



JÉSSICA SANTANA DOS REIS

**NÍVEIS DE *Yucca schidigera* EM DIETAS COM
DIFERENTES NÍVEIS DE PROTEÍNA, PARA
CÃES**

LAVRAS – MG

2012

JÉSSICA SANTANA DOS REIS

**NÍVEIS DE *Yucca schidigera* EM DIETAS COM DIFERENTES NÍVEIS
DE PROTEÍNA, PARA CÃES**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção e Nutrição de Não-Ruminantes, para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora

Dra. Flávia Maria de Oliveira Borges Saad

LAVRAS - MG

2012

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca da UFLA**

Reis, Jéssica Santana dos.

Níveis de *Yucca schidigera* em dietas com diferentes níveis de proteína, para cães / Jéssica Santana dos Reis. – Lavras : UFLA, 2012.

126 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2012.

Orientador: Flávia Maria de Oliveira Borges Saad.

Bibliografia.

1. Caninos. 2. Aditivos. 3. Parâmetros metabólicos. 4. Odor fecal.
5. Nutrição. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 636.708557

JÉSSICA SANTANA DOS REIS

**NÍVEIS DE *Yucca schidigera* EM DIETAS COM DIFERENTES NÍVEIS
DE PROTEÍNA, PARA CÃES**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Produção e Nutrição de Não-Ruminantes, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 24 de fevereiro de 2012.

Dr. Carlos Artur Lopes Leite	UFLA
Dra. Janine França	UFU
Dr. Márcio Antônio Brunetto	USP-Pirassununga
Dra. Priscila Vieira e Rosa	UFLA

Dra Flávia Maria de Oliveira Borges Saad
Orientadora

LAVRAS - MG

2012

OFEREÇO

À Deus, por ter me concedido a vida e por mais uma vez iluminar meus caminhos.

Aos meus pais, José Américo dos Reis Filho (in memoriam) e Márcia Stania Santana dos Reis pelo apoio, confiança, educação e por sacrificar seus objetivos em prol dos meus.

À minha irmã, Jennifer Santana dos Reis que, mesmo longe, apoiou-me em todas as minhas decisões.

Ao meu noivo, Moacyr Brotas Bussular, pelo amor, amizade, carinho e compreensão.

À minha cadela, Bianca, por ser minha amiga, companheira, confiante, meu porto seguro, e pelos inesquecíveis passeios e brincadeiras.

A todos os meus familiares que, mesmo distantes, sempre estiveram em minha torcida.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pois sem sua vontade nada seria possível!

À minha orientadora, Flávia Borges, pela confiança durante o Mestrado e por abrir novos caminhos na minha vida acadêmica.

À Universidade Federal de Lavras que me deu oportunidade para que realizasse o Mestrado.

A todos os professores da Pós-Graduação do Departamento de Zootecnia e Medicina Veterinária que contribuíram ao meu conhecimento.

À Fapemig pela concessão da bolsa de estudos durante todo o Mestrado.

À empresa ICC pelo financiamento deste projeto.

À Janine França e Rosana Claudio Silva Ogoshi que contribuíram incessantemente ao meu conhecimento, pelas longas conversas e que, além de colegas de trabalho, são grandes amigas.

À todos os integrantes do NENAC e aos que já passaram por ele, que me ajudaram a concretizar este trabalho.

À Fernanda Sayuri Ebina minha companheira de canil e dos dias intermináveis de laboratório.

Aos técnicos do Laboratório de Pesquisa Animal do Departamento de Zootecnia que contribuíram nas análises químicas deste trabalho e pelos momentos de descontração.

