



Efeito da Suplementação Oral de Mananoligossacarídeo na Mitigação da Disbiose Intestinal em Ratos Jovens Expostos ao Tabagismo Passivo

Bruna Rafaela dos Santos Silva

Doutor, UNOESTE, Brasil
brunarafaelastos@gmail.com

Robson Diego Silva Gonçalves

Mestre, UNOESTE, Brasil
robsondiegobio@gmail.com

Vanessa Teixeira Paulino Sasso

Professor Mestre, UNOESTE, Brasil
vanessa_alergoped@yahoo.com.br

Hermann Bremer-Neto

Professor Doutor, UNOESTE, Brasil
hermann@unoeste.br

Rogeria Keller

Professor Doutor, UNOESTE, Brasil
rogeriakeller@unoeste.br

Submissão: 27/06/2024

Aceite: 12/09/2024

SILVA, Bruna Rafaela dos Santos; GONÇALVES, Robson Diego Silva; SASSO, Vanessa Teixeira Paolino; BREMER-NETO, Hermann; KELLER, Rogeria. Suplementação oral de prebiótico, mananoligossacarídeo, mitiga disbiose intestinal em ratos jovens cronicamente expostos ao tabagismo passivo. **Periódico Eletrônico Fórum Ambiental da Alta Paulista**, [S. l.], v. 20, n. 5, 2024. DOI: [10.17271/1980082720520245002](https://doi.org/10.17271/1980082720520245002)

Disponível em: https://publicacoes.amigosdanatureza.org.br/index.php/forum_ambiental/article/view/5002

Licença de Atribuição CC BY do Creative Commons

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Efeito da Suplementação Oral de Mananoligossacarídeo na Mitigação da Disbiose Intestinal em Ratos Jovens Expostos ao Tabagismo Passivo

RESUMO

Em humanos, foi demonstrado que o tabagismo crônico passivo altera a microbiota e aumenta o risco de infecções por patógenos e/ou bactérias oportunistas. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da suplementação de mananoligossacarídeo (MOS) na concentração de *Escherichia coli* nas fezes de ratos fumantes passivos. Sessenta ratos jovens (23 dias) foram alocados aleatoriamente em quatro grupos (n=15): dois grupos suplementados com MOS e expostos ou não cronicamente à fumaça do cigarro e não suplementados com MOS e expostos ou não cronicamente à fumaça do cigarro. A exposição à fumaça de cigarro foi realizada duas vezes ao dia durante 180 dias e amostras fecais foram coletadas quatro vezes (dias 0, 60, 120 e 180). Após a coleta de fezes, as populações bacterianas foram amplificadas por PCR em tempo real. As médias dos dados foram analisadas por meio de ANOVA unidirecional seguida de análise post-hoc de Student-Newman-Keuls, considerando 5% como nível de significância. Os resultados revelaram que a exposição crônica a fumaça de cigarro aumentou ($P < 0,05$) de maneira tempo-dependente a população de *E. coli*. No grupo de ratos suplementados com MOS a concentração de *E. coli* não aumentou durante o período experimental de 180 dias. A média da concentração de *E. coli* dos grupos de ratos somente suplementados com MOS e controle não diferiram ($P > 0,05$). Os resultados permitem-nos concluir que a suplementação de MOS atenua o efeito crônico da fumaça do cigarro na concentração da bactéria *E. coli* em ratos jovens, como modelo pré-clínico.

PALAVRAS-CHAVE: MOS. Tabagismo. Alimento Funcional. Microbiota Intestinal.

Oral supplementation with a prebiotic, mannan oligosaccharide, mitigates intestinal dysbiosis in young rats chronically exposed to passive smoking

ABSTRACT

In humans, passive smoking has been shown to alter the microbiota and increase the risk of infections by pathogens and/or opportunistic bacteria. The objective of this study was to evaluate the effect of MOS supplementation on the concentration of *E. coli* in the feces of passive smoking rats. Sixty young rats (23 days) were randomly allocated into four groups (n=15): supplemented or not with MOS in the diet; and chronically exposed or not to cigarette smoke. Exposure to cigarette smoke was performed twice a day for 180 days and fecal samples were collected four times (days 0, 60, 120, and 180). After fecal collection, bacterial populations were amplified by real-time PCR. Data means were analyzed using one-way ANOVA followed by Student-Newman-Keuls post-hoc analysis, considering 5% as the level of significance. The results revealed that MOS supplementation significantly ($P < 0.05$) reduced the *E. coli* population resulting from chronic exposure to cigarette smoke. The mean results of the group of rats supplemented with MOS and exposed to cigarette smoke did not differ ($P > 0.05$) from the groups not exposed to cigarette smoke and supplemented or not with MOS. The results allow us to conclude that MOS supplementation mitigates the chronic effect of cigarette smoke on the concentration of *E. coli* bacteria in young rats, as a preclinical model.

KEY-WORDS: MOS; Smoking; Functional Food, Intestinal Microbiota.

