

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ANANDA PORTELLA FÉLIX

**AVALIAÇÃO DE ADITIVOS SOBRE AS CARACTERÍSTICAS DAS FEZES DE  
CÃES**

CURITIBA

2009

ANANDA PORTELLA FÉLIX

**AVALIAÇÃO DE ADITIVOS SOBRE AS CARACTERÍSTICAS DAS FEZES DE  
CÃES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Área de Concentração em Produção Animal, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Orientador: Prof. Dr. Alex Maiorka

CURITIBA

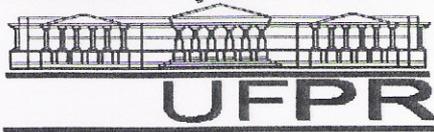
2009

Félix, Ananda Portella  
Avaliação de aditivos sobre as características das fezes de  
cães / Ananda Portella Félix.— Curitiba, 2009.  
71 f.  
Orientador: Alex Maiorka.  
Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Setor de  
Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

1. Rações - Aditivos. 2. Cão – Alimentação e rações. 3.  
Nutrição animal. 4. Probióticos. I. Título.

CDU 636.085.11  
CDD 636.0852

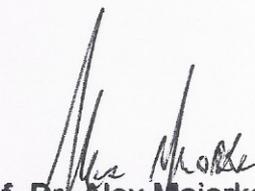
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

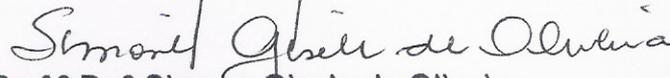


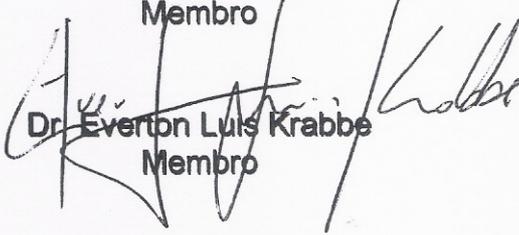
PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada "AVALIAÇÃO DE ADITIVOS SOBRE AS CARACTERÍSTICAS DAS FEZES DE CÃES" apresentada pela Mestranda Ananda Portella Félix, declara ante os méritos demonstrados pela Candidata, e de acordo com o Art. 78 da Resolução nº 62/03-CEPE/UFPR, que considerou a candidata APTA para receber o Título de Mestre em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Produção Animal.

Curitiba, 16 de fevereiro de 2009

  
Prof. Dr. Alex Maiorka  
Presidente/Orientador

  
Prof.ª Dr.ª Simone Gisele de Oliveira  
Membro

  
Dr. Everton Luis Krabbe  
Membro

*Dedico:*

*Aos incríveis pais, Célia e Fernando.*

*À toda família de Salesópolis.*

*Aos amados amigos cães.*

## **AGRADECIMENTOS**

*Aos pais amados, Célia e Fernando, por todo amor e apoio no meu vôo em busca dos meus sonhos!*

*Aos afilhados queridos, Mariana e Giovane, madrinhas Adriana e Cida, Avós Margarida, Nena e Sírío e demais familiares, que sempre me apóiam e me recebem com alegria em Salesópolis!*

*À linda família Maiorka: Prof.<sup>o</sup> Alex, Simone e Isabela por terem me acolhido em Curitiba e iluminado minha vida com muitas oportunidades, ensinamentos e por terem acreditado em mim.*

*À grande família Brito: Cleusa, Jorge, Rafael e Felipe, grande bondade, grande alegria, minha grande gratidão!*

*Aos amigos Carol Zanatta, Fabiane, Tabyta, Marina, Nancy, Rogério, Cristina Sá-Fortes e Marcelino Bortolo pelo companheirismo e grande ajuda e aos estagiários do LENUCAN.*

*Aos amigos do Laboratório de Nutrição Animal: Aldo, Hair, Marcelo e Ruy por seus “narizes de aço” e auxílio nas análises laboratoriais. E ao Sr. Ismael da fábrica de ração da UFPR.*

*Aos mestres e amigos da UNESP-Ilha Solteira, por alicerçar minha formação em Zootecnia.*

*Ao CNPq, Corn Products do Brasil, Grasp, Kowalski e Uniquímica pelo auxílio nas pesquisas.*

*À turminha mais especial do mundo: Digby, Chiquinho, Joãozinho, Júlia, Chorão, Ruth, Raquel, Fofinha, Crica, Florzinha, Hanna, Tati, Melzinha, Grace, Vampi, Estrela, Romeu, Belinho, Josézinho, Rufi, Bob, Tadeu, Nandinha (Comprida), Lua, Narizinho, Fiona, Lady, Chay, Chiquinha, Duda, Feliz, Dumbo, Taz, Pongo, Snoop, Bidu, Zorro e Teddy. Meus amores, minhas alegrias, meus grandes amigos!*

*À Deus e São Francisco de Assis por iluminar meu caminho e me inspirar a fazer o que eu mais amo no mundo!*

**Muito obrigada a todos por fazerem parte da minha vida!**

*Ananda Portella Félix*

## Oração da Paz

Senhor! Fazei de mim um instrumento da vossa paz.

Onde houver ódio, que eu leve o amor.

Onde houver ofensa, que eu leve o perdão.

Onde houver discórdia, que eu leve a união.

Onde houver dúvidas, que eu leve a fé.

Onde houver erro, que eu leve a verdade.

Onde houver desespero, que eu leve a esperança.

Onde houver tristeza, que eu leve a alegria.

Onde houver trevas, que eu leve a luz.

Ó Mestre, fazei que eu procure mais:

consolar, que ser consolado;

compreender, que ser compreendido;

amar, que ser amado.

Pois é dando que se recebe.

É perdoando que se é perdoado.

E é morrendo que se vive para a vida eterna.

São Francisco de Assis

## SUMÁRIO

**LISTA DE FIGURAS**

**LISTA DE TABELAS**

**LISTA DE ABREVIACÕES, SIGLAS E SÍMBOLOS**

<b>RESUMO</b> .....	1
<b>ABSTRACT</b> .....	2
<b>CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES GERAIS</b> .....	3
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	3
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	5
2.1 Características do trato digestório dos cães.....	5
2.2 Características das fezes.....	12
2.3 Probióticos.....	14
2.3.1 Mecanismos de ação dos probióticos.....	15
2.3.1.1 Exclusão competitiva.....	15
2.3.1.2 Produção de substâncias antimicrobianas.....	16
2.3.1.3 Estímulo ao sistema imune.....	17
2.3.2 Digestibilidade.....	17
2.3.3 Características das fezes.....	18
2.4 Prebióticos.....	19
2.4.1 Frutoligossacarídeos (FOS).....	20
2.4.2 Mananoligossacarídeos (MOS).....	24
2.5 Aluminossilicatos.....	28
<b>3. CONCLUSÃO</b> .....	29
<b>4. REFERÊNCIAS</b> .....	30

<b>CAPÍTULO II – DIGESTIBILIDADE E CARACTERÍSTICAS DAS FEZES DE CÃES SUPLEMENTADOS COM <i>Bacillus subtilis</i> NA DIETA.....</b>	<b>36</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>36</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>36</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>37</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>38</b>
2.1 Animais e local do experimento .....	38
2.2 Dietas experimentais.....	38
2.3 Delineamento experimental.....	39
2.4 Colheita de dados.....	39
2.5 Características das fezes e análises laboratoriais.....	39
2.6 Análise estatística.....	40
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>41</b>
<b>4. CONCLUSÃO.....</b>	<b>44</b>
<b>5. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>45</b>

<b>CAPÍTULO III - SUPLEMENTAÇÃO DE FRUTOLIGOSSACARÍDEOS (FOS) SOBRE AS CARACTERÍSTICAS DAS FEZES DE CÃES.....</b>	<b>47</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>47</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>47</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>48</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>49</b>
2.1 Animais e local do experimento .....	49
2.2 Dietas e delineamento experimental.....	49
2.3 Análises.....	50
2.4 Análise estatística.....	51
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>51</b>
<b>4. CONCLUSÃO.....</b>	<b>54</b>
<b>5. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>55</b>

<b>CAPÍTULO IV - SUPLEMENTAÇÃO DE MANANOLIGOSSACARÍDEOS (MOS) E ALUMINOSILICATO SOBRE AS CARACTERÍSTICAS DAS FEZES DE CÃES.....</b>	<b>57</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>57</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>57</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>58</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>59</b>
2.1 – Animais e local do experimento .....	59
2.2 – Dietas e delineamento experimental.....	59
2.3 Análises.....	60
2.4 Análise estatística.....	61
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>62</b>
<b>4. CONCLUSÃO.....</b>	<b>63</b>
<b>5. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>64</b>
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>66</b>

## LISTA DE FIGURAS

### **CAPÍTULO I - CONSIDERAÇÕES GERAIS**

FIGURA 1 - Trato gastrintestinal do cão.....	5
FIGURA 2 - Estrutura molecular dos frutoligossacarídeos.....	20

## LISTA DE TABELAS

### **CAPÍTULO I - CONSIDERAÇÕES GERAIS**

TABELA 1 - Composição da microbiota do trato digestório de cães e o número de microorganismos por grama de matéria seca de conteúdo de digesta.....	8
TABELA 2 - Efeitos benéficos (+) das bactérias intestinais ao hospedeiro.....	9
TABELA 3 - Efeitos adversos (+) das bactérias intestinais ao hospedeiro.....	10
TABELA 4 - Concentração de frutoligossacarídeos (FOS) ( $\text{mg.g}^{-1}$ matéria seca) em alguns ingredientes utilizados em alimentos para cães	21

### **CAPÍTULO II - DIGESTIBILIDADE E CARACTERÍSTICAS DAS FEZES DE CÃES SUPLEMENTADOS COM *Bacillus subtilis* NA DIETA**

TABELA 1 - Composição química analisada das dietas experimentais.....	38
TABELA 2 - Coeficientes de digestibilidade aparente e metabolizabilidade da energia de uma dieta controle e com probiótico em cães (média $\pm$ erro padrão).....	41
TABELA 3 - Características das fezes de cães alimentados com uma dieta controle e com probiótico (média $\pm$ erro padrão).....	42

### **CAPÍTULO III - SUPLEMENTAÇÃO DE FRUTOLIGOSSACARÍDEOS (FOS) SOBRE AS CARACTERÍSTICAS DAS FEZES DE CÃES**

TABELA 1 - Ingredientes e composição química analisada da dieta experimental.....	50
TABELA 2 - Características das fezes de cães alimentados com diferentes níveis de frutoligossacarídeos (FOS) na dieta (média $\pm$ erro padrão).....	52

### **CAPÍTULO IV - SUPLEMENTAÇÃO DE MANANOLIGOSSACARÍDEOS (MOS) E ALUMINOSILICATO SOBRE AS CARACTERÍSTICAS DAS FEZES DE CÃES**

TABELA 1 - Ingredientes e composição química analisada da dieta experimental.....	60
TABELA 2 - Características das fezes de cães suplementados com aluminossilicato ou mananoligossacarídeos (MOS) na dieta (média $\pm$ erro padrão).....	62

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AGCC – ácidos graxos de cadeia curta  
Ca – cálcio  
CDA – coeficiente de digestibilidade aparente  
CV – coeficiente de variação  
EB – energia bruta  
EEA – extrato etéreo hidrólise ácida  
EM – energia metabolizável  
ENN – extrativos não nitrogenados  
FB – fibra bruta  
FOS – frutoligossacarídeos  
GOS – galactoligossacarídeos  
GP – grau de polimerização  
Ig – imunoglobulinas  
MM – matéria mineral  
MO – matéria orgânica  
MOS - mananoligossacarídeos  
MS – matéria seca  
Na - sódio  
NEM – necessidade de energia metabolizável  
P – fósforo  
PC – peso corporal  
PB – proteína bruta  
TGI – trato gastrintestinal  
UFC – unidades formadoras de colônia  
XOS – xiloligossacarídeos

## AVALIAÇÃO DE ADITIVOS SOBRE AS CARACTERÍSTICAS DAS FEZES DE CÃES

### RESUMO

Assim como a avaliação da digestibilidade do alimento, a qualidade das fezes produzidas também é importante aspecto a ser considerado na nutrição de cães. Os probióticos e prebióticos favorecem o desenvolvimento de microrganismos benéficos ao organismo, inibindo os patogênicos e os aluminossilicatos adsorvem água, evitando que esta permaneça livre nas fezes. Tendo em vista o potencial efeito benéfico desses aditivos sobre as fezes e a saúde intestinal dos cães, foram conduzidos três experimentos com o objetivo de avaliar as características das fezes de cães suplementados com probiótico, frutoligossacarídeos (FOS), mananoligossacarídeos (MOS) e aluminossilicato na dieta. O primeiro avaliou a adição de 0,01% *Bacillus subtilis* (C-3102) na dieta contra uma dieta controle. Foram utilizados 12 cães jovens distribuídos ao acaso, com seis repetições por tratamento para avaliação da digestibilidade (25 dias de adaptação as dietas e cinco dias de colheita total de fezes) e 30 repetições no tempo para avaliação das características das fezes: matéria seca, escore (1: fezes moles, sem foram a 5: fezes secas e duras), pH, amônia e produção de fezes. Não houve diferença na digestibilidade, entretanto, os cães suplementados com probiótico apresentaram fezes mais consistentes e com menor teor de amônia. No segundo experimento foram utilizados 15 cães adultos, no qual foram avaliados três níveis de inclusão de FOS (0,000%; 0,047% e 0,095%) na dieta e o terceiro utilizando 15 cães adultos, no qual foram avaliadas uma dieta controle; dieta com 0,10% de MOS e dieta com 0,25% de aluminossilicato. Em ambos experimentos os cães foram distribuídos ao acaso, em parcela subdividida no tempo, com cinco dias de colheita de dados e cinco cães recebendo cada tratamento, totalizando 25 observações por tratamento (25 dias de adaptação as dietas e mesmas análises do experimento 1). A suplementação de 0,047% e 0,095% de FOS resultou em fezes com menor umidade e maior escore em relação à dieta controle. Os cães suplementados com aluminossilicato apresentaram maior teor de matéria seca e maior escore fecal e os suplementados com MOS valores intermediários, em relação à dieta controle. O teor de amônia foi menor nas fezes dos cães suplementados com aluminossilicato e MOS. A suplementação de *Bacillus subtilis* (C-3102), FOS, MOS ou aluminossilicato melhoram as características das fezes dos cães.

Palavras-chave: Adsorventes. Argila. Consistência das fezes. Oligossacarídeos. Prebiótico. Probiótico. Saúde intestinal.

## EVALUATION OF ADDITIVES ON FECAL CHARACTERISTICS OF DOGS

### ABSTRACT

As the evaluation of food digestibility, fecal quality is an important factor to be considered in dog nutrition. The probiotics and prebiotics promote the growth of beneficial microorganism, inhibiting the pathogens. The aluminosilicates adsorb water, avoiding that it remains free in feces. Due to the potential beneficial effect of this additives on fecal quality and gut health, they were conducted three trials, aimed at evaluate fecal characteristics of dogs fed diets with probiotic, fructooligosaccharides (FOS), mannanoligosaccharides (MOS) or aluminosilicate. The first one evaluated the addition of 0.01% *Bacillus subtilis* (C-3102) on diet versus a control diet. They were utilized 12 young dogs assigned in a completely randomized design (25 days adaptation period and five days of total feces collection) and 30 replications in time to evaluate fecal characteristics: dry matter, score (1: liquid and no formed feces to 5: dry and hard feces), pH, ammonia and fecal output. It was no difference on digestibility, however, dogs fed probiotic diet presented feces more consistency and less ammonia concentration. On the second experiment they were utilized 15 adult dogs, which were evaluated three levels of FOS (0.00%, 0.047% and 0.095%) on diet and the third one with 15 adult dogs, which were evaluated a control diet, diet with 0.10% MOS and diet with 0.25% aluminosilicate. In both experiments dogs were assigned in a completely randomized design, in split-plot, with five days of sampling collection and five dogs feeding each treatment, in a total of 25 observations per treatment (25 days adaptation period to the diets and the same analyses of experiment 1). The supplementation of 0.047% and 0.095% FOS in diet resulted in feces with lower moisture and higher score, than the control diet. Dogs fed aluminosilicate presented feces with higher dry matter content and higher fecal score, while fed MOS resulted in medium dry matter content and fecal score, comparing with control diet. The concentration of ammonia was lower in feces of dogs fed diets with aluminosilicate or MOS, than in feces of dogs fed the control diet. The supplementation of *Bacillus subtilis* (C-3102), FOS, MOS or aluminosilicate improved fecal characteristics of dogs.

Keywords: Adsorbents. Clay. Fecal consistency. Gut health. Oligosaccharides. Prebiotic. Probiotic.

## CAPÍTULO I – CONSIDERAÇÕES GERAIS

### 1. INTRODUÇÃO

Os cães desempenham importante papel na vida dos seres-humanos, sendo cada vez mais considerados membros da família. Em função disso, o mercado de alimentos para cães visa produzir alimentos balanceados, que além de nutrir, incrementem a saúde e o bem estar animal.

Assim como a avaliação da digestibilidade do alimento, a qualidade das fezes produzidas também é importante aspecto a ser considerado na nutrição de cães. Os proprietários dos animais buscam alimentos que proporcionem fezes mais consistentes e de menor odor, facilitando a higienização do ambiente nos quais os cães são criados. Além disso, o aspecto das fezes pode ser indicativo da saúde intestinal do animal. Estudos têm relatado que os compostos putrefativos responsáveis pelo mau odor das fezes, como amônia, aminas biogênicas, fenóis e indóis, podem promover a carcinogênese do cólon e colite (LIN e VISEK, 1991; HUSSEIN *et al.*, 1999; SWANSON *et al.*, 2002a).

A produção de fezes mais consistentes e secas pelos cães pode ser resultante da ingestão de alimentos de alta digestibilidade, produzidos com ingredientes de boa qualidade, com moderado teor de fibras e bem processados. Entretanto, em formulações com alta inclusão de farelos vegetais, como em alimentos econômicos, e/ou alimentos para cães de raças grandes, os quais geralmente apresentam fezes mais úmidas, pode-se empregar aditivos, como probióticos, prebióticos e argilas.

Os probióticos (*pro*: a favor e *bio*: vida) podem ser definidos como colônias de microrganismos vivos que quando suplementados na dieta beneficiam o hospedeiro por modular a microbiota intestinal a favor de microrganismos não patogênicos. Já, os prebióticos são substratos para a microbiota intestinal benéfica, favorecendo o seu desenvolvimento em detrimento de microrganismos patogênicos.

Dentre os prebióticos utilizados em alimentos para cães, encontram-se os frutoligossacarídeos (FOS) e os mananoligossacarídeos (MOS). Os FOS são oligossacarídeos naturais que contêm uma cadeia de frutose com ligações  $\beta$  (2-1) e uma unidade de glicose terminal, sendo fermentáveis pela microbiota não patogênica do intestino grosso, favorecendo seu desenvolvimento (HUSSEIN *et al.*,

1998). Já, os MOS são oligossacarídeos derivados das paredes de leveduras, que são moderadamente fermentáveis no intestino e se ligam aos sítios de aderência da mucosa intestinal ou aos microrganismos patogênicos, impedindo que estes se estabeleçam no trato digestório (VICKERS *et al.*, 2001).

As argilas são sais minerais insolúveis e pertencem à família dos silicatos (silicatos de alumínio) (MADKOUR *et al.*, 1993). As argilas mais utilizadas são zeolitas, bentonita, esmectita e sepiolita. A capacidade adsorvente destas substâncias é devida à sua molécula aberta que possui o cátion sódio ( $\text{Na}^+$ ) predominante. O  $\text{Na}^+$  fica solvatado às moléculas de água, aumentando várias vezes o seu volume inicial, o que leva à formação de um colóide, melhorando a consistência das fezes (FERREIRA *et al.*, 2005).

Tendo em vista o potencial efeito benéfico dos aditivos supracitados sobre as fezes e saúde intestinal dos cães, o presente estudo teve como objetivo avaliar as características das fezes de cães suplementados com *Bacillus subtilis*, FOS, MOS e aluminossilicato na dieta.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Características do trato digestório dos cães

O conhecimento do sistema digestório do animal a ser estudado apresenta grande importância, devido à estreita relação entre trato gastrintestinal (TGI) e utilização dos alimentos e nutrientes (NUNES, 1995), os quais são essenciais aos processos metabólicos. O TGI de cada espécie é adequado ao seu hábito alimentar e dessa forma os animais são classificados em: herbívoros (ruminantes e não-ruminantes), onívoros e carnívoros (BORGES, 1998).

Os cães são basicamente carnívoros, apresentando TGI curto e relativamente simples (Figura 1) e dentes caninos muito desenvolvidos, adaptados a este tipo de alimentação. Sua digestão é principalmente enzimática, com baixa fermentação microbiana, sendo a ação enzimática adaptada principalmente para digestão de proteínas e lipídeos. Comparados com numerosas espécies herbívoras ruminantes e não-ruminantes, que mastigam completamente o seu alimento, os cães usualmente deglutem grandes porções da refeição com pouca ou nenhuma mastigação. Dessa forma, o TGI do cão lhe permite devorar alimentos abundantes de forma intermitente.

