dessas alegações funcionais através da avaliação do consumo de cães ainda são escassas e as evidências científicas resultantes facilitarão o uso de alimentos para animais de estimulação à base de BSFL por um grande grupo de consumidores. Em uma tentativa sistemática de validar algumas das afirmações acima, durante este estudo o objetivo foi avaliar o efeito da alimentação com dietas BSFL na bioquímica sanguínea, na defesa antioxidante orgânica, na função de barreira da pele e na qualidade da pele e da pelagem de cães adultos e saudáveis.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Uso de insetos na alimentação animal

A escassez de recursos naturais e as restrições ambientais enfatizam a necessidade urgente de encontrar alternativas aos ingredientes tradicionais, visto que, de acordo com dados de 2019 das Nações Unidas, a população mundial deverá atingir mais de 9 bilhões até 2054 o que consequentemente aumentará a competição por alimentos entre humanos e animais. Além disso, a produção convencional de alimentos é muitas vezes ineficiente e requer grandes quantidades de terra, água e energia, levando à degradação ambiental e ao esgotamento dos recursos naturais (Oonincx & de Boer, 2012; van Huis et al., 2013). Deste modo, há uma necessidade de explorar novas fontes de nutrientes que sejam ambientalmente sustentáveis, economicamente viáveis e menos intensivas em recursos.

Os insetos comestíveis são considerados uma rica fonte de nutrientes como proteínas, vitaminas, minerais e ácidos graxos essenciais (Rumpold & Schlüter, 2013). Também apresentam elevada taxa de conversão alimentar e requerem menos recursos naturais quando comparados com a produção de alimentos tradicional, os tornando uma alternativa altamente sustentável para a produção de alimentos (van Huis et al., 2013). O uso de insetos na alimentação humana e animal oferece uma série de benefícios, incluindo redução do impacto ambiental, aumento da eficiência da produção e valor nutricional. As larvas de insetos, como a mosca soldado negro e o grilo, são ricas em proteínas de alta qualidade, contendo todos os aminoácidos essenciais necessários para a saúde e o desenvolvimento dos animais de estimação (Gasco et al., 2016; Mlcek et al., 2014). Logo, os insetos podem ser cultivados em uma variedade de substratos orgânicos que seriam descartados, incluindo resíduos agrícolas e alimentares, convertendo subprodutos em fontes nutricionais valiosas (Kouřimská & Adámková, 2016).

Estudos ao longo dos anos indicam que a inclusão de insetos comestíveis nas dietas de animais de produção e companhia tem recebido crescente atenção devidos seus benefícios já citados. Biasato et al. (2016) constataram que dietas contendo diferentes inclusões de BSFL (0, 5 e 10%) apresentaram melhor taxa de crescimento, eficiência alimentar e qualidade da carne em frangos de corte. A suplementação do ingrediente pode enriquecer a dieta das aves com proteínas de alta qualidade, aminoácidos essenciais e ácidos graxos insaturados (Gasco et al., 2016). Em suínos, a substituição parcial tem sido estudada para reduzir o uso dos ingredientes tradicionais das rações, e estudos demonstraram que resultaram em melhoria na digestibilidade dos nutrientes, sem comprometer o desempenho nutritivo, além de ser uma fonte de aminoácidos

essenciais (como lisina e metionina), colaborando para uma dieta balanceada e de alta qualidade (Gasgo et al. 2016; Phaenghairee et al., 2023). Uma revisão sistemática realizada por Henry et al. (2018) indicaram que dietas com BSFL e grilos podem melhorar o crescimento, taxa de conversão alimentar e a qualidade da carne em peixes como a tilápia e salmão. Além disso, pode reduzir a dependência de fonte proteicas aquáticas (como a farinha de peixe) (Belforti et al., 2015). Estudos recentes destacaram que dietas contendo insetos comestíveis podem atender as necessidades nutricionais dos cães e gatos, fornecendo proteínas de alta qualidade, lipídeos com excelentes proporções de ácidos graxos essenciais (Jian et al., 2022; Lei et al., 2019; Mouithys-Mickalad et al. 2020; Bosch & Swanson, 2021; Veldkamp et al., 2022)

Atualmente os tutores de pets tem buscado promover nutrição adequada de cães e gatos e para garantir o bem-estar e longevidade dos seus animais. No entanto, descobrir fontes de proteína sustentáveis e nutritivas em quantidades para suprir a demanda, tem sido um desafio crescente para os tutores, devido a questões ambientais e a garantia de uma nutrição de qualidade. Nesse contexto, os insetos comestíveis são considerados como um potencial substituto proteico para a dieta desses animais.

Segundo alguns estudos mais relevantes na literatura, os insetos mais utilizados na nutrição de cães e gatos são: grilos (*Gryllidae*), que são uma fonte popular de proteína na alimentação de cães e gatos devido à sua disponibilidade comercial e à sua composição nutricional equilibrada, fornecendo nutrientes essenciais para promover o crescimento e saúde destes animais; as larvas do besouro tenébrio (*Tenebrio molitor*), onde sua inclusão resultou em melhorias no crescimento e digestibilidade, além de oferecer benefícios nutricionais significativos, como proporções adequadas de proteínas, ômega 3 e 6 e compostos bioativos; as larvas de mosca doméstica (*Musca domestica*), que embora sejam menos estudadas do que os outros insetos, elas tem sido investigadas como uma fonte em potencial de proteínas na alimentação de pets (Bosch et al., 2014; Kierończyk et al., 2022; Valdés et al., 2022). O inseto mais utilizado na indústria *pet food* é a larva de mosca soldado negro, a qual será mais bem descrita no próximo tópico da revisão de literatura.

2.2 Uso da mosca soldado negro (*Hermetia illucens*) na indústria *pet food*

A mosca soldado negra (*Hermetia illucens*) é um inseto da ordem Diptera, conhecida por sua capacidade de decompor matéria orgânica e seu rápido ciclo de vida. Estudos tem demonstrado que a mosca soldado negro (BSF) possui alta eficiência na conversão alimentar, assim como uma excelente capacidade de reprodução em ambientes controlados (Nguyen et al.,

2015). Spranghers e colaboradores (2017) avaliaram o ingrediente e constataram que a sua composição nutricional é notável, variando de acordo com o substrato fornecido, apresentando excelentes proporções proteicas (37 a 49%), lipídicas (7 a 35%) e outros nutrientes considerados essenciais (minerais e aminoácidos).

A sua aplicação na indústria *pet food* tem se destacado por conta dos seus benefícios nutricionais e ambientais, no qual a inclusão da BSFL na dieta comercial de cães e gatos pode proporcionar uma fonte alternativa sustentável principalmente de proteína, reduzindo a utilização dos ingredientes tradicionais, como a carne bovina e pescados (Makker et al., 2014).

Na literatura encontra-se uma gama de estudos que demonstram que a incorporação da BSFL nas dietas comerciais de cães e gatos além de reduzir o impacto ambiental que é associado à produção de alimentos, apresentam uma boa aceitação e digestibilidade e podendo melhorar a saúde, como observado em análises dos parâmetros de atividade antioxidante e bioquímica, devido a presença de alguns bioativos como a quitina e a composição lipídica ter boas proporções de ácidos graxos essenciais como o lúrico e o linoleico (Lei et al., 2019; Mouithys-Mickalad et al. 2020; Veldkamp et al., 2022).

Apesar dos seus potenciais benefícios, ainda existem desafios a serem superados para a adoção da mosca soldado negro na indústria *pet food*. Questões relacionadas à segurança alimentar, regulação e aceitação do tutor exigem mais pesquisa e desenvolvimento de produtos para garantir a qualidade e segurança dos produtos. No entanto, com o contínuo avanço da ciência e tecnologia, é possível que a BSF desempenhe um papel significativo na produção sustentável de alimentos para animais de estimação, contribuindo para segurança alimentar e a proteção do meio ambiente.

A larva de mosca soldado negro apresenta algumas propriedades funcionais como: atividade antioxidante e microbiana devida a sua composição de ácidos graxos de cadeia média, quitina e peptídeos antimicrobianos que são capazes de promover a melhora da saúde geral dos animais de companhia (Lei et al., 2019; Mouithys-Mickalad et al. 2020; Veldkamp et al., 2022; Santos Neto et al., 2022).

2.3 Propriedades funcionais da farinha de BSF na saúde de cães

Como descrito na seção anterior, a BSFL apresenta uma gama de benefícios funcionais quando incluídas nas dietas de cães (Veldkamp et al., 2022). Em relação à digestibilidade de nutrientes e melhorias para a saúde, a BSFL é rica em proteínas e gorduras, ela tem mostrado manter a absorção de nutrientes e o metabolismo de cães, como descrito no estudo de Jian et al. (2019). A incorporação da BSFL como fonte de proteína, no ponto de vista de digestibilidade e saúde do trato gastrointestinal, pode ser segura e eficiente, como avaliado nos estudos realizados por Freel et al. (2021) e Penazzi et al. (2021).

A quitina, que é um polissacarídeo presente nas BSF, é composta por glucosamina, um aminossacarídeo conhecido por desempenhar função na saúde das articulações. Um estudo de avaliação *in vitro* do ingrediente realizado por Mouithys-Mickalad et al. (2021), sugeriu que a presença da quitina presente no ingrediente puro da BSFL não só ajuda a prevenir o desenvolvimento da artrite quando presente na dieta, mas também pode contribuir para seu combate devido às suas propriedades anti-inflamatórias e ao seu conteúdo de glucosamina, tornando-os um ingrediente promissor para cães propensos a problemas nas articulações, sendo necessário um estudo de avaliação *in vivo* para ser mais bem esclarecido e validado.

É conhecido na literatura que os insetos (incluindo a *Hermetia illucens*), quando criados em substratos adequados, apresentam os peptídeos antimicrobianos (Almeida et al., 2020). Estes compostos possuem uma capacidade antimicrobiana notável devido a alguns mecanismos que permitem defender o organismo de vários patógenos, como as bactérias. Um destes mecanismo é a interação com a membrana celular, onde os peptídeos possuem cargas positivas que permitem sua ligação às membranas celulares do microrganismo (cargas negativas) e esta ligação é facilitada pela composição anfipática dos peptídeos, onde a região hidrofóbica fixa-se nas membranas lipídicas, criando poros ou canais que causam perda na sua integridade e consequentemente na morte celular. Outro caminho eficiente na capacidade antimicrobiana é a indução do estresse oxidativo, pois alguns peptídeos podem induzir a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) dentro das células microbianas, e como já é conhecido, o acúmulo das EROs causa danos oxidativos, ocasionando na morte celular (Phaengphairee et al. 2023; Wei et al., 2024).