Efecto de la Suplementación Oral de Mananoligosacárido en la Mitigación de la Disbiosis Intestinal en Ratas Jóvenes Expuestas al Tabaquismo Pasivo

RESUMEN

En humanos, se ha demostrado que el tabaquismo pasivo crónico altera la microbiota y aumenta el riesgo de infecciones por patógenos y/o bacterias oportunistas. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la suplementación con mananoligosacárido (MOS) en la concentración de *Escherichia coli* en las heces de ratas expuestas al tabaquismo pasivo. Sesenta ratas jóvenes (23 días) fueron asignadas aleatoriamente a cuatro grupos (n=15): dos grupos suplementados con MOS y expuestos o no crónicamente al humo de cigarrillo, y dos grupos no suplementados con MOS y expuestos o no crónicamente al humo de cigarrillo. La exposición al humo de cigarrillo se realizó dos veces al día durante 180 días, y se recolectaron muestras fecales en cuatro momentos (días 0, 60, 120 y 180). Tras la recolección de las heces, las poblaciones bacterianas fueron amplificadas mediante PCR en tiempo real. Los datos promedio fueron analizados mediante ANOVA unidireccional, seguido de un análisis post-hoc de Student-Newman-Keuls, considerando un nivel de significancia del 5%. Los resultados revelaron que la exposición crónica al

humo de cigarrillo aumentó ($P < 0,05$) de manera dependiente del tiempo la población de *E. coli*. En el grupo de ratas suplementadas con MOS, la concentración de *E. coli* no aumentó durante el período experimental de 180 días. El promedio de la concentración de *E. coli* en los grupos de ratas suplementadas únicamente con MOS y el grupo control no presentó diferencias significativas ($P > 0,05$). Los resultados permiten concluir que la suplementación con MOS atenúa el efecto crónico del humo de cigarrillo en la concentración de la bacteria *E. coli* en ratas jóvenes, utilizándose como modelo preclínico.

PALABRAS CLAVE: MOS. Tabaquismo. Alimento Funcional. Microbiota Intestinal.

1 INTRODUÇÃO

Estudos atuais alertam para os altos custos econômicos e ao grande número de mortes de crianças provocadas pelo tabagismo passivo. Estima-se que ocorra a morte de cerca de 603.000 pessoas em todo mundo vítimas do tabagismo passivo, desta, 160.840 são crianças (INCA, 2024).

Em humanos, foi demonstrado que a fumaça do tabaco, o tabagismo passivo, altera a microbiota e aumenta o risco de infecções por patógenos e/ou bactérias oportunistas (HUANG; SHI, 2019). A fumaça do tabaco contém muitos produtos extremamente tóxicos, incluindo cianeto e nicotina, e testes em modelos animais, incluindo camundongos, hamsters, ratos e embriões de pintinhos, podem identificar os efeitos dos componentes derivados da fumaça sobre a microbiota intestinal e outras patologias, bem como serem sentinelas do meio ambiente e da saúde pública (BAGAITKAR; DEMUTH; SCOTT, 2008; REIF, 2011).

Bactérias do gênero *Escherichia coli* colonizam e residem no trato gastrointestinal (GI) de animais e humanos junto com algumas centenas e milhares de microrganismos diferentes, como membro da microbiota intestinal. Algumas cepas possuem propriedades benéficas, como a secreção antibacteriana de colicinas e podem ainda fornecer moléculas antioxidantes, antiinflamatórias e antitumorais. Além disso, as bactérias *E. coli* podem secretar enzimas para converter sacarose e frutose em insulina e manitol, respectivamente, e são eficazes na prevenção do aparecimento de doenças metabólicas e multifatoriais, incluindo câncer (GATTUPALLI; GATTUPALLI, 2023; HASEBE *et al.*, 2022; MOREIRA DE GOUVEIA; BERNALIER-DONADILLE; JUBELIN, 2024). Contudo, as *E. coli* podem também ser responsáveis por infecções graves, sendo identificadas como um patógeno oportunista (GUILLAUME DALMASSO, 2015; MARTINSON *et al.*, 2019; MARTINSON; WALK, 2020).

Para remediar os efeitos da alteração da microbiota, alimentos funcionais, como os prebióticos [mananoligossacarídeo (MOS) – extraído da levedura *Sacharomyces cerevisiae* da cana-de-açúcar], têm demonstrado papel na manutenção da integridade da barreira epitelial e na modulação da imunidade inata por meio da secreção de substâncias pró e anti-inflamatórias, citocinas, mudanças na polarização e função dos macrófagos, recrutamento e migração de neutrófilos, diferenciação de células dendríticas e células T reguladoras (GUIMARÃES *et al.*, 2020; PUJARI; BANERJEE, 2021). Além disso, sabe-se que o MOS tem capacidade de ligar-se às fímbrias de bactérias patogênicas, tornando-as indisponíveis para adesão à mucosa epitelial impedindo-as de colonizar o trato gastrointestinal (TAM; LAND; CHENG, 2020).

Portanto, é de interesse da comunidade científica buscar alternativas viáveis que possam reduzir os impactos causados pelo tabagismo passivo na microbiota intestinal dos

seres humanos, especialmente as crianças. Sendo assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da suplementação oral de mananoligossacarídeo, um prebiótico oral, sobre a massa populacional da bactéria *Escherichia coli*, membro da microbiota intestinal, em ratos jovens, cronicamente expostos à fumaça do cigarro de tabaco, uma vez que os dados da literatura são escassos em relação a esse fator. Dessa forma, poder-se ia utilizar os mananoligossacarídeos para mitigar os efeitos da fumaça do cigarro sobre um dos componentes da microbiota intestinal, como a população de *Escherichia coli*.