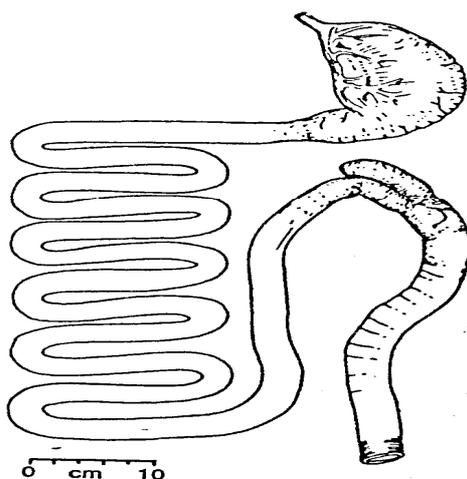


Figura 1 – Trato gastrintestinal do cão (POND *et al.*, 1995).

Cães medindo 0,75 m de comprimento apresentam intestino com aproximadamente, 4,5 m de comprimento, sendo 3,9 m de intestino delgado (54 cm<sup>2</sup> de jejuno e 38 cm<sup>2</sup> de íleo) e 0,6 m de intestino grosso. Cães com peso corporal de 20 kg absorvem, aproximadamente, 3 L de fluído diariamente. Deste volume, 50% é absorvido pelo jejuno, 40% pelo íleo e 10% pelo intestino grosso (NRC, 2006).

O intestino grosso dos cães compreende o ceco, cólon, reto e anus. É responsável pela reabsorção de água e eletrólitos do quimo proveniente do intestino delgado e atua como ambiente para fermentação microbiana dos nutrientes não digeridos e não absorvidos da dieta. O cólon corresponde a maior fração do intestino grosso e é constituído por três seções: cólon ascendente, transverso e descendente (SIMPSON, 1998).

O intestino grosso não apresenta vilosidades. As túnicas apresentam glândulas e células de Lieberkuhn, sendo que as camadas mais profundas possuem células de muco e as próximas à superfície células de muco e epiteliais. O muco é alcalino (produzido a partir do bicarbonato) e sua função é proteger a mucosa intestinal de injúrias mecânicas e químicas (principalmente de ácidos produzidos por bactérias) e lubrificar a parede do intestino para facilitar a passagem das fezes (NRC, 2006).

A reabsorção de água e eletrólitos ocorre primariamente no cólon ascendente e transversal associado com contrações segmentadas e movimentos peristálticos retrógrados. Após adequada reabsorção, os resíduos fecais são movidos por peristaltismo até o reto, onde o bolo fecal será armazenado antes da defecação. O tempo de residência das fezes no intestino de cães é de aproximadamente 12 horas (SIMPSON, 1998).

Em média 8% da digestão da dieta ocorre no intestino grosso dos cães, dependendo da composição do alimento ingerido, como reportado por MEYER e SCHUNEMANN (1989). Os autores avaliaram 25 dietas para cães fistulados no íleo terminal, e verificaram que em dietas altamente digestíveis, a digestão no intestino grosso correspondia de 1 a 4% da digestibilidade total, enquanto dietas contendo legumes (como batata crua) e lactato, a digestibilidade no intestino grosso correspondia de 12 a 24% do total. Isto se deve ao fato da chegada de compostos não digestíveis pelas enzimas do trato digestório superior do organismo no intestino grosso, como as fibras, as quais são fermentadas pela microbiota do cólon, principalmente.

O intestino possui ampla população de bactérias (34 gêneros, incluindo 129 espécies) (BALISH *et al.*, 1977), como apresentado na Tabela 1. Em função das várias porções do TGI possuírem funções e características morfológicas específicas é esperado que os microorganismos presentes sejam também específicos em cada local de colonização, assim cada espécie microbiana colonizará segmentos do TGI nos quais estará mais bem adaptada (SIMON e GORBACH, 1984). Além das espécies bacterianas que estão sempre presentes no TGI e fazem o papel mais importante da população residente normal, existem ainda espécies que estão em menor número, como contaminantes e transientes oriundos da boca e da dieta.

De acordo com STROMBECK e GUILFORD (1991) a cavidade oral é considerada a maior fonte de bactérias colonizadoras do TGI. O número de bactérias na boca é de 10<sup>7</sup> unidades formadoras de colônia por grama (UFC.g<sup>-1</sup>) de secreções residuais. Já o estômago é praticamente livre de bactérias, possuindo apenas de 10<sup>1</sup> a 10<sup>2</sup> UFC.g<sup>-1</sup> de secreções residuais, sendo que estes números aumentam após as refeições e abaixam significativamente após a secreção de ácido clorídrico.

O intestino delgado dos cães apresenta microbiota relativamente simples. O número de UFC.mL<sup>-1</sup> de fluido intestinal raramente excede 10<sup>4</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>, com exceção do íleo distal, o qual apresenta, aproximadamente 10<sup>6</sup> UFC.mL<sup>-1</sup>. No duodeno e jejuno são encontrados principalmente *Streptococcus* spp. e *Lactobacillus* spp.. No íleo predominam *Escherichia coli* e bactérias anaeróbias. A relativa baixa concentração de microorganismos encontrada no intestino delgado deve-se principalmente à influência da acidez gástrica e dos sais biliares, assim como da motilidade intestinal, a qual dificulta a aderência dos microorganismos no epitélio. Uma importante função da microbiota do intestino delgado é prevenir a colonização de microorganismos patogênicos por meio da competição por nutrientes, controle da concentração de oxigênio e produção de substâncias antibióticas (NRC, 2006).

Tabela 1 - Composição da microbiota do trato digestório de cães e o número de microorganismos por grama de matéria seca de conteúdo de digesta

Família	Gênero	Clas	Bo	Est.	I. D.	I. G.
Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas</i> *	AE	-			+
Enterobacteriaceae	<i>Escherichia coli</i> *	ANF	-	10 <sup>1</sup> -10 <sup>3</sup>	10 <sup>1</sup> -10 <sup>3</sup>	10 <sup>7</sup> -10 <sup>8</sup>
	<i>Klebsiella</i> *	ANF		10 <sup>1</sup> -10 <sup>2</sup>	10 <sup>1,6</sup>	10 <sup>7</sup> -10 <sup>8</sup>
	<i>Enterobacter</i> *	ANF		10 <sup>1,8</sup>		
	<i>Proteus</i> *	ANF				
Bacteroidaceae	<i>Bacterioides</i> *	AN	+	0	10 <sup>1</sup>	10 <sup>8</sup> -10 <sup>10</sup>
	<i>Fusobacterium</i>	AN	+			
Neisseriaceae	<i>Neisseria</i>	ANF	+			+
	<i>Veillonella</i>	AN	+			10 <sup>5,9</sup>
Micrococcaceae	<i>Staphylococcus</i> *	ANF	+	10 <sup>0,4</sup>	10 <sup>0,4</sup>	10 <sup>4,7</sup>
Lactobacillaceae	<i>Streptococcus</i> *	ANF	+	<10 <sup>1</sup>	10 <sup>1</sup> -10 <sup>3</sup>	10 <sup>8</sup> -10 <sup>9</sup>
	<i>Lactobacillus</i> *	ANF	+	10 <sup>1</sup> -10 <sup>1</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>8</sup> -10 <sup>9</sup>
	<i>Bifidobacterium</i> *	AN	+		+	10 <sup>6,6</sup>
	<i>Ruminococcus</i>					+
Propionobacteriaceae	<i>Eubacterium</i>	AN	-			+
Corynebacteriaceae	<i>Corynebacterium</i>	ANF	+			10 <sup>8,7</sup>
Bacillaceae	<i>Bacillus</i>	AN		10 <sup>0,3</sup> -10 <sup>3</sup>	10 <sup>0,1</sup> -10 <sup>4</sup>	10 <sup>5,4</sup>
	<i>Clostridium</i> *	AN				10 <sup>7</sup> -10 <sup>9</sup>
Leveduras			-			10 <sup>5</sup>

\*microorganismos de significado clínico

Clas – Classificação; Bo – Boca; Est. – Estômago; I.D. – Intestino delgado; I.G. – Intestino grosso  
+ presente; - ausente; AE - aeróbios; AN – anaeróbios; ANF – anaeróbios facultativos

Adaptado de STROMBECK e GUILFORD (1991)

Cães alimentados com dieta à base de milho e farinha de vísceras de aves apresentam no íleo (log UFC.g<sup>-1</sup> matéria seca), aproximadamente: 4,8 *Clostridium perfringens*, 9,4 *Lactobacillus* spp., 10,4 *Bifidobacterium* spp., 10,5 anaeróbios tolerantes ao oxigênio; 6,3 *Escherichia coli* e 6,7 coliformes totais (STRICKLING *et al.*, 2000).

Ao contrário do intestino delgado, o intestino grosso contém complexo ecossistema microbiológico, variando entre  $10^{10}$  a  $10^{11}$  UFC.mL<sup>-1</sup> no cólon, as quais são predominantemente anaeróbias (*Bacterioides* spp., *Eubacterium* spp., *Bifidobacterium* spp., *Propionobacterium* spp., *Fusibacterium* spp. e *Clostridium* spp.) (BUDDINGTON, 1996). As Tabelas 2 e 3 apresentam, respectivamente, um resumo dos efeitos benéficos e prejudiciais à saúde intestinal causados por microrganismos do trato digestório.

Tabela 2 – Efeitos benéficos (+) das bactérias intestinais ao hospedeiro

Gênero	Síntese de vitaminas e proteínas	Auxílio na digestão e absorção	Prevenção da colonização por patógenos	Limitam bactérias patogênicas
<i>Bacteroidaceae</i>	+	+	+	+
<i>Peptostreptococcus</i>			+	+
<i>Eubacterium</i>			+	+
<i>Lactobacillus</i>		+	+	+
<i>Bifidobacterium</i>	+	+	+	+
<i>Spirillaceae</i>	+		+	+
<i>Escherichia coli</i>	+			+
<i>Streptococcus</i>				+

Adaptado de KOSASA (1989)

Tabela 3 – Efeitos adversos (+) das bactérias intestinais ao hospedeiro

Gênero	Putrefação	Aerogênese	Toxinogênese	Patogenicidade
<i>Bacteroidaceae</i>	+	+		
<i>Peptostreptococcus</i>				
<i>Eubacterium</i>		+		
<i>Lactobacillus</i>		+		
<i>Escherichia coli</i>	+	+		+
<i>Streptococcus</i>				+
<i>Clostridium</i>	+	+	+	
<i>Staphylococcus</i>	+			+
<i>Pseudomonas</i>	+			+
<i>E. coli</i> (patogênica)	+			+
<i>Proteus</i>	+			

Adaptado de KOSASA (1989)

A composição da microbiota intestinal pode ser alterada pelos ingredientes da dieta, como relatado por AMTSBERG *et al.* (1980), os quais verificaram que dietas contendo maior nível de proteína resultaram em maior concentração de *Clostridium perfringens* nas fezes dos cães. Muitos alimentos comerciais para cães contêm altos níveis protéicos, podendo acarretar no aumento de aminoácidos indigeridos no cólon, os quais são substratos para o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis. Por outro lado, cães alimentados com dietas com fibras fermentáveis apresentam maior concentração de *Lactobacillus spp.* e redução na população de microrganismos patogênicos, como o *Clostridium perfringens* (HIDAKA *et al.*, 1990; TERADA *et al.*, 1992; SWANSON *et al.*, 2002a).

Durante a fermentação microbiana de compostos nitrogenados endógenos e/ou não-digeridos, várias substâncias putrefativas são formadas, sendo responsáveis pelo mau odor das fezes. Estas substâncias incluem: amônia, aminas alifáticas (agmatina, cadaverina, putrescina e tiramina), ácidos graxos ramificados (isobutirato e isovalerato), indóis (indól, 3-metilindol, 2-metilindol, 2,3-metilindol e 2,5-metilindol), fenóis (fenól, p-cresol e 4-etilfenol) e compostos sulfurados voláteis (dimetil disulfeto, dietil disulfeto, di-n-propildisulfeto e di-n-butil disulfeto). Estes compostos são

produzidos a partir de aminoácidos por meio de processos de desaminação (ex: amônia), desaminação-descarboxilação (ex: ácidos graxos de cadeia ramificada) ou descarboxilação (ex: aminas alifáticas) (HUSSEIN *et al.*, 1999). Muitos destes compostos putrefativos exercem efeito adverso à saúde intestinal. A amônia e os fenóis podem promover o desenvolvimento de tumores (LIN e VISEK, 1991) e agravar quadros de colite (HUSSEIN *et al.*, 1999).

A proporção relativa destes compostos é influenciada pela composição da microbiota colônica, interações metabólicas entre bactérias, nutrientes disponíveis para fermentação, tempo de trânsito intestinal, e uma variedade de fatores ligados ao indivíduo, incluindo idade, estado imunológico e composição genética (NRC, 2006).

A microbiota intestinal desempenha importante papel no funcionamento fisiológico normal do intestino, na prevenção da colonização do intestino por microrganismos patogênicos e sobre a fermentação da fibra dietética, resultando na produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), incluindo acetato, propionato e butirato, os quais são prontamente absorvidos pelo epitélio intestinal (SIMPSON, 1998).

Os AGCC, em particular o butirato, são considerados importantes fontes de energia para os colonócitos, suprindo mais que 70% das necessidades energéticas dessas células. DRACKLEY e BEAULIEU (1998) reportaram que colonócitos isolados de cães apresentam taxa de oxidação do butirato 4,5 vezes superior a da glicose, confirmando que o butirato é a principal fonte de energia dos colonócitos.

A concentração portal de AGCC excede a concentração arterial, indicando que a maioria dos AGCC são metabolizados no fígado. Entretanto, pequenas concentrações de acetato são encontradas na circulação sanguínea sistêmica, podendo ser oxidada pelo tecido muscular para obtenção de energia. O propionato é convertido em succinil coenzima A no fígado. Já o butirato é oxidado pela mucosa intestinal (DRACKLEY e BEAULIEU, 1998).

A absorção de AGCC estimula a reabsorção de água e eletrólitos, estando diretamente ligada com a função osmorreguladora do intestino. A absorção de AGCC também aumenta a taxa de absorção de sódio e a combinação da absorção de sódio e AGCC é responsável pela maior parte da água absorvida do lúmen intestinal (HERSCHEL *et al.*, 1981). Além disso, vários estudos com ratos, cães e humanos citam outros benefícios dos AGCC produzidos a partir da fermentação da

fibra, como inibição do crescimento de tumores no cólon e reto; indução da diferenciação dos colonócitos e enterócitos; recuperação do epitélio intestinal após injúria (HAGUE *et al.*, 1997); proteção contra colonização por microrganismos patogênicos (HIDAKA *et al.*, 1990); aumento do fluxo sanguíneo na mucosa intestinal, produção de mucina e redução da severidade de colite (CHAPMAN *et al.*, 1994; SCHEPPACH *et al.*, 1996).

A presença de AGCC estimula a secreção do *glucagon like-peptide 2*, o qual estimula a diferenciação e proliferação celular e a expressão de determinados genes ligados ao transporte de nutrientes no íleo, portanto, pode melhorar a função digestiva. Além disso, o crescimento da mucosa também melhora sua função de barreira, diminuindo a translocação de microrganismos (NRC, 2006).

Avaliando fibras de alta e baixa fermentação, MISSIMINO *et al.* (1998), citado pelo NRC (2006), encontraram maior tamanho de vilo no jejuno (1,517 vs. 1,343  $\mu\text{m}$ ) e maior taxa de absorção de D-glicose (182 vs. 133  $\text{nmol.mg}^{-1} \text{ tecido.minuto}^{-1}$ ) em cães alimentados com dieta isoprotéica e isoenergética contendo 9,5% (na matéria natural) de fibras fermentáveis (6% polpa de beterraba, 2% goma arábica e 1,5% frutoligossacarídeos) em relação a cães alimentados com dieta contendo fibras de baixa fermentação (7% celulose). Resultados semelhantes foram descritos por BUDDINGTON e WEIHER (1999), os quais reportaram maior comprimento (372 vs. 306 cm) e maior peso (430 vs 318 g) do intestino delgado de Beagles adultos alimentados com dietas contendo 4,2% polpa de beterraba e 1,0% frutoligossacarídeos, em relação aos cães alimentados com dieta contendo 3,6 g de celulose.

## 2.2 Características das fezes

Os proprietários buscam cada vez mais fornecer aos cães alimentos de qualidade, que além de adequada nutrição, também promovam a saúde dos animais e resulte em fezes menos volumosas, mais consistentes e menos fétidas. Estas características são importantes variáveis a serem consideradas na escolha de um alimento comercial, uma vez que também podem ser indicativas do estado de saúde intestinal dos animais.

Para avaliação da consistência das fezes produzidas pelos cães, pode se adotar o método do escore de fezes, determinação do teor de matéria seca e análise da água livre nas fezes. Por ser uma medida subjetiva é importante que o escore das fezes seja avaliado sempre pelo mesmo pesquisador. Segundo SÁ-FORTES (2005) pode se atribuir notas de um a cinco as fezes, sendo: 1 = fezes pastosas e sem forma; 2 = fezes macias, mal formadas e que assumem o formato do recipiente de colheita; 3 = fezes macias, formadas e úmidas, que marcam o piso; 4 = fezes bem formadas e consistentes e que não aderem ao piso; 5 = fezes bem formadas, duras e secas. Assume-se que as fezes produzidas encontram-se dentro do ideal (não muito moles ou muito duras) quando a pontuação se enquadra dentro de três a quatro.

Apesar da determinação da matéria seca ser um método quantitativo, portanto, mais preciso que o escore, nem sempre é representativo da consistência das fezes, pois a água pode estar ligada a alguns componentes higroscópicos nas fezes (como minerais e fibras) o que as mantém firmes, entretanto, quando secas na estufa, a água presa é evaporada, e o teor de matéria seca final pode se equivaler ao teor de matéria seca de fezes menos consistentes, produzidas por outro animal, que ingeriu um alimento diferente. Sendo assim, outro método complementar para avaliação da consistência das fezes seria a determinação da água livre das fezes, a qual é medida em função do sobrenadante obtido pela centrifugação das fezes frescas.

Vale ressaltar que nem sempre a melhor consistência de fezes para os donos dos cães é a melhor para os animais também. Fezes muito ressecadas e duras, apesar de facilitar a higienização do ambiente, predispõem a retenção fecal e podem resultar em distúrbios intestinais. Além do mais, o prolongamento da permanência das fezes no intestino grosso permite maior tempo de fermentação da fração protéica não digerida e, por conseguinte, maior exposição da mucosa intestinal a compostos putrefativos tóxicos. Portanto, é importante a formulação de dietas balanceadas, principalmente quanto à composição de fibras e qualidade das proteínas, a fim de promover a saúde intestinal dos animais e a produção de fezes com escore “ideal”.

Outras determinações que podem ser realizadas nas fezes, correlacionadas mais diretamente com a saúde intestinal, seriam a medição do pH, o qual está relacionado com o grau de fermentação intestinal e determinações diretas de AGCC

(acético, propiônico e butírico, principalmente) e lactato. Além disso, pode ser avaliada a concentração de compostos putrefativos, como aminas biogênicas, indóis, fenóis, ácidos graxos de cadeia ramificada e amônia. E a avaliação de microrganismos utilizando meios de cultura, ELISA ou extração de DNA das fezes seguido por reação em cadeia da polimerase (PCR).

### 2.3 Probióticos

Probiótico é uma palavra derivada do grego que significa a favor (*pro*) da vida (*bio*). Várias foram as denominações dadas aos probióticos durante os anos, sendo inicialmente descrito por LILLY e STILWELL (1965) como substâncias produzidas por protozoários que estimulavam outras substâncias. Já, em 1974, PARKER definiu probiótico como microrganismos, como bactérias e leveduras, que podem ser adicionadas à dieta com o propósito de regular a microbiota intestinal, sendo esta definição a mais consagrada atualmente.

De modo geral, a utilização de probióticos se baseia na manipulação da microbiota intestinal a favor de microrganismos não-patogênicos, influenciando beneficentemente a saúde do hospedeiro por meio da manutenção da probiose do animal. A probiose pode ser definida como a capacidade dos microrganismos habituais do trato intestinal em resistir ao crescimento exagerado das cepas normais e ao estabelecimento de cepas invasoras (GHADBAN, 2002). Os probióticos são utilizados, portanto, para reforçar ou restabelecer esta probiose quando a mesma for alterada por fatores adversos como: desmama, mudança de alimentação ou de ambiente, estresse, tratamento com antibióticos, entre outros (FURLAN *et al.*, 2004).

Segundo FERNANDES *et al.* (2000) a suplementação de probiótico na dieta de monogástricos pode ser recomendada a fim de auxiliar na manutenção da estabilidade da microbiota intestinal não patogênica; restaurar a estabilidade da microbiota intestinal após desequilíbrio causado por estresse ou uso de antibióticos e promover a estabilidade da microbiota intestinal não patogênica nos recém-nascidos.

Em relação à indicação terapêutica, FERNANDES *et al.* (2000) citam que em casos de infecções subclínicas do TGI, o uso de probióticos foi efetivo no controle da colonização por patógenos, entretanto, em casos de desenvolvimento excessivo de

patógenos, com a presença de sinais clínicos, o probiótico é menos efetivo. Portanto, o uso de probióticos se aplica principalmente como medida profilática no controle da colonização de patógenos no TGI e no restabelecimento da microbiota não patogênica quando há a administração de antibióticos em casos clínicos de infecção microbiana.