A farinha de mosca soldado negro possui na sua composição lipídica, proporções de ácidos graxos de cadeia média (AGCM) mais elevadas quando comparadas com os ingredientes tradicionais comumente utilizado na indústria *pet food*. Os AGCM têm ganhado atenção

significativa na nutrição devido aos seus benefícios para a saúde dos cães. Eles são digeridos e metabolizados mais rápidos que os ácidos graxos de cadeia longa, portanto são convertidos em energia mais rapidamente (Donadelli et al., 2018; Huang et al., 2019).

O ácido láurico, um ácido graxo saturado de 12 carbonos (C12:0), é um componente significativo das larvas da mosca soldado negro. Este AG tem sido amplamente estudado devido a seus princípios bioativos benéficos, incluindo a capacidade anti-inflamatória, antimicrobiana e antioxidante.

Uma das ações antimicrobianas do ácido láurico é a sua habilidade de se incorporar às membranas celulares bacterianas, assim como os peptídeos antimicrobianos, alterando a estrutura lipídica dos microrganismos e causando uma ruptura celular. Outra via antimicrobiana do ácido láurico é a sua conversão em monolaurina, que apresenta propriedades antimicrobianas ainda mais potente, sendo eficaz contra vários agentes patógenos, como as bactérias gram-positivas, através da desestabilização da membrana lipídica dos microrganismos (Preuss et al., 2005; Zheng et al., 2005; Kim & Rhee, 2013; Liu et al., 2017a)

Como agente anti-inflamatório, este AGCM pode influenciar a produção de citocinas, que são mediadores da resposta inflamatória causados por uma gama de fatores. Estudos indicam que ele pode diminuir os níveis dessas citocinas pró-inflamatórias ao mesmo tempo em que promove a produção das citocinas anti-inflamatórias. Ele também pode inibir vias de sinalização inflamatória como a via NF- κ B, que é uma proteína que controla a transcrição de DNA e está fortemente envolvida na resposta inflamatória, reduzindo a expressão gênica dos pro-inflamatórios. Essas ações provavelmente ocorrem pelo fato de que o ácido láurico é convertido em energia diretamente pelas células do intestino delgado (enterócitos), ação já conhecida por estar diretamente relacionado com o sistema imune de animais (Liu et al., 2017a; Liu et al., 2017b; Zheng et al., 2019; Phaengphairee et al., 2023).

O ácido láurico pode ter a capacidade de reduzir a produção das espécies reativas de oxigênio, atuando como eliminadores dos radicais livres, reduzindo o estresse oxidativo nas células. Este AG também pode influenciar nas atividades das enzimas antioxidantes como o superóxido dismutase, catalase e glutationa peroxidase, as quais desempenham papéis importantes na neutralização dos radicais livres e na proteção contra os danos oxidativos (Lee et al., 2010; Mushtaq & Choudhary, 2020).

O ácido láurico pode promover melhora da função da barreira cutânea por meio de uma combinação de mecanismos que já foram citados ao decorrer da seção como: as propriedades

antimicrobianas, anti-inflamatórias e a promoção da regeneração celular (Libinaki et al., 2006; Dayrit, 2015). Esses mecanismos podem ser justificados pela rápida absorção do ácido láurico, portanto uma rápida fonte energia para os enterócitos e para a microbiota presente no trato intestinal dos animais, as quais são capazes de promover uma melhor saúde, incluindo a saúde da pele e seus componentes.

Além destas propriedades, o ácido láurico tem o poder de reduzir a perda transepidermica de água e aumentar a hidratação do estrato córneo, uma fração importante da pele. Um estudo de Harvey & Bosward (2018) indicou que a inclusão de 1ml por peso corporal (Kg) de óleo de coco (rico em ácido láurico) na dieta canina promoveu melhora na saúde da pele e da pelagem destes animais. Isso se deve à capacidade de que o ácido láurico compõe algumas substâncias que fazem parte da epiderme, o que facilita a sua incorporação tanto na pele quanto no pelo, promovendo uma pelagem mais brilhante e saudável e a pele mais hidratada (Wystroek et al., 2023). Além disso, o ácido láurico ajuda a suavizar alguns sintomas apresentados na pele como eczema e prurido, proporcionando uma melhora em cães de pele sensível (Watson et al., 1998; Watson et al., 2018).

Portanto, todas essas evidências científicas citadas na revisão de literatura destacam o potencial da BSFL como um ingrediente valioso nas dietas caninas, oferecendo múltiplos benefícios para a saúde, desde a absorção e metabolismo de nutrientes, saúde intestinal, saúde articular, melhora na capacidade antioxidante e promove uma melhor qualidade da barreira cutânea, seja na pele ou na pelagem.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Protocolo de Ética no uso de animais e local do experimento

O protocolo experimental deste estudo seguiu de acordo com os princípios de ética adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA, Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, Brasília, Brasil) e foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA) da Universidade Federal da Paraíba, Areia, Brasil (Protocolo nº 3149030322). O experimento foi realizado no Canil Altos do Miramar (propriedade privada), situada na cidade de João Pessoa, Paraíba, Brasil. As análises bromatológicas foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), localizada em Areia (Paraíba).

3.2 Animais, instalações, alimentação e delineamento experimental

Foram utilizados oito cães fêmeas da raça Beagle com idade média de $3,2 \pm 1,4$ anos; $10,9 \pm 1,4$ Kg de peso corporal; e o escore de condição corporal (ECC) de $5,2 \pm 1,9$ na escala de 9 pontos (LaFlamme, 1997). Todos os cães foram previamente vacinados, vermifugados e clinicamente avaliados por um médico veterinário para assegurar seu estado clínico antes do estudo. Os animais selecionados não têm o histórico conhecido das condições dermatológicas ou desordens cutâneas.

Todos os cães foram alojados em canis individuais de 8m^2 , sendo permitido o acesso diário a uma área externa coberta de grama de 120m^2 com enriquecimento ambiental para promover a socialização e atividade física. A área foi checada diariamente e limpa antes do acesso dos cães para garantir e evitar a presença de qualquer material estranho ou indesejável, como material vegetal ou fezes com os quais os animais poderiam potencialmente entrar em contato. Os animais foram alimentados duas vezes ao dia, às 08:00h e às 16:00h, de acordo com a necessidade de energia metabolizável diária (NEM) seguindo as recomendações do National Research Council (NRC, 2006) onde: $\text{NEM (Kcal/dia)} = 110 \times \text{peso corporal (Kg)}^{0,75}$ e ajustes foram realizados para manter o peso e escore dos animais do experimento. O acesso a água foi mantido *ad libitum*.

Os cães foram alocados em delineamento *cross-over*, com dois períodos e duas dietas. Onde cada período teve duração de 50 dias, nos quais metade dos animais consumiram a dieta contendo a farinha da mosca soldado negro (BSFL) e a outra metade foi alimentada com a dieta formulada com farinha de vísceras de aves (FVA). E ao final do primeiro período, houve um

período de *washout* de 7 dias, e logo após esse período os tratamentos dos grupos foram invertidos.

3.3 Dietas experimentais

Duas dietas aproximadamente isonutritiva completas foram formuladas para atender as necessidades nutricionais para cães adultos (FEDIAF, 2021) (Tabela 1). A formulação diferiu principalmente na fonte proteica: farinha de vísceras de aves (FVA) e farinha desengordurada de larva de mosca soldado negro. Pequenos ajustes na inclusão da quirera de arroz, gordura de frango e fontes minerais foram feitos para produzir as dietas com os macronutrientes similares. As dietas foram extrusadas sob as mesmas condições de processamento usando uma extrusora monorosca na Fábrica de Rações da Universidade Estadual Paulista, Botucatu, Brasil. Após a extrusão, os *kibbles* foram secos em secador do tipo esteira. A gordura de aves e o palatabilizante líquido foram imediatamente pulverizados nos *kibbles* sob mistura contínua. O perfil de ácidos graxos (AGs) das dietas experimentais está indicado na Tabela 2.

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

	FVA	BSFL
Ingredientes (%)		
Farinha de vísceras de aves de baixa cinzas	26,00	-
Farinha BSFL ¹	-	29,50
Ervilha desidratada	14,00	14,00
Aveia	16,00	16,00
Quirera de arroz	28,73	24,47
Gordura de frango	7,00	6,90
Polpa de beterraba	2,70	2,70
Cenoura desidratada	0,50	0,50
Palatante líquido ²	2,00	2,00
Fosfato dicálcico	1,00	1,10
Cloreto de potássio	0,50	0,80
Cloreto de sódio	0,75	0,75
Calcário	0,00	0,40

Premix vitamínico e mineral ³	0,40	0,40
Antioxidante natural ⁴	0,10	0,10
Ingredientes menores ⁵	0,38	0,38
Composição química analisada (%MS)		
Matéria seca	93,05	93,57
Matéria orgânica	93,88	93,90
Proteína bruta	24,58	23,53
Extrato etéreo em hidrólise ácida	13,20	13,78
Cinzas	6,11	6,09
Extrativos não nitrogenados	53,85	51,18
Fibra bruta	2,25	5,52
Energia metabolizável (kcal/kg) ⁶	3870	3810

¹ ProteinX (Protix B.V., Holanda). ² Palatante líquido SPF, Descalvado, São Paulo, Brasil. ³ Quantidade por quilograma de produto: vitamina A, 2.000 UI; vitamina B1 (mononitrito de tiamina), 500 mg; vitamina B12, 6.250 mcg; vitamina B2, 1000 mg; vitamina B6 (cloridrato de piridoxina), 500 mg; vitamina D3, 200.000 UI; vitamina E (DL-alfa tocoferol), 12.000 UI; ácido pantotênico (pantotenato de D-cálcio), 2.500 mg; ácido fólico, 75 mg; biotina, 6 mg; sulfato de cobre, 1750 mg; colina, 100 g; ferro (sulfato ferroso), 20 g; iodo (iodeto de sódio), 375 mg; manganês (óxido manganês), 1250 mg; niacina, 3750 mg; selênio (selenito de sódio), 40 mg; óxido de zinco, 30g. ⁴ VERDILOX® (Kemin®, EUA). Ingredientes: Dióxido de Silício, Pirofosfato Tetrassódico, Óleo de Canola Refinado, Concentrado de Tocoferol, Extrato de Alecrim, Extrato de Chá Verde, Extrato de Hortelã, Hortelã, Óleo de Girassol Refinado. ⁵ extrato de mandioca, DL-metionina, cloreto de colina 60%, sorbato de potássio. ⁶ Estimado de acordo com NRC (2006).