2 METODOLOGIA

2.1 Ética animal

O estudo experimental foi conduzido de acordo com os princípios éticos em pesquisa animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal e aprovado pelo Comitê Institucional de Ética em Pesquisa Animal (nº 2.656), da Faculdade de Medicina da Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Presidente Prudente, São Paulo, Brasil.

2.2. Grupos experimentais e protocolo

Sessenta ratos machos jovens (*Rattus norvegicus*), com 23 dias de idade e peso corporal médio de 45 g, foram mantidos em gaiolas coletivas, sob as mesmas condições de iluminação (ciclo claro/escuro de 12/12 horas), temperatura controlada ($22 \pm 1,5^{\circ}\text{C}$) e água e dieta foram fornecidas ad libitum durante o período experimental de 187 dias: sete dias de período de adaptação ao manejo e dieta basal; e 180 dias para tratamentos. Os animais foram distribuídos aleatoriamente nos quatro grupos experimentais (n=15) por meio de uma tabela de sequências gerada pelo programa R (HARRELL, 2015), e alimentados com as seguintes dietas: Controle (C), dieta padrão (Supra Lab – Alisul ind. Alimentos Ltda, São Leopoldo, RS, Brazil); Prebiótico (Pré), dieta padrão suplementada com 10 g.Kg⁻¹ de prebiótico [Mananoligossacarídeo (MOS) - Immunowall® - ICC USA, Inc., Louisville, Kentucky – USA]; Controle do Tabagismo (CS); Prebiótico Tabagismo (PreS) foram alimentados com as dietas C e Pré e submetidos ao protocolo de exposição à fumaça de cigarro.

Para expor os animais à fumaça do cigarro, foi utilizada uma câmara de inalação construída com base nos experimentos de Cendon (CAMARGO FILHO *et al.*, 2011). Durante o período experimental, os cigarros comerciais foram acesos diariamente, queimados e a fumaça bombeada em dois períodos de meia hora, às 8h e às 18h, em uma câmara onde foram alojados os ratos dos grupos CS e PreS. As concentrações de alcatrão ($11,3 \pm 0,1$ mg/cigarro), nicotina ($0,9 \pm 0,1$ mg/cigarro) e CO ($10,7 \pm 0,2$ mg/cigarro) foram mantidas durante o período experimental de 180 dias (RENNE *et al.*, 2006).

Durante o período experimental foram monitorados efeitos adversos, como diarreia e morte, bem como a coleta de fezes de todos os animais em quatro períodos de amostragem (dias 0, 60, 120 e 180). As fezes foram coletadas de cada rato em capela de fluxo laminar, após previamente assepsia da região perianal com álcool 70%. Para induzir a defecação, os ratos foram levantados pela cauda. Pelo menos um pellet fresco (ate 100mg/rato) foi coletado com

pinça estéril de cada rato e imediatamente colocado em microtubo tipo Eppendorf, previamente esterilizado.

Pool de fezes foram feitos nos tubos para melhor representar a diversidade de cada grupo, sendo confeccionados 5 microtubos para cada grupo. As extrações foram realizadas após a coleta utilizando o QIAmp DNA Stool Mini Kit da QIAGEN, específico para extração de DNA fecal. A quantificação do DNA foi realizada em espectrofotômetro NanoDrop ND-1000, NanoDrop Technologies. A avaliação da microbiota intestinal foi realizada através de PCR em tempo real da região 16S RNA correspondente ao gene da *Escherichia coli*. A PCR em tempo real foi realizada utilizando o Microbial DNA qPCR Assays Kit (QIAGEN) de acordo com as recomendações do fabricante. A reação foi usada para medir o número de cópias únicas do gene 16S rRNA de *E. coli*.

2.3. Análise estatística

Ao comparar a média de dois grupos, o valor P foi calculado pelo teste Mann-Whitney Rank Sum para dados não paramétricos. Ao comparar a média de três ou mais grupos, o valor P foi calculado usando ANOVA unidirecional seguido de análise post-hoc de Student-Newman-Keuls. As análises foram realizadas no software Biostat 5.3, considerando 5% como nível de significância (AYRES, 2007).

3 RESULTADOS

No grupo de ratos expostos apenas à fumaça de cigarro, 15 dias após o início do período experimental, as fezes tornaram-se pastosas e com mau odor. Esse aspecto ocorreu durante os 180 dias do período experimental, mas não houve óbitos de animais ou quaisquer outros sinais clínicos. Nos grupos de animais suplementados com MOS as fezes continuaram com consistência normal e não observamos alterações clínicas nos animais.

Os resultados das análises estatísticas estão resumidos na (Tabela 1) com os valores do limiar do ciclo (CT). O valor de CT corresponde ao ponto em que o limiar cruza a linha de amplificação, permitindo a identificação do número mínimo de ciclos necessários para amplificação da sequência de interesse, sendo inversamente proporcional à quantidade de DNA alvo presente na amostra. Os resultados revelaram que no início do estudo (dia 0) todos os grupos de animais não diferiram estatisticamente ($P=0,4861$) entre si na população de *E. coli* nas fezes. Após 60 dias do início do estudo os animais alimentados com dieta controle ou suplementados com prebiótico e expostos ou não à fumaça de cigarro não diferiram entre si ($P=0,04498$) em relação à população intestinal de *E. coli* aos 120 e aos 180 dias, o grupo de ratos não suplementados com prebiótico e expostos à fumaça de cigarro (FC) diferiu estatisticamente ($P=0,0068$ e $P=0,0034$, respectivamente) dos demais grupos experimentais (C, Pré e PreS).