Os gêneros de bactérias mais utilizados como probióticos são os produtores de lactato, *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. Entretanto, bactérias do gênero *Bacillus*, apesar de serem menos utilizadas como probióticos para cães, apresentam a vantagem de esporular, sendo mais resistentes ao meio ambiente e ao pH ácido do estômago (BIOURGE *et al.*, 1998). Os *Enterococcus* apresentam efeitos inibitórios sobre importantes enteropatógenos, como *Escherichia coli* enterotoxigênica, *Salmonella*, *Shigella* e *Clostridium*. Desse modo, sugere-se sua inclusão como agente anti-diarréico (BENYACOUB *et al.*, 2003). Em relação às leveduras, uma das espécies mais utilizadas como probiótico é a *Saccharomyces boulardii*.

Para que uma cepa de microrganismo seja considerada um probiótico é importante que seja resistente ao pH ácido e aos sais biliares presentes no trato digestório, deve-se aderir às células da mucosa intestinal, promover benefícios à saúde do hospedeiro; ser habitual da microbiota saudável do hospedeiro ou ser transitório, desde que tenha a habilidade de se estabelecer no TGI do hospedeiro; devem ser capazes de produzir culturas viáveis em concentrações efetivas (superiores a  $10^8$  a  $10^{11}$  UFC.g<sup>-1</sup>) e ser estáveis, mantendo sua viabilidade por longos períodos de tempo (FERNANDES *et al.*, 2000).

### **2.3.1 Mecanismos de ação dos probióticos**

Apesar dos mecanismos de atuação dos probióticos ainda não estarem bem elucidados, várias são as hipóteses relatadas na literatura sobre os possíveis efeitos destes microrganismos na promoção da saúde intestinal do hospedeiro.

#### **2.3.1.1 Exclusão competitiva**

A teoria da exclusão competitiva foi descrita por NURMI e RANTALA (1973) e refere-se à ocupação dos sítios de aderência do epitélio intestinal, resultando na inabilidade de uma população de microrganismos em se estabelecer no intestino, devido à presença de uma outra. Estes autores demonstraram redução na contaminação por *Salmonella infantis* em pintos recém-nascidos que receberam

conteúdo intestinal diluído de aves adultas e saudáveis. Esta pesquisa se tornou base para novos estudos utilizando o conceito de exclusão competitiva.

As fimbrias são os elementos de aderência bacteriana mais conhecidos e estudados. As fimbrias são compostas por lectinas, as quais reconhecem oligossacarídeos específicos dos sítios de ligação da parede intestinal. A colonização varia com o tipo de bactéria e o tipo de hospedeiro. Algumas bactérias somente se aderem à superfície superior (glicocalix) dos enterócitos, enquanto outras residem somente nas criptas onde são produzidas as novas células epiteliais que migram até as vilosidades (MACARI e FURLAN, 2005).

Estudo conduzido na França com *Bifidobacterium* por VANBELLE *et al.* (1990), demonstrou que a competição pelos sítios de adesão é dependente do número de bactérias viáveis que chegam ao local a ser colonizado e do tipo de receptor específico para a bactéria. Algumas espécies de *Bifidobacterium* têm afinidade de ligação pelos receptores  $\beta$  – glucosaminas, que são os mesmos sítios de ligação de algumas espécies de *Escherichia coli* enteropatogênicas. Deste modo, a hipótese da competição por sítios de adesão pode ser comprovada em alguns casos específicos.

### **2.3.1.2 Produção de substâncias antimicrobianas**

Segundo GHADBAN (2002) além do efeito físico de barreira contra bactérias patogênicas, as bactérias probióticas também exercem efeito biológico, na medida em que promovem ambiente de baixa tensão de oxigênio, desfavorecendo o crescimento de bactérias enteropatogênicas, principalmente do gênero *Salmonella* spp. Apresentam também efeito químico, por meio da produção de ácidos orgânicos, como láctico, acético, propiônico e butírico, os quais levam a redução do pH do lúmen intestinal, com conseqüente inibição de bactérias patogênicas, como *Clostridium perfringens*, e estimulam o desenvolvimento de microrganismos não-patogênicos, como *Lactobacillus*.

Outras substâncias antimicrobianas também podem ser produzidas. As bacteriocinas são substâncias protéicas e antibióticas de ação local, que inibem o desenvolvimento de patógenos intestinais sem causar danos às células que as produzem. As bactérias lácticas produzem nisina, diplococcina, lactocidina, acidofilina, bulgaricina e reuterina. Estas substâncias apresentam atividade inibitória,

tanto para gêneros gram-positivos, quanto para gram-negativos, como *Salmonella*, *Escherichia coli*. e *Staphylococcus* (FERREIRA e ASTOLFI-FERREIRA, 2006).

Alguns estudos também relatam que certos microrganismos produzem metabólitos que são capazes de neutralizar os efeitos de enterotoxinas produzidas por coliformes e reduzir a absorção de substâncias tóxicas, como a amônia (VANBELLE *et al.*, 1990; GHADBAN, 2002).

### **2.3.1.3 Estímulo ao sistema imune**

Alguns gêneros de bactérias intestinais, como *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* estão diretamente relacionados com o estímulo da resposta imune, por meio do aumento da produção de anticorpos, ativação de macrófagos, proliferação de células T e produção de interferon (FULLER e GIBSON, 1997). Como reportado por BENYACOUB *et al.* (2003), os quais relataram efeito positivo sobre as variáveis de imunidade avaliadas em cães jovens suplementados com *Enterococcus faecium*.

### **2.3.2 Digestibilidade**

O equilíbrio da microbiota intestinal é fundamental para o funcionamento fisiológico normal do intestino e, portanto, para o bom aproveitamento dos nutrientes da dieta. A inibição do desenvolvimento de microrganismos patogênicos, os quais são prejudiciais às células da mucosa intestinal, aliada à produção de AGCC, os quais são as principais fontes de energia para os colonócitos, melhoram a saúde intestinal e a função digestiva.

Segundo o NRC (2006) os AGCC estimulam a diferenciação e proliferação celular e a expressão de determinados genes ligados ao transporte de nutrientes no íleo, portanto, pode melhorar a digestão dos alimentos. Além disso, microrganismos probióticos produzem vitaminas e em função do aumento da absorção de lactose, sacarose e maltose, há diminuição na concentração destes açúcares disponíveis para o crescimento de patógenos (VANBELLE *et al.*, 1990).

A suplementação com probiótico contendo bactérias do gênero *Lactobacillus* em cães resultou em maior digestibilidade da matéria seca, segundo SWANSON *et al.* (2002a) e maior coeficiente de metabolizabilidade da energia, de acordo com FELICIANO (2008). Maior aproveitamento da energia também foi relatado por UTIYAMA (2004) em leitões desmamados suplementados com bactérias do gênero

*Bacillus* na dieta. Por outro lado, BLOURGE *et al.* (1998) não encontraram diferença na digestibilidade em cães alimentados com dieta contendo *Bacillus* (C-5832).

Apesar dos indícios relatados sobre maior aproveitamento dos nutrientes e energia, os resultados dos trabalhos científicos ainda são controversos. Isto ocorre provavelmente devido à variabilidade de cepas e concentrações de microrganismos probióticos avaliados; número de UFC viáveis dos produtos; composição das dietas, especialmente quanto à concentração de oligossacarídeos fermentáveis e qualidade das proteínas; condições de desafio dos animais; tempo de adaptação às dietas experimentais, dentre outros.

### 2.3.3 Características das fezes

A produção de fezes mais consistentes e menos volumosas por cães que apresentam microbiota intestinal equilibrada e saudável pode ser explicada, principalmente, em função da manutenção da taxa de passagem normal e fermentação moderada da fibra dietética, resultando na produção de AGCC. A absorção de AGCC estimula a reabsorção de água e eletrólitos, estando diretamente ligada com a função osmorreguladora do intestino e, conseqüentemente com a produção de fezes mais consistentes pelos cães. Em contrapartida, altos níveis de inclusão de fibras rapidamente fermentáveis na dieta podem resultar na produção excessiva de lactato, o qual em grandes concentrações inibe a produção de AGCC e contribui para o aumento da pressão osmótica intraluminal, resultando em extravasamento de líquido para o interior do lúmen, aumento da taxa de passagem e diarreia (TWOMEY *et al.*, 2003).

Segundo STEWART e CHESSON (1993) probióticos contendo *Bifidobacterium* spp. parecem possuir ação anti-carcinogênica, uma vez que por inibir o desenvolvimento de microrganismos patogênicos, diminuem a formação de compostos putrefativos tóxicos as células da mucosa, como a amônia. Neste caso, os probióticos, além de melhorar a saúde intestinal, podem contribuir para redução do mau odor das fezes dos cães. Entretanto, SWANSON *et al.* (2002a) não encontraram diferença na concentração de amônia, pH, matéria seca e escore das fezes de cães recebendo duas vezes ao dia  $1 \times 10^9$  UFC de *Lactobacillus acidophilus* via cápsulas de gelatina.

## 2.4 Prebióticos

Recentemente, tem se sugerido que a habilidade das bactérias probióticas em fermentar oligossacarídeos pode ser uma importante característica (GIBSON e ROBERFROID, 1995). Isto se deve ao fato dos carboidratos que escapam da digestão e absorção do intestino delgado influenciarem a sobrevivência, colonização e os efeitos benéficos dos probióticos no cólon (SWANSON *et al.*, 2002a). Portanto, o estudo de substratos prebióticos, como determinados oligossacarídeos, se torna outro campo de pesquisa importante, a fim de favorecer o estabelecimento de microrganismos probióticos no intestino.

Segundo definição de GIBSON e ROBERFROID (1995), prebiótico é um ingrediente alimentar não digestível pelas enzimas do intestino delgado que beneficia o organismo por estimular seletivamente o crescimento e/ou atividade de determinadas bactérias no cólon, promovendo a saúde do hospedeiro. Como exemplos de oligossacarídeos utilizados como prebióticos pode-se citar os glicoligossacarídeos (GOS), lactoligossacarídeos, xiloligossacarídeos (XOS), frutoligossacarídeos (FOS) e mananoligossacarídeos (MOS). Dentre os citados, os FOS e MOS vem apresentando resultados interessantes quanto à saúde intestinal dos cães, sendo os mais difundidos atualmente.

### 2.4.1 Frutoligossacarídeos (FOS)

Os FOS são oligossacarídeos que ocorrem naturalmente em grande variedade de grãos, frutas e vegetais. Os FOS são constituídos por uma cadeia de frutose com ligações  $\beta$  (2-1) e uma unidade de glicose terminal, com grau de polimerização (GP) menor que 10. Os FOS são uma mistura de 1-kestose (1-kestotriose; GF<sub>2</sub>), nistose (1,1-kestotetraose; GF<sub>3</sub>) e 1-frutofuranosil-nistose (1,1,1-kestopentaose, GF<sub>4</sub>) (Figura 1) (HUSSEIN *et al.*, 1998). A Tabela 4 apresenta a concentração de FOS de alguns ingredientes utilizados em alimentos para cães.

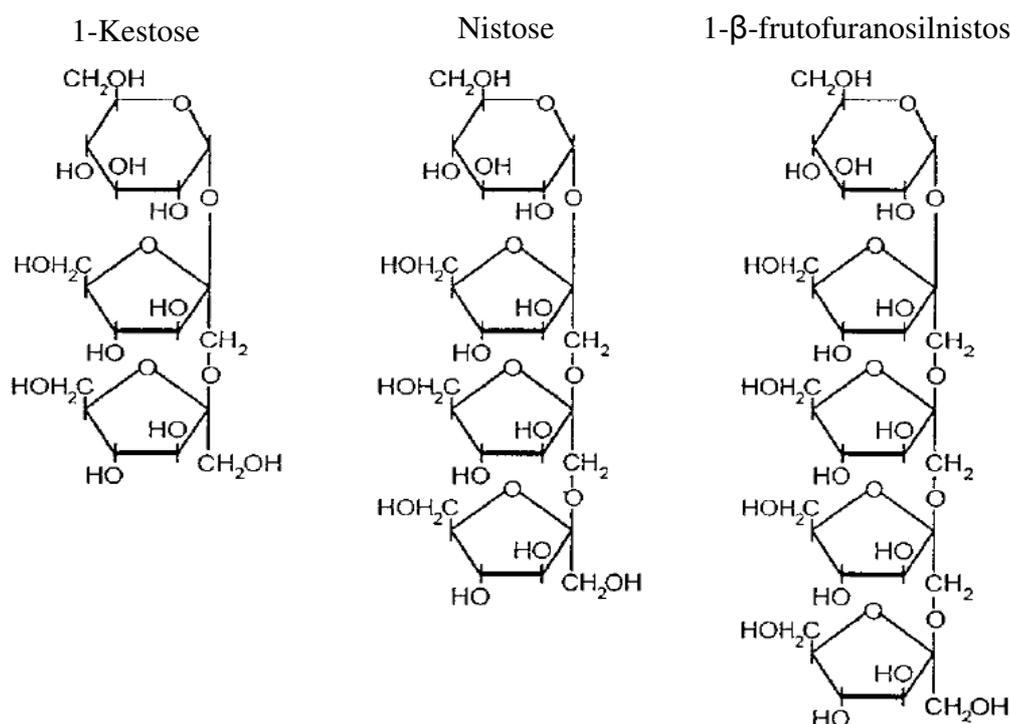


Figura 2. Estrutura molecular dos frutoligossacarídeos (HUSSEIN *et al.*, 1998).

Os FOS podem ser divididos em dois grupos do ponto de vista comercial. O primeiro grupo é o preparado por hidrólise enzimática da inulina, por meio da enzima inulinase e consiste de unidades lineares de frutossil com ou sem uma unidade final de glicose. O GP desses FOS varia entre um e sete unidades de frutossil. Este processo ocorre amplamente na natureza, e esses oligossacarídeos podem ser encontrados em grande variedade de plantas (mais de 36 mil) (ROBERFROID, 1993), mas principalmente em alcachofras, aspargos, beterraba, chicória, yacon, banana, alho, cebola, trigo e tomate. Também estão presentes no mel e açúcar mascavo (PASSOS e PARK, 2003).

O segundo grupo é preparado por reação enzimática de transfrutossilação, por meio da enzima β-frutofuranosidase em resíduos de sacarose e consiste tanto de cadeias lineares como de cadeias ramificadas de oligossacarídeos, com GP variando entre um e cinco unidades de frutossil (PASSOS e PARK, 2003).

Tabela 4 – Concentração de frutoligossacarídeos (FOS) ( $\text{mg.g}^{-1}$  matéria seca) em alguns ingredientes utilizados em alimentos para cães

Ingrediente	GF <sub>2</sub> *	GF <sub>3</sub> *	GF <sub>4</sub> *	Total
Farelo de alfafa	0,10	-	2,14	2,24
Cevada	1,46	0,43	0,03	1,92
Polpa de beterraba	0,05	-	-	0,05
Farelo de canola	0,04	-	-	0,04
Farelo de glúten de milho	0,03	0,19	0,11	0,34
Aveia	0,36	-	-	0,36
Casca de amendoim	0,27	0,05	2,08	2,40
Farelo de arroz	0,14	-	-	0,14
Casca de soja	0,12	-	-	0,12
Trigo	1,06	0,05	0,25	1,36
Gérmen de trigo	2,15	0,21	2,32	4,68

\*Frações dos FOS: 1-kestose (1-kestotriose; GF<sub>2</sub>), nistose (1,1-kestotetraose; GF<sub>3</sub>) e 1-frutofuranosil-nistose (1,1,1-kestopentaose, GF<sub>4</sub>)

Adaptado de HUSSEIN *et al.* (1998)

Vale ressaltar que, apesar dos FOS poderem ser obtidos a partir da inulina, apresentam propriedades distintas. A inulina é menos solúvel, apresenta cadeias longas (GP até 60) e capacidade para formar microcristais quando misturada com água e leite (VANLOO *et al.*, 1998). Esses microcristais formam mistura cremosa que dá a sensação de presença de gordura. Os FOS, por sua vez, apresentam cadeias curtas (GP 2-9) e são altamente higroscópicos. Sua capacidade de retenção de água é superior à da sacarose e similar à do sorbitol (SILVA *et al.*, 2007).

Tratando-se de carboidratos não-redutores não participam das reações de Maillard. São altamente estáveis, suportam pH abaixo de três e temperatura superior a 140°C. Sua solubilidade em água atinge 80% a 25°C. Também são solúveis em etanol a 80% e pH 2, diferentemente de outros polissacarídeos (VAN LOO *et al.*, 1998; SILVA *et al.*, 2007).

Os FOS são altamente fermentáveis por bactérias lácticas no intestino, enquanto microrganismos gram-negativos, como *Salmonella* spp. e *E. coli* são incapazes de fermentá-los. Sendo assim, os FOS favorecem o desenvolvimento da

microbiota não-patogênica em detrimento de microrganismos patogênicos, como demonstrado por alguns estudos (HIDAKA *et al.*, 1990; RUSSELL, 1998; SWANSON *et al.*, 2002a; MIDDELBOSS *et al.*, 2007a).

Avaliando a influência dos FOS sobre o desenvolvimento de bactérias do intestino de humanos, HIDAKA *et al.* (1990) observaram maior desenvolvimento de *Bifidobacterium adolescentis* e *Lactobacillus plantarum* e inibição do crescimento de *Clostridium perfringens* e *Escherichia coli* com a suplementação de FOS na dieta. Por não serem hidrolisados no intestino delgado, os FOS são fermentados pela microbiota do intestino grosso, produzindo AGCC, lactato e gases, o que resulta na diminuição do pH. Em virtude da acidez intestinal, ocorre aumento nos microrganismos intestinais considerados benéficos, como *Bifidobacterium* spp. e *Lactobacillus* spp. e inibição dos microrganismos patogênicos, como *Clostridium* spp., *E. coli*, *Listéria* spp., *Shigella* spp., *Salmonella* spp., dentre outros (BEYNEN, 2003).

Os AGCC produzidos a partir da fermentação dos FOS pela microbiota do cólon são rapidamente absorvidos pelos colonócitos, sendo, portanto, os principais ânions responsáveis pela reabsorção de água do intestino por osmose (HERSCHEL *et al.*, 1981). Entretanto, as propriedades de reabsorção de água do lúmen intestinal dos AGCC parecem ser dose dependente, já que em concentrações extremamente altas ou baixas é possível que os AGCC contribuam para o aumento do teor de água nas fezes (NRC, 2006).

Trabalhando com a inclusão de 0,0; 3,0 e 6,0% de FOS na dieta, TWOMEY *et al.* (2003) encontraram diminuição no teor de matéria seca e pior escore das fezes de cães alimentados com o maior nível de FOS. Isto ocorre, principalmente, devido aos efeitos físicos e ao aumento da osmolaridade no lúmen intestinal causado pela fração não fermentada e pelos produtos da fermentação dos FOS, como o ácido láctico.

Também foi relatado por TWOMEY *et al.* (2003), diminuição do pH das fezes com o aumento da ingestão de FOS, em virtude, principalmente, do aumento da concentração de lactato. Os produtos finais do processo de fermentação irão influenciar a concentração de ácidos nas fezes e, por conseguinte, o pH fecal. O aumento da fermentação devido à alta disponibilidade de substrato no intestino grosso causa acúmulo destes ácidos, resultando em diminuição do pH intestinal e, por conseguinte, do pH das fezes.

Maior concentração de *Bifidobacterium* spp. nas fezes de cães suplementados com 1% de FOS ou 3% de chicória na ração foi relatada por RUSSELL (1998). Enquanto que, SWANSON *et al.* (2002a) utilizando dietas purificadas com ingredientes isentos de FOS, além de *Bifidobacterium* spp., também observaram maior concentração de *Lactobacillus* spp., butirato e ácido láctico e menor *Clostridium perfringens* em cães suplementados com 4 g de FOS por dia via cápsula de gelatina, em relação aos cães que receberam 4 g de sacarose por dia. Resultados semelhantes foram obtidos por MIDDELBOSS *et al.* (2007a), os quais estudando diferentes fontes de fibra (celulose, polpa de beterraba, FOS e MOS), também encontraram maior concentração de *Bifidobacterium* spp. e *Lactobacillus* spp. nas fezes de cães alimentados com fibras fermentáveis em relação aos cães que receberam a dieta com celulose.

Os FOS podem ser classificados como um tipo de fibra dietética solúvel (CUMMINGS e ENGLYST, 1995), entretanto, não aumentam a viscosidade do conteúdo intestinal, possivelmente não afetando significativamente a digestibilidade dos nutrientes quando suplementado em baixos níveis, como demonstrado por STRICKLING *et al.* (2000); SWANSON *et al.* (2002a) e FLICKINGER *et al.* (2003), os quais não encontraram diferença na digestibilidade em cães suplementados com até 0,5% FOS por dia. Já, TWOMEY *et al.* (2003) relataram redução na digestibilidade do extrato etéreo hidrólise ácida e energia bruta com a suplementação de 6,0% FOS na dieta. Demonstrando que a inclusão de oligossacarídeos em até 0,5% na matéria seca não afeta a digestibilidade dos nutrientes.