Tabela 2. Composição dos ácidos graxos das farinha de vísceras de aves (FVA), larva de mosca soldado negra (BSFL) e das dietas experimentais (FVA e BSFL)

Ingrediente	Dietas experimentais			
	Farinha de vísceras de aves	Farinha de larva de mosca soldado negro	FVA ¹	BSFL ²
<i>Ácidos graxos, g/100g</i>				
Ácido láurico: C12:0	< 0,10	5,05	< 0,10	1,56
Ácido mirístico: C14:0	0,12	1,18	< 0,10	0,43
Ácido palmítico: C16:0	3,18	2,13	3,28	3,14
Ácido palmitoleico: C16:1	0,35	0,3	0,42	0,44
Ácido esteárico: C18:0	1,28	0,39	0,86	0,68
Ácido oleico: C18:1n9c (omega-9)	3,85	1,64	4,19	3,93
Ácido linoleico: C18:2n6c	1,05	1,2	1,31	1,62

Ácidos graxos saturados	4,81	8,87	4,29	5,87
Ácidos graxos monossaturados	4,26	1,98	4,62	4,39
Ácidos graxos poli-insaturados	1,29	1,32	1,51	1,78
Ácido graxo ômega 3	< 0,10	< 0,10	< 0,10	0,10
Ácido graxo ômega 6	1,18	1,20	1,31	1,62
Ácido graxo ômega 9	3,89	1,66	4,19	3,93

¹Dieta com vísceras de aves. ²Dieta com larva de mosca soldado negro.

3.4 Coleta de sangue e análises

Nos dias 0 e 50 de cada período, os cães foram submetidos a coleta de sangue por punção venosa alternada entre a veia jugular esquerda e direita, usando agulhas (0,8x0,25mm) e seringas (10mL). As amostras de sangue coletadas foram colocadas em tubos previamente identificados com potássio EDTA sem anticoagulante. O sangue total nos tubos vacutainer foi usado para análise de contagem de células sanguíneas completa imediatamente após coleta com analisador automático hematológico (IDEXX Laboratories, Inc., USA). Em uma outra amostra sanguínea, O sangue foi coagulado e o sérum foi obtido por centrifugação das amostras à 1.800x g por 15 minutos e em seguida congelados à -80°C. As análises bioquímicas foram realizadas usando analisador automático (Labtest – Audmax180 Evolution®, Lagoa Santa, Brasil) e kits comerciais para determinar alanina aminotransferase sérica (ALT) (Labtest – ALT/GPT Liquiform Vet Ref.: 1800), alcalina fosfatase (ALKP) (Labtest – Alkaline Phosphatase Liquiform Vet Ref.:1011), creatinina (Crea) (Labtest – Creatinine K Vet Ref.: 1010), nitrogênio ureico sanguíneo (BUN) (Labtest – Urea UV Liquiform Vet Ref.: 1013). O colesterol sérico, triglicerídeos, lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL), e lipoproteína de alta densidade (HDL) foram determinadas pelo método colorimétrico enzimático (Trinder, 1969). Todos os ensaios foram realizados seguindo a descrição do fabricante e conduzida em duplicata para controle da variação, onde uma variação máxima de 5% foi aceita.

3.5 Avaliação do sistema de defesa antioxidante orgânico

As amostras séricas foram coletadas nos dias 0 e 50 de cada período foram submetidos para análises de malondialdeído (MDA), capacidade antioxidante total (CAT), 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), e determinação da vitamina E.

O MDA foi determinado seguindo o método proposto por Gerard-Monnier (1998), com adaptações. Para esta avaliação, 100 μ l do plasma sérico foi sequencialmente misturado com 300 μ l de 10mM da solução de 1-metilfenilindol em acetonitrila e metanol (2 : 1, v/v) e adição de 75 μ l de HCl P.A. (37%). Logo após, os tubos passaram pelo vórtex e incubados em banho maria à 45°C por 40 minutos. Após o banho, as amostras foram resfriadas no gelo e então os tubos foram centrifugados à 4.000 rpm por 10 minutos. Do sobrenadante, a absorbância foi lida usando método de espectrofotometria (SpectraMax M3, Molecular Devices, EUA), no comprimento de onda de 586nm. A concentração do MDA foi calculada usando a curva do 1,1,3,3-tetrametoxipropano hidrolisado (TMP) (Ekstrom et al., 1988).

A CAT foi mensurada usando o método baseado no 2,2-azinobis 3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato (ABTS) por leitura da absorbância no comprimento de onda de 660nm (Erel, 2003).

A atividade de eliminação do radical DPPH foi avaliada usando a mistura de 0,5ml do sérum com 0,5ml de acetona, misturada por 1 minuto e então centrifugada por 5 minutos à 5500g e 4°C para desproteinização da amostra. O sobrenadante foi filtrado com pipeta Pasteur preenchida com pano de algodão para remover pequenas partículas. Uma solução de 0,1mM de DPPH metanólico (0,0039g/100ml) foi imediatamente preparada antes do teste e foi incubada em ambiente escuro. Uma alíquota de 400 μ l da solução de DPPH foi adicionada em 360 μ l de neutralizador de fosfato (pH de 7,4) e 40 μ l da amostra e homogeneizada por vórtex. A absorbância foi lida à 505nm (Labquest, Labtest Diagnóstica) nos tempos 0, 5, 10, 15 e 20 minutos após mistura. A inibição (descoloração) do radical DPPH foi calculado como a porcentagem relativa da absorbância da amostra no tempo de leitura comparado com um branco (400 μ l de solução de DPPH adicionado do neutralizador de fosfato).

A concentração da vitamina E foi determinada por cromatografia líquida de alta performance (Shimadzu Co., Kyoto, Japão), segundo a metodologia de Arnaud et al. (1991).

Com intuito de estender a avaliação enzimática e não enzimática do sistema antioxidante, as atividades das enzimas superóxido dismutase (SOD) (Gao et al., 1998); catalase (CAT) (Aebi, 1984); glutationa transferase (GST) (Habig et al., 1974); glutationa (GSH) (Sedlak e Lindsay, 1968) e peroxidação lipídica (LPO) (Jiang et al., 1991), foram mensuradas nas amostras séricas coletadas após 50 dias de consumo, para avaliação adicional.

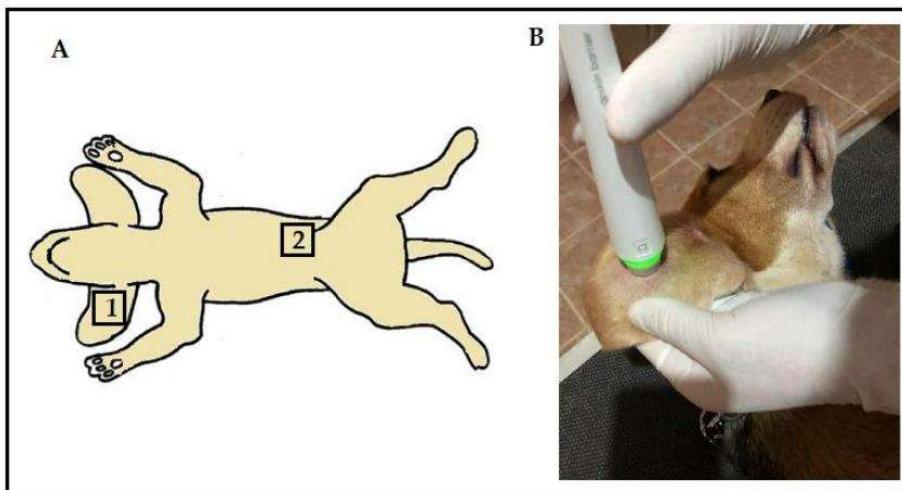
3.6 Avaliação do escore de pele e pelagem

A avaliação da pele e pelagem nos dias 0 e 50 de cada período foi realizada por 4 indivíduos às cegas de forma subjetiva, seguindo o modelo proposto por Rees (2001). O sistema de escore para avaliação da pele e pelo foi usado para tal e abrange a faixa entre 1 e 5. Para pelo o escore 1 significa pelo opaco, áspido e seco; pontuação 2 pelagem pouco brilhante e não macia; pontuação 3 pelos de brilho médio e macios; 4 pelos altamente brilhosos e muito macios, e pontuação 5 abrange pelos oleosos. Para avaliação da pele, o escore 1 significa pele seca; 2 significa pele levemente seca; 3 significa pele normal; 4 significa pele levemente oleosa e pontuação 5 significa pele oleosa. Neste sistema, o melhor escore para a pelagem está entre as pontuações 3 e 4; e para a pele a pontuação 3 é o ideal. Uma média das quatro avaliações realizadas em cada cão e em cada momento do estudo foi utilizada para análise estatística.

3.7 Avaliação da função da barreira cutânea

A perda de água transepidermica (TEWL) é definida pela quantidade de água que passivamente evapora através da pele para o ambiente externo devido ao gradiente de pressão de vapor da água em ambos os lados da barreira cutânea e é um parâmetro comumente usado para caracterizar a função da barreira e sua integridade. A hidratação do estrato córneo (SCH) refere-se à quantidade de água que a camada do estrato córneo da pele possui (Sotoodian & Maibach, 2012). A integridade e função da barreira cutânea foram avaliadas pela mensuração da TEWL e SCH usando o dispositivo do tipo câmara fechada (GPSkin Barrier®, GPOWER Inc., Seoul, Coreia), seguindo as instruções do desenvolvedor (Oh & Oh, 2009). Os dois parâmetros foram mensurados em dois locais do corpo: abdômen e pavilhão auricular (Figura 1). O pelo dos cães em cada local de análise foi cuidadosamente removido antes das mensurações, sem causar injúrias na pele e sem o uso de qualquer líquido ou gel. Três mensurações sucessivas foram realizadas, e as médias foram calculadas. Todas as mensurações foram realizadas por um único operador e sempre feitas na mesma área nos dias 0, 15, 30 e 45 em ambos os períodos, em uma sala de ambiente controlado com temperatura variando entre 22-25°C e humidade relativa entre 60-70%.

Figura 1. (A). Locais anatômicos (1: pavilhão auricular; 2: abdômen) utilizados para medir a perda de água transepidermica (TEWL) e a hidratação do estrato córneo (SCH). (B). Medição de TEWL e SCH no pavilhão auricular de um cão.