Tabela 1. Influência da suplementação prebiótica oral, mananoligossacarídeo (MOS), na população de *E. coli* em ratos expostos cronicamente à fumaça de cigarro (valores expressos em média ± desvio padrão).

Grupos	População de <i>E. coli</i>				valor de <i>p</i> * ²
	Período de estudo, dias				
	Dia 0	Dia 60	Dia 120	Dia 180	
Controle (C)	32.56 ± 1.23 ^{Aa}	33.72 ± 1.69 ^{Aa}	33.10 ± 1.73 ^{Aa}	34.86 ± 2.06 ^{Aa}	<i>P</i> =0.3545
Controle Fumante (CS)	31.52 ± 0.73 ^{Aa}	36.08 ± 3.15 ^{Aa}	42.41 ± 2.09 ^{Bb}	46.52 ± 2.39 ^{Bb}	<i>P</i> =0.0027
Prebióticos (Pre)	31.52 ± 1.47 ^{Aa}	32.81 ± 2.18 ^{Aa}	32.94 ± 1.35 ^{Aa}	32.72 ± 1.92 ^{Aa}	<i>P</i> =0.5230
Prebiótico Fumante (PreS)	32.56 ± 1.74 ^{Aa}	34.72 ± 1.85 ^{Aa}	34.90 ± 1.34 ^{Aa}	35.81 ± 1.41 ^{Aa}	<i>P</i> =0.0636
P*¹	P=0.4861	P=0.4498	P=0.0068	P=0.0034	

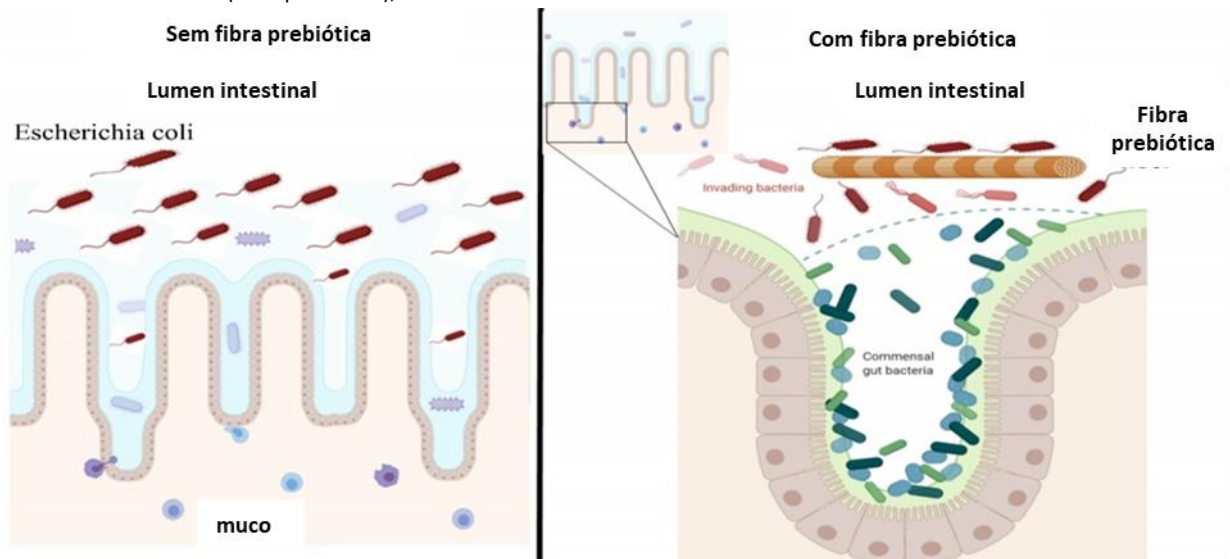
* O valor P foi calculado usando ANOVA unidirecional seguido de análise post-hoc de Student-Newman-Keuls.

¹Diferentes sobrescritos (A,B) denotam diferenças significativas entre os tratamentos no mesmo período de tempo (dias) (*P*<0,05). ²Diferentes sobrescritos (a,b) denotam diferenças significativas entre os tempos de coleta (dias) do mesmo tratamento (*P*<0,05). Fonte: Autores, 2024.

Os resultados não revelaram diferença significativa (*P* = 0,3545 e *P* = 0,5230, respectivamente) entre as concentrações médias de *E. coli* nas fezes durante o período experimental de 180 dias nos grupos controle e tratados com prebióticos. No grupo controle de tabagismo, os resultados revelaram um aumento significativo e tempo-dependente na população de *E. coli* (*P*=0,0027). O grupo de ratos tratados com prebiótico e expostos cronicamente à fumaça de cigarro não apresentou aumento significativo (*P*=0,0636) na população de *E. coli* durante o período experimental.

Assim, a diminuição estatisticamente significativa da população de *E. coli* na microbiota intestinal de ratos que receberam prebióticos e especialmente em ratos expostos à fumaça de cigarro reflete o efeito benéfico dos prebióticos inclusive na microbiota com interferência do cigarro, sugerindo que os danos causados pelos cigarros podem ser modulados através da suplementação do alimento funcional MOS (Figura 1).

Figura 1. Ação do prebiótico mananoligossacarídeo (MOS): os microrganismos patogênicos reconhecem e aderem ao MOS (fibra prebiótica), sendo adsorvidos do lúmen intestinal e eliminados nas fezes.