Em relação à diminuição do odor das fezes, SWANSON *et al.* (2002a) encontraram menor concentração de amônia nas fezes de cães suplementados com 4 g FOS por dia, enquanto que, em trabalho prévio realizado pelos mesmos autores (SWANSON *et al.*, 2002b), não foi observada diferença no teor de amônia das fezes de cães suplementados com 2 g FOS por dia. A suplementação de FOS pode reduzir a produção de compostos putrefativos (fenóis, indóis, amônia, etc), os quais contribuem para o mau odor das fezes e para a carcinogênese do cólon (SWANSON *et al.*, 2002a). Por outro lado, a ingestão excessiva de FOS pode aumentar a pressão osmótica intraluminal, resultando em aumento do trânsito intestinal, desconforto, flatulência e cólicas (TWOMEY *et al.*, 2003). Sendo assim, é importante se estabelecer níveis adequados de inclusão de FOS na dieta.

### 2.4.2 Mananoligossacarídeos (MOS)

Os MOS são oligossacarídeos derivados das paredes de leveduras (extrato seco da fermentação de *Saccharomyces cerevisiae*) (FLICKINGER *et al.*, 2000). A parede de levedura é constituída em média por 48,2% fibra dietética total (43,7% fibra insolúvel e 4,5% solúvel); 17,9% proteína bruta e 19,8% extrato etéreo hidrólise ácida. A fração de manose corresponde a aproximadamente 31% da parede celular (MIDDELBOS *et al.*, 2007b).

No cólon os MOS são moderadamente fermentados por *Lactobacillus* spp. e *Bifidobacterium* spp. (VICKERS *et al.*, 2001) e apresentam a capacidade de modular o sistema imunológico e a microbiota intestinal, principalmente ligando-se a ampla variedade de microrganismos e preservando a integridade da superfície de absorção intestinal. Os MOS bloqueiam a aderência das bactérias patogênicas ao ocupar os sítios das células epiteliais da mucosa intestinal onde estas poderiam se prender (SWANSON *et al.*, 2002b).

A colonização de bactérias na mucosa intestinal é reconhecida como importante passo no processo infeccioso. Para colonizar a superfície da mucosa, as bactérias necessitam primariamente se ligar aos receptores contendo D-manose das células epiteliais. As fímbrias adesivas tipo-1, as quais são comuns em numerosos gêneros e espécies, como *Salmonella* spp. e *Escherichia coli*, são específicas por manano-resíduos. Sendo assim, os MOS podem diminuir a colonização de patógenos, agindo como receptor análogo por fímbrias tipo-1, reduzindo o número de sítios de ligação disponíveis e/ou ligando-se aos microrganismos, os quais serão carreados para fora do hospedeiro (SPRING *et al.*, 2000).

Estudo realizado por GOUVEIA *et al.* (2006) sobre a suplementação de MOS em cães filhotes acometidos por gastroenterite, demonstrou que os MOS foram efetivos na diminuição da concentração de *E. coli* patogênica em relação ao grupo controle, os quais apresentaram os sinais clínicos de gastroenterite agravados. Resultados semelhantes foram obtidos por MIDDELBOS *et al.* (2007b), os quais também observaram redução significativa na concentração de *E. coli* em cães suplementados com parede de levedura.

Avaliando a suplementação de MOS na dieta de pintos de corte sobre a colonização microbiana intestinal, SPRING *et al.* (2000) encontraram redução na concentração de *Salmonella typhimurium* e *S. dublin*, as quais apresentam fímbrias tipo-1, no ceco dos pintos suplementados com MOS. Entretanto, os autores não

encontraram redução na concentração de bactérias que não apresentam fímbrias tipo-1, como *Lactobacillus* spp. e *Enterococcus* spp. e na concentração de lactato, AGCC e no pH cecal. Estes resultados confirmam que os MOS podem diminuir a concentração de microrganismos patogênicos sem prejudicar a microbiota benéfica intestinal.

Estudos mostram que os MOS podem apresentar efeito imunomodulador, aumentando a concentração de imunoglobulina A (IgA) no conteúdo cecal de ratos (KUDOH *et al.*, 1999) e cães (SWANSON *et al.*, 2002b), imunoglobulina G (IgG) sistêmica em perus (SAVAGE *et al.*, 1996) e aumentar a atividade de linfócitos (SWANSON *et al.*, 2002b) e neutrófilos em cães (O’CARRA, 1997). A secreção de IgA é importante na imunidade da mucosa, pois inibe a fixação e penetração de bactérias no lúmen, aumenta a secreção de muco e previne reações inflamatórias que podem danificar o epitélio intestinal (O’CARRA, 1997).

Apesar de SAVAGE *et al.* (1996) terem observado aumento nos níveis séricos de IgG em perus, o mesmo não foi observado em cães. Suplementando 0,0; 0,1; 0,2 e 0,4% de MOS na dieta de cães adultos e filhotes de seis semanas, O’CARRA (1997) não encontrou aumento nos níveis plasmáticos de IgG nos cães. Entretanto, houve aumento em 60% nos níveis de neutrófilos em filhotes suplementados com 0,2% de MOS na dieta em resposta a vacinação, em relação ao grupo controle vacinado.

Os MOS são capazes de induzir a ativação de macrófagos saturando os receptores de manose das glicoproteínas da superfície celular, que se projetam da superfície da membrana celular dos macrófagos. Uma vez que três ou mais lugares tenham sido saturados, inicia-se uma reação em cadeia que da origem a ativação dos macrófagos e a liberação de citocinas, com a instalação de uma resposta imunológica adquirida (MACARI e MAIORKA, 2000).

Apesar do possível efeito ativador de macrófagos dos MOS, estudos encontraram diminuição de monócitos (MIDDELBOS *et al.*, 2007b) e linfócitos totais (GRIESHOP *et al.*, 2004) em cães suplementados com parede de levedura. Assim como os macrófagos, os monócitos são responsáveis pela fagocitose de patógenos no sítio de infecção, mas também estão envolvidos na mediação de anticorpos de citotoxicidade celular, que eliminam as células do hospedeiro infectadas com patógeno. A diminuição de monócitos pode estar ligada à redução da colonização por patógenos no intestino, em função da capacidade do MOS de limitar a aderência

de certos microrganismos na mucosa. Subsequentemente, a menor adesão bacteriana pode levar a redução na translocação de microrganismos para dentro da mucosa intestinal, portanto, diminuindo a necessidade de macrófagos e monócitos no tecido (MIDDELBOS *et al.*, 2007b).

Em relação ao efeito dos MOS sobre a digestibilidade, MIDDELBOS *et al.* (2007b) encontraram resposta cúbica à suplementação com parede de levedura em cães quanto à digestibilidade ileal da matéria seca (66,2 vs 77,4%); matéria orgânica (74,5 vs 83,1); proteína bruta (65,3 vs 76,9%); extrato etéreo hidrólise ácida (93,1 vs 95,2%) e energia bruta (78,2 vs 85,6%), obtendo os maiores resultados com o nível de 0,25% de parede de levedura em relação à dieta controle. Os autores citam que provavelmente a fração solúvel da fibra da parede de levedura tenha afetado a viscosidade da digesta e, por conseguinte, diminuído a taxa de passagem ileal, aumentando o tempo de contato do quimo com as enzimas digestivas. Entretanto, em trabalhos prévios desenvolvidos por STRICKLING *et al.* (2000) e SWANSON *et al.* (2002b) não foram observadas diferenças na digestibilidade ileal da dieta em cães suplementados com aproximadamente 0,5% de MOS.

Resultados opostos dos obtidos na digestibilidade ileal também são descritos por MIDDELBOS *et al.* (2007b) sobre a digestibilidade aparente total, havendo diminuição na digestibilidade total com a suplementação de 0,25% de parede de levedura. Os autores justificam este resultado em função do possível efeito do MOS sobre o aumento da população bacteriana láctica intestinal, o que aumentaria as perdas endógenas de origem microbiana nas fezes.

Não foram observadas diferenças quanto à consistência das fezes de cães suplementados com parede de levedura na dieta por MIDDELBOS *et al.* (2007b), entretanto os autores relatam diminuição no pH das fezes de cães recebendo 0,45% de parede de levedura. Do mesmo modo ZENTEK *et al.* (2002) obtiveram diminuição no pH fecal. Além disso, observaram menor água livre e teor de amônia nas fezes de cães suplementados com  $1\text{g.kg}^{-1}$  de peso corporal.dia<sup>-1</sup> de MOS, em relação à dieta controle. Provavelmente estes efeitos relatados são devidos ao aumento na população de microrganismos produtores de ácido láctico e AGCC, como *Lactobacillus* spp. e *Bifidobacterium* spp..

Os microrganismos metabolizam compostos nitrogenados gerando catabólitos putrefativos, como a amônia, aminas biogênicas e fenóis, os quais são os principais responsáveis pelo mau odor das fezes. Além disso, muitos destes catabólitos podem

ter influências negativas na saúde intestinal, já que altas concentrações de amônia parecem causar distúrbios no ciclo das células da mucosa e contribuir para a carcinogênese do cólon (LIN e VISEK, 1991).

O metabolismo do nitrogênio no cólon pela microbiota pode ser modificado pela disponibilidade de substrato, principalmente pelos carboidratos dietéticos. Os MOS, apesar de serem considerados carboidratos de fermentação moderada, também podem atuar como fonte energética adicional, diminuindo a concentração de compostos putrefativos (VICKERS *et al.*, 2001).

No cólon as bactérias utilizam o nitrogênio oriundo de peptídeos e aminoácidos não-digeridos na presença de energia para sua síntese protéica. As bactérias utilizam amônia como principal fonte de nitrogênio, e outros compostos nitrogenados são desaminados a amônia antes de serem utilizados metabolicamente. Os carboidratos fermentáveis agem como fonte energética necessária para a síntese de proteína microbiana. Quando a energia (carboidratos) está limitada, as bactérias fermentam aminoácidos à AGCC e amônia para obter energia. Entretanto, se há energia suficiente disponível o teor de compostos nitrogenados diminui e as concentrações de nitrogênio fecal, como massa microbiana, aumentam (CUMMINGS *et al.*, 1979).

A suplementação diária de 2 g MOS e 2 g FOS conjuntamente na dieta apresentou os melhores resultados em relação à saúde intestinal dos cães, com aumento da resposta imune local (44% a mais de IgA) e diminuição de compostos putrefativos. Provavelmente devido ao efeito sinérgico desses dois prebióticos, em modular a microbiota intestinal pela ação de acidificação e fornecimento de energia do FOS e diminuição da colonização da mucosa por microrganismos patogênicos pelo MOS (SWANSON *et al.* 2002b).

Apesar de estudos terem demonstrado que os MOS são fermentados pela microbiota não-patogênica intestinal (VICKERS, 2001) e podem aumentar populações de *Lactobacillus* spp. (SWANSON *et al.*, 2002b) e *Bifidobacterium* spp. (GRIESHOP *et al.*, 2004), características essas atribuídas aos prebióticos, ainda há controversas sobre sua classificação funcional. Segundo BEYNEN (2003) os efeitos positivos dos MOS observados em estudos controlados com cães aguardam confirmação de outros grupos de pesquisadores. O autor cita ainda que existe a necessidade de maiores estudos que expliquem o modo de ação dos MOS, para que este possa ser classificado como prebiótico.

## 2.5 Aluminossilicatos

As argilas são sais minerais insolúveis e pertencem à família dos silicatos (silicatos de alumínio) (MADKOUR *et al.*, 1993). Sua estrutura básica é tetraédrica: quatro átomos de oxigênios ao redor de um átomo de silício ou alumínio. Dentre as argilas mais utilizadas se encontram as zeolitas, bentonita, esmectita e sepiolita. A capacidade adsorvente destas substâncias é devida à sua molécula aberta que possui o sódio ( $\text{Na}^+$ ) como cátion predominante. O sódio fica solvatado às moléculas de água, aumentando várias vezes o seu volume inicial, o que leva à formação de um colóide, melhorando a consistência das fezes (FERREIRA *et al.*, 2005).

Devido à sua alta capacidade de reter água (0,5 a 0,7 kg de água.kg<sup>-1</sup> de argila), alguns estudos demonstram que a inclusão de argila na ração pode reduzir a viscosidade da digesta em animais monogástricos (SCHUTTE e LANGHOUT, 1998), prolongar o tempo de trânsito no trato digestório (TORTUERO, 1983; EVANS e FERRELL, 1993), limitar o desenvolvimento da flora microbiana no intestino (SCHUTTE e LANGHOUT, 1998; OUHIDA *et al.*, 2000), proteger a mucosa gástrica intestinal prevenindo diarreias (CASTAING, 1989) e adsorver toxinas e bactérias, reduzindo sua absorção no intestino (BUENO *et al.*, 1987).

Redução em até 25% do teor de umidade das fezes de aves e suínos suplementados com aluminossilicato na dieta foi relatada por DELBECQUE (1995). Além da capacidade de adsorção de água dos aluminossilicatos, a diminuição na umidade das fezes também pode estar relacionada ao aumento no tempo de trânsito intestinal, como descrito por FIORAMONTI *et al.* (1991), os quais observaram redução na motilidade intestinal em cães suplementados com silicato de alumínio esmectita na dieta.

A inclusão de 2% de sepiolita em dieta a base de trigo resultou em redução na concentração de AGCC em frangos de corte (SCHUTTE e LANGHOUT, 1998). Segundo FERREIRA *et al.* (2005), os aluminossilicatos também podem limitar o desenvolvimento de microrganismos no intestino e adsorver toxinas e bactérias, diminuindo a fermentação de produtos nitrogenados que escaparam da digestão no intestino delgado e a formação de compostos putrefativos. Redução na emissão de amônia e gás sulfídrico em esterco de aves armazenado com a adição de zeolita foi observado por CAI *et al.* (2007), demonstrando que este aditivo é eficiente em adsorver compostos orgânicos voláteis.

A capacidade de adsorção de amônia foi estudada por BERNAL e LOPEZ-REAL (1993), os quais relataram que 100 g de clinoptelita é capaz de reter 135 meq de amônia (1,89 g de nitrogênio). Do mesmo modo, BUENO *et al.* (1984) encontraram que 1 g de sepiolita pode reter 50 mg de amônia.

### **3. CONCLUSÃO**

A maioria dos estudos demonstra que os probióticos, FOS, MOS e aluminossilicatos apresentam efeitos benéficos sobre a qualidade das fezes, melhorando a consistência e diminuindo o mau odor, e sobre a saúde intestinal dos cães, modulando a microbiota intestinal a favor de bactérias não prejudiciais ao hospedeiro. Entretanto, apesar dos efeitos benéficos relatados, a presença de resultados controversos entre os trabalhos demonstra a importância da realização de novos estudos, a fim de se estabelecer os níveis funcionais de inclusão desses aditivos nos alimentos comerciais e maior esclarecimento do modo de ação dos mesmos no organismo dos animais.

#### 4. REFERÊNCIAS

AMTSBERG, G. *et al.* Influence of food composition on the intestinal flora of the dog. In: NUTRITION OF THE DOG AND CAT. 1980. **Anais...** Oxford: Pergamon Press, p.181–188, 1980.

BALISH, E. *et al.* Nose, throat, and fecal flora of beagle dogs housed in “locked” or “open” environments. **Applied Environmental Microbiology**. v.34, p.207–221, 1977.

BENYACOUR, J. *et al.* Supplementation of food with *Enterococcus faecium* (SF68) stimulates immune function in young dogs. **Journal of Nutrition**. v. 133, p.1158-1162, 2003.

BERNAL, M.P.; LOPEZ-REAL, J.M. Natural zeolites and sepiolite as ammonia absorbent materials. **Biosource Technology**. v.43, p.27-33, 1993.

BEYNEN, A.C. Nutraceuticals: Claims vs. evidence In: PRODUCTION SYMPOSIUM TRADE SHOW - PET FOOD FORUM. 2003. **Anais...** Chicago: Illinois, p.169-175, 2003.

BIOURGE, V. *et al.* The use of probiotics in the diet of dogs. **The Journal of Nutrition**, v.128, n.12, p.2730-2732, 1998.

BORGES, F.M.O. **Nutrição e manejo Alimentar de cães na Saúde e na Doença**. Belo Horizonte, Escola de Veterinária da UFMG. 1998. 103p. (Caderno Técnico n.23).

BUDDINGTON, R.K. Structure and functions of the dog and cat Intestine. In: RECENT ADVANCES IN CANINE AND FELINE NUTRITIONAL RESEARCH, 1996. **Anais...** Califórnia: Internacional Nutrition Symposium, 1996.

BUDDINGTON, R.K. ; WEIHER, E. The application of ecological principles and fermentable fibers to manage the gastrointestinal tract ecosystem. **Journal of Nutrition**. v.129, p.1446-1450, 1999.

BUENO, P.R. *et al.* Adsorción de amoníaco, metilamina y etilamina sobre una sepiolita. **Anales de Química**. v.81, p.18-21, 1984.

BUENO, L. *et al.* Changes in gastro-intestinal motility induced by cholera toxin and experimental osmotic diarrhoea in dogs: effects of treatment with a clay compound. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**. v.36, p.230-237, 1987.

CAI, L. *et al.* Evaluation of zeolite for control of odorant emissions from simulated poultry manure storage. **Journal of Environmental Quality**. v.36, p.184-193, 2007.

CASTAING, J. Effet de l'inclusion de 2% de Sepiolite “EXAL” dans les aliments à deux niveaux énergétiques présentés en granulés pour porcelets et porcs charcutiers. **Journées de la Recherche Porcine en France**. v.21, p.51-58, 1989.

CHAPMAN, M.A.S. *et al.* Butyrate oxidation is improved in the colonic mucosa of suffers of quiescent ulcerative colitis. **Gastrointestinal tract**. v.35, p.72–76, 1994.

CUMMINGS, J.H. *et al.* The effect of meat protein and dietary fiber on colonic function and metabolism. II. Bacterial metabolites in feces and urine. **American Journal of Clinical Nutrition**. v.32, p.2094–2101, 1979.

CUMMINGS, J.H., ENGLYST, H.N. Gastrointestinal effects of food carbohydrate. **American Journal of Clinical Nutrition**. v.61, p.938–945, 1995.

DELBECQUE, G. Les argiles en la alimentation animale. In: ANNALES DU SYMPOSIUM ALIMENTATION ANIMALE ET SANTE PUBLIQUE, 1995. **Anais...** Alfort: Sante publique, 1995.

DRACKLEY, J.K.; BEAULIEU, A.D. Energetic substrates for intestinal cells. In: RECENT ADVANCES IN CANINE AND FELINE NUTRITION, 1998. **Anais...** Willmington: Iams, p.463-472, 1998.

EVANS, M.; FERRELL, D.J. Are there economic benefits to adding zeolites to poultry diets? **Recent advances in animal nutrition in Australia**. Resumo. p.303-316, 1993.

FELICIANO, M.A.R. **Suplementação de probiótico para cães da raça beagles recebendo alimentos comerciais**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2008. 110p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, 2008.

FERNANDES, P.C.C. *et al.* Viabilidade do uso de probióticos na alimentação de cães. **Disponível em:** [http://www.adip.com.br/ftp/Viabilidade\\_do\\_uso\\_de\\_probioticos.pdf](http://www.adip.com.br/ftp/Viabilidade_do_uso_de_probioticos.pdf). Acesso em: 22/12/2008.

FERREIRA, A.C.K. *et al.* O uso de aluminossilicato (Silvet<sup>®</sup>) como adjuvante na melhora do aspecto das fezes e desempenho das aves. **Archives of Veterinary Science**. v.10, n.1, p.117-122, 2005.

FERREIRA, A.P., ASTOLFI-FERREIRA, C.S. Medidas inespecíficas para o controle bacteriano. In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA, 2006, **Anais...** Chapecó, p.56-66, 2006.

FIORAMONTI, J. *et al.* Absortine and motor components of the antidiarrhoeal action of loperamide a *in vivo* study in pigs. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v.40, p.30-35, 1991.

FLICKINGER, E.A. *et al.* Glucose-based oligosaccharides exhibit different *in vitro* fermentation patterns and affect *in vivo* apparent nutrient digestibility and microbial populations in dogs. **Journal of Nutrition**, v.130, p.1267–1273, 2000.

FULLER, R, GIBSON, G.R. Modification of the intestinal flora using probiotics and prebiotics. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v.32, p. 28–31. 1997.

FURLAN, R.L. *et al.* Como avaliar os efeitos do uso de prebióticos, probióticos e flora de exclusão competitiva. In: 5° SIMPÓSIO TÉCNICO DE INCUBAÇÃO, MATRIZES DE CORTE E NUTRIÇÃO, 2004. **Anais...** Balneário Camboriú, SC. 2004.

GHADBAN, G.S. Probiotics in Broiler production – a review. **Arch. Geflugelk**, v.66, n.2, p. 49-58, 2002.

GIBSON, G.R.; ROBERFROID, M.B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **Journal of Nutrition**. v.125, p.1401–1412, 1995.

GOUVEIA, E.M.F. *et al.* Uso de mannanoligossacarídeos fosforilados (Bio-MOS<sup>(R)</sup>) como adjuvante em doenças gastrointestinais em cães. **Revista Pet South América**, jan-fev, 2006.

GRIESHOP, C.M. *et al.* Gastrointestinal and immunological responses of senior dogs to chicory and mannan-oligosaccharides. **Archives of Animal Nutrition**, v.58, p.483-493, 2004.