A todos que fizeram e fazem parte da minha vida

“Leva na brincadeira
Não me leve a mal
Nem tudo é de primeira
Nem tudo é banal
Uma vida só é perfeita
Quando chega ao final
O que passou, passou
Não volta nunca mais
O que passou, passou
E só experiência traz
Por isso que eu não vivo de passado
Sigo olhando pra frente
Com Deus do meu lado
Falar que vai correr atrás do tempo perdido
Falar que vai fazer o que não tinha conseguido
São meros desejos
Sonhos que já passaram
Pessoas que passam a vida se culpando porque erraram
Mas a parada é sempre olhar pra frente
Manter a cabeça fria
Mesmo embaixo do sol quente
O que se leva da vida
É a vida que se leva
Se tu vacilar então já era”

Túlio Dek

AUTOBIOGRAFIA

Jéssica Santana dos Reis, filha de José Américo dos Reis Filho e Márcia Stania Santana dos Reis nasceu em dois de abril de 1986 na cidade de Salvador – BA.

Em março de 2004, ingressou na Universidade Estadual de Santa Cruz, onde, em janeiro de 2009 obteve o título de Médica Veterinária.

No ano de 2009 ingressou como aluna especial do curso de Pós-Graduação em Zootecnia na Universidade Federal de Lavras, concentrando seus estudos na área de Nutrição e Produção de Não-Ruminantes.

Em março de 2010 iniciou o curso de Pós-Graduação em Zootecnia na mesma universidade, ainda concentrando seus estudos na área de Nutrição e Produção de Não-Ruminantes.

Em fevereiro de 2012 submeteu-se à defesa de Dissertação para obtenção do título de Mestre.

RESUMO

Com objetivo de avaliar os efeitos da inclusão de níveis crescentes de extrato de *Yucca schidigera* (YSE) em dietas comerciais secas para cães adultos com 21% ou 29% de proteína bruta (PB), foi realizado um experimento no Centro de Estudos em Nutrição de Animais de Companhia (CENAC) da Universidade Federal de Lavras. Foram utilizados 20 cães adultos, com peso médio de $14,2 \pm 1,65$ kg, em dois períodos, com oito tratamentos e cinco repetições por tratamento. Os tratamentos testados foram: T1-Controle 1: ração comercial com 21% de PB sem YSE; T2-Controle 1 + inclusão de 250ppm de YSE; T3-Controle 1 + 500ppm de YSE; T4-Controle 1 + 750ppm de YSE; T5-Controle 2: ração comercial com 29% de PB sem YSE; T6-Controle 2 + 250ppm de YSE; T7-Controle 2 + 500ppm de YSE; T8-Controle 2 + 750ppm de YSE. Para todas as variáveis analisadas, não houve interação entre os teores de proteína da dieta e os níveis de inclusão de YSE ($p > 0,05$). Em todos os níveis de inclusão de YSE não foram observadas diferenças quanto à digestibilidade dos nutrientes; balanço de nitrogênio; escore fecal; espessura de parede intestinal; parâmetros hematológicos (exceto hemoglobina corpuscular média - HCM e volume corpuscular médio - VCM); concentrações plasmáticas de proteínas totais, albumina, globulina e relação albumina/globulina (A/G); atividade sérica da enzima fosfatase alcalina; bilirrubina total, direta e indireta; concentração sérica de triglicerídeos, lipoproteínas de muito alta densidade (VLDL); lipoproteína de alta densidade (HDL); uréia; pH e densidade urinária ($p > 0,05$). O nível de 500ppm foi eficaz na redução do odor fecal de animais alimentados com dieta contendo 29% de PB ($p < 0,05$). As inclusões de 250, 500 e 750ppm de YSE reduziram a concentração de nitrogênio amoniacal fecal ($p < 0,05$); e os níveis de 250 e 500ppm reduziram a concentração de gases intestinais ($p = 0,0558$). A inclusão de 750ppm de YSE proporcionou o aumento nos valores da hemoglobina ($p < 0,05$); VCM (no nível de significância de $p = 0,0826$); HCM ($p < 0,05$), e alanina aminotransferase (ALT) ($p < 0,05$). Foi observado efeito a $p = 0,0534$ na inclusão de 750ppm para a concentração sérica de colesterol. Para os diferentes teores de PB da dieta foram observadas diferenças na digestibilidade da matéria seca ($p < 0,05$); nitrogênio consumido, absorvido e excretado nas fezes e urina; odor fecal; hematócrito; contagem de hemácias; hemoglobina; proteínas totais; ureia sérica e pH urinário ($p < 0,05$). A inclusão de 500ppm de YSE apresenta maior efeito sobre a redução do odor fecal de cães alimentados com dieta contendo 29% de PB e novos estudos são necessários para determinar o efeito da alta inclusão de YSE na dieta de cães em longo prazo.