Fonte: Autores, 2024.

4. DISCUSSÃO

Muitas condições crônicas, incluindo o tabagismo, têm sido associadas a modificações na microbiota intestinal (OHUE-KITANO *et al.*, 2024). Na tentativa de remediar os efeitos dessas alterações, alimentos funcionais como os prebióticos têm demonstrado efeitos benéficos (KAZEMI *et al.*, 2019; PAIVA *et al.*, 2024; ROMBI *et al.*, 2021; RUFINO *et al.*, 2018). Nesse sentido, este trabalho avaliou o efeito da suplementação oral de prebiótico, mananoligossacarídeo (MOS), sobre a população de bactérias *E. coli* da microbiota de ratos expostos cronicamente à fumaça da queima de tabaco.

Os resultados revelados neste estudo confirmam que o equilíbrio da microbiota intestinal é altamente dinâmico, sendo perturbado por diversos fatores, como hábitos alimentares (suplementação de prebióticos, mananoligossacarídeos) e fatores ambientais (como fumaça de cigarro) (FOSTER; MCVEY NEUFELD, 2013; GUI; YANG; LI, 2021; HUANG; SHI, 2019).

A fumaça da queima de tabaco é uma mistura química complexa, incluindo nicotina, aldeídos, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs), nitrosaminas, metais pesados, etc., que pode ser inalada passivamente para os pulmões como partículas de aerossol ou livre em estado gasoso, principalmente por crianças. (GHIO *et al.*, 2008; GUI; YANG; LI, 2021; LEE *et al.*, 2018). Os resultados revelaram que houve um aumento tempo dependente na concentração da bactéria *E. coli*. no grupo de ratos expostos à fumaça de cigarro durante um período de 180 dias. Os elementos tóxicos da fumaça do cigarro induzem disbiose da microbiota gastrointestinal em humanos e animais, através de diferentes mecanismos, como atividade antimicrobiana, regulação do microambiente intestinal e alterações na composição da microbiota intestinal (BERKOWITZ *et al.*, 2019; KOBAYASHI; FUJIWARA, 2013). Os principais mecanismos pelos quais fumar afeta a microbiota intestinal incluem: aumento do pH do ambiente intestinal, indução de inflamação crônica de baixo grau ou doenças relacionadas à

inflamação, induzindo um aumento na abundância de bactérias pró-inflamatórias e promoção do estresse oxidativo (MCLEAN; JUN; KOZYRSKYJ, 2019).

Mais surpreendentemente, esta desregulação da microbiota afeta não só os órgãos que estão em contato direto com o fumo, como a cavidade oral, as cavidades contíguas e as vias respiratórias superiores e inferiores, mas, de fato, órgãos distantes como o intestino, o coração, vasos e trato geniturinário também podem ser afetados. Estas observações proporcionam uma visão mais profunda dos mecanismos envolvidos na patogênese das doenças relacionadas com o fumo, sugerindo um papel da disbiose, com um padrão recorrente de depleção de espécies bacterianas benéficas e uma proliferação de agentes patogênicos.

A suplementação de MOS na dieta do grupo de ratos não expostos à fumaça não resultou em diferença nos resultados em relação ao grupo controle, alimentado com dieta controle, durante o período experimental de 180 dias. No grupo de animais suplementados com MOS e expostos cronicamente à fumaça de cigarro, observamos redução significativa na concentração de *E. coli* nas fezes em relação à média no grupo de animais expostos apenas à fumaça de cigarro. Este efeito benéfico da suplementação de MOS deve ser devido à presença no prebiótico de receptores semelhantes aos expressos nas células do trato digestório dos hospedeiros e que permitem que a bactéria se ligue à superfície da fibra prebiótica, saturando seus receptores e assim não aderindo à mucosa intestinal e, portanto, excretado-a (ANAND; MANDAL; TOMAR, 2019; GONZÁLEZ-ORTIZ *et al.*, 2014; MOLIST *et al.*, 2014; TRAN; EVERAERT; BINDELLE, 2018; WEI *et al.*, 2020).

Foi previamente sugerida a existência de mimetismo molecular entre alguns sítios da fibra prebiótica e os receptores das células epiteliais intestinais do hospedeiro, aos quais os microrganismos patogênicos reconhecem e aderem. Assim, esses oligossacarídeos atuam adsorvendo os microrganismos patogênicos do epitélio intestinal. Essa interação é explicada pela presença de numerosos receptores nos patótipos patogênicos de *E. coli* que reconhecem além das células hospedeiras, também os oligossacarídeos (HUANG; SHI, 2019). Esta capacidade de adesão da *E. coli* é conferida principalmente pela adesina específica D-manose das fímbrias tipo 1 (FimH), localizada na ponta das fímbrias tipo 1 de cepas desta bactéria, que se liga especificamente aos epítomos terminais de glicanos com alto teor de manosilatos conjugados com uroplaquina 1a (UP1a), um receptor expresso especificamente na superfície do trato digestório ou nas células uroepiteliais (KATANI *et al.*, 2021; WHELAN; LUCEY; FINN, 2023).