HAGUE, A. *et al.* Butyrate acts as a survival factor for colonic epithelial cells: further fuel for the in vivo versus in vitro debate. **Gastroenterology**, v.112, p.1036–1040, 1997.

HERSCHEL, D.A. *et al.* Absorption of volatile fatty acid, Na, and H<sub>2</sub>O by the colon of the dog. **American Journal of Veterinary Research**, v.42, p.1118–1124, 1981.

HIDAKA, H. *et al.* The effects of undigestible fructooligosaccharides on intestinal microflora and various physiological functions on human health. In: Furda. I ed. **New Development in Dietary Fiber**. New York: Plenum press, p.105, 1990.

HUSSEIN, S.H. *et al.* Selected fructooligosaccharide composition of pet-food ingredients. **Journal of Nutrition**, v.128, p.2803-2805, 1998.

HUSSEIN, S.H. *et al.* Petfood Applications of Inulin and Oligofructose. **Journal of Nutrition**, v.129, p.1454-1456, 1999.

KOSASA, M. Probiotics for animal use in Japan. **Science Technology International Epizootology**, v. 8, n.2, p. 517-531, 1989.

KUDOH, K. *et al.* Secretion and excretion of immunoglobulin A to cecum and feces differ with type of indigestible saccharides. **Journal of Nutrition Science**, v.45, p.173–181, 1999.

LIN, H.C.; VISEK, W.J. Large intestinal pH and ammonia in rats: dietary fat and protein interactions. **Journal of Nutrition**, v.121, p.832–843, 1991.

LILLY, D.M, STILLWEL, R.H. Probiotics grow promoting factors produced by micro organisms. **Science**, v.147, p.747-748, 1965.

MACARI, M.; FURLAN, R.L. Probióticos. CONFERENCIA APINCO, 2005. **Anais...** Santos: FACTA, p.53-68, 2005.

MACARI, M.; MAIORKA, A. Função gastrointestinal e seu impacto no rendimento avícola. In: CONFERÊNCIA APINCO'2000 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2000. **Anais...** Campinas: FACTA, v.2, p.161-174, 2000.

MADKOUR, A.A. *et al.* Smectite in acute diarrhea of children: a double-blind placebo-controlled clinical trial. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v.17, n.2, p.176-181, 1993.

MEYER, H.; SCHUNEMANN, C. Food composition and the prececal and postileal digestibility of organic matter. **Fortschr. Tierphysiol. Tierernaehr**, v.19, p.14, 1989.

MIDDELBOS, I.S. *et al.* Evaluation of fermentable oligosaccharides in diets fed to dog in comparison to fiber standards. **Journal of Animal Science**, v.85, p.3033-3044, 2007a

MIDDELBOS, I.S. *et al.* A dose-response evaluation of spray dried yeast cell wall supplementation of diets fed to adult dogs: Effects on nutrient digestibility, immune indices and fecal microbial populations. **Journal of Animal Science**, v.85, p.3022-3032, 2007b.

NACIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient Requirements of Dogs and cats**. National Academy Press. Washington, 2006, 426p.

NUNES. I.J., **Nutrição Animal Básica**. Belo Horizonte: Breder, 1995. 334p.

NURMI, E., RANTALA, M. New aspects of Salmonella infection in broiler production. **Nature**, v.241, p.210-211, 1973.

O'CARRA, R. **An Assessment of the Potential of Mannan Oligosaccharides as Immunostimulants**. Galway, Ireland.: National University of Ireland, 1997. Dissertação (Mestrado) - National University of Ireland, 1997.

OUHIDA, I. *et al.* Enzymes and sepiolite supplementation and the nutritive value of maize-barley-wheat based diets for broilers chickens. **British Poultry Science**, v.41, n.5, p.617-624, 2000.

PASSOS, L.M.M.; PARK, Y.K. Frutooligossacarídeos: implicações na saúde humana e utilização em alimentos. **Ciência Rural**, v.33,n.2, p.385-390, 2003.

PARKER, R. B. Probiotics, the other half of the antibiotic story. **Animal Nutrition Health**, v.29, p.4–8, 1974.

POND, W.G. *et al.* **Basic animal nutrition and feeding**. 4 ed., John Wiley, New York, p. 531, 1995.

ROBERFROID, M. Dietary fiber, inulin, and oligosaccharides: a review comparin their physiological effects. **Crit Reviw Food Science Nutrition**, v.33, n.2, p.103.108, 1993.

RUSSELL, T.J. The effect of natural source of non-digestible oligosaccharides on the fecal microflora of the dog and effects on digestion. **Copyright Friskies–Europe**. Friskies R & D Center, St. Joseph, MO, 1998.

SÁ-FORTES, C.M.L. **Valor nutricional de ingredientes energéticos e protéicos para cães**. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, 2005. 82p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, 2005.

SAVAGE, T.F. *et al.* The effect of feeding a mannan oligosaccharide on immunoglobulins, plasma IgG, and bile IgA of Wrolstad MW male turkeys. **Poultry Science**, v.75, p.143 (resumo), 1996.

SCHEPPACH, W. *et al.* Effects of L-glutamine and *n*-butyrate on the restitution of rat colonic mucosa after acid induced injury. **Gastrointestinal tract**. v.38, p.878–885, 1996.

SCHNEEMAN, B.O. Fiber, inulin and oligofructose: similarities and differences. **Journal of Nutrition**, v.129, 1424–1427, 1999.

SCHUTTE, J.B.; LANGHOUT, D.J. Effect of EXAL in pratical of broiler chick. **TNO Report**, v.93, p.310- 369, 1998.

SILVA, A.S.S. *et al.* Frutoligossacarídeos : fibras alimentares ativas. **B. Ceppa**, v.25, n.2, p.295-304, 2007.

SIMON, G.L., GORBBACH, S.L. Intestinal flora in health and disease. **Gastroenterology**, n.86, p.174-193, 1984.

SIMPSON, J.W. Diet and Large Intestinal Disease in dogs and cats. **Journal of Nutrition**. v.128, p.2717-2722, 1998.

SPRING, P. *et al.* The effects of dietary mannanoligosaccharides on cecal parameters and the concentrations of enteric bacteria in the ceca of Salmonella-challenged broiler chicks. **Poultry Science**, v.79, p.205-211, 2000.

STEWART, C.S., CHESSON, A. Making sense of probiotics. **Pig Veterinary Journal**, v.31, p.11-33, 1993

STROMBECK, D.R., GUILFORD, W.G. **Small Animal Gastroenterology**, 2<sup>o</sup>ed, 1991, 774p.

STRICKLING, J.A. *et al.* Evaluation of oligosaccharide addition to dog diets: influences on nutrient digestion and microbial populations. **Animal Feed Science and Technology**, v.86, p.205–219, 2000.

SWANSON, K. *et al.* Fructooligosaccharides and lactobacillus acidophilus modify gut microbial populations, total tract nutrient digestibilities and fecal protein catabolite concentrations in healthy Adult dogs. **Journal of Nutrition**, v.132, p.3721–3731, 2002a.

SWANSON, K. *et al.* Supplemental fructooligosaccharides and mannanoligosaccharides influence immune function, ileal and total tract nutrient digestibilities, microbial populations and concentrations of protein catabolites in large bowel of dogs. **Journal of Nutrition**, v.132, p.980-989, 2002b.

TERADA, A. *et al.* Effect of dietary lactosucrose on faecal flora and faecal metabolites of dogs. **Microbial Ecology Health and Disease**, v.5, p.87–92, 1992.

TORTUERO, F. Efectos de la inclusion de EXAL em lactoreemplacente sobre el crecimiento e indice de conivos en terrenos. **Avances en Alimentación y Mejora Animal**, v.24, p.13-14, 1983.

TWOMEY, L.N. *et al.* The effects, of added fructooligosaccharide (Raftilose®P95) and inulinase on faecal quality and digestibility in dogs. **Animal Feed Science and Technology**, v.108, p.83–93, 2003.

UTIYAMA, C.E. Efeitos de antimicrobianos, prebióticos, probióticos e extratos vegetais sobre a microbiota intestinal, a frequência de diarréia e o desempenho de leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.2359-2367, 2004.

VANBELLE, M. *et al.* Probiotics in animal nutrition: a review. **Archives of Animal Nutrition**, v.40, n.7, p. 543-567, 1990.

VANLOO, J., *et al.* Functional food properties of non-digestible oligosaccharides: a consensus report from the ENDO project (DGXII – CT94-1094). **British Journal of Nutrition**, v.81, p.121-132, 1998.

VICKERS, R.J. *et al.* comparison of fermentation of selected fructooligosaccharides and other fiber substrates by canine colonic microflora. **American Journal of Veterinary Research**, v.62, p.609–615, 2001.

ZENTEK, J. *et al.* Intestinal effects of mannanoligosaccharides, transgalactooligosaccharides, lactose and lactulose in dogs. **Journal of Nutrition**, v.132, p.1682-1684, 2002.

## **CAPÍTULO II – DIGESTIBILIDADE E CARACTERÍSTICAS DAS FEZES DE CÃES SUPLEMENTADOS COM *Bacillus subtilis* NA DIETA**

### **RESUMO**

Em função da capacidade moduladora dos probióticos sobre a microbiota intestinal a favor da saúde do hospedeiro, objetivou-se avaliar a digestibilidade e as características das fezes de cães suplementados com *Bacillus subtilis* (C-3102) na dieta. Para tanto, foram utilizados 12 cães jovens da raça Beagle, os quais foram distribuídos inteiramente ao acaso em dois tratamentos, dieta controle e dieta com adição de 0,01% *Bacillus subtilis* (C-3102). Os animais passaram por 25 dias de adaptação às dietas e cinco dias para colheita total de fezes. As características das fezes foram avaliadas por meio de pH, escore (1: fezes moles, mal formadas a 5: fezes secas e duras), matéria seca, amônia e produção de fezes. As médias da digestibilidade foram comparadas pelo teste Tukey e das características das fezes pelo teste Tukey-Kramer. Não houve diferença na digestibilidade, entretanto, os cães suplementados com probiótico apresentaram fezes mais consistentes e com menor teor de amônia. A suplementação com *Bacillus subtilis* (C-3102) melhora a consistência e diminui o odor das fezes dos cães.

Palavras-chave: Consistência das fezes. Microbiota intestinal. Probiótico. Saúde intestinal.

### **DIGESTIBILITY AND FECAL CHARACTERISTICS OF DOGS SUPPLEMENTED WITH *Bacillus subtilis* ON DIET**

#### **ABSTRACT**

Due to the modulation characteristic of probiotics on gut microbiot to improve host health, it aimed at evaluate the digestibility and fecal characteristics of dogs supplemented with *Bacillus subtilis* (C-3102) on diet. For that, they were utilized 12 young dogs assigned in a completely randomized desing with two treatments, control diet and adding 0.01% *Bacillus subtilis* (C-3102) on diet. The animals pass through a 25 days adaptation period and five days of total feces collection. Fecal characteristics evaluated were pH, score (1: liquid and no formed feces to 5: dry and hard feces), pH, ammonia and fecal output. Tukey's test was used to compare the means of digestibility and Tukey-Kramer's test compared the means of fecal characteristics. It was no difference on digestibility, however, dogs fed probiotic diet presented feces more consistency and less ammonia. The supplementation of 0.01% *Bacillus subtilis* (C-3102) improved fecal characteristics of dogs.

Key words: Fecal consistency. Gut health. Gut microbiot. Probiotic.

## 1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento excessivo de determinados microrganismos no intestino pode gerar inúmeros distúrbios gastrintestinais. Uma das medidas terapêuticas mais utilizadas para tratar certas enfermidades causadas por bactérias seria o uso de antibióticos. Apesar de esse método ser eficaz na maioria dos casos, pode gerar cepas resistentes, além disso, os antibióticos podem eliminar grande parte da microbiota intestinal benéfica (SUNVOLD e REINHART, 1998), a qual é importante para o funcionamento fisiológico normal do intestino.

Uma alternativa profilática ao uso de antibióticos seria os probióticos. Os probióticos (*pro*: a favor e *bio*: vida) podem ser definidos como colônias de microrganismos vivos que quando suplementados na dieta beneficiam o hospedeiro por modular a microbiota intestinal a favor de microrganismos não patogênicos. Os gêneros mais utilizados como probióticos são os produtores de lactato, *Lactobacillus* spp. e *Bifidobacterium* spp.. Entretanto, bactérias do gênero *Bacillus*, apesar de serem menos utilizadas como probióticos para cães, apresentam a vantagem de esporular, sendo mais resistentes ao meio ambiente e ao pH ácido do estômago (BIOURGE *et al.*, 1998).

Os probióticos podem inibir o desenvolvimento de bactérias patogênicas pela competição por nutrientes e por sítios de ligação no epitélio intestinal; estímulo do sistema imune do hospedeiro; produção de substâncias antimicrobianas e acidificação intestinal por meio da produção de ácidos, principalmente láctico. Além disso, segundo SALMINEN *et al.* (1998), GHADBAN (2002) e SWANSON *et al.* (2002), os probióticos sintetizam vitaminas, enzimas e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), os quais podem apresentar efeitos benéficos ao hospedeiro, como: suavização à intolerância à lactose; efeito imunomodulador; redução da duração de diarreia; redução da formação de compostos putrefativos, como a amônia (responsáveis pelo mau odor das fezes e pela carcinogênese do cólon) e incremento da digestão e absorção de água e nutrientes.

Tendo em vista o potencial efeito benéfico dos probióticos sobre as fezes e saúde intestinal dos cães, o presente estudo teve como objetivo avaliar a digestibilidade e as características das fezes de cães suplementados com probiótico (*Bacillus subtilis*, C-3102) na dieta.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Animais e local do experimento

Foram utilizados 12 cães jovens (7-8 meses de idade), machos e fêmeas da raça Beagle, sadios, vacinados e desverminados, com peso médio de  $9,0 \pm 1,2$  kg, procedentes do canil do Laboratório de Estudos de Nutrição Canina – LENUCAN, do Campus de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná – UFPR.

### 2.2. Dietas experimentais

Foram avaliadas uma dieta controle e uma com adição de 0,01% de *Bacillus subtilis* (C-3102;  $1 \times 10^{10}$  UFC.g<sup>-1</sup>) (Tabela 1). O probiótico foi adicionado a 300 mL de óleo de soja e misturado a uma ração seca extrusada comercial para cães filhotes em misturador “Y” por 15 minutos. Na dieta controle também foram adicionados 300 mL de óleo de soja para que as dietas fossem isoenergéticas.

A concentração de *Bacillus subtilis* (C-3102) nas dietas foi analisada em uma sub-amostra composta por amostras retiradas em vários pontos do saco de ração. A sub-amostra foi moída a 1 mm e 5 g desta foi incubada com o meio de cultura *Trypticase Soy Broth (BBL)*<sup>®</sup> com 2% agar para posterior contagem das unidades formadoras de colônia de *Bacillus subtilis*. g<sup>-1</sup> de ração.

Tabela 1 - Composição química analisada das dietas experimentais

(% na matéria seca)	Controle	Probiótico <sup>*1</sup>
Proteína bruta	28,7	28,3
Extrato etéreo ácido	11,3	11,2
Fibra bruta	1,5	1,5
Matéria mineral	9,9	9,7
Extrativos não-nitrogenados <sup>*2</sup>	48,4	49,3
Energia metabolizável (kcal.g <sup>-1</sup> ) <sup>*3</sup>	3,7	3,7

<sup>\*1</sup> 0,01% *Bacillus subtilis* (C-3102), com concentração de  $1 \times 10^{10}$  UFC.g<sup>-1</sup>.

<sup>\*2</sup> Estimado por: ENN (%) =  $100 - (MM\% + PB\% + EEA\% + FB\%)$

<sup>\*3</sup> Estimado por: EM (kcal.g<sup>-1</sup>) =  $[(3,5 \times PB\% + 8,5 \times EEA\% + 3,5 \times ENN\%)]/100$

### **2.3. Delineamento experimental**

O experimento seguiu delineamento inteiramente casualizado em parcela subdividida no tempo (parcela: tratamento e subparcela: dias), com cinco dias de colheita de dados e seis cães recebendo cada tratamento, totalizando 30 observações por tratamento para avaliação das características das fezes. A avaliação da digestibilidade foi realizada em delineamento inteiramente casualizado, com seis repetições por tratamento, uma vez que as análises foram realizadas no composto de fezes de cada animal após cinco dias de colheita.

### **2.4. Colheita de dados**

As dietas foram fornecidas aos cães por um período de adaptação de 25 dias seguidos de cinco dias de colheita total de fezes, sendo que até o 20º dia os cães permaneceram em baias de alvenaria com solário e então foram alojados em gaiolas metabólicas de 0,7 m altura x 0,6 m comprimento x 0,5 m largura; onde permaneceram dez dias (cinco dias de adaptação as gaiolas e cinco dias para colheita total de fezes), conforme recomendado pela ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS - AAFCO (2003).

Os alimentos foram fornecidos uma vez ao dia, às 7:30 horas, em quantidade suficiente para atender as necessidades de energia metabolizável (NEM) do animal segundo a fórmula:  $NEM = 130 \times \text{Peso corporal}^{0,75}$ , preconizada pelo NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC (2006). A água foi fornecida à vontade. Todas as fezes foram colhidas e pesadas à medida que os animais defecavam e encaminhadas para as análises laboratoriais.

### **2.5. Características das fezes e análises laboratoriais**

As características das fezes avaliadas foram: escore, matéria seca, amônia, pH e produção de fezes. O escore fecal foi avaliado sempre pelo mesmo pesquisador, atribuindo-se notas de 1 a 5, sendo: 1 = fezes pastosas e sem forma; 2 = fezes macias, mal formadas e que assumem o formato do recipiente de colheita; 3 = fezes macias, formadas e úmidas, que marcam o piso; 4 = fezes bem formadas e consistentes e que não aderem ao piso; 5 = fezes bem formadas, duras e secas (SÁ-FORTES, 2005).

As fezes frescas de cada animal foram homogeneizadas separadamente e uma sub-amostra foi utilizada para determinação da amônia segundo a

ASSOCIATION OF THE OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC (1995) e para mensuração do pH das fezes frescas (2 g de fezes frescas diluídas em 20 mL de água destilada, medido com pHmetro digital) e do pH das fezes secas por 48 horas a 55°C (2 g de fezes secas diluídas em 20 mL de água destilada, medido com pHmetro digital), conforme adaptado de WALTER *et al.* (2005). O restante foi seco em estufa de ventilação forçada a 55°C até peso constante.

As amostras das dietas e fezes secas à 55°C foram analisadas para determinação dos teores de matéria seca a 105 °C (MS), proteína bruta (PB), fibra bruta (FB), matéria mineral (MM) e extrato etéreo em hidrólise ácida (EEA), segundo metodologias descritas pela AOAC (1995). A fração correspondente aos extrativos não-nitrogenados (ENN) foi determinada segundo a fórmula:  $ENN\% = 100 - (\%UM + \%PB + \%FB + \%EEA + \%MM)$ , sendo UM o teor de umidade da amostra (100-%MS). A energia bruta (EB) das dietas e fezes foi determinada em bomba calorimétrica. A energia metabolizável (EM) foi estimada segundo a AAFCO (2003):

$$EM \text{ (kcal.g}^{-1}\text{)} = \{\text{kcal.g}^{-1} \text{ EB ingerida} - \text{kcal.g}^{-1} \text{ EB excretada nas fezes} - [(\text{g PB ingerida} - \text{g PB excretada nas fezes}) \times 1,25 \text{ kcal.g}^{-1}]\} / \text{g ração ingerida}$$

Com base nos resultados laboratoriais obtidos foram determinados os coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) das dietas, utilizando a equação proposta por MATTERSON *et al.* (1965):

$$CDA\% = [(\text{nutriente ingerido} - \text{nutriente excretado}) / \text{nutriente ingerido}] \times 100$$

## 2.6. Análise estatística

Os dados foram previamente analisados quanto à normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias, sendo realizada a transformação logarítmica quando necessário. As médias dos CDA foram submetidas à análise de variância utilizando o procedimento GLM do pacote estatístico SAS (1999), sendo comparadas pelo Teste Tukey a 5% de probabilidade. As médias das variáveis de características das fezes foram analisadas mediante teste de Tukey-Kramer a 5% de probabilidade utilizando o procedimento Mixed do SAS (1999).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não houve diferença entre os CDA e metabolizabilidade da energia das dietas controle e com probiótico ( $p>0,05$ ) (Tabela 2).

Tabela 2 – Coeficientes de digestibilidade aparente (CDA) e metabolizabilidade da energia de uma dieta controle e com probiótico em cães (média  $\pm$  erro padrão)

Variáveis	CDA (%)		CV (%)
	Controle	Probiótico <sup>*1</sup>	
Matéria seca	82,1 $\pm$ 0,44	82,4 $\pm$ 0,70	1,68
Matéria orgânica	86,3 $\pm$ 0,29	86,6 $\pm$ 0,54	1,20
Proteína bruta	85,3 $\pm$ 0,19	85,1 $\pm$ 0,74	1,49
Extrato etéreo ácido	91,7 $\pm$ 0,31	91,0 $\pm$ 0,37	0,96
Extrativos não nitrogenados	88,3 $\pm$ 0,29	89,0 $\pm$ 0,45	1,09
Energia metabolizável (kcal.g <sup>-1</sup> )	3,4 $\pm$ 0,02	3,4 $\pm$ 0,02	1,28

\*1 0,01% *Bacillus subtilis* (C-3102), com concentração de  $1 \times 10^{10}$  UFC.g<sup>-1</sup>  
CV: Coeficiente de variação

Em estudo com probiótico, BLOURGE *et al.* (1998) também não encontraram diferença na digestibilidade da matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo e energia metabolizável em cães alimentados com dieta contendo  $7,5 \times 10^6$  UFC de *Bacillus* (C-5832). Já, em outros estudo com cães, a suplementação com probiótico contendo bactérias do gênero *Lactobacillus* resultou em maior CDA da matéria seca (SWANSON *et al.*, 2002) e maior coeficiente de metabolizabilidade da energia (FELICIANO, 2008). Maior aproveitamento da energia também foi relatado por UTIYAMA (2004) em leitões desmamados suplementados com bactérias do gênero *Bacillus* na dieta.