3.8 Análises estatísticas

Para a análise estatística, todas as variáveis foram verificadas quanto à distribuição normal pelo teste de Shapiro-Wilk. Quando foram detectadas variáveis com distribuição não normalidade, os dados foram transformados antes da análise de variância. Os parâmetros de hematologia, bioquímica sérica e antioxidantes foram avaliados usando um modelo linear de efeitos mistos considerando os fatores: “intercepto” (efeito aleatório de animal no intercepto do modelo), “dieta” (BSFL, FVA), “ponto no tempo” (dois pontos: 0 e 50 dias de consumo da dieta), “dieta x no ponto no tempo”, “período”(período cruzado onde dois tratamentos diferentes foram dados alternadamente a cada animal) e “ordem de tratamento” (indicando o tratamento recebido por cada animal no primeiro período do experimento). Para a função da barreira cutânea, um modelo linear de efeitos mistos similar foi realizado, mas com quatro pontos no tempo (0, 15, 30 e 45 dias de consumo da dieta). Comparações post-hoc dos dados foram realizadas usando o teste de comparação múltipla de Tukey-Kramer. As análises estatísticas foram realizadas usando Python e a biblioteca *stastmodels*, com um nível de significância de 5%.

4. RESULTADOS

Foi possível produzir uma dieta extrusada com alto nível de inclusão (29,5%) de farinha de BSFL. Apesar das dietas terem sido formuladas para apresentar os mesmos teores de energia, nitrogênio, gordura e minerais, algumas diferenças foram encontradas na análise bromatológica, provavelmente devido a pequenos desvios na especificação dos ingredientes utilizados (Tabela 1). As dietas experimentais também apresentaram o perfil de ácidos graxos diferentes devido as diferentes composição de ácidos graxos das farinhas de larva de mosca soldado negro e vísceras de aves (Tabela 2). Todos os animais do experimento aceitaram bem ambas as dietas, sem nenhum episódio de recusa, vômitos ou diarreia durante os períodos. A média de consumo para ambas as dietas durante todo o período experimental foi de $26,03 \pm 3,23\text{g/kg}^{0,75}/\text{dia}$ e $25,77 \pm 3,82\text{g/kg}^{0,75}/\text{dia}$ para dietas FVA e BSFL, respectivamente.

4.1 Parâmetros sanguíneos

Todos os parâmetros sanguíneos analisados neste estudo atingiram a faixa de referência normal para cães adultos. Durante o período experimental, nenhum efeito significante da dieta, tempo ou interação dieta*tempo foram observados (Tabela 3).

Tabela 3. Valores médio dos parâmetros sanguíneos de cães alimentados com as dietas experimentais durante 50 dias (FVA e BSFL)¹

Parâmetros celulares	Faixa de Referência	FVA ²	BSFL ³	p valor
RBC ⁴ (milhões dL)	5,5 a 8,5	$6,58 \pm 0,67$	$6,42 \pm 0,51$	0,619
Hemoglobina (g/dL)	12 a 18	$16,11 \pm 2,50$	$15,47 \pm 1,16$	0,553
Hematócritos (%)	37 a 55	$44,60 \pm 4,34$	$43,30 \pm 2,60$	0,510
WBC ⁵ (U/ μL)	5,5 a 8,5	9171 ± 1734	8714 ± 4044	0,788
Neutrófilos (U/ μL)	-	5762 ± 1034	6435 ± 1298	0,305
Linfócitos (U/ μL)	1000 a 4800	2361 ± 1126	2616 ± 1138	0,680
Basófilos (U/ μL)	Raros	0 ± 0	0 ± 0	1,00
Monócitos (U/ μL)	150 a 1350	$474,8 \pm 227,6$	$630,3 \pm 207,3$	0,206
Eosinófilos (U/ μL)	100 a 1250	354 (186 – 1248)	$240 (136 – 2448)$	0,259

¹ Os valores das avaliações iniciais e após 50 dias de consumo foram combinados e expressos como média ± DP ou mediana e (mín – máx). ² Dieta à base de vísceras de aves. ³ Dieta à base de larvas de mosca soldado negro. ⁴ RBC, glóbulos vermelhos (red blood cells). ⁵ WBC, glóbulos brancos (white blood cells).

4.2 Parâmetros bioquímicos

Para os parâmetros bioquímicos séricos obtidos durante o estudo estão apresentados na Tabela 4. No período avaliado, efeitos significantes não foram observados para ALT, creatinina sérica, nitrogênio ureico sanguíneo, fosfatase alcalina, HDL e VLDL. Interação significativa entre dieta e tempo foi observada para o colesterol ($p=0,042$) e LDL ($p=0,019$). O colesterol também foi afetado pelo fator de ordem que os cães receberam cada tratamento ($p=0,037$), indicando possivelmente um efeito residual do tratamento anterior com menos efeito claro do tratamento dietético atual. Cães alimentados com FVA apresentaram uma redução significativa nos valores da LDL no final do período de consumo ($p<0,05$). Os triglicerídeos foram significativamente afetados pelo fator tempo, apresentando um aumento ao longo do período de consumo ($p<0,001$). O nitrogênio ureico sanguíneo foi afetado pela ordem do tratamento ($p=0,011$), e as análises post-hoc indicaram um efeito no período de *cross-over* para o tratamento com BSFL ($p=0,009$). No entanto, todos esses parâmetros bioquímicos permaneceram na faixa de referência normal para cães saudáveis. Para os outros parâmetros nenhuma diferença significativa foi observada ($p>0,05$).

4.3 Parâmetros da capacidade antioxidante orgânica

Quanto à avaliação do sistema antioxidante, não houve efeito significante na interação entre dieta e tempo para nenhum parâmetro analisado. Entretanto, uma tendência foi observada no efeito dietético para o MDA ($p=0,057$) e vitamina E ($p=0,051$), onde MDA tendeu para ser menor no grupo BSFL e a vitamina E no mesmo grupo. O MDA também foi afetado pela avaliação do período ($p=0,002$). Um efeito significante do tempo foi observado para o DPPH ($P=0,004$) (Tabela 5). Para as análises das enzimas redox (SOD, CAT, GST, GSH e LPO) os resultados foram semelhantes entre as dietas experimentais depois dos 50 dias de consumo ($P>0,05$).

Tabela 4. Parâmetros da bioquímica sérica de cães alimentados com dietas experimentais durante 50 dias (FVA e BSFL). Média ± desvio padrão.

	Faixa de referência	FVA ¹		BSFL ²		P valor	Ordem do tratamento	Período
		T0	T50	T0	T50			
Creatinina (mg/dL)	0,5 - 1,6	0,92 ± 0,12	0,87 ± 0,24	1,07 ± 0,21	0,88 ± 0,14	0,395	0,114	0,487
BUN ⁴ (mg/dL)	6,0 - 50	33,50 ± 7,5	33,7 ± 9,48	35,78 ± 11,9	28,89 ± 5,04	0,539	0,103	0,083
ALT ⁵ (U/L)	21 - 102	40,25 ± 23,6	51 ± 26,2	69,33 ± 34,3	41 ± 11,3	0,789	0,789	0,102
ALKP ⁶ (U/L)	20 - 150	63,25 ± 23,0	65,6 ± 23,5	57,9 ± 16,7	51,9 ± 19,4	0,503	0,524	0,160
Triglicerídeos (mg/dL)	20 - 135	59,14 ± 17,8	101,6 ± 40,5	64,67 ± 16,9	85,11 ± 34,1	0,950	<0,001	0,453
Colesterol (mg/dL)	30 - 291	160,0 ± 33,5	142,6 ± 36,2	149,3 + 39,4	162,8 ± 47,6	0,144	0,875	0,042
HDL ⁷ (mg/dL)	60 - 140	98,13 ± 27,9	93,63 ± 33,6	102,3 ± 40,9	106 ± 30,8	0,140	0,831	0,421
LDL ⁸ (mg/dL)	30 - 115	61,8 ± 7,86 *	49 ± 11,6	49 ± 14,7	56,78 ± 18,9	0,935	0,643	0,019
VLDL ⁹ (mg/dL)	< 20	1,54 ± 0,3	1,95 ± 0,76	2,21 ± 1,25	1,83 ± 0,27	0,230	0,978	0,100

¹FVA, dieta à base de vísceras de aves.²BSFL, dieta à base de larva de mosca soldado negro (*black soldier fly larvae*).³ Intereração dieta*tempo.⁴ BUN, Nitrogênio ureico sanguíneo (*blood urea nitrogen*).⁵ALT, alanina aminotransferase.⁶ALKP, fosfatase alcalina (*alkaline phosphatase*).⁷HDL, lipoproteína de alta densidade (*high-density lipoprotein*).⁸LDL, lipoproteína de baixa densidade (*low density lipoprotein*).⁹VLDL, lipoproteína de muito baixa densidade (*very-low-density lipoprotein*). * Indica diferenças entre T0 e T50 para dieta FVA (P<0,05).

Tabela 5. Parâmetros antioxidantes de cães alimentados com dietas experimentais durante 50 dias (FVA e BSFL). Média ± desvio padrão.

	FVA ¹			BSFL ²			<i>p-Valor</i>
	T0	T50	T0	T50	Dieta	Tempo	
							Ordem do tratamento
MDA ⁴ (μ M)	11,02 ± 2,25	10,72 ± 1,49	9,55 ± 2,31	10,02 ± 2,08	0,057	0,887	0,495
CAT ⁵ (μ M)	0,316 ± 0,11	0,22 ± 0,06	0,24 ± 0,06	0,23 ± 0,04	0,192	0,078	0,107
DPPH ⁶ (μ M)	59,48 ± 14,5	38,78 ± 8,6	51,14 ± 11,9	43,89 ± 14,6	0,978	0,004	0,227
Vitamina E (μ M)	26,33 ± 5,37	24,44 ± 7,19	27,81 ± 8,9	30,88 ± 10,3	0,051	0,792	0,226

¹FVA, dieta à base de vísceras de aves. ²BSFL, dieta à base de larva de mosca soldado negro (*black soldier fly larvae*). ³ Interação dieta*tempo. ⁴ MDA, análise do malondialdeído. ⁵ CAT, capacidade antioxidante total. ⁶ DPPH, análise da 2,2-difenil-1-picril-hidrazil.

4.4 Sistema de score da pele e pelo

Uma interação significativa foi observada entre dieta e tempo, para o escore de condição do pelo ($p=0,041$). As análises post-hoc indicaram que o escore de qualidade da pelagem aumentou para o grupo BSFL de $2,87\pm0,64$ para $3,51\pm0,74$ ($p=0,030$), com melhora na maciez e brilho, enquanto para os valores para o grupo FVA foi de $2,77\pm0,64$ e $3,33\pm0,76$ para estes mesmos parâmetros, com nenhum efeito significativo de efeito da dieta. O escore de condição da pele para os cães foi similar entre dietas e permaneceram constantes durante o estudo ($P>0,05$).