O fato da redução da população de *E. coli* ser benéfica para o hospedeiro, baseia-se na existência de patótipos patogênicos de *E. coli*, tais como *E. coli* uropatogênica, *E. coli* enteropatogênica e *E. coli* enterohemorrágica, como sendo responsáveis por infecções intestinais e extraintestinais muito graves que expressam adesinas relacionadas à patogênese dessas bactérias e que não são expressas na superfície de *E. coli* comensais. Além disso, as fímbrias tipo 1 são um importante fator de virulência para infecções de dispositivos médicos, e a sua expressão está associada ao aumento da formação de biofilme e a infecções do trato urinário associadas à cateteres. Estudos demonstraram que a adesina do pilus tipo 1, FimH, medeia não apenas a adesão bacteriana, mas também a invasão de células epiteliais da bexiga humana. (BLUMER *et al.*, 2005; DONLAN, 2001; MARTINEZ, 2000; TRAN; EVERAERT; BINDELLE, 2018).

Além disso, em animais e humanos, os mananoligossacarídeos estimulam a estrutura da barreira epitelial e a funcionalidade da mucosa intestinal, além de aumentarem a área superficial das microvilosidades. Os MOS aumentam o número de células caliciformes no intestino delgado, estimulam o sistema imunológico do hospedeiro e a capacidade adsorvente contra toxinas e não é tóxico quando administrado por via oral, mesmo em concentrações muito grande (FAUSTINO *et al.*, 2023; FIRON; OFEK; SHARON, 1982; MADRIGAL-SANTILLÁN *et al.*, 2007; TORRECILLAS *et al.*, 2015).

Uma das grandes limitações desse estudo foi a falta de avaliação de outros membros da microbiota intestinal desses animais, bem como a realização de um estudo de metaboloma e metagenômica. Entretanto, nossos achados demonstraram que a fibra prebiótica MOS foi capaz de modular uma das principais espécies bacterianas que colonizam a microbiota intestinal, podendo ser um potencial modulador para condições que causam alterações na população microbiana intestinal, como a exposição passiva à fumaça do cigarro e que afeta principalmente os mais vulneráveis, como crianças e idosos.

Nossos dados podem ser aplicados a outros estudos que avaliem mais especificamente o papel dos prebióticos na modulação da composição da microbiota intestinal

5. CONCLUSÃO

O uso do prebiótico mananoligossacarídeo suplementado na dieta reduziu a concentração de *E. coli* nas fezes e ao mesmo tempo mitigou o efeito adverso, diarreia, em ratos jovens cronicamente expostos à fumaça de cigarro. A dose suplementada de prebiótico MOS não causou diarreia ou quaisquer outros efeitos clínicos adversos.

Mesmo que estejamos longe de utilizar os prebióticos como abordagem terapêutica sistemática e racional, podemos especular que a modulação da microbiota poderá ajudar na prevenção e tratamento de algumas doenças no futuro.

6. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos membros do grupo de pesquisa Alimentação, Nutrição e Saúde em Ciências Básicas, Experimentais e Clínicas – ANS, da Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Presidente Prudente, São Paulo, Brasil.

7. CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

8. REFERÊNCIAS

ANAND, S.; MANDAL, S.; TOMAR, S. K. Effect of Lactobacillus rhamnosus NCDC 298 with FOS in Combination on Viability and Toxin Production of Enterotoxigenic Escherichia coli. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, [s. l.], v.

11, n. 1, p. 23–29, 2019. Disponível em <https://link.springer.com/article/10.1007/s12602-017-9327-1>. Acesso em: 24 maio 2024.

AYRES, M. **Bioestat - versão 5.4: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Belém do Pará: Sociedade Civil Mamirauá, 2007. Disponível em: <https://mamiraua.org.br/downloads/programas/>.
BAGAITKAR, J.; DEMUTH, D. R.; SCOTT, D. A. Tobacco use increases susceptibility to bacterial infection. **Tobacco Induced Diseases**, [s. l.], v. 4, n. 1, p. 12, 2008. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19094204>. Acesso em: 11 ago. 2024.

BERKOWITZ, L. *et al.* Mucosal Exposure to Cigarette Components Induces Intestinal Inflammation and Alters Antimicrobial Response in Mice. **Frontiers in Immunology**, [s. l.], v. 10, 2019. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2019.02289/full>. Acesso em: 24 maio 2024.

BLUMER, C. *et al.* Regulation of type 1 fimbriae synthesis and biofilm formation by the transcriptional regulator LrhA of *Escherichia coli*. **Microbiology**, [s. l.], v. 151, n. 10, p. 3287–3298, 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16207912/>. Acesso em: 4 jun. 2024.

CAMARGO FILHO, J. C. S. *et al.* Efeitos do exercício aeróbio no músculo esquelético de ratos expostos à fumaça de cigarro. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, [s. l.], v. 17, n. 6, p. 416–419, 2011. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-86922011000600010&lng=pt&tlng=pt. Acesso em: 4 jun. 2024.

DONLAN, R. Biofilms and Device-Associated Infections. **Emerging Infectious Diseases**, [s. l.], v. 7, n. 2, p. 277–281, 2001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11294723/>. Acesso em: 4 jun. 2024.

FAUSTINO, M. *et al.* Effect of Mannan Oligosaccharides Extracts in Uropathogenic *Escherichia coli* Adhesion in Human Bladder Cells. **Pathogens**, [s. l.], v. 12, n. 7, p. 885, 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37513732/>. Acesso em: 27 maio 2024.

FIRON, N.; OFEK, I.; SHARON, N. Interaction of mannose-containing oligosaccharides with the fimbrial lectin of *Escherichia coli*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, [s. l.], v. 105, n. 4, p. 1426–1432, 1982. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0006291X82909470>. Acesso em: 27 maio 2024.