Palavras-chave: Aditivo. Caninos. Odor fecal. Parâmetros metabólicos.

ABSTRACT

In order to evaluate the inclusion effects levels of extract increasing *Yucca schidigera* extract (YSE) in dry commercial diets for adult dogs with 21% or 29% crude protein (CP), an experiment was conducted at the Center for Studies in Nutrition Companion Animals (CENAC), Federal University of Lavras. Twenty adult dogs with average weight of 14.2 ± 1.65 kg were used in two periods, with eight treatments and five replicates per treatment. The treatments were: T1-Control 1: commercial diet with 21% CP without YSE; T2-Control 1 + inclusion of 250 ppm YSE; T3-Control 1 + 500ppm YSE; T4-Control 1 + 750 ppm YSE; T5-Control 2: commercial diet with 29% CP without YSE; T6-Control 2 + 250ppm YSE; T7-Control 2 + 500ppm YSE; T8-Control 2 + 750ppm YSE. For all variables analyzed, there was not interaction between diet protein content and the inclusion levels YSE ($p>0.05$). At all inclusion levels YSE were not observed differences on the nutrients digestibility; nitrogen balance; fecal score; bowel wall thickness; hematological parameters (except mean corpuscular hemoglobin - MCH and mean corpuscular volume - MCV); plasma concentrations of total protein; albumin, globulin and the A/G ratio; serum activity of the enzyme alkaline phosphatase; total direct and indirect bilirubin; serum triglycerides concentrations, very high density lipoproteins (VLDL); high density lipoprotein (HDL); urea; pH and urinary density ($p>0.05$). The level of 500ppm was effective in reducing fecal odor of animals fed a diet containing 29% CP ($p<0.05$). The inclusions of 250, 500 and 750ppm YSE reduced fecal ammonia concentration ($p<0.05$); and the levels of 250 and 500ppm reduced the concentration of intestinal gas ($p=0.0558$). The inclusion of 750ppm YSE led to increased on hemoglobin values ($p<0.05$); MCV (in the level of significance $p=0.0826$); MCH ($p<0.05$), and alanine aminotransferase (ALT) ($p<0.05$). Effect was observed for the $p=0.0534$ in inclusion of 750ppm for the serum concentration of cholesterol. For the different contents of CP diet were observed differences in dry matter digestibility ($p<0.05$); nitrogen consumed, absorbed and excreted in the feces and urine; fecal odor; hematocrit; blood counts; hemoglobin; total protein; serum urea and urinary pH ($p<0.05$). The inclusion of 500ppm YSE has greater effect on reducing the fecal odor dogs fed diet containing 29% CP and new studies are necessary to determine the high inclusion effect YSE on diet of dogs to long term.