4.5 Qualidade da barreira cutânea

As características da barreira cutânea foram avaliadas pela mensuração de TEWL e SCH nas regiões do abdômen e pavilhão auricular nos dias 0, 15, 30 e 45 de cada período. Para evitar interferências externas, o local de coleta eram sempre os mesmos, e todos os cães foram inspecionados para identificar qualquer sinal de lambedura nestas regiões antes das mensurações.

Resultados da TEWL e SCH podem ser encontradas na Tabela 6. Para a região do pavilhão auricular, uma interação entre dieta e tempo foi observada para TEWL ($\text{g/m}^2/\text{h}$) ($p=0,028$). TEWL diminuiu significativamente no grupo BSFL ($p=0,004$) depois de 30 dias de consumo da dieta. Um efeito significativo na interação dieta*tempo foi observado ($p=0,036$) para a TEWL no abdômen. Este parâmetro nesta região no grupo BSFL foi menor do que no grupo que consumiu a dieta FVA no T30 ($p=0,040$) e T45 ($p=0,041$).

Uma interação significativa entre dieta e tempo foi observada para a SCH na barriga ($p=0,002$), onde os valores para o grupo BSFL foi maior comparado com o grupo FVA, nos tempos T15 ($p=0,016$), T30 ($p=0,049$) e T45($p=0,030$). Um efeito significativo para o período de *cross-over* foi observado para SCH na região abdominal ($P<0,001$). Nas análises post-hoc indicaram diferenças entre os períodos para o grupo FVA no dia 15 ($P<0,05$), mas não para o grupo BSFL. Este resultado pode ser um reflexo de algum efeito residual do primeiro período quando os cães foram alimentados com a dieta oposta e esta variável aumentou. A SCH no abdômen apresentou efeitos significantes na interação dieta*tempo, porém, nenhum efeito foi observado nas análises post-hoc (efeito no ponto no tempo dentro de cada dieta, entre as dietas em todos os pontos e as mesmas observações divididas por período) (Figura 2).

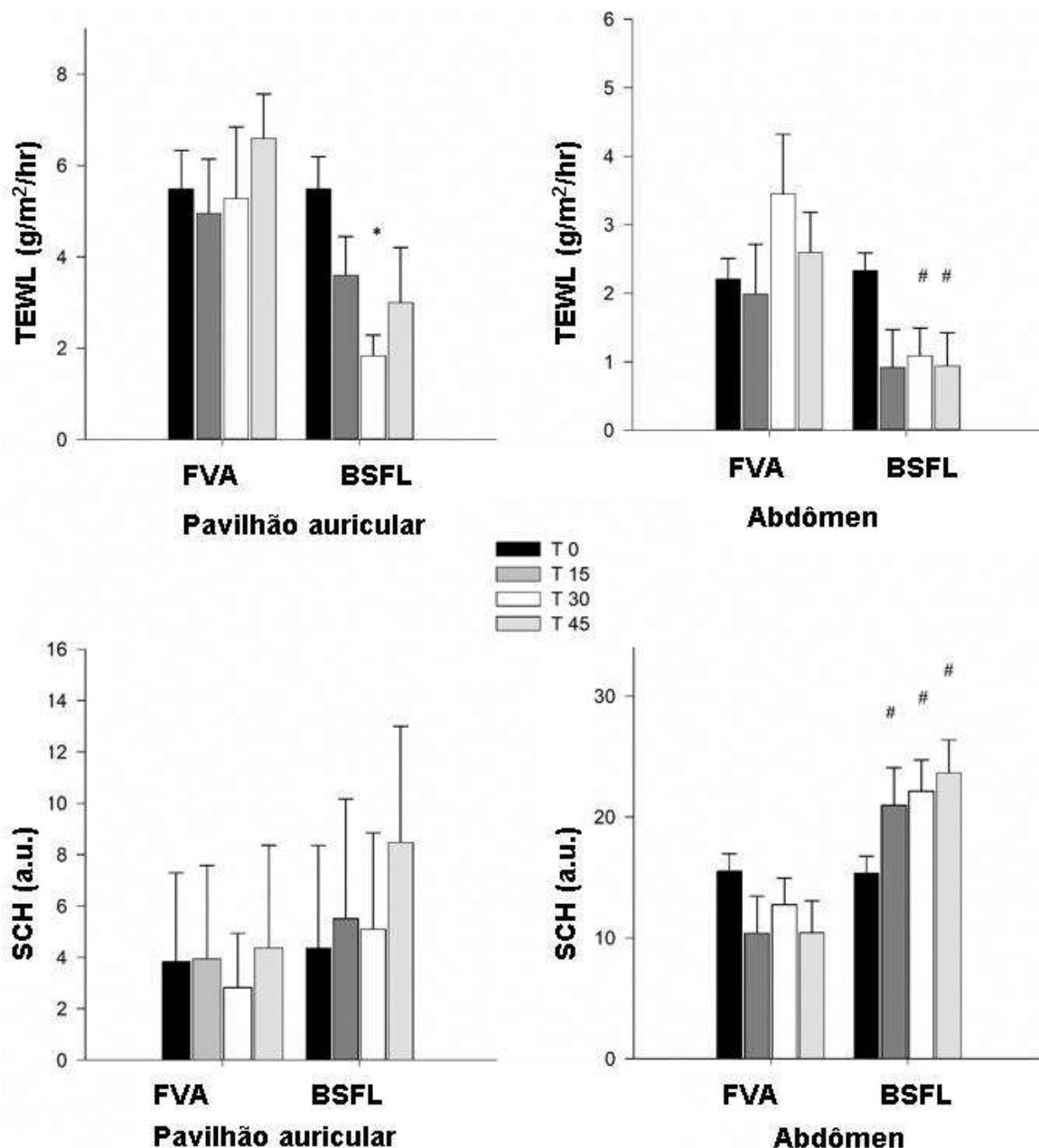
Tabela 6. Perda de água transepidérmica (TEWL – *Trans epidermal water loss*) e hidratação do estrato córneo (SCH – *Stratum corneum hydration*) mensurados em cães alimentados com dietas experimentais por 45 dias (FVA e BSFL). Média ± desvio padrão.

Dia	Abdômen		Pavilhão auricular		Abdômen		Pavilhão auricular	
	FVA ³	BSFL ⁴	FVA	BSFL	FVA	BSFL	FVA	BSFL
0	15,52 ± 1,49	15,36 ± 1,40	3,83 ± 3,4	4,36 ± 3,9	2,20 ± 0,30	2,33 ± 0,25	5,48 ± 0,84	5,47 ± 0,69
15	10,37 ± 3,06	20, 95 ± 3,13 ^a	3,94 ± 3,6	5,51 ± 4,66	1,98 ± 0,72	0,92 ± 0,55	4,95 ± 1,18	3,59 ± 0,85
30	12,75 ± 2,19	22,14 ± 2,57 ^a	2,82 ± 2,11	5,09 ± 3,75	3,44 ± 0,86	1,08 ± 0,41 ^a	5,27 ± 1,56	1,83 ± 0,45*
45	10,42 ± 2,62	23,66 ± 2,72 ^a	4,37 ± 3,93	8,47 ± 4,52	2,59 ± 0,59	0,94 ± 0,48 ^a	6,59 ± 0,97	2,99 ± 1,1
	<i>P valor</i>							
Dieta	<0,001		0,013		0,001		0,002	
Tempo		0,255		0,159		0,755		0,076
D*T ⁵		0,002		0,006		0,036		0,028
Ordem do tratamento		0,451		0,344		0,078		0,380
Período		<0,001		0,838		0,719		0,272

¹SCH, hidratação do estrato córneo (*stratum corneum hydration*). ²TEWL, perda de água transepidérmica (*transepidermal water loss*). ³FVA, dieta contendo vísceras de aves.

⁴BSFL, dieta contendo larva de mosca soldado negro (BSFL). ⁵Interação entre dieta*tempo. Letras minúsculas indicam diferença estatística entre tratamento dietético entre os grupos. * Indica diferença estatística entre os dias 0 e 30 dentro do grupo do tratamento dietético ($p < 0,05$).

Figura 2. Efeitos do consumo das dietas experimentais (FVA e BSFL) por 0, 15, 30 e 45 dias sobre a perda de água transepidermica (TEWL) e a hidratação do estrato córneo (SCH) de cães. Os resultados são expressos como valores médios \pm desvio padrão. # Indica diferença estatística entre os dias 0 e 30 dentro dos momentos do grupo de tratamento dietético ($p<0,05$) * Indica diferença estatística entre os dias 0 e 30 dentro do grupo com tratamento dietético ($p<0,05$).



5. DISCUSSÃO

A farinha de larva de mosca soldado negro é um ingrediente interessante para formulação de *pet food*. É um ingrediente mais sustentável quando comparados a outros subprodutos de origem animal e vegetal porque não compete com o alimento humano e tem proporções consideradas de proteínas e lipídeos, com propriedades funcionais adicionais.

O presente estudo reforça o que a literatura indica, que o consumo de dietas contendo até 20% de inclusão de BSFL para cães adultos é segura e sem nenhum prejuízo nutricional (Freel et al., 2021; Jian et al., 2022). Depois de 50 dias de consumo das dietas contendo BSFL, não foi observado alterações no hemograma, ou bioquímica sanguínea nos cães saudáveis.

Alterações significativas foram observadas no colesterol e LDL relacionadas às dietas experimentais, apesar do colesterol parecer ser afetado pelo tratamento dietético anterior que os cães receberam, confundindo os resultados e limitando algumas conclusões. No entanto, essas alterações podem ser explicadas pelas diferentes características e composição de ácidos graxos das fontes de proteínas avaliadas no estudo. Além das fontes de proteína, as farinhas proteicas avaliadas apresentaram quantidades consideráveis de lipídeos com perfil de ácidos graxos específicos, como de ácido láurico, que na farinha de vísceras de aves apresentou menos que 0,10g deste AG e na farinha BSFL uma proporção de 5,05g. O metabolismo lipídico dos cães foi aparentemente afetado pelas dietas com um aumento importante nos triglicerídeos circulantes observado nos cães alimentados com a dieta BSFL. Isso pode ser devido às diferenças no perfil de ácidos graxos das dietas experimentais, já que a gordura presente na farinha de larva de mosca soldado negro tem maior proporção de ácidos graxos de cadeia média, em comparação com a farinha de vísceras de aves, especificamente o ácido láurico.