FOSTER, J. A.; MCVIE NEUFELD, K.-A. Gut–brain axis: how the microbiome influences anxiety and depression. **Trends in Neurosciences**, [s. l.], v. 36, n. 5, p. 305–312, 2013. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166223613000088>. Acesso em: 11 ago. 2024.

GATTUPALLI, N.; GATTUPALLI, A. Potential of *Escherichia coli* Probiotics for Improved Health and Disease Management. *In: ESCHERICHIA COLI - OLD AND NEW INSIGHTS*. [S. l.]: IntechOpen, 2023. v. 15, p. 642757. Disponível em: </pmc/articles/PMC8241911/>. Acesso em: 16 maio 2024.

GHIO, A. J. *et al.* Particulate Matter in Cigarette Smoke Alters Iron Homeostasis to Produce a Biological Effect. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, [s. l.], v. 178, n. 11, p. 1130–1138, 2008. Disponível em: <https://www.atsjournals.org/doi/abs/10.1164/rccm.200802-334oc>. Acesso em: 24 maio 2024.

GONZÁLEZ-ORTIZ, G. *et al.* Screening the ability of natural feed ingredients to interfere with the adherence of enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) K88 to the porcine intestinal mucus. **British Journal of Nutrition**, [s. l.], v. 111, n. 4, p. 633–642, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24047890>. Acesso em: 10 ago. 2024.

GUI, X.; YANG, Z.; LI, M. D. Effect of Cigarette Smoke on Gut Microbiota: State of Knowledge. **Frontiers in Physiology**, [s. l.], v. 12, p. 673341, 2021. Disponível em: </pmc/articles/PMC8245763/>. Acesso em: 24 maio 2024.
GUILLAUME DALMASSO, J. D. *Escherichia coli*: The Good, the Bad and the Ugly. **Clinical Microbiology: Open Access**, [s. l.], v. 04, n. 02, 2015. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/277923560_Escherichia_coli_The_Good_the_Bad_and_the_Ugly. Acesso em: 16 maio 2024.

GUIMARÃES, J. T. *et al.* Impact of probiotics and prebiotics on food texture. **Current Opinion in Food Science**, [s. l.], v. 33, p. 38–44, 2020. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2214799319301316>. Acesso em: 20 maio 2024.

HARRELL, F. E. **R Software**. Versão 3.3.2. Vienna: [s. n.], 2015. Disponível em: http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-19425-7_6. Acesso em: 11 ago. 2024.

HASEBE, K. *et al.* The influence of maternal unhealthy diet on maturation of offspring gut microbiota in rat. **Animal Microbiome**, [s. l.], v. 4, n. 1, p. 31, 2022. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/360556020_The_influence_of_maternal_unhealthy_diet_on_maturation_of_offspring_gut_microbiota_in_rat. Acesso em: 16 junho 2024.

HUANG, C.; SHI, G. Smoking and microbiome in oral, airway, gut and some systemic diseases. **Journal of Translational Medicine**, [s. l.], v. 17, n. 1, p. 225, 2019. Disponível em: </pmc/articles/PMC6632217/>. Acesso em: 16 maio 2024.

INCA, I. N. de C. **Estudo alerta para custos econômicos e mortes de crianças provocadas pelo tabagismo** —. [S. l.], 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/noticias/2024/estudo-alerta-para-custos-economicos-e-mortes-de-criancas-provocadas-pelo-tabagismo>. Acesso em: 25 set. 2024.

KATANI, R. *et al.* Strain and host-cell dependent role of type-1 fimbriae in the adherence phenotype of super-shed *Escherichia coli* O157:H7. **International Journal of Medical Microbiology**, [s. l.], v. 311, n. 4, p. 151511, 2021. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1438422121000400>. Acesso em: 27 maio 2024.

KAZEMI, A. *et al.* Effect of probiotic and prebiotic vs placebo on psychological outcomes in patients with major depressive disorder: A randomized clinical trial. **Clinical Nutrition**, [s. l.], v. 38, n. 2, p. 522–528, 2019. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0261561418301614>. Acesso em: 11 ago. 2024.

KOBAYASHI, T.; FUJIWARA, K. Identification of Heavy Smokers through Their Intestinal Microbiota by Data Mining Analysis. **Bioscience of Microbiota, Food and Health**, [s. l.], v. 32, n. 2, p. 77–80, 2013. Disponível em: https://www.jstage.jst.go.jp/article/bmfh/32/2/32_77/_article/-char/ja/. Acesso em: 24 maio 2024.

LEE, S. H. *et al.* Association between Cigarette Smoking Status and Composition of Gut Microbiota: Population-Based Cross-Sectional Study. **Journal of Clinical Medicine**, [s. l.], v. 7, n. 9, p. 282, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30223529/>. Acesso em: 26 mar. 2024.

MADRIGAL-SANTILLÁN, E. *et al.* Inhibitory Effect of Mannan on the Toxicity Produced in Mice Fed Aflatoxin B1 Contaminated Corn. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, [s. l.], v. 53, n. 3, p. 466–472, 2007. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00244-006-0074-7>. Acesso em: 27 maio 2024.

MARTINEZ, J. J. Type 1 pilus-mediated bacterial invasion of bladder epithelial cells. **The EMBO Journal**, [s. l.], v. 19, n. 12, p. 2803–2812, 2000. Disponível em: <https://www.emboexpress.org/doi/10.1093/emboj/19.12.2803>. Acesso em: 4 jun. 2024.