Keywords: Additive. Canines. Fecal odor. Metabolic parameters.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 Estrutura básica de sapogeninas: triterpenoide (a) e esteroide (b).
R` : radical arila RO: radical alcoxila..... 22
- Figura 2 Imagem fotográfica da radiografia laterolateral de um cão, com a seta vermelha indicando a escala de 1,0cm 56
- Figura 3 Imagem fotográfica da radiografia laterolateral de um cão com marcações das áreas de gás feitas no programa Photoshop CS4® .
Seta vermelha indica os recortes das áreas de gás..... 57
- Figura 4 Imagem ultrassonográfica do abdômen de um cão com seta vermelha mostrando a espessura da parede intestinal, na região proximal do duodeno. O círculo vermelho evidencia a mensuração da espessura em milímetros 58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Intervalos de referência de proteínas plasmáticas de cães adultos saudáveis.....	39
Tabela 2	Intervalos de referência de parâmetros hematológicos de cães adultos saudáveis.....	40
Tabela 3	Intervalos de referência da atividade sérica de enzimas hepáticas e bilirrubina total e frações em cães adultos saudáveis	45
Tabela 4	Cronograma experimental	49
Tabela 5	Tratamentos experimentais empregados no estudo.....	50
Tabela 6	Níveis nutricionais na matéria natural e composição básica ¹ apresentados no rótulo da ração comercial considerada como Tratamento 1	50
Tabela 7	Níveis nutricionais na matéria natural e composição básica ¹ apresentados no rótulo da ração comercial considerada como Tratamento 5	51
Tabela 8	Níveis nutricionais do extrato de <i>Yucca schidigera</i> empregada no estudo, com base na matéria natural.....	51
Tabela 9	Níveis nutricionais das dietas obtidas por meio de análise laboratorial, com base na matéria seca	52
Tabela 10	Coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca (CDAMS), proteína bruta (CDAPB), extrato etéreo (CDAEE), matéria mineral (CDAMM), em percentagem (%), em base na matéria seca, conforme os níveis de extrato de <i>Yucca schidigera</i> (YSE) e proteína bruta (PB) em dietas para cães (média \pm erro padrão da média)	63

Tabela 11 Nitrogênio consumido (N CON), nitrogênio absorvido (N ABS), nitrogênio fecal (N FEC), nitrogênio urinário (N UR) em g/dia, e balanço aparente de nitrogênio (BAN), conforme os níveis de extrato de <i>Yucca schidigera</i> (YSE) e proteína bruta (PB) em dietas para cães (média ± erro padrão da média)	65
Tabela 12 Escore fecal médio de cães adultos alimentados com dieta contendo 21% de proteína bruta (PB) e diferentes níveis de inclusão de extrato de <i>Yucca schidigera</i> (YSE) (média ± erro padrão da média).....	66
Tabela 13 Escore fecal médio de cães adultos alimentados com dieta contendo 29% de proteína bruta (PB) e diferentes níveis de inclusão de extrato de <i>Yucca schidigera</i> (YSE) (média ± erro padrão da média).....	66
Tabela 14 Comparações de escore fecal de cães adultos alimentados com dieta contendo 21% ou 29% de proteína bruta (PB) e diferentes níveis de inclusão de extrato de <i>Yucca schidigera</i> (YSE) (média ± erro padrão da média).....	67
Tabela 15 Comparação do odor de fezes de cães adultos alimentados com dietas com 21% de proteína bruta (Tratamento 1) ou 29% de proteína bruta (Tratamento 5), ambas sem inclusão de extrato de <i>Yucca schidigera</i>	69
Tabela 16 Comparações do odor de fezes de cães adultos alimentados com dietas contendo 21% ou 29% de proteína bruta (PB) com e sem inclusão de extrato de <i>Yucca schidigera</i> (YSE).....	69
Tabela 17 Avaliação da mudança de opinião para odor fecal de cães adultos, considerando o efeito do YSE (250 vs 500ppm) para o teor de proteína bruta (PB) dietética de 21%	71