A microbiota intestinal desempenha importante papel no funcionamento fisiológico normal do intestino, na prevenção da colonização do intestino por microrganismos patogênicos e sobre a fermentação da fibra dietética, resultando na produção de AGCC, incluindo acetato, propionato e butirato, os quais são as

principais fontes de energia para os colonócitos (SIMPSON, 1998). Segundo o NRC (2006) a presença de AGCC estimula a secreção do *glucagon like-peptide 2*, o qual estimula a diferenciação e proliferação celular e a expressão de determinados genes ligados ao transporte de nutrientes no íleo, portanto, pode melhorar a função digestiva. Além disso, o crescimento da mucosa também melhora sua função de barreira, diminuindo a translocação de microrganismos.

Além da digestibilidade, as características das fezes também são importantes variáveis a serem consideradas na avaliação da qualidade dos alimentos para cães. Os proprietários buscam alimentos que proporcionem fezes menos volumosas, mais consistentes e de menor odor, em função do maior convívio doméstico dos cães. Além disso, o aspecto das fezes pode ser reflexo da saúde intestinal do animal.

Os resultados das características das fezes estão apresentados na Tabela 3. Apesar do escore fecal ter se mantido dentro do considerado ideal (3-4) entre os tratamentos, os cães suplementados com *Bacillus subtilis* apresentaram fezes com maior escore, maior teor de matéria seca e menor concentração de amônia que os cães alimentados com a dieta controle ( $p < 0,05$ ). O pH e a produção de fezes não diferiram entre os tratamentos ( $p > 0,05$ ).

Tabela 3 – Características das fezes de cães alimentados com uma dieta controle e com probiótico (média  $\pm$  erro padrão)

Variáveis	Controle	Probiótico <sup>*1</sup>	CV (%)
Escore <sup>*2</sup>	3,0 $\pm$ 0,11 <sup>b</sup>	3,4 $\pm$ 0,09 <sup>a</sup>	18,1
Matéria seca (%)	36,5 $\pm$ 0,54 <sup>a</sup>	39,1 $\pm$ 0,64 <sup>b</sup>	9,2
pH das fezes frescas	6,7 $\pm$ 0,08	6,6 $\pm$ 0,04	3,5
pH das fezes secas	6,0 $\pm$ 0,02	6,0 $\pm$ 0,05	5,4
Amônia (%)	0,56 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	0,45 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	18,5
gMSfez.kgPC <sup>-1</sup> .dia <sup>-1*2</sup>	3,76 $\pm$ 0,27	3,23 $\pm$ 1,15	33,2

<sup>a,b,c</sup> Médias na mesma linha sem uma letra em comum diferem pelo teste Tukey-Kramer ( $p < 0,05$ )

CV: coeficiente de variação

<sup>\*1</sup> 0,01% *Bacillus subtilis* (C-3102), com concentração de  $1 \times 10^{10}$  UFC.g<sup>-1</sup>.

<sup>\*2</sup> Escore: 1: fezes pastosas e sem forma a 5: fezes bem formadas, duras e secas

<sup>\*3</sup> Produção de fezes na matéria seca (g) em um dia.peso corporal do cão (kg)<sup>-1</sup>

Em estudo realizado por SWANSON *et al.* (2002) não foram encontradas diferenças no pH, matéria seca, escore e amônia das fezes de cães recebendo duas vezes ao dia  $1 \times 10^9$  UFC de *Lactobacillus acidophilus* via cápsula de gelatina.

Entretanto, os autores observaram fezes menos consistentes e de menor pH em cães ingerindo conjuntamente *Lactobacillus* e frutoligossacarídeos. Já, FELICIANO (2008) relatou redução no pH fecal de cães suplementados com *Lactobacillus* na dieta.

Possivelmente o fato de não haver diferença no pH fecal no presente estudo seja em função da limitada capacidade em produzir ácido láctico da espécie *Bacillus subtilis*, ao contrário do gênero *Lactobacillus*. Além disso, por serem prontamente absorvidos pelos colonócitos, a concentração de AGCC nas fezes é muito baixa, sendo difícil uma redução significativa do pH fecal em função da possível maior produção de AGCC no intestino por *B. subtilis*.

A absorção de AGCC produzidos pelos microrganismos intestinais estimula a reabsorção de água, e eletrólitos, estando diretamente ligada com a função osmorreguladora do intestino. A absorção de AGCC também aumenta a taxa de absorção de sódio, e a combinação da absorção de sódio e AGCC é responsável pela maior parte da água absorvida do lúmen intestinal (HERSCHEL *et al.*, 1981), o que pode explicar a produção de fezes mais consistentes pelos cães.

Apesar de não ter sido avaliado a concentração de microrganismos nas fezes, é provável que a redução no teor de amônia das fezes seja em função da limitação no desenvolvimento de microrganismos patogênicos no intestino dos cães. Geralmente os gêneros de bactérias patogênicas, como o *Clostridium perfringens*, metabolizam compostos nitrogenados gerando catabólitos putrefativos, como a amônia, aminas biogênicas e fenóis, os quais são os principais responsáveis pelo mau odor das fezes. Além disso, muitos destes catabólitos podem ter influências negativas na saúde intestinal, já que altas concentrações de amônia parecem causar distúrbios no ciclo das células da mucosa e contribuir para a carcinogênese do cólon (LIN e VISEK, 1991).

O uso de diferentes gêneros, cepas e concentrações de microrganismos avaliados são os responsáveis por resultados tão divergentes relatados na literatura. Além disso, as diferentes composições das dietas experimentais, principalmente quanto à concentração de oligossacarídeos fermentáveis, também influenciam os resultados, tornando difícil concluir quais probióticos e em quais concentrações são mais eficazes em dietas comerciais. Outro fator importante foi apresentado em levantamento realizado por WEESE (2002) sobre probióticos comerciais utilizados em rações para animais de produção e de companhia, revelando que a

concentração de microrganismos vivos estava abaixo do nível garantido no rótulo de grande parte dos probióticos comerciais.

#### **4. CONCLUSÃO**

A suplementação com 0,01% de *Bacillus subtilis* na dieta melhora as características das fezes e a saúde intestinal dos cães por meio da redução da concentração de amônia e produção de fezes mais consistentes. Há necessidade de mais estudos, a fim de maior esclarecimento do modo de ação do *Bacillus subtilis* no trato digestório dos cães, bem como para desenvolvimento de novas técnicas para avaliação da saúde intestinal dos animais.

## 5. REFERÊNCIAS

ASSOCIATION OF AMERICAN FEED CONTROL OFFICIALS - AAFCO. **Official Publications 2003**. Association of American Feed Control Officials, 2003.

ASSOCIATION OF THE OFFICIAL ANALITICAL CHEMISTS – AOAC. **Official and tentative methods of analysis**, 16. Ed. Arlington, Virginia: AOAC International, 1995.

BIOURGE, V. *et al.* The use of probiotics in diets of dogs. **Journal of Nutrition**. v.128, p.2730S-2732S, 1998.

FELICIANO, M.A.R. **Suplementação de probiótico para cães da raça beagles recebendo alimentos comerciais**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2008. 110p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, 2008.

GHADBAN, G.S. Probiotics in Broiler production – a review. **Arch. Geflugelk**. V.66, n.2, p. 49-58, 2002.

HERSCHEL, D.A. *et al.* Absorption of volatile fatty acid, Na, and H<sub>2</sub>O by the colon of the dog. **American Journal of Veterinary Research**, n.42, p.1118–1124, 1981.

LIN, H.C.; VISEK, W.J. Large intestinal pH and ammonia in rats: dietary fat and protein interactions. **Journal of Nutrition**. v.121, p.832–843, 1991.

MATTERSON, L.D. *et al.* **The metabolizable energy of feed ingredients for chickens**. Storrs: The University of Connecticut, Agricultural Experiment Station, 1965. 11p. (Research Report, 7)

NACIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient Requirements of Dogs and Cats**. National Academy Press. Washington, 2006, 424p.

SÁ-FORTES, C.M.L. **Valor nutricional de ingredientes energéticos e protéicos para cães**. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, 2005. 82p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, 2005.

SALMINEN, S. *et al.* Demonstration of safety of probiotics- a review. **International Journal of Food Microbiology**, v.44, p.93-106, 1998.

SAS INSTITUTE. **Statistical analysis system: users guide**. Cary, 1999.

SIMPSON, J.W. Diet and Large Intestinal Disease in dogs and cats. **Journal of Nutrition**. v.128, p.2717-2722, 1998.

SUNVOLD, G.D.; REINHART, G.A. Use of novel fibers in canine gastrointestinal disease. In: 16<sup>TH</sup> ANNUAL VETERINARY MEDICAL FORUM. 1998. **Anais...** California: American College of Veterinary Internal Medicine, 1998.

SWANSON, K. *et al.* Fructooligosaccharides and *Lactobacillus acidophilus* modify gut microbial populations, total tract nutrient digestibilities and fecal protein catabolite concentrations in healthy Adult dogs. **Journal of Nutrition**, n.132, p.3721–3731, 2002.

UTIYAMA, C.E. Efeitos de antimicrobianos, prebióticos, probióticos e extratos vegetais sobre a microbiota intestinal, a frequência de diarreia e o desempenho de leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.2359-2367, 2004.

WALTER, M. *et al.* Biological response of rats to resistant starch. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.64, n.2, p.252-257, 2005.

WEESE, J.S. Evaluation of deficiencies in labeling of commercial probiotics. **Canadian Veterinary Journal**, v.44, p.982-983, 2002.

## **CAPÍTULO III - SUPLEMENTAÇÃO DE FRUTOLIGOSSACARÍDEOS (FOS) SOBRE AS CARACTERÍSTICAS DAS FEZES DE CÃES**

### **RESUMO**

Os frutoligossacarídeos (FOS) são fermentáveis por microrganismos benéficos, favorecendo seu desenvolvimento e inibindo os patógenos. Desse modo, promovem a saúde intestinal e melhoram as fezes dos cães. Sendo assim, foram avaliadas as características das fezes (matéria seca; escore, 1: fezes líquidas à 5: fezes secas; amônia, pH e produção de fezes) de cães alimentados com três níveis de inclusão de FOS (0,000; 0,047 e 0,095%) na dieta. Foram utilizados 15 cães adultos distribuídos ao acaso, em esquema de parcela subdividida no tempo, com cinco cães recebendo cada dieta (25 dias de adaptação) e cinco dias de colheita total de fezes, totalizando 25 observações por tratamento. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey-Kramer. Os cães alimentados com a dieta sem inclusão de FOS apresentaram fezes menos consistentes em relação aos animais que receberam 0,047 ou 0,095% de FOS na dieta, os quais não diferiram entre si. O pH fecal de cães suplementados com 0,095% de FOS foi menor do que o dos cães que receberam 0,047 ou 0,000% de FOS. O teor de amônia fecal e a quantidade de fezes excretadas não diferiram entre os tratamentos. A suplementação de FOS na dieta melhora as características das fezes dos cães.

Palavras-chave: Oligossacarídeos. Prebiótico. Saúde intestinal.

### **SUPPLEMENTATION OF FRUCTOOLIGOSACCHARIDES (FOS) ON FECAL CHARACTERISTICS OF DOGS**

#### **ABSTRACT**

Fructooligosaccharides (FOS) are fermentable for beneficial microorganism, improving they growth and inhibiting pathogens. Due to that, they promote gut health and improve feces of dogs. So, it was evaluated fecal characteristics (dry matter; score, 1: liquid feces to 5: dry feces, pH, ammonia and fecal output) of dogs fed three inclusion levels of FOS (0.000, 0.047 and 0.095%) in diet. Fifteen adult dogs were casualized assigned , in split-plot desing, with five dogs feeding each treatment (25 days adaptation period) and five days of total feces collection, in a total of 25 observations per treatment. Tukey-Kramer's test was used to compare the means. Dogs fed diet without FOS had feces less consistent than dogs fed 0.047 or 0.095% FOS in diet, which did not differ. Fecal pH of dogs supplemented with 0.095% FOS was lower than dogs fed 0.047 or 0.000% FOS. The fecal ammonia concentration and fecal output did not differ among then. Supplementation of FOS improved fecal characteristics of dogs.

Key words: Gut health. Oligosaccharides. Prebiotic.

## 1. INTRODUÇÃO

Os frutoligosacarídeos (FOS) são oligossacarídeos naturais que contêm uma cadeia de frutose com ligações  $\beta$  (2-1) e uma unidade de glicose terminal. Os FOS podem ser classificados como um tipo de fibra dietética solúvel (CUMMINGS e ENGLYST, 1995), entretanto, não aumentam a viscosidade do conteúdo intestinal, possivelmente não afetando significativamente a digestibilidade dos nutrientes (SCHNEEMAN, 1999). Também são considerados prebióticos, já que segundo definição de GIBSON e ROBERFROID (1995), prebiótico é um ingrediente alimentar não digestível pelas enzimas do intestino delgado que beneficia o organismo por estimular seletivamente o crescimento e/ou atividade de determinadas bactérias no cólon, promovendo a saúde do hospedeiro.

Estudos em cães têm demonstrado que a suplementação com FOS promove a saúde intestinal (RUSSELL, 1998; SWANSON *et al.*, 2002a; MIDDELBOS *et al.*, 2007). Por não serem hidrolisados no intestino delgado, os FOS são fermentados pela microbiota do intestino grosso, produzindo ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), lactato e gases, o que resulta em diminuição do pH. Em virtude da acidez intestinal, ocorre aumento nos microrganismos intestinais considerados benéficos, como *Bifidobacterium* spp. e *Lactobacillus* spp. e inibição dos microrganismos patogênicos, como *Clostridium*, *E. Coli*, *Listeria*, *Shigella*, *Salmonella*, dentre outros (BEYNEN, 2003). Além disso, a suplementação com FOS pode reduzir a produção de compostos putrefativos (fenóis, indóis, amônia, etc), os quais contribuem para o mau odor das fezes e para a carcinogênese do cólon (SWANSON *et al.*, 2002a).

Por outro lado, a ingestão excessiva de FOS pode aumentar a pressão osmótica intraluminal, resultando em aumento do trânsito intestinal, desconforto, flatulência e cólicas (TWOMEY *et al.*, 2003), sendo importante se estabelecer níveis adequados de inclusão de FOS nos alimentos comerciais. Em virtude do exposto, o objetivo do presente estudo foi avaliar as características das fezes de cães alimentados com níveis crescentes de FOS na dieta.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Animais e local do experimento

Foram utilizados 15 cães adultos (quatro anos de idade), machos e fêmeas, da raça Beagle, saudáveis, vacinados e desverminados, com peso médio de  $13,4 \pm 1,7$  kg, procedentes do canil do Laboratório de Estudos de Nutrição Canina – LENUCAN, do Campus de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná – UFPR.

### 2.2 Dietas e delineamento experimental

Foram avaliados três níveis de inclusão de FOS (0,000; 0,047 e 0,095%) em um alimento seco extrusado para cães adultos (Tabela 1). Os níveis foram atingidos com a adição de, respectivamente, 0,00; 0,05 e 0,10% de um FOS\* de cadeia curta com 95% de pureza, grau de polimerização de dois a quatro, extraído da cana-de-açúcar. O experimento seguiu delineamento inteiramente casualizado, em parcela subdividida no tempo, com cinco dias de colheita de dados e cinco cães recebendo cada tratamento, totalizando 25 observações por tratamento.

As dietas foram oferecidas aos cães por um período de adaptação de 25 dias seguidos de cinco dias de colheita total de fezes, sendo que até o 23º dia os cães permaneceram em baias de alvenaria com solário e então foram alojados em gaiolas metabólicas de 0,7 m altura x 0,6 m comprimento x 0,5 m largura, onde permaneceram sete dias (dois dias de adaptação as gaiolas e cinco dias para colheita total de fezes).

Os alimentos foram fornecidos uma vez ao dia às 7:30 horas, em quantidade suficiente para atender as necessidades de energia metabolizável (NEM) do animal segundo a fórmula:  $NEM (kcal.dia^{-1}) = 130 \times \text{Peso corporal}^{0,75}$ , preconizada pelo NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC (2006). A água foi fornecida à vontade. Todas as fezes foram colhidas e pesadas à medida que os animais defecavam e encaminhadas para as análises laboratoriais.

\*Fortifeed® (P95)

Tabela 1 - Ingredientes e composição química da dieta experimental

Ingredientes	%
Milho	44,0
Quirera de arroz	4,0
Farelo de soja	15,0
Farinha de carne e ossos	15,0
Farinha de peixe	1,0
Farinha de vísceras de frango	14,0
Gordura de frango	3,5
Palatabilizante	2,5
Suplemento vitamínico e mineral <sup>*1</sup>	0,5
Cloreto de sódio	0,5
Composição química analisada (% na matéria seca)	
Matéria seca (MS)	89,4
Matéria orgânica (MO)	90,0
Matéria mineral (MM)	9,9
Proteína bruta (PB)	30,6
Extrato etéreo ácido (EEA)	8,5
Fibra bruta (FB)	2,3
Extrativos não-nitrogenados (ENN) <sup>*2</sup>	37,9
Energia metabolizável (kcal/g) (EM) <sup>*3</sup>	3,1

\*<sup>1</sup>Enriquecimento.kg de alimento<sup>-1</sup>: Vit. A – 20000 UI; Vit. D – 2000 UI; Vit. E – 48 mg; Vit. K - 48 mg; Vit. B1 - 4 mg; Vit. B2 – 32 mg; Ácido Pantotênico – 16 mg; Niacina – 56 mg; Colina – 800 mg; Zinco – 150 mg; Ferro – 100 mg; Cobre – 15 mg; Iodo – 1,5 mg; Manganês – 30 mg; Selenio – 0,2 mg e antioxidante 240 mg.

\*<sup>2</sup>Estimado por: ENN (%) = MS% – (MM% + PB% + EEA% + FB%)

\*<sup>3</sup>Estimado por: EM (kcal.g<sup>-1</sup>) = (3,5 x PB% + 8,5 x EEA% + 3,5 x ENN%)

### 2.3 Análises

As características das fezes avaliadas foram: escore, matéria seca, amônia, pH e produção de fezes. O escore fecal foi avaliado sempre pelo mesmo pesquisador, atribuindo-se notas de 1 a 5, sendo: 1 = fezes pastosas e sem forma; 2 = fezes macias, mal formadas e que assumem o formato do recipiente de colheita; 3 = fezes macias, formadas e úmidas, que marcam o piso; 4 = fezes bem formadas e consistentes e que não aderem ao piso; 5 = fezes bem formadas, duras e secas (SÁ-FORTES, 2005).

As fezes frescas de cada animal foram homogeneizadas separadamente e uma subamostra foi utilizada para determinação da amônia segundo a ASSOCIATION OF THE OFFICIAL ANALITICAL CHEMISTS - AOAC (1995) e para mensuração do pH das fezes frescas (2 g de fezes frescas diluídas em 20 mL de água destilada, medido com pHmetro digital) e do pH das fezes secas por 48 horas a 55°C (2 g de fezes secas diluídas em 20 mL de água destilada, medido com pHmetro digital), conforme adaptado de WALTER *et al.* (2005). O restante foi seco em estufa de ventilação forçada a 55°C até atingir peso constante. Após secagem, foi analisado o teor de matéria seca a 105 °C ( $MS_{105^{\circ}C}$ ), para obtenção da matéria seca original [ $MSO = (MS_{55^{\circ}C} \times MS_{105^{\circ}C})/100$ ].

## 2.4 Análise estatística

Os dados foram previamente analisados quanto à normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias, sendo realizada a transformação logarítmica quando necessário. As médias foram analisadas mediante teste de Tukey-Kramer a 5% de probabilidade utilizando o procedimento Mixed do SAS (1999).

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A consistência das fezes, além de importante variável na avaliação de alimentos para cães é indicativa da saúde intestinal do animal. Os cães alimentados com a dieta sem inclusão de FOS apresentaram fezes com menor teor de matéria seca e menor escore ( $P < 0,05$ ) em relação aos animais que receberam 0,047 ou 0,095% de FOS, os quais não diferiram entre si ( $P > 0,05$ ) (Tabela 2).