MARTINSON, J. N. V. *et al.* Rethinking gut microbiome residency and the Enterobacteriaceae in healthy human adults. **The ISME Journal**, [s. l.], v. 13, n. 9, p. 2306–2318, 2019. Disponível em: <https://academic.oup.com/ismej/article/13/9/2306-2318/7475246>. Acesso em: 16 maio 2024.

MARTINSON, J. N. V.; WALK, S. T. *Escherichia coli* Residency in the Gut of Healthy Human Adults. **EcoSal Plus**, [s. l.], v. 9, n. 1, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32978935/>. Acesso em: 16 maio 2024.

MCLEAN, C.; JUN, S.; KOZYRSKYJ, A. Impact of maternal smoking on the infant gut microbiota and its association with child overweight: a scoping review. **World Journal of Pediatrics**, [s. l.], v. 15, n. 4, p. 341–349, 2019. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12519-019-00278-8>. Acesso em: 27 maio 2024.

MOLIST, F. *et al.* Relevance of functional properties of dietary fibre in diets for weanling pigs. **Animal Feed Science and Technology**, [s. l.], v. 189, p. 1–10, 2014. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0377840114000133>. Acesso em: 15 ago. 2024.

MOREIRA DE GOUVEIA, M. I.; BERNALIER-DONADILLE, A.; JUBELIN, G. Enterobacteriaceae in the Human Gut: Dynamics and Ecological Roles in Health and Disease. **Biology**, [s. l.], v. 13, n. 3, p. 142, 2024. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-7737/13/3/142/htm>. Acesso em: 16 maio 2024.

- OHUE-KITANO, R. *et al.* Gut microbial metabolites reveal diet-dependent metabolic changes induced by nicotine administration. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 1056, 2024. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-024-51528-3>. Acesso em: 24 maio 2024.
- PAIVA, I. H. R. *et al.* Prebiotics modulate the microbiota–gut–brain axis and ameliorate anxiety and depression-like behavior in HFD-fed mice. **Food Research International**, [s. l.], v. 182, p. 114153, 2024. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38519181/>. Acesso em: 13 maio 2024.
- PUJARI, R.; BANERJEE, G. Impact of prebiotics on immune response: from the bench to the clinic. **Immunology & Cell Biology**, [s. l.], v. 99, n. 3, p. 255–273, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32996638/>. Acesso em: 10 maio 2024.
- REIF, J. S. Animal Sentinels for Environmental and Public Health. **Public Health Reports**[®], [s. l.], v. 126, n. 1_suppl, p. 50–57, 2011. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/00333549111260S108>. Acesso em: 16 maio 2024.
- RENNE, R. A. *et al.* Effects of Flavoring and Casing Ingredients on the Toxicity of Mainstream Cigarette Smoke in Rats. **Inhalation Toxicology**, [s. l.], v. 18, n. 9, p. 685–706, 2006. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16864559>. Acesso em: 8 jan. 2024.
- ROMBI, A. V. *et al.* Probiotics, prebiotics and symbiotics attenuate chronic effects of passive smoking on physiological and biochemical parameters in rats: A randomized and controlled study. **Research, Society and Development**, [s. l.], v. 10, n. 8, p. e26510817203, 2021. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/17203>. Acesso em: 11 ago. 2024.
- RUFINO, M. N. *et al.* Systematic review and meta-analysis of preclinical trials demonstrate robust beneficial effects of prebiotics in induced inflammatory bowel disease. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, [s. l.], v. 62, p. 1–8, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2018.05.016>. Acesso em: 19 jul. 2024.
- TAM, C. C.; LAND, K. M.; CHENG, L. W. Prebiotics, Probiotics, and Bacterial Infections. In: PREBIOTICS AND PROBIOTICS - POTENTIAL BENEFITS IN NUTRITION AND HEALTH. [s. l.]: IntechOpen, 2020. *E-book*. Disponível em: <https://www.intechopen.com/chapters/68920>. Acesso em: 16 maio 2024.
- TORRECILLAS, S. *et al.* Effects of dietary concentrated mannan oligosaccharides supplementation on growth, gut mucosal immune system and liver lipid metabolism of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. **Fish & Shellfish Immunology**, [s. l.], v. 42, n. 2, p. 508–516, 2015. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1050464814004598>. Acesso em: 27 maio 2024.
- TRAN, T. H. T.; EVERAERT, N.; BINDELLE, J. Review on the effects of potential prebiotics on controlling intestinal enteropathogens Salmonella and Escherichia coli in pig production. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, [s. l.], v. 102, n. 1, p. 17–32, 2018. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28028851>. Acesso em: 14 ago. 2024.
- WEI, Z. *et al.* Mannose: Good player and assister in pharmacotherapy. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [s. l.], v. 129, p. 110420, 2020. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0753332220306132>. Acesso em: 27 maio 2024.
- WHELAN, S.; LUCEY, B.; FINN, K. Uropathogenic Escherichia coli (UPEC)-Associated Urinary Tract Infections: The Molecular Basis for Challenges to Effective Treatment. **Microorganisms**, [s. l.], v. 11, n. 9, p. 2169, 2023. Disponível em: <https://pmc/articles/PMC10537683/>. Acesso em: 27 maio 2024.