Os ácidos graxos de cadeia média são conhecidos por apresentarem uma rápida digestão, absorção e transporte devido ao seu baixo peso molecular e menor afinidade com a enzima acil-CoA sintetase, responsável pelo processo de re-esterificação para transformar em triglicerídeos depois da absorção (Bach et al., 1996; Trevizan et al., 2010). Na literatura já é conhecido que cerca de 30% do ácido láurico no trato digestivo pode ser absorvido diretamente pela veia porta, em humanos. É possível que os diferentes perfis de ácidos graxos da farinha de vísceras de aves e da larva mosca soldado negro afetou o metabolismo lipídico, além disso, os lipídeos presentes na circulação sanguínea assim como os triglicerídeos, colesterol e outra lipoproteínas (Trevizan et al., 2010). Isto também pode impactar no transporte da gordura e absorção pelos órgãos e

tecidos; e pode ser uma fonte lipídica interessante para animais com comprometimento na digestão e metabolismo deste ingrediente como a insuficiência pancreática exócrina ou linfangiectasia (dilatação anormal dos vasos linfáticos). Mais pesquisas focadas neste aspecto são necessárias para melhor compreensão do papel dos lipídeos presentes na farinha de BSFL no metabolismo lipídico de cães e seu uso no auxílio nutricional destas desordens.

A capacidade antioxidante da proteína derivada da farinha de BSFL já foi avaliada usando o modelo *in vitro*, onde esta fonte proteica (larva integral e BSFL hidrolisada), farinha de peixe e farinha de aves foram investigadas para suas atividades de eliminação dos radicais livres, usando análises do DPPH. Os resultados desta pesquisa indicaram que a farinha de peixes e frango contribuíram para o comportamento pro-oxidante e, como resultado, a farinha de larva da mosca soldado negro pode ter sido efetiva na proteção contra os danos celulares (Mouithys-Mickalad et al., 2020). Preservando as respectivas proporções, os resultados obtidos neste presente estudo estão alinhados com os achados do Mouithys-Mickalad et al. (2020), onde a avaliação *in vitro* da farinha pura de BSFL teve tendência de promover maiores valores de vitamina E e reduziu os valores da MDA, sugerindo que os animais estavam em uma situação mais favorável mesmo com menor estresse oxidativo. É significativo que os resultados em relação ao MDA foram afetados pelo período da avaliação, sugerindo que o período de *wash-out* aplicado no estudo foi insuficiente para eliminar o efeito residual da dieta anterior, limitando a avaliação e talvez levando à detecção apenas de uma tendência ao invés de um efeito significativo da dieta. Adicionalmente, Mouithys-Mickalad et al. (2020) avaliaram os ingredientes puros, enquanto no presente estudo o que foi analisado foram as dietas completas; e os autores utilizaram o modelo de avaliação *in vitro*, e nesta pesquisa examinou o consumo crônico e pelo modelo *in vivo*.

O efeito antioxidante da larva de mosca soldado negro em animais já tem sido demonstrado em diferentes espécies de não ruminantes, como cães (Lei et al., 2019), leitões (Phaengphairee et al., 2023), frangos (Chen et al., 2022) e galinhas de postura (Chu et al., 2020). Nesta pesquisa, apesar de vários marcadores e vias do sistema de defesa antioxidante orgânica terem sido avaliados, apenas uma tendência foi observada para o efeito da dieta. Outros estudos também falharam em demonstrar o efeito do ingrediente BSFL nos parâmetros como MDA, CAT e as enzimas redox em cães saudáveis (Jian et al., 2022). É possível que a falta de efeitos observados nestes estudos é devida à condição de saúde dos animais utilizados, o qual apenas cães saudáveis foram utilizados. Adicionalmente, seria interessante avaliar o efeito do consumo da farinha BSFL associados aos desafios oxidativos, incluindo animais afetados pelo estresse

oxidativo relatados em desordens ou animais com deficiência no sistema oxidativo, como os animais geriátricos, uso de medicamentos e aplicação de vacina. Porém, um período mais longo de *wash-out* de pelo menos 30 dias é recomendado em um estudo usando o modelo de delineamento cruzado.

Os mamíferos, de uma forma geral, passaram por um processo evolutivo de adaptação para conservar a água no corpo, e um deles foi o desenvolvimento de uma barreira cutânea que previne a perda de água, em adição à proteção do corpo contra agentes externos (Elias & Menon, 1991). A perda transepidermica de água (TEWL – sigla do inglês *trans epidermal water loss*) e a hidratação do estrato córneo (SCH – do inglês *stratum corneum hidratation*) são os parâmetros mais utilizados para acessar as condições da função da barreira da pele (Parke et al., 2021). O consumo da dieta contendo BSFL promoveu um importante efeito desta função na pele dos cães. A TEWL foi reduzida com o passar do tempo quando os cães foram alimentados com a dieta à base de inseto, o que demonstra melhor habilidade de reter água. O aumento da SCH na região abdominal nos cães deste mesmo grupo em comparação com a dieta FVA, sugeriu um aumento na hidratação da pele. Apesar do estudo identificar influências dietéticas para alguns parâmetros da pele, o impacto significativo do período desta pesquisa para a SCH no abdômen sugere que um período maior de *wash-out* possa ser necessário para ter resultados mais eficazes em relação ao efeito das dietas sobre a barreira cutânea. Além disso, valores mais altos da SCH encontrados no abdômen em comparação ao pavilhão auricular, corrobora com um estudo prévio e como esperado em ambos os locais (Momota et al., 2016).

A epiderme é a camada mais externa da pele que é visível a olho nu. Esta é dividida em outras 4 subcamadas, onde a última é denominada de estrato córneo. O estrato córneo é composto por corneócitos que são envolvidos por uma mistura de ceramidas, colesterol e ácidos graxos livres. A mais larga porção é composta por sebo advindo das glândulas sebáceas presentes na derme (Dumas et al., 2018). As glândulas sebáceas são compostas por sebócitos que eventualmente promovem um rompimento holocrino para liberar seu conteúdo na superfície da pele. O sebo é composto principalmente de glicerídeos, ácidos graxos livres, ceras, e uma pequena quantidade de esqualeno (componente importante na função antioxidante e proteção da pele), ésteres de colesterol e colesterol livre. Os ácidos graxos livres presentes são: ácido lútrico, palmitoleico e oleico.

Os ácidos graxos que são suplementados através da dieta podem ter participação na formação dos triglycerídeos do sebo. Estes lipídeos são substratos para lipase produzida pela

microflora e sebócitos, resultando na formação dos ácidos graxos livres (Nakatsuji et al., 2010). O ácido láurico livre presente no sebo, melhora a integridade da pele pois exerce uma função antimicrobiana através de duas vias diferentes: 1) patogenicidade direta do ácido láurico nas bactérias gram-positivas; 2) desencadeamento da expressão dos peptídeos antimicrobianos que tem atividade biocida contra vários microrganismos causadores de desordens cutâneas (Libinaki et al., 2006; Dayrit, 2015).

A síntese dos AGs na epiderme pode ser baixa, e o lipídio presente na dieta representa um papel importante. Portanto seja através da suplementação ou presente na dieta, os AGs podem mudar a composição lipídica na epiderme (Kirby et al., 2007, 2009; Marsh et al., 2008), além disso afetar na composição do sebo em cães (Wyrosteck et al., 2023). Ambas as dietas experimentais apresentaram a quantidade necessária de gordura total e dos ácidos graxos essenciais (ácido linoleico) para alcançar as necessidades requeridas para cães adultos de acordo com o FEDIAF (2021). Entretanto, devido aos diferentes perfis de AGs da farinha BSFL e FVA, a composição final da farinha de inseto promoveu 23% a mais do ácido linoleico e 100% a mais do ácido láurico em comparação com a dieta contendo vísceras de aves, onde ambos os AGs apresentam um importante papel na função da barreira cutânea e potencial papel nas alterações da TEWL. A suplementação do ácido linoleico e seu efeito na melhora da pele e do pelo já é bem conhecido na literatura (Marsh et al., 2008; Kirby et al., 2007; Watson et al., 2018). Porém, o efeito do ácido láurico proveniente da dieta nestes parâmetros ainda é pouco explorado. Potencialmente, a maior concentração de ambos os AGEs na dieta BSFL, afetou simultaneamente a barreira cutânea e perda de água, através da melhora do perfil de AGs na camada lipídica da pele, otimizando a produção sebácea, e melhorando a defesa microbiana da pele e sua funcionalidade. Os resultados apresentados trouxeram implicações interessantes para dietas para cães à base de farinha de larva de mosca soldado negro. A indústria *pet food* estão se adequando para incluir dietas à base de BSFL para cães com alergias cutâneas (Siddiqui et al., 2023). Apesar deste estudo ter avaliado o efeito em cães saudáveis e sem histórico de desordens cutâneas, a pesquisa trouxe uma primeira percepção do papel da BSFL na melhora das condições da pele. Entretanto, em estudos futuros, seria interessante estudar a resposta da dieta à base de BSFL em cães com pele sensível.

Na avaliação subjetiva da pelagem, a ração contendo BSFL aumentou o brilho e maciez do pelo, concordando com o resultado da TEWL e reforçando a hipótese da melhora na produção do sebo e hidratação da pelagem. Para melhor compreensão do efeito da gordura

proveniente da BSFL na qualidade da pele e pelo, estudos envolvendo doses-resposta podem ser recomendados, assim como uma avaliação do sebo e microbiota da pele.

6. CONCLUSÃO

Esta pesquisa traz resultados da avaliação de uma dieta à base de BSFL na saúde canina. E apesar de apresentar algumas limitações como o uso de animais saudáveis e um curto período de *wash-out*, a inclusão deste ingrediente como principal fonte proteica em uma dieta extrusada e completa para cães afetou o metabolismo lipídico, sem promover alterações negativas nas células e bioquímica sanguínea dos cães. Adicionalmente, dieta à base de BSFL afetou positivamente o sistema antioxidante de cães saudáveis e melhora efetiva na função da barreira cutânea. Portanto, a farinha de mosca soldado negro representa uma importante alternativa e fonte de proteína e gordura para cães, especialmente para aqueles com a pele sensível.