Tabela 18 Avaliação da mudança de opinião para odor fecal de cães adultos, considerando o efeito do YSE (250 vs 750ppm) para o teor de proteína bruta (PB) dietética de 21%	71
Tabela 19 Avaliação da mudança de opinião para odor fecal de cães adultos, considerando o efeito do YSE (500 vs 750ppm) para o teor de proteína bruta (PB) dietética de 21%	72
Tabela 20 Avaliação da mudança de opinião para odor fecal de cães adultos, considerando o efeito do YSE (250 vs 500ppm) para o teor de proteína bruta (PB) dietética de 29%	73
Tabela 21 Avaliação da mudança de opinião para odor fecal de cães adultos, considerando o efeito do YSE (250 vs 750ppm) para o teor de proteína bruta (PB) dietética de 29%	73
Tabela 22 Avaliação da mudança de opinião para odor fecal de cães adultos, considerando o efeito do YSE (500 vs 750ppm) para o teor de proteína bruta (PB) dietética de 29%	74
Tabela 23 Avaliação da mudança de opinião para odor fecal de cães adultos, considerando o efeito do teor de PB (21% vs 29%) na inclusão de 250ppm de extrato de <i>Yucca schidigera</i> (YSE).....	75
Tabela 24 Avaliação da mudança de opinião para odor fecal de cães adultos, considerando o efeito do teor de PB (21% vs 29%) na inclusão de 500ppm de extrato de <i>Yucca schidigera</i> (YSE).....	75
Tabela 25 Avaliação da mudança de opinião para odor fecal de cães adultos, considerando o efeito do teor de PB (21% vs 29%) na inclusão de 750ppm de extrato de <i>Yucca schidigera</i> (YSE).....	76
Tabela 26 Nitrogênio amoniacal das fezes, em g/100g, conforme os níveis de extrato de <i>Yucca schidigera</i> (YSE) e proteína bruta (PB) estudados em cães adultos (média ± erro padrão da média).....	78

Tabela 27	Área de gás (A. GÁS), em cm ² , e espessura de parede intestinal (E. PAR.), em mm, de cães adultos, conforme os níveis de extrato de <i>Yucca schidigera</i> (YSE) e proteína bruta (PB) dietéticos (média ± erro padrão da média).....	80
Tabela 28	Hematócrito (HT) em %, hemácias (HM) em milhões/mm ³ , hemoglobina (HG) em g/dL, volume corpuscular médio (VCM) em fl, hemoglobina corpuscular média (HCM) em pg, concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) em % e plaquetas (PLQ) /mm ³ , de cães adultos, conforme os níveis de extrato de <i>Yucca schidigera</i> (YSE) e proteína bruta (PB) dietéticos (média ± erro padrão da média).....	82
Tabela 29	Concentrações plasmáticas de proteínas totais (PTOT), albumina (ALB), globulina (GLOB), em g/dL, e relação A/G de cães adultos, conforme os níveis de extrato de <i>Yucca schidigera</i> (YSE) e proteína bruta (PB) dietéticos (média ± erro padrão da média).....	85
Tabela 30	Atividade das enzimas alanina aminotransferase (ALT) e fosfatase alcalina (FA), em U/L, e de bilirrubina total (BTOT), bilirrubina direta (BDIR) e de bilirrubina indireta (BIND) em mg/dL, de cães adultos, conforme os níveis de extrato de <i>Yucca schidigera</i> (YSE) e proteína bruta (PB) dietéticos (média ± erro padrão da média).....	87
Tabela 31	Concentrações séricas de colesterol (COL), triglicerídeos (TAG), lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), lipoproteína de alta densidade (HDL) e ureia (URE), em mg/dL, de cães adultos, conforme os níveis de extrato de <i>Yucca schidigera</i> (YSE) e proteína bruta (PB) dietéticos (média ± erro padrão da média)	89

Tabela 32 pH urinário (pH URIN.) e densidade urinária (DENS. URIN.) de
cães adultos, conforme os níveis de extrato de *Yucca schidigera*
(YSE) e proteína bruta (PB) dietéticos (média \pm erro padrão da
média)..... 94