Tabela 2. Características das fezes de cães alimentados com diferentes níveis de frutoligossacarídeos (FOS) na dieta (média  $\pm$  erro padrão)

Variáveis	Níveis de FOS (%) <sup>*1</sup>			CV (%)
	0,000	0,047	0,095	
Escore	2,5 $\pm$ 0,10 <sup>b</sup>	3,2 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup>	3,4 $\pm$ 0,10 <sup>a</sup>	15,8
Matéria seca %	34,8 $\pm$ 0,67 <sup>b</sup>	38,2 $\pm$ 0,86 <sup>a</sup>	38,9 $\pm$ 0,95 <sup>a</sup>	11,8
pH das fezes frescas	6,5 $\pm$ 0,09 <sup>a</sup>	6,6 $\pm$ 0,06 <sup>a</sup>	6,3 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>	2,7
pH das fezes secas	6,2 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	6,2 $\pm$ 0,04 <sup>a</sup>	6,1 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	1,1
Amônia %	0,30 $\pm$ 0,01	0,35 $\pm$ 0,02	0,30 $\pm$ 0,01	21,1
gMSfez.kgPC <sup>-1</sup> .dia <sup>-1</sup> <sup>*3</sup>	5,04 $\pm$ 0,39	5,39 $\pm$ 0,52	5,72 $\pm$ 0,41	39,8

<sup>a,b,c</sup> Médias na mesma linha sem uma letra em comum diferem pelo teste Tukey-Kramer ( $p < 0,05$ )

CV = Coeficiente de variação

<sup>\*1</sup> = Níveis de FOS obtidos com adição de 0,00; 0,05 e 0,10%, respectivamente, de *Fortifeed*<sup>®</sup>P95 na ração.

<sup>\*2</sup> Escore: 1: fezes pastosas e sem forma; 2: fezes macias e mal formadas; 3: fezes macias, formadas e úmidas, que marcam o piso; 4: fezes bem formadas e consistentes e que não aderem ao piso; 5: fezes bem formadas, duras e secas

<sup>\*3</sup> = produção de fezes na matéria seca (g) em um dia.peso corporal do cão (kg)<sup>-1</sup>

Os AGCC produzidos a partir da fermentação dos FOS pela microbiota do cólon são rapidamente absorvidos pelos colonócitos, sendo, portanto, os principais anions responsáveis pela reabsorção de água do intestino por osmose (HERSCHEL *et al.*, 1981). Entretanto, as propriedades de reabsorção de água do lúmen intestinal dos AGCC parecem ser dose dependente, já que em concentrações extremamente altas ou baixas é possível que os AGCC contribuam para o aumento do teor de água nas fezes (NRC, 2006).

Trabalhando com a inclusão de 0,0; 3,0 e 6,0% de FOS na dieta, TWOMEY *et al.* (2003) encontraram diminuição no teor de matéria seca e pior escore das fezes de cães alimentados com o maior nível de FOS. Isto ocorre, principalmente, devido aos efeitos físicos e ao aumento da osmolaridade no lúmen intestinal causado pela fração não fermentada e pelos produtos da fermentação dos FOS, como o ácido láctico. Segundo STRICKLING *et al.* (2000) a inclusão de oligossacarídeos em até 0,5% na matéria seca não afeta a digestibilidade dos nutrientes ou a qualidade das fezes.

O pH das fezes de cães suplementados com 0,095% de FOS foi menor ( $P < 0,05$ ) do que o dos cães que receberam 0,047 ou 0,000% de FOS (Tabela 2). Resultados semelhantes foram obtidos por TWOMEY *et al.* (2003), os quais também

relataram diminuição do pH das fezes com o aumento da ingestão de FOS, em virtude, principalmente, do aumento da concentração de lactato. Os produtos finais do processo de fermentação irão influenciar a concentração de ácidos nas fezes e, por conseguinte, o pH fecal. O aumento da fermentação devido à alta disponibilidade de substrato no intestino grosso causa acúmulo destes ácidos, resultando em diminuição do pH intestinal e, por conseguinte, do pH das fezes.

Apesar do número de bactérias produtoras de lactato, como *Lactobacillus* spp. e *Bifidobacterium* spp., não terem sido determinados neste estudo, o menor pH das fezes de cães alimentados com o maior nível de FOS pode estar correlacionado com o maior desenvolvimento e atividade destes microrganismos no intestino grosso, como relatado por MIDDELBOS *et al.* (2007), os quais estudando diferentes fontes de fibra (celulose, polpa de beterraba, FOS e MOS), observaram maior concentração de *Bifidobacterium* spp. e *Lactobacillus* spp. nas fezes de cães alimentados com fibras fermentáveis, em relação aos cães que receberam a dieta com celulose. Resultados semelhantes foram descritos por RUSSELL (1998), que encontraram maior concentração de *Bifidobacterium* spp. nas fezes de cães suplementados com 1% de FOS ou 3% de chicória na ração e por SWANSON *et al.* (2002a), os quais além de *Bifidobacterium* spp., também observaram maior concentração de *Lactobacillus* spp., butirato e ácido láctico e menor concentração de *Clostridium perfringens* em cães suplementados com 4 g de FOS por dia via cápsula. Entretanto, os autores não encontraram diferença entre os tratamentos quanto ao pH, score, matéria seca e produção de fezes.

O teor de amônia das fezes e a quantidade de fezes excretadas não diferiram entre os tratamentos ( $P > 0,05$ ) (Tabela 2). Provavelmente a quantidade máxima suplementada de 0,095% de FOS não tenha sido suficiente para alterar a formação de compostos nitrogenados no intestino grosso, já que em estudo feito com FOS, SWANSON *et al.* (2002a) encontraram menor concentração de amônia nas fezes de cães suplementados com 4 g FOS por dia, e em trabalho prévio realizado pelos mesmos autores (SWANSON *et al.*, 2002b), não foi observada diferença no teor de amônia das fezes de cães suplementados com 2 g FOS por dia.

Os microrganismos metabolizam compostos nitrogenados gerando catabólitos putrefativos, como a amônia, aminas biogênicas e fenóis, os quais são os principais responsáveis pelo mau odor das fezes. Além disso, muitos destes catabólitos podem ter influências negativas na saúde intestinal, já que altas concentrações de amônia

parecem causar distúrbios no ciclo das células da mucosa e contribuir para a carcinogênese do cólon (LIN e VISEK, 1991).

O metabolismo do nitrogênio no cólon pela microbiota pode ser modificado pela disponibilidade de substrato, principalmente pelos carboidratos dietéticos. Carboidratos fermentáveis, incluindo os FOS, podem diminuir a concentração de compostos putrefativos por agir como fonte energética adicional (REMESY e DEMIGNE, 1989). Quando a energia (carboidratos) está limitada, as bactérias fermentam aminoácidos a AGCC e amônia para obter energia. Entretanto, se há energia suficiente disponível o teor de compostos nitrogenados diminui e as concentrações de nitrogênio fecal, como massa microbiana, aumentam (SWANSON *et al.*, 2002a).

#### **4. CONCLUSÃO**

A suplementação de 0,047 ou 0,095% de FOS na dieta melhora as características das fezes dos cães. Entretanto, mais pesquisas são necessárias para se conhecer os melhores níveis de FOS a serem suplementados em alimentos comerciais para cães, já que os efeitos relatados nos diferentes estudos ainda são controversos, devido à grande variação nos níveis suplementados, efeitos cumulativos de ingredientes ricos em polissacarídeos rapidamente fermentáveis das dietas experimentais e aos diferentes períodos de adaptação aos tratamentos.

## 5. REFERÊNCIAS

ASSOCIATION OF THE OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS – AOAC. **Official and tentative methods of analysis**, 16. Ed. Arlington, Virginia: AOAC International, 1995.

BEYNEN, A.C. Nutraceuticals: Claims vs. evidence In: PRODUCTION SYMPOSIUM TRADE SHOW – PET FOOD FORUM. 2003. **Anais...** Chicago: Illinois, p.169 a 175, 2003.

CUMMINGS, J.H., ENGLYST, H.N. Gastrointestinal effects of food carbohydrate. **American Journal of Clinical Nutrition**. v.61, p.938–945, 1995.

GIBSON, G.R., ROBERFROID, M.B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **Journal of Nutrition**. v.125, p.1401–1412, 1995.

HERSCHEL, D. A. *et al.* Absorption of volatile fatty acid, Na, and H<sub>2</sub>O by the colon of the dog. **American Journal of Veterinary Research**. v.42, p.1118–1124, 1981.

LIN, H.C.; VISEK, W.J. Large intestinal pH and ammonia in rats: dietary fat and protein interactions. **Journal of Nutrition**. v.121, p.832–843, 1991.

MIDDELBOS, I.S. *et al.* Evaluation of fermentable oligosaccharides in diets fed to dog in comparison to fiber standards. **Journal of Animal Science**. v.85, p.3033-3044, 2007.

NACIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient Requirements of Dogs and Cats**. National Academy Press. Washington, 2006, 426p.

REMESY, C.; DEMIGNE, C. Specific effects of fermentable carbohydrates on blood urea flux and ammonia absorption in the rat cecum. **Journal of Nutrition**. v.119, p.560–565, 1989.

RUSSELL, T. J. The effect of natural source of non-digestible oligosaccharides on the fecal microflora of the dog and effects on digestion. **Copyright Friskies–Europe**. Friskies R & D Center, St. Joseph, MO, 1998.

SÁ-FORTES, C.M.L. **Valor nutricional de ingredientes energéticos e protéicos para cães**. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, 2005. 82p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, 2005.

SAS INSTITUTE. **Statistical analysis system: users guide**. Cary, 1999.

SCHNEEMAN, B.O. Fiber, inulin and oligofructose: similarities and differences. **Journal of Nutrition**. v.129, 1424–1427, 1999.

STRICKLING, J.A. *et al.* Evaluation of oligosaccharide addition to dog diets: influences on nutrient digestion and microbial populations. **Animal Feed Science and Technology**. v.86, p.205–219, 2000.

SWANSON, K. *et al.* Fructooligosaccharides and lactobacillus acidophilus modify gut microbial populations, total tract nutrient digestibilities and fecal protein catabolite concentrations in healthy Adult dogs. **Journal of Nutrition**. v.132, p.3721–3731, 2002a.

SWANSON, K. *et al.* Supplemental fructooligosaccharides and mannanoligosaccharides influence immune function, ileal and total tract nutrient digestibilities, microbial populations and concentrations of protein catabolites in large bowel of dogs. **Journal of Nutrition**. v.132, p.980-989, 2002b.

TWOMEY, L.N. *et al.* The effects, of added fructooligosaccharide (Raftilose®P95) and inulinase on faecal quality and digestibility in dogs. **Animal Feed Science and Technology**. v.108, p.83–93, 2003.

WALTER, M. *et al.* Biological response of rats to resistant starch. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.64, n.2, p.252-257, 2005.

## **CAPÍTULO IV - SUPLEMENTAÇÃO DE MANANOLIGOSSACARÍDEOS (MOS) E ALUMINOSILICATO SOBRE AS CARACTERÍSTICAS DAS FEZES DE CÃES**

### **RESUMO**

O presente estudo teve como objetivo avaliar as características das fezes (matéria seca; escore, 1: fezes líquidas à 5: fezes secas; amônia, pH e produção de fezes) de cães alimentados com três dietas: controle, com suplementação de 0,10% de MOS e com 0,25% de aluminossilicato. Foram utilizados 15 cães adultos distribuídos ao acaso, em esquema de parcela subdividida no tempo, com cinco cães recebendo cada tratamento (25 dias de adaptação as dietas) e cinco dias de colheita total de fezes, totalizando 25 observações por tratamento. As médias foram comparadas pelo teste Tukey-Kramer. Os cães suplementados com aluminossilicato apresentaram maior teor de matéria seca (40,40%) e maior escore das fezes (4,00), em relação às outras dietas. A adição de MOS na dieta resultou em valores intermediários para matéria seca (37,91%) e escore fecal (3,64), enquanto os cães alimentados com a dieta controle apresentaram fezes com menor teor de matéria seca (35,72%) e escore (2,84). O teor de amônia foi menor nas fezes dos cães alimentados com as dietas contendo aluminossilicato (0,25%) ou MOS (0,25%), em relação à dieta controle (0,29%). O pH e a quantidade de fezes excretadas não diferiram entre os tratamentos. A adição de aluminossilicato ou MOS na dieta melhora a consistência e diminui o odor das fezes dos cães.

Palavras-chave: Argila. Consistência das fezes. Oligossacarídeos. Prebiótico.

### **SUPPLEMENTATION OF MANNANOLIGOSACHARIDES (MOS) AND ALUMINOSSILICATE ON FECAL CHARACTERISTICS OF DOGS**

#### **ABSTRACT**

This study aimed to evaluate fecal characteristics (dry matter; score, 1: liquid feces to 5: dry feces; pH, ammonia and fecal output) of dogs fed three diets: control, supplemented with 0.10% MOS and with 0.25% aluminossilicate. Fifteen adult dogs were casualized assigned in split-plot desing, with five dogs feeding each treatment (25 days adaptation period) and five days of total feces collection, in a total of 25 observations per treatment. Tukey-Kramer's test was used to compare the means. Dogs supplemented with aluminossilicate in diet had higher fecal dry matter content (40.40%) and higher fecal score (4.00) than the other diets. The supplementation of MOS resulted in medium dry matter content (35.72%) and fecal score (3.64), while dogs fed the control diet showed lower fecal dry matter content (35.72%) and score (2.84). The concentration of ammonia was lower in feces of dogs fed diets with aluminossilicate (0.25%) or MOS (0.25%), than on the control diet (0.29%). The diets did not differ about pH and fecal output. The inclusion of aluminossilicate or MOS improve fecal consistency and lower ammonia of feces of dogs.

Key words: Clay. Fecal consistency. Oligosaccharides. Prebiotic.

## 1. INTRODUÇÃO

Assim como a avaliação da digestibilidade do alimento, a qualidade das fezes produzidas também é importante aspecto a ser considerado na nutrição de cães. Os proprietários dos animais buscam alimentos que proporcionem fezes mais consistentes e de menor odor, facilitando a higienização do ambiente nos quais os cães são criados.

A produção de fezes mais firmes e secas pelos cães pode ser resultante da ingestão de alimentos de alta digestibilidade, com ingredientes de boa qualidade, com moderado teor de fibras e bem processados. Entretanto, em formulações com alta inclusão de farelos e/ou em alimentos para cães de raças grandes, os quais geralmente apresentam fezes mais úmidas, pode-se empregar aditivos, como os prebióticos, os quais são moduladores da microbiota intestinal ou as argilas, que formam complexo com a água, impedindo que esta permaneça livre nas fezes.

As argilas são sais minerais insolúveis e pertencem à família dos silicatos de alumínio (MADKOUR *et al.*, 1993). Sua estrutura básica é tetraédrica: quatro átomos de oxigênios ao redor de um átomo de silício ou alumínio. As argilas mais utilizadas são zeolitas, bentonita, esmectita e sepiolita. A capacidade adsorvente das argilas é devida à sua molécula aberta que possui o cátion sódio ( $\text{Na}^+$ ). O  $\text{Na}^+$  fica solvatado às moléculas de água, aumentando várias vezes o seu volume, o que leva à formação de um colóide, melhorando a consistência das fezes (FERREIRA *et al.*, 2005).

Os mananoligossacarídeos (MOS) são oligossacarídeos derivados das paredes de leveduras, que não são hidrolisados pelas enzimas digestivas, sendo moderadamente fermentados no cólon por *Lactobacillus* spp. e *Bifidobacterium* spp. (VICKERS *et al.*, 2001). Os MOS podem modular o sistema imunológico e a microbiota intestinal, bloqueiam a aderência das bactérias patogênicas ao ocupar os sítios das células da mucosa do intestino e induzem a ativação dos macrófagos, saturando os receptores de manose das glicoproteínas da superfície celular (MACARI & MAIORKA, 2000; STRICKLING *et al.*, 2000). Em função deste efeito modulador da microbiota, os MOS podem contribuir para a saúde intestinal e para a melhora das fezes dos cães. Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar as características das fezes de cães suplementados com MOS ou aluminossilicato na dieta.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Animais e local do experimento

Foram utilizados 15 cães adultos (quatro anos de idade), machos e fêmeas, da raça Beagle, saudáveis, vacinados e desverminados, com peso médio de  $13,4 \pm 1,7$  kg, procedentes do canil do Laboratório de Estudos de Nutrição Canina – LENUCAN, da Universidade Federal do Paraná – UFPR.

### 2.2 Dietas e delineamento experimental

Foram avaliadas três dietas: controle, com adição de 0,25% de aluminossilicato\* e com adição de 0,10% de MOS\*. A mistura de aluminossilicatos ou o MOS foi adicionado a 300 mL de óleo de soja e misturados a uma ração seca extrusada para cães adultos em misturador “Y” por 15 minutos. Os ingredientes e a composição química da dieta estão apresentados na Tabela 1.

O experimento seguiu delineamento inteiramente casualizado em parcela subdividida no tempo (parcela: tratamento e subparcela: dias), com cinco dias de colheita de dados e cinco cães recebendo cada tratamento, totalizando 25 observações por tratamento. As dietas foram oferecidas para os cães por um período de adaptação de 25 dias seguidos de cinco dias de colheita total de fezes, sendo que até o 23º dia os cães permaneceram em baias de alvenaria com solário e então foram alojados em gaiolas metabólicas de 0,7 m altura x 0,6 m comprimento x 0,5 m largura, onde permaneceram sete dias (dois dias de adaptação as gaiolas e cinco dias para colheita total de fezes).

Os alimentos foram fornecidos uma vez ao dia, às 7:30 horas, em quantidade suficiente para atender as necessidades de energia metabolizável (NEM) do animal segundo a fórmula:  $NEM = 130 \times \text{Peso corporal}^{0,75}$ , preconizada pelo NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC (2006). A água foi fornecida à vontade.

\*Produtos cedidos pela GRASP®

Tabela 1 – Ingredientes e composição química analisada da dieta experimental

Ingredientes	%
Milho	44,0
Quirera de arroz	4,0
Farelo de soja	15,0
Farinha de carne e ossos	15,0
Farinha de peixe	1,0
Farinha de vísceras de frango	14,0
Gordura de frango	3,5
Palatabilizante	2,5
Suplemento vitamínico e mineral <sup>*1</sup>	0,5
Cloreto de sódio	0,5
Composição química analisada (% na matéria seca)	
Matéria seca (MS) %	89,4
Matéria orgânica (MO)	90,0
Matéria mineral (MM)	9,9
Proteína bruta (PB)	30,6
Extrato etéreo ácido (EEA)	8,5
Fibra bruta (FB)	2,3
Extrativos não-nitrogenados (ENN) <sup>*2</sup>	37,9
Energia metabolizável (kcal.g <sup>-1</sup> ) (EM) <sup>*3</sup>	3,1

<sup>\*1</sup>Enriquecimento/kg de alimento: Vit. A – 20000 UI; Vit. D – 2000 UI; Vit. E – 48 mg; Vit. K - 48 mg; Vit. B1 - 4 mg; Vit. B2 – 32 mg; Ácido Pantotênico – 16 mg; Niacina – 56 mg; Colina – 800 mg; Zinco – 150 mg; Ferro – 100 mg; Cobre – 15 mg; Iodo – 1,5 mg; Manganês – 30 mg; Selenio – 0,2 mg e antioxidante 240 mg.

<sup>\*2</sup>Estimado por: ENN (%) = MS% – (MM% + PB% + EEA% + FB%)

<sup>\*3</sup>Estimado por: EM (kcal.g<sup>-1</sup>) = [(3,5 x PB% + 8,5 x EEA% + 3,5 x ENN%)]/100

### 2.3 Análises

Todas as fezes foram colhidas e pesadas à medida que os animais defecavam e encaminhadas para as análises laboratoriais. A qualidade das fezes foi avaliada a partir dos valores de escore, matéria seca (MS), amônia, pH e produção de fezes. O escore fecal foi avaliado atribuindo-se notas de 1 a 5, sendo: 1 = fezes pastosas; 2 = fezes macias e mal formadas; 3 = fezes formadas e úmidas; 4 = fezes bem formadas e consistentes; 5 = fezes bem formadas, secas e duras (SÁ-FORTES, 2005).

As fezes frescas de cada animal foram homogeneizadas separadamente e uma sub-amostra foi utilizada para determinação da amônia segundo a AOAC (1995) e para mensuração do pH das fezes frescas (2 g de fezes frescas diluídas em 20 mL de água destilada, medido com pHmetro digital) e do pH das fezes secas por 48 horas a 55°C (2 g de fezes secas diluídas em 20 mL de água destilada, medido com pHmetro digital). O restante foi seco em estufa de ventilação forçada a 55°C até atingir peso constante. Após secagem, foi analisado o teor de matéria seca a 105°C (MS105°C), para obtenção da matéria seca original [MSO = (MS55°C x MS105°C)/100].

#### **2.4 Análise estatística**

Os dados foram previamente analisados quanto à normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias, sendo realizada a transformação logarítmica quando necessário. Em seguida as médias foram comparadas mediante teste de Tukey-Kramer a 5% de probabilidade utilizando o procedimento Mixed do SAS (1999).

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os cães suplementados com aluminossilicato apresentaram fezes com maior teor de matéria seca e maior escore, em relação às outras dietas. A adição de MOS na dieta resultou em valores intermediários para matéria seca e escore fecal, enquanto que os cães alimentados com a dieta controle apresentaram fezes mais úmidas e de menor escore (Tabela 2).

A concentração de amônia foi menor nas fezes dos cães alimentados com as dietas contendo aluminossilicato ou MOS, em relação à dieta controle. O pH e a quantidade de fezes excretadas não diferiram entre os tratamentos (Tabela 2).