7. REFERÊNCIAS

- AEBI, H. Catalase *in vitro*. Methods in Enzymology. v. 105, p.121–26, 1984. doi: [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3)
- ALMEIDA, C.; RIJO, P.; ROSADO, C. Bioactive Compounds from *Hermetia Illucens* Larvae as Natural Ingredients for Cosmetic Application. Biomolecules, v.10, p.976, 2020. doi: <https://doi.org/10.3390/biom10070976>
- ARNAUD, J.; FORTIS, I.; BLACHIER, S.; KIA, D.; FAVIER, A. Simultaneous determination of retinol, alpha-tocopherol and betacarotene in serum by isocratic high-performance liquid chromatography. Journal of Chromatography. v. 572, p.103–116, 1991. doi: [https://doi.org/10.1016/0378-4347\(91\)80476-S](https://doi.org/10.1016/0378-4347(91)80476-S)
- BACH A. C.; INGENBLEEK ,Y.; FREY A. The usefulness of dietary medium-chain triglycerides in body weight control: fact or fancy? Journal of Lipid Research. v. 37, p.708–726, 1996. doi: [https://doi.org/10.1016/S0022-2275\(20\)37570-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2275(20)37570-2)
- BELFORTI, M.; GAI, F.; LUSSIANA, C.; RENNA, M.; MALFATTO, V.; ROTOLI, L.; GASCO, L. *Tenebrio molitor* meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets: effects on animal performance, nutrient digestibility and chemical composition of fillets. Italian Journal of Animal Science. v.14(4), p.670-676, 2015.
- BIASATO, I.; RENNA, M.; GAI, F.; DABBOU, S.; MENEGUZ, M.; PERONA, G.; GASCO, L. Partially defatted black soldier fly larva meal inclusion in piglet diets: effects on the growth performance, nutrient digestibility, blood profile, gut morphology and histological features. Journal of Animal Science and Biotechnology. v.8(1), p.1-11, 2017. doi: <https://doi.org/10.1186/s40104-019-0325-x>
- BOSCH, G.; ZHANG, S.; OONINCX, D. G.; HENDRIKS, W. H. Protein quality of insects as potential ingredients for dog and cat foods. Journal of nutritional science. v.3, p.e29, 2014. doi: <https://doi.org/10.1017/jns.2014.23>
- BOSCH, G.; SWANSON, K. S. Effect of using insects as feed on animals: pet dogs and cats. Journal of Insects as Food and Feed. v.7(5), p.795-805, 2021. doi: <https://doi.org/10.3920/JIFF2020.0084>

CHEN, X.; JIN, J.; HOU, F.; SONG, B.; LI, Z.; ZHAO, Y. Effects of black soldier fly larvae oil on growth performance, immunity and antioxidant capacity, and intestinal function and microbiota of broilers. *Journal of Applied Poultry Research.* v.31(4), p.100292, 2022. doi: <https://doi.org/10.1016/j.japr.2022.100292>

CHU, X.; LI, M.; WANG, G.; WANG, K.; SHANG, R.; WANG, Z.; LI, L. Evaluation of the low inclusion of full-fatted *Hermetia illucens* larvae meal for layer chickens: Growth performance, nutrient digestibility, and gut health. *Frontiers in Veterinary Science* v.7, p.585843, 2020. doi: <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.585843>

DAYRIT, C. S. The properties of lauric acid and their significance in coconut oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v.92(1), p.1-15, 2015.

DONADELLI, R. A.; ALDRICH, C. G.; JONES, C. K. (2020). Evaluation of medium-chain triglycerides in canine diets: Effects on metabolism and performance. *Journal of Animal Science.* v.96(11), p.4564-4573, 2020.

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

DUMAS, S. N.; NTAMBI, J. M. A discussion on the relationship between skin lipid metabolism and whole-body glucose and lipid metabolism: Systematic review. *Journal of cell signaling.* v.3(3), 2018. doi: <https://doi.org/10.4172/2576-1471.1000189>

EKSTRÖM, T.; GARBERG, P.; EGESTAD, B.; HÖGBERG, J. Recovery of malondialdehyde in urine as a 2, 4-dinitrophenylhydrazine derivative analyzed with high-performance liquid chromatography. *Chemico-biological interactions.* v.66(3-4), p.177-187, 1988. doi: [https://doi.org/10.1016/0009-2797\(88\)90070-1](https://doi.org/10.1016/0009-2797(88)90070-1)

ELIAS, P. M.; MENON, G. K. Structural and lipid biochemical correlates of the epidermal permeability barrier. *Advances in lipid research*, v.24, p.1-26, 1991. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-024924-4.50005-5>

EREŁ, O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical biochemistry*, v.37(4), p.277-285, 2004. doi: <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2003.11.015>

FEDIAF. Nutritional Guidelines for Complete and Complementary Pet Food for Cats and Dogs, (2021). Disponível em: <https://europeanpetfood.org/wp-content/uploads/2022/03/Updated-Nutritional-Guidelines.pdf>.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. The State of Food and Agriculture: Leveraging Food Systems for Inclusive Rural Transformation. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2017.

FRANÇA, J.; SAAD, F. M. O. B.; SAAD, C. E. P.; SILVA, R. C.; REIS, J. S. Avaliação de ingredientes convencionais e alternativos em rações de cães e gatos. Revista Brasileira de Zootecnia. v.40(1), p.222-23, 2011.

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

GAO, R.; YUAN, Z.; ZHAO, Z.; GAO, X. Mechanism of pyrogallol autoxidation and determination of superoxide dismutase enzyme activity. Bioelectrochemistry Bioenergy. v.45, p.41–45, 1998. doi: [https://doi.org/10.1016/S0302-4598\(98\)00072-5](https://doi.org/10.1016/S0302-4598(98)00072-5)

GASCO, L.; ACUTI, G.; BANI, P.; DALLE ZOTTE, A.; DANIELI, P. P.; DE ANGELIS, A.; PARISI, G. Insect and fish by-products as sustainable alternatives to conventional animal proteins in animal nutrition. Italian Journal of Animal Science. v15(1), p.124-136, 2016. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2020.1743209>

GÉRARD-MONNIER, D.; ERDELMEIER, I.; RÉGNARD, K.; MOZE-HENRY, N.; YADAN, J.C.; CHAUDIÈRE J. Reactions of 1-methyl-2-phenylindole with malondialdehyde and 4-hydroxyalkenals. Analytical applications to a colorimetric assay of lipid peroxidation. Chemical Research in Toxicology, v.11(10):1176-83, 1998. doi: <https://doi.org/10.1021/tx9701790>

HABIG, W. H.; PABST, M. J.; JAKOBY, W. B. Glutathione S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. Journal of Biological Chemistry, v.249(22), p.7130-7139, 1974. doi: [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)42083-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)42083-8)

HARVEY, R. J.; BOSWARD, K. L. Coconut oil supplementation and its effects on skin and coat health in dogs: A double-blind, placebo-controlled study. Veterinary Dermatology, v.29(1), p.37-e14, 2018.

HENRY, M.; GASCO, L.; PICCOLO, G.; FOUNTOULAKI, E. Review on the use of insects in the diet of farmed fish: Past and future. *Animal Feed Science and Technology*, 203, 1-22. doi: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.03.001>.

HUANG, Z.; LIU, X.; JIA, S.; LI, H.; ZHANG, Y.; DING, Z. Effects of medium-chain triglycerides on aging and longevity of dogs. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, v.103(3), p.738-744, 2019.

Informações Gerais do setor. ABINPET, 2023. Disponível em: <https://abinpet.org.br/informacoes-gerais-do-setor/>. Acesso: 26 de abril de 2024

JIAN, S.; ZHANG, L.; DING, N.; YANG, K.; XIN, Z.; HU, M.; ZHOU, Z.; ZHAO, Z.; DENG, B.; DENG, J. Effects of black soldier fly larvae as protein or fat sources on apparent nutrient digestibility, fecal microbiota, and metabolic profiles in beagle dogs. *Frontiers Microbiology*, v.13, p.1044986, 2022. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1044986>

JIANG, Z.-Y.; WOOLLARD, A. C. S.; WOLFF, S. P. Lipid hydroperoxide measurement by oxidation of Fe²⁺ in the presence of xylenol orange. Comparison with the TBA assay and an iodometric method. *Lipids*, v.26, p.853–856, 1991. doi: <https://doi.org/10.1007/BF02536169>.

Kierończyk, B.; Rawski, M.; Mikołajczak, Z.; Homska, N.; Jankowski, J.; Ognik, K.; Józefiak, A.; Mazurkiewicz, J.; Józefiak, D. Available for millions of years but discovered through the last decade: Insects as a source of nutrients and energy in animal diets. *Animal Nutrition*, v.11, p.60-79, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2022.06.015>

KIM, S. A.; RHEE, M. S. Highly enhanced bactericidal effects of medium-chain fatty acids (caprylic, capric, and lauric acid) combined with edible plant essential oils (carvacrol, eugenol, β-resorcyclic acid, thymol, and trans-cinnamaldehyde) against *Escherichia coli* O157:H7. *Food Control*, v.29(1), p.185-191, 2013.

KIRBY, N. A.; HESTER, S. L.; BAUER, J. E. Dietary fats and the skin and coat of dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v.230(11), p.1641-1644, 2007. doi: <https://doi.org/10.2460/javma.230.11.1641>

KIRBY, N. A.; HESTER, S. L.; REES, C. A.; KENNIS, R. A.; ZORAN, D. L.; BAUER, J. E. Skin surface lipids and skin and hair coat condition in dogs fed increased total fat diets containing polyunsaturated fatty acids. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, v.93(4), p.505–511, 2009. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2008.00832.x>

KOUŘIMSKÁ, L.; ADÁMKOVÁ, A. Nutritional and sensory quality of edible insects. NFS journal, v.4, p.22-26, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.nfs.2016.07.001>

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

LEE, S. H.; LILLEHOJ, H. S.; JANG, S. I.; KIM, D. K.; IONESCU, C.; BRAVO, D. Effect of dietary curcuma, capsicum, and lentinus on enhancing local immunity against *Eimeria acervulina* infection. The Journal of Poultry Science, v.47(1), p.89-95, 2010.

LEI, X. J.; KIM, T. H.; PARK, J. H.; KIM, I. H. Evaluation of supplementation of defatted black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal in beagle dogs. Annals of animal science, v.19(3), p.767-777, 2019. doi: <https://doi.org/10.2478/aoas-2019-0021>

LIBINAKI, R.; GAVIN, P. D.; LI, D. Phytosterol and fatty acid esters for skin lipids. Cosmeceuticals: Drugs vs. Cosmetics, p.243-253, 2006.

LIU, C.; ZHANG, H.; QI, D.; ZHOU, Y.; TAO, J.; NI, Z. Antibacterial and anti-inflammatory effects of medium-chain fatty acids in Helicobacter pylori-infected mice. Helicobacter, v.22(5), p.e12396, 2017a.

LIU, H.; WANG, J.; HE, T.; BECKER, S.; ZHANG, G.; LI, D.; MA, X. Butyrate: a double-edged sword for health? Advances in Nutrition, v.8(1), p.21-29, 2017b

MAKKAR, H. P.; TRAN, G.; HEUZÉ, V.; ANKERS, P. State-of-the-art on use of insects as animal feed. Animal Feed Science and Technology, v.197, p.1-33, 2014.