LISTA DE SIGLAS

ALT	Alanina aminotransferase
ANFALPET	Associação Nacional dos Fabricantes de Alimentos para Animais de Estimação
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
AST	Aspartato aminotransferase
BAN	Balanco de nitrogênio
BDIR	Bilirrubina direta
BIND	Bilirrubina indireta
BTOT	Bilirrubina total
CDA	Coefficiente de digestibilidade aparente
CHCM	Concentração de hemoglobina corpuscular média
COL	Colesterol
CV	Coefficiente de variação
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
EE	Extrato etéreo
FA	Fosfatase alcalina
GLDH	Glutamato desidrogenase
HCM	Hemoglobina corpuscular média
HDL	Lipoproteína de alta densidade
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
MM	Matéria mineral
MN	Matéria natural
MS	Matéria seca
NRC	<i>National Research Council</i>
PB	Proteína bruta
SAS	<i>Statistical Analysis Software</i>

SDH	Sorbitol desidrogenase
TAG	Triglicerídeos
VCM	Volume corpuscular médio
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade
YSC	<i>Yucca schidigera</i>
YSE	Extrato de <i>Yucca schidigera</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
2	REFERENCIAL TEÓRICO	22
2.1	<i>Yucca schidigera</i>	22
2.1.1	Odor fecal e produção de gás	24
2.1.2	Escore fecal.....	27
2.1.3	Digestibilidade	28
2.1.4	Metabolismo de nitrogênio.....	31
2.1.5	Parâmetros hematológicos	32
2.1.6	Colesterol.....	34
2.2	Parâmetros sanguíneos e urinários.....	37
2.2.1	Proteínas totais, albumina e globulina.....	37
2.2.2	Hemograma	39
2.2.3	Metabolismo lipídico	40
2.2.4	Testes hepáticos	42
2.2.5	pH e densidade urinária.....	45
3	MATERIAL E MÉTODOS	48
3.1	Local e instalações	48
3.2	Animais utilizados e tratamentos experimentais	49
3.3	Procedimento experimental	53
3.3.1	Teste de redução de odor de fezes.....	53
3.3.2	Coletas de amostras para determinação de nitrogênio amoniacal fecal.....	54
3.3.3	Coletas de amostras para digestibilidade, pH e densidade urinária.....	54
3.3.4	Escore fecal.....	55
3.3.5	Exames radiográficos e ultrassonográficos.....	55
3.3.6	Coleta de amostras sanguíneas	58
3.4	Análises bromatológicas e metodologia dos cálculos.....	59
3.5	Análises estatísticas	60
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	62
4.1	Coefficientes de digestibilidade aparente das dietas experimentais e balanço de nitrogênio.....	62
4.2	Escore fecal.....	66
4.3	Painel de odores.....	68
4.4	Nitrogênio amoniacal	77
4.5	Área de gás e espessura de parede intestinal.....	79
4.6	Parâmetros sanguíneos.....	81
4.7	pH e densidade urinária.....	92
5	CONCLUSÃO	95

REFERÊNCIAS	96
ANEXOS	112

1 INTRODUÇÃO

Os proprietários de cães e gatos, com o passar dos anos, vêm almejando uma vida longa e saudável para o seu animal de estimação, de modo que a manutenção da saúde destes, por meio da alimentação seja um fator importante perante a guarda responsável. Atualmente, *pets* são mantidos como parte da família e, portanto, é responsabilidade dos proprietários garantirem a seus animais longevidade e qualidade de vida. A qualidade de vida, avaliada sob o aspecto da redução da incidência de doenças, parece ser reforçada pelas melhorias na alimentação dos animais de companhia. Além disso, os proprietários buscam cada vez mais fornecer aos cães alimentos que, além de adequada nutrição, também resultem em fezes menos volumosas, mais consistentes e menos fétidas, uma vez que existe uma estreita relação entre o trato gastrointestinal e a saúde do animal. Baseado nesses aspectos, a indústria *pet food* nos últimos anos, tem feito substanciais investimentos em pesquisas, principalmente no que concerne ao uso de aditivos alimentares.