Tabela 2 - Características das fezes de cães suplementados com aluminossilicato ou mananoligossacarídeos (MOS) na dieta (média  $\pm$  erro padrão)

Variáveis	Controle	0,25% Aluminossilicato* <sup>1</sup>	0,10% MOS* <sup>1</sup>	CV%
Escore* <sup>2</sup>	2,8 $\pm$ 0,09 <sup>c</sup>	4,0 $\pm$ 0,10 <sup>a</sup>	3,6 $\pm$ 0,10 <sup>b</sup>	19,6
Matéria seca%	35,7 $\pm$ 0,37 <sup>c</sup>	40,4 $\pm$ 0,42 <sup>a</sup>	37,9 $\pm$ 0,21 <sup>b</sup>	9,6
pH das fezes frescas	7,1 $\pm$ 0,05	6,9 $\pm$ 0,05	6,9 $\pm$ 0,03	3,3
pH das fezes secas	6,6 $\pm$ 0,04	6,6 $\pm$ 0,04	6,6 $\pm$ 0,03	3,1
Amônia%	0,35 $\pm$ 0,01 <sup>a</sup>	0,30 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	0,30 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>	24,4
gMSfez.kgPC <sup>-1</sup> .dia <sup>-1*3</sup>	6,92 $\pm$ 0,38	7,66 $\pm$ 0,59	7,02 $\pm$ 0,37	31,8

<sup>a,b,c</sup> Médias na mesma linha sem uma letra em comum diferem pelo teste Tukey-Kramer ( $p < 0,05$ )

CV = Coeficiente de variação

\*<sup>1</sup> Produtos cedidos pela GRASP

\*<sup>2</sup> Escore: 1: fezes pastosas e sem forma; 2: fezes macias e mal formadas; 3: fezes macias, formadas e úmidas, que marcam o piso; 4: fezes bem formadas e consistentes e que não aderem ao piso; 5: fezes bem formadas, duras e secas

\*<sup>3</sup> Produção de fezes na matéria seca (g) em um dia.peso corporal do cão (kg)<sup>-1</sup>

DELBECQUE (1995) relatou redução em até 25% do teor de umidade das fezes de aves e suínos suplementados com aluminossilicato na dieta. Além da sua capacidade de adsorção de água, a diminuição na umidade das fezes também pode estar relacionada ao aumento no tempo de trânsito intestinal, como descrito por FIORAMONTI *et al.* (1991), os quais observaram redução na motilidade intestinal em cães suplementados com silicato de alumínio esmectita na dieta. Segundo FERREIRA *et al.* (2005) os aluminossilicatos também podem limitar o desenvolvimento de microrganismos no intestino e adsorver toxinas e bactérias, fato este que pode explicar a menor concentração de amônia nas fezes dos cães suplementados com aluminossilicato na dieta.

Os microrganismos patogênicos fermentam compostos nitrogenados gerando amônia, fenóis e indóis, os quais são os principais responsáveis pelo mau odor das fezes e pela carcinogênese do cólon (SWANSON *et al.*, 2002). Em estudo com oligossacarídeos, ZENTEK *et al.* (2002) observaram menor pH fecal e menor água livre e teor de amônia nas fezes de cães suplementados com 1 g.kg<sup>-1</sup> de peso corporal por dia de MOS, em relação à dieta controle. Apesar do presente estudo ter encontrado resultados semelhantes em relação à menor umidade e menor concentração de amônia das fezes, é possível que o nível de MOS suplementado

(0,10%) não seja suficiente para alterar a fermentação no intestino grosso a ponto da diferença ser encontrada por medição do pH das fezes.

A menor umidade e concentração de amônia nas fezes dos cães suplementados com MOS podem estar relacionadas ao efeito modulador dos MOS sobre a microbiota intestinal, reduzindo, por exclusão competitiva a população de microrganismos patogênicos, como *Salmonella* spp. e *Clostridium* spp. (STRICKLING *et al.*, 2000) e, por conseguinte, contribuindo ao desenvolvimento dos microrganismos considerados benéficos, como os *Lactobacillus* spp e *Bifidobacterium* spp.

Os AGCC produzidos principalmente por *Lactobacillus* spp e *Bifidobacterium* spp. são rapidamente absorvidos pelos colonócitos, sendo, portanto, os principais anions responsáveis pela reabsorção de água do intestino por osmose (HERSCHEL *et al.*, 1981). Entretanto, as propriedades de reabsorção de água do lúmen intestinal dos AGCC parecem ser dose dependente, já que em concentrações extremamente altas ou baixas é possível que os AGCC contribuam para o aumento do teor de água nas fezes (HERSCHEL *et al.*, 1981).

#### **4. CONCLUSÃO**

A inclusão de aluminossilicato na dieta melhora a qualidade das fezes dos cães, por meio da redução do teor de umidade e amônia fecal. A suplementação com MOS também contribui para a produção de fezes mais consistentes e com menor teor de amônia, embora, com efeito menos pronunciado que o aluminossilicato quanto a consistência das fezes.

## 5. REFERÊNCIAS

ASSOCIATION OF THE OFFICIAL ANALITICAL CHEMISTS – AOAC. **Official and tentative methods of analysis**, 16.ed. Arlington, Virginia: AOAC International, 1995.

DELBECQUE, G. Les argiles en la alimentation animale. In: ANNALES DU SYMPOSIUM ALIMENTATION ANIMALE ET SANTE PUBLIQUE, **Anais...** Alfort, 1995.

FERREIRA, A.C.K. *et al.* O uso de aluminossilicato (Silvet<sup>®</sup>) como adjuvante na melhora do aspecto das fezes e desempenho das aves. **Archives of Veterinary Science**, v.10, n.1, p.117-122, 2005.

FIORAMONTI, J. *et al.* Absortine and motor components of the antidiarrhoeal action of loperamide a in vivo study in pigs. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v.40, p.30-35, 1991.

HERSCHEL, D.A. *et al.* Absorption of volatile fatty acid, Na, and H<sub>2</sub>O by the colon of the dog. **American Journal of Veterinary Research**. n.42, p.1118–1124, 1981.

MACARI, M.; MAIORKA, A. Função gastrintestinal e seu impacto no rendimento avícola. In: CONFERÊNCIA APINCO'2000 DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2000, Campinas. **Anais...** Campinas: FACTA, 2000. v.2, p.161-174

MADKOUR, A.A. *et al.* Smectite in acute diarrhea of children: a double-blind placebo-controlled clinical trial. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v.17, n.2, p.176-181, 1993.

NACIONAL RESEARCH COUNCIL – NRC. **Nutrient Requirements of Dogs and Cats**. National academy press. Washington, 2006. 426p.

SÁ-FORTES, C.M.L. **Valor nutricional de ingredientes energéticos e protéicos para cães**. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, 2005. 82p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, 2005.

SAS INSTITUTE. **Statistical analysis system: users guide**. Cary, 1999.

STRICKLING, J.A. *et al.* Evaluation of oligosaccharide addition to dog diets: influences on nutrient digestion and microbial populations. **Animal Feed Science and Technology**, v.86, n.2, p.205-219, 2000.

SWANSON, K. *et al.* Supplemental fructooligosaccharides and mannanoligosaccharides influence immune function, ileal and total tract nutrient digestibilities, microbial populations and concentrations of protein catabolites in large bowel of dogs. **Journal of Nutrition**, n.132, p.980-989, 2002.

VICKERS, R.J. *et al.* comparison of fermentation of selected fructooligosaccharides and other fiber substrates by canine colonic microflora. **American Journal of Veterinary Research**, v.62, p.609–615, 2001.

ZENTEK, J. *et al.* Intestinal effects of mannanoligosaccharides, transgalactooligosaccharides, lactose and lactulose in dogs. **Journal of Nutrition**, v.132, p.1682-1684, 2002.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O papel dos cães na sociedade tem mudado ao longo dos anos. Antigamente, o principal interesse do homem pelo cão era para auxílio em atividades de caça, guarda, pastoreio, condução de trenó ou entretenimento, como animais de corrida. Entretanto, características de docilidade e companheirismo, inerentes a espécie canina, fizeram com que o cão se tornasse parte integrante das famílias, desempenhando importante papel na vida de muitas pessoas.

Sendo assim, a alimentação fornecida a esses animais também se modificou ao longo dos anos. Partindo de sobras de comida e alimentos caseiros, até rações básicas enlatadas e extrusadas nas primeiras décadas do século XX, aos alimentos extrusados atuais, fabricados sob normas de controle de qualidade e formulados especificamente para diferentes raças e cães com necessidades especiais, contendo ingredientes selecionados e nutracêuticos para melhorar a saúde e longevidade dos animais.

Por serem considerados como membro da família, há a tendência das pessoas desejarem fornecer aos seus cães alimentos similares aos que consomem. Desse modo, a evolução na alimentação de cães acompanhou as pesquisas na área de nutrição humana, principalmente quanto ao processamento dos alimentos e ao uso de nutracêuticos, ou alimentos funcionais, como probióticos, prebióticos, ácidos orgânicos, ácidos graxos essenciais, aminoácidos, dentre outros.

Como o trato digestório é a principal porta de entrada de substâncias exógenas ao organismo, sua higidez é fundamental para o bom aproveitamento dos nutrientes dos alimentos e ao mesmo tempo para impedir que microrganismos patogênicos e toxinas atinjam a corrente sanguínea e outros órgãos. Alguns dos aditivos supracitados, como probióticos, prebióticos e argilas podem promover a higidez intestinal, já que apresentam efeito modulador sobre a microbiota do trato gastrointestinal (TGI) dos animais, estimulando o desenvolvimento de microrganismos não-patogênicos em detrimento dos patogênicos.

Uma alimentação balanceada, produzida com ingredientes de qualidade, aliada a um intestino contendo microbiota equilibrada, além de auxiliar na manutenção da saúde do organismo como um todo, também resultam na formação de fezes menos volumosas, mais consistentes e menos fétidas pelos cães. Isto é um fator importante, considerando que os cães estão vivendo cada vez mais em

apartamentos ou no interior das casas e, portanto, deseja-se que as fezes sejam o menos possível o ambiente.

Em função de o cão ser um animal basicamente carnívoro, ou carnívoro não estrito, sua dieta apresenta alto teor protéico. As fontes protéicas utilizadas na maioria dos alimentos comerciais são geralmente farinhas de subprodutos de origem animal, as quais podem conter contaminantes e nem sempre serem bem processadas e farelos vegetais ricos em fibras, podendo resultar na chegada de alto teor de compostos nitrogenados não digeridos no intestino grosso, os quais são substratos para microrganismos proteolíticos, como o *Clostridium perfringens*. Estes microrganismos fermentam compostos nitrogenados formando substâncias putrefativas, como amônia e aminas biogênicas, as quais, além de serem as principais responsáveis pelo mau odor das fezes, são tóxicas às células da mucosa intestinal, podendo gerar colite e carcinogênese do cólon e comprometer a função de barreira da mucosa.

Os aditivos moduladores da microbiota intestinal podem ser importantes adjuvantes no controle de microrganismos patogênicos, como *Clostridium* e *E. coli*. Uma vez que promovem o desenvolvimento da microbiota não-patogênica, constituída principalmente por microrganismos produtores de lactato, como *Lactobacillus* spp. e *Bifidobacterium* spp.. Estes microrganismos reduzem o pH intestinal, por meio da produção de ácido láctico e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), inibindo, deste modo, o desenvolvimento de microrganismos patogênicos.

O estudo de aditivos sobre a saúde intestinal de cães é uma ciência difícil em função, principalmente, da interferência dos ingredientes das dietas experimentais sobre os efeitos dos aditivos, ampla variedade de populações de microrganismos que habitam o TGI e da dificuldade em se coletar amostras de fluído e epitélio intestinal de forma pouco evasiva aos animais. Dessa maneira, as medidas indiretas mais utilizadas para avaliação dos efeitos de probióticos, prebióticos e argilas sobre a microbiota intestinal são realizadas por meio das fezes.

Apesar das fezes fornecerem indicativos sobre a saúde intestinal, nem sempre podem ser altamente representativas das interações que ocorrem no trato digestório, uma vez que grande parte dos metabólitos formados, como AGCC, lactato e amônia são prontamente metabolizados pelas células da mucosa intestinal e alguns microrganismos permanecem mais aderidos ao trato digestório que outros, não sendo recuperados em grandes concentrações nas fezes. Portanto, nem

sempre será possível encontrar maior número de bactérias lácticas, lactato e menor pH nas fezes com a suplementação de um probiótico ou prebiótico na dieta, mesmo que estes efeitos biológicos tenham ocorrido no intestino.

Por outro lado, como elucidado anteriormente, geralmente a produção de fezes menos volumosas, mais consistentes e de menor odor podem ser reflexo de um intestino saudável. Portanto, medidas da consistência, umidade, água livre, produção de fezes e concentração de compostos putrefativos, podem ser utilizadas como variáveis complementares na avaliação de certos aditivos na dieta.

A pontuação das fezes por escore é um método de fácil execução, bem representativo e amplamente utilizado pelos pesquisadores para medir a consistência das fezes. Entretanto, por ser subjetivo, é importante que seja realizado por apenas um pesquisador durante o período de colheita de fezes e que todas as características de cada pontuação estejam bem definidas pelo pesquisador. Além disso, alguns cuidados devem ser tomados para que os resultados não sejam mascarados, como quando há a presença de fezes de diferentes escores (algumas moles e outras mais consistentes, por exemplo) no mesmo monte defecado. Neste caso, aconselha-se a considerar como escore a pontuação que represente a maioria das fezes defecadas (pelo menos 2/3 destas). Outro problema comum ocorre quando as fezes encontram-se amassadas na gaiola pelas patas do animal, resultando em fezes amorfas e com teor de umidade alterado, sendo difícil identificar o escore original das fezes. Para evitar que isso ocorra deve-se procurar colher as fezes com maior frequência, para que estas permaneçam o menor tempo possível próximo ao animal.

Apesar da maioria dos pesquisadores adotarem pontuação de 1 a 5, a comparação dos escores de fezes entre os diferentes trabalhos se torna dificultada, devido à falta de padronização no meio científico sobre as características de cada pontuação. Alguns pesquisadores consideram valores de 1: fezes bem formadas, duras e ressecadas a 5: fezes amorfas, moles, quase líquidas. Em contrapartida, outros consideram o contrário, 1: fezes amorfas, moles, quase líquidas a 5: fezes bem formadas, duras e ressecadas.

A determinação do teor de matéria seca das fezes, apesar de ser um método quantitativo, portanto, mais preciso que o escore, nem sempre é representativo da consistência das fezes, pois a água pode estar ligada a alguns componentes higroscópicos nas fezes (como minerais e fibras) o que as mantém firmes,

entretanto, quando secas na estufa, a água presa é evaporada, e o teor de matéria seca final pode se equivaler ao teor de matéria seca de fezes menos consistentes, produzidas por outro animal, que ingeriu um alimento diferente. Sendo assim, outro método complementar para avaliação da consistência das fezes seria a determinação da água livre das fezes, a qual é medida em função do sobrenadante obtido pela centrifugação das fezes frescas. De modo geral, os métodos de avaliação da consistência das fezes são complementares, devendo ser utilizados juntos sempre que possível.

Vale ressaltar que nem sempre a melhor consistência de fezes para os donos dos cães é a melhor para os animais. Fezes muito ressecadas e duras, apesar de facilitar a higienização do ambiente, predispõem a retenção fecal e podem resultar em distúrbios intestinais. Além do mais, o prolongamento da permanência das fezes no intestino grosso permite maior tempo de fermentação da fração protéica não digerida e, por conseguinte, maior exposição da mucosa intestinal à compostos putrefativos tóxicos. Portanto, é importante a formulação de dietas balanceadas, principalmente quanto à composição de fibras, a fim de promover a saúde intestinal dos animais e a produção de fezes com escore “ideal”.

Outras determinações que podem ser realizadas nas fezes, correlacionadas mais diretamente com a saúde intestinal, seriam a medição do pH, o qual está relacionado com o grau de fermentação intestinal e determinações de AGCC (acético, propiônico e butírico, principalmente) e lactato. Além disso, pode ser avaliada a concentração de compostos putrefativos, como aminas biogênicas, indóis, fenóis, ácidos graxos de cadeia ramificada e amônia. E a avaliação de microrganismos utilizando meios de cultura, ELISA ou extração de DNA das fezes seguido por reação em cadeia da polimerase (PCR). No caso da determinação da concentração de microrganismos nas fezes, observa-se dificuldade em se conseguir isolar apenas uma cepa, uma vez que o número de gêneros e espécies de microrganismos presentes nas fezes é muito grande, dificultando o isolamento de apenas uma espécie, mesmo com a utilização de meios de cultura e antibióticos específicos.

Apesar dos empecilhos ao estudo desses aditivos em cães, a maioria dos trabalhos demonstra que os probióticos, prebióticos e argilas apresentam efeitos benéficos sobre as características das fezes, melhorando a consistência e diminuindo o mau odor e sobre a saúde intestinal dos cães, modulando a microbiota

intestinal a favor de bactérias não prejudiciais ao hospedeiro. Entretanto, apesar dos efeitos benéficos relatados, a presença de resultados controversos entre os trabalhos demonstra a importância da realização de novos estudos, a fim de maior esclarecimento do modo de ação dos mesmos no organismo dos animais e para se estabelecer os níveis funcionais de inclusão desses aditivos nos alimentos comerciais.

O conhecimento da dosagem a ser utilizada na dieta é fundamental para que o aditivo apresente efeito desejável, uma vez que a relação entre o nível de inclusão funcional e o nível que pode causar efeitos adversos aos animais geralmente é muito estreita. Prebióticos altamente fermentáveis, como os frutoligosacarídeos (FOS), quando adicionados em níveis superiores a 0,5% em dietas básicas (compostas por milho, quirera de arroz, farelo de soja e farinhas de subprodutos animal) podem prejudicar a digestibilidade e causar cólicas, flatulência e produção de fezes menos consistentes pelos cães. Isto ocorre devido ao extravasamento de líquido para o lúmen intestinal, em função do aumento da pressão osmótica intraluminal causado pela alta concentração de lactato produzido. Em contrapartida, argilas suplementadas em níveis superiores ao recomendado (geralmente acima de 0,5 – 0,8%) podem levar a retenção fecal e a distúrbios digestivos sérios.

O recente interesse em estudos com cães e, portanto, o limitado número de trabalhos científicos, ainda gera resultados divergentes sobre os efeitos de *Bacillus subtilis*, FOS, mananoligosacarídeos (MOS) e aluminossilicato no organismo dos cães. A presença de resultados tão divergentes entre os estudos se deve à grande variação nos níveis dos aditivos suplementados, como no caso dos FOS, que variam de 0,05 a 6% da matéria seca da dieta; efeitos cumulativos de ingredientes ricos em polissacarídeos rapidamente fermentáveis das dietas experimentais (como estaquiose e rafinose da soja), o que pode mascarar o efeito dos prebióticos; composição química dos prebióticos, como grau de polimerização da cadeia dos FOS e o uso de MOS purificados ou parede de levedura; diferentes períodos de adaptação aos tratamentos, variando de três a 25 dias e desafio microbiológico aos quais os animais são submetidos.

O momento de inclusão dos aditivos na dieta torna-se outro fator a ser estudado futuramente, já que a maioria dos trabalhos avalia os aditivos misturados à dieta após a extrusão, prática esta pouco funcional na indústria. As elevadas temperaturas, pressão e umidade empregadas durante o processo de extrusão

podem diminuir ou eliminar a funcionalidade dos aditivos, já que podem clivar as cadeias dos FOS, resultar na saturação dos aluminossilicatos por água, a qual pode não ser perdida no processo de secagem e eliminar os microrganismos dos probióticos.

Em relação aos probióticos, o uso de diferentes gêneros, cepas e concentrações de microrganismos avaliados são os responsáveis por resultados tão divergentes relatados na literatura. Além disso, a concentração de microrganismos viáveis no produto; grau de desafio que os animais são submetidos e as diferentes composições das dietas experimentais, principalmente quanto à concentração de oligossacarídeos fermentáveis e qualidade da proteína, também influenciam os resultados, tornando difícil concluir quais probióticos e em quais concentrações são mais eficazes em dietas comerciais.

Em virtude do exposto, a necessidade de novos estudos sobre aditivos moduladores da microbiota intestinal e melhoradores das características das fezes dos cães é imprescindível, a fim de se estabelecer os níveis funcionais que devem ser adotados pela indústria. Além da avaliação dos aditivos, também é importante que novas metodologias sejam estudadas para maior precisão e elucidação dos efeitos dos aditivos sobre a saúde dos cães. Outro ponto fundamental é a necessidade da realização de estudos nacionais, uma vez que os ingredientes utilizados nas dietas experimentais em estudos fora do Brasil são pouco representativos das matérias-primas empregadas nas formulações nacionais.

Por fim, o *Bacillus subtilis*, FOS, MOS e aluminossilicato podem apresentar efeitos benéficos à saúde intestinal e sobre as características das fezes excretadas pelos cães, quando suplementados em níveis adequados na dieta. Entretanto, sua adição na dieta deve ocorrer com finalidade adjuvante a uma fórmula balanceada, ingredientes de qualidade e processamento adequado, não como único fator que deva melhorar a saúde dos animais quando os outros fatores não estão adequados.