MLČEK, J.; ROP, O.; BORKOVCOVA, M.; BEDNÁŘOVÁ; M. A comprehensive look at the possibilities of edible insects as food in Europe-a review. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences, 2014. <https://doi.org/10.2478/v10222-012-0099-8>

MARSH, K. A.; RUEDISUELI, F. L.; COE, S. L.; WATSON, T. G. D. Effects of zinc and linoleic acid supplementation on the skin and coat quality of dogs receiving a complete and balanced diet. Veterinary Dermatology, v.11(4), p.277–284, 2008. doi: <https://doi.org/10.1046/j.1365-3164.2000.00202.x>

MOMOTA, Y.; SHIMADA, K.; NOGUCHI, A.; SAITO, A.; NOZAWA, S.; NIINA, A.; TANI, K.; AZAKAMI, D.; ISHIOKA, K.; SAKO, T. The modified corneocyte surface area measurement as an index of epidermal barrier properties: inverse correlation with

transepidermal water loss. Veterinary Dermatology, v.27, p.67-e19, 2016. doi: <https://doi.org/10.1111/vde.12287>

MOUITHYS-MICKALAD, A.; SCHMITT, E.; DALIM, M.; FRANCK, T.; TOME, N.M., VAN FVANKEREN, M.; SERTEYN, D.; PAUL, A. Black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae protein derivatives: potential to promote animal health. Animals, v.10, p941, 2020. doi: <https://doi.org/10.3390/ani10060941>

MOUITHYS-MICKALAD, A; TOME, N. M.; BOOGAARD T.; CHAKRABORTY, A.; SERTEYN, D.; AARTS, K.; PAUL, A. Unlocking the Real Potential of Black Soldier Fly (*Hermetia illucens*) Larvae Protein Derivatives in Pet Diets. Molecules, v.26(14), p.4216, 2021. <https://doi.org/10.3390/molecules26144216>

MUSHTAQ, S.; CHOUDHARY, I. Superoxide dismutase: An updated review on its health benefits and applications. Journal of Food Science and Technology, v.57(1), p.16-25, 2020.

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

NAHLE, S.; EL KHOURY, A.; SAVVAIDIS, I.; CHOKR, A.; LOUKA, N.; ATOUI, A. Detoxification approaches of mycotoxins: By microorganisms, biofilms and enzymes. International Journal of Food Contamination, 9(1), 1-14, 2022. doi: <https://doi.org/10.1186/s40550-022-00089-2>

NAKATSUJI, T.; KAO, M. C.; ZHANG, L.; ZOUBOULIS, C. C.; GALLO, R. L.; HUANG, C. M. Sebum free fatty acids enhance the innate immune defense of human sebocytes by upregulating beta-defensin-2 expression. Journal of Investigative Dermatology, v.130(4), p.985-94, 2010. doi: <https://doi.org/10.1038/jid.2009.384>

NGUYEN, T. T. X.; TOMBERLIN, J. K.; VANLAERHOVEN, S.; HUIS, A. V. Environmental effects on black soldier fly (Diptera: *Stratiomyidae*) development and optimal temperatures for mass production. Journal of Economic Entomology, v.108(2), p.219-226, 2015.

OBA, P. M.; UTTERBACK, P. L.; LONGSHAW, M.; PARSONS, C. M.; SWANSON, K. S. Comparing the standardized amino acid digestibility of an alternative protein source with commercially available protein-based ingredients using the precision-fed cecectomized rooster assay. Journal of animal science, v.101, p.skad236, 2013.

OH, W. S.; OH, T. H. Measurement of transepidermal water loss from clipped and unclipped anatomical sites on the dog. *Australian veterinary journal*, v.87(10), p.409-412, 2009. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2009.00481.x>

OONINCX, D. G.; DE BOER, I. J. Environmental impact of the production of mealworms as a protein source for humans—a life cycle assessment. *PloS one*, v.7(12), p.e51145, 2012. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051145>

PARKE, M. A.; PEREZ-SANCHEZ, A.; ZAMIL, D. H.; KATTA, R. Diet and Skin Barrier: The Role of Dietary Interventions on Skin Barrier Function. *Dermatology Practical & Conceptual*, v.11(1), p.e2021132, 2021. doi: <https://doi.org/10.5826/dpc.1101a132>

PHAENGPHAIREE, P.; BOONTIAM, W.; WEALLEANS, A.; HONG, J.; KIM, Y. Y. Dietary supplementation with full-fat *Hermetia illucens* larvae and multi-probiotics, as a substitute for antibiotics, improves the growth performance, gut health, and antioxidative capacity of weaned pigs. *BMC Veterinary Research*, v.19(1), p.7, 2023. doi: <https://doi.org/10.1186/s12917-022-03550-8>

População mundial chegará a 9,9 bilhões em 2054. ONU, 2024. Disponível em: <https://news.un.org/pt/story/2024/04/1830966#:~:text=De%20l%C3%A1%20para%20c%C3%A1%2C%20a,Iorque%20at%C3%A9%20a%20sexta%2Dfeira>. Acesso: 30 de abril de 2024

PRATA, J.C. Survey of Pet Owner Attitudes on Diet Choices and Feeding Practices for Their Pets in Portugal. *Animals*, v.12, p.2775, 2022. <https://doi.org/10.3390/ani12202775>

PREUSS, H. G.; ECHARD, B.; ENIG, M.; BROOK, I.; ELLIOTT, T. B. Minimum inhibitory concentrations of herbal essential oils and monolaurin for Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Molecular and Cellular Biochemistry*, v.272(1-2), p.29-34, 2005.

REES, C.A.; Bauer J. E.; Burkholder, W. J.; Kennis, R. A.; Dunbar, B. L.; Bigley, K. E. Effects of dietary flax seed and sunflower seed supplementation on normal canine serum polyunsaturated fatty acids and skin and hair coat condition scores. *Veterinary Dermatology*, v.12(2), p.111-7, 2001. doi: 10.1046/j.1365-3164.2001.00234.x

RUMPOLD, B. A.; SCHLÜTER, O. K. Nutritional composition and safety aspects of edible insects. *Molecular nutrition & food research*, v.57(5), p.802-823, 2013.

SANTOS NETO, E.L.; CARDOSO, R.K.N.; SANTOS, L.A.T.A.; SAMPAIO, F.C.; SANTOS, E.M.; RESTAN, W.A.Z.; AARTS, K.; PAUL, A.; LOUREIRO, B.A. Black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal based extruded diets: potential to improve canine oral health. *Journal of Insects as Food and Feed* (published online ahead of print 2023), 2023. doi: <https://doi.org/10.1163/23524588-20230098>

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

SEDLAK, J.; LINDSAY, R.H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical Biochemistry*, v.25, p.192–205, 1968. doi: [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(68\)90092-4](https://doi.org/10.1016/0003-2697(68)90092-4)

SOTOODIAN, B.; MAIBACH, H. I. Noninvasive test methods for epidermal barrier function. *Clinics in dermatology*, v.30(3), p. 301-310, 2012. doi: <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2011.08.016>.

SPRANGHERS, T.; OTTOBONI, M.; KLOOTWIJK, C.; OVYN, A.; DEBOOSERE, S.; DE MEULENAER, B.; MICHELS, J. Nutritional composition of black soldier fly (*Hermetia illucens*) prepupae reared on different organic waste substrates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.97(8), p.2594-2600, 2017.

STEFANUTTI, D.; TONIN, G.; MORELLI, G.; ZAMPIERI, R.M.; LA ROCCA, N.; RICCI, R. Oral Palatability and Owners' Perception of the Effect of Increasing Amounts of Spirulina (*Arthrospira platensis*) in the Diet of a Cohort of Healthy Dogs and Cats. *Animals*, v.13, p.1275, 2023. <https://doi.org/10.3390/ani13081275>

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

TRINDER, P. Glucose GOD-PAP method enzymatic colorimetric method. *Annals of clinical biochemistry*, v.6(24), p.12481676, 1969.

VALDÉS, F.; VILLANUEVA, V.; DURÁN, E.; CAMPOS, F.; AVENDAÑO, C.; SÁNCHEZ, M.; DOMINGOZ-ARAUJO, C.; VALENZUELA, C. Insects as Feed for Companion and Exotic Pets: A Current Trend. *Animals*, v.12, p.1450, 2022. <https://doi.org/10.3390/ani12111450>

VAN HUIS, A.; VAN ITTERBEECK, J.; KLUNDER, H.; MERTENS, E.; HALLORAN, A.; MUIR, G.; VANTOMME, P. Edible Insects: Future Prospects for Food and Feed Security. FAO Forestry Paper, 2013.

VELDKAMP, T.; DONG, L.; PAUL, A.; GOVERS, C. C. F. M. Bioactive properties of insect products for monogastric animals—a review. *Journal of Insects as Food and Feed*, v.(9), p.1027-1040, 2022. doi: <https://doi.org/10.3920/JIFF2021.0031>

WATSON, T. D. G. Diet and skin disease in dogs and cats. *Journal of Nutrition*, v.128(12), p.2783S-2789S, 1998.

WATSON, A.; THOMAS, G.; BUTOWSKI, C.; ALLAWAY, D. Evidence for an interaction between linoleic acid intake and skin barrier properties in healthy dogs—a pilot study. *Journal of Applied Animal Nutrition*, v.6, p.e7, 2018. doi: <https://doi.org/10.1017/JAN.2018.6>

WEI, Y.; XUE, L.; MA, D.; WENG, Y.; LIU, M.; LI, L.; DAI, Z.; ZHAO, Z.; WANG, H.; XU, X. The Effect of Dietary Protein Hydrolysate from Black Soldier Fly Larvae and *Schizochytrium* on Palatability, Nutrient Metabolites and Health Status in Beagle Dogs. *Metabolites*, v.14, p.165, 2024. <https://doi.org/10.3390/metabo14030165>

WYROSTEK, A.; CZYŻ, K.; SOKOŁA-WYSOCZAŃSKA, E.; PATKOWSKA-SOKOŁA, B.; BIELAS, W. The Effect of Ethyl Esters of Linseed Oil on the Changes in the Fatty Acid Profile of Hair Coat Sebum, Blood Serum and Erythrocyte Membranes in Healthy Dogs. *Animals*, v.13(14), p.2250, 2023. doi: <https://doi.org/10.3390/ani13142250>

ZHENG, C. J.; YOO, J. S.; LEE, T. G.; CHO, H. Y.; KIM, Y. H.; KIM, W. G. Fatty acid synthesis is a target for antibacterial activity of unsaturated fatty acids. *FEBS Letters*, v.579(23), p.5157-5162, 2005.

ZHENG, M.; MAO, Y.; YE, J.; LI, F.; TONG, W.; WU, X. Anti-inflammatory effects of lauric acid on acute liver injury induced by lipopolysaccharide in mice. *Mediators of Inflammation*, v.2019, p.3948367, 2019.