Segundo consta na Instrução Normativa nº 13 de 30 de novembro de 2004, os aditivos são produtos incorporados intencionalmente ao alimento com a finalidade de conferir alguma característica desejável, desde que não prejudique seu valor nutricional. O emprego dos aditivos alimentares na indústria *pet food* ainda é um grande desafio, uma vez que esses e seus metabólitos requerem análises toxicológicas rigorosas a curto e longo prazo para aprovação do seu uso (BRASIL, 2004). Um dos aditivos usados em larga escala na alimentação de animais de companhia é a *Yucca schidigera*, a qual é empregada principalmente para redução do odor fecal

No entanto, embora tenham sido realizados estudos objetivando avaliar os efeitos da inclusão de extrato de *Yucca schidigera* em baixas concentrações na dieta de cães, faltam informações a respeito dos possíveis efeitos adversos e

eficácia da alta inclusão desse aditivo na dieta, assim como os efeitos de sua inclusão em alimentos com teores proteicos distintos. Em função da importância desse fato exposto, o presente estudo foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito da inclusão de níveis crescentes de extrato de *Yucca schidigera* (0, 250, 500 e 750ppm na matéria seca da dieta) em duas rações comerciais formuladas com diferentes teores proteicos (21 e 29%) sobre a redução do odor fecal, concentração fecal de nitrogênio amoniacal, digestibilidade dos nutrientes, parâmetros séricos e hematológicos e escore fecal em cães adultos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 *Yucca schidigera*

A *Yucca schidigera* (YSC) é uma planta da família *Agavaceae* nativa do sudoeste dos Estados Unidos e México (CHEEKE, 1999; PIACENTE; PIZZA; OLESZEK, 2005), sendo, portanto conhecida em virtude de seu alto conteúdo de saponinas (10% da matéria seca) (OLESZEK et al., 2001; PIACENTE et al., 2002). As saponinas são glicosídeos de superfície ativa que consistem de uma molécula de açúcar geralmente contendo glicose, galactose, ácido glicurônico, xilose, ramnose ou metilpentose, ligada a uma aglicona hidrofóbica (sapogenina) que pode ser triterpenoide ou esteroide (Figura 1) (FRANCIS et al., 2002). Na YSC, a sapogenina apresenta estrutura esteroide (CHEEKE, 1999).

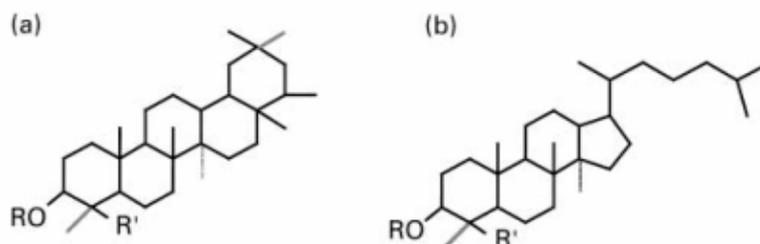


Figura 1 Estrutura básica de sapogeninas: triterpenoide (a) e esteroide (b). R': radical arila RO: radical alcoxila

Fonte: Adaptado de Francis et al. (2002)

O papel fisiológico das saponinas nas plantas ainda não foi completamente elucidado. Tem-se descrito que muitas saponinas são consideradas como sistema de defesa da planta, uma vez que possuem ação

antimicrobiana por inibir fungos e proteger as plantas do ataque de insetos (FRANCIS et al., 2002).

Como consequência de sua atividade tensoativa e propriedade detergente, as saponinas são bons agentes formadores de espumas estáveis, sendo, então, empregadas na indústria de bebidas. Pela sua propriedade surfactante, são usadas na mineração, na preparação de emulsões para filmes fotográficos, em cosméticos (CHEEKE, 1999) e na nutrição animal (JOHNSTON et al., 1981; OLESZEK et al., 1994). A YSC utilizada na nutrição animal é obtida a partir da maceração dos galhos da planta, produzindo o suco de *Yucca*. Esse é então concentrado por evaporação, com o pó resultante conhecido como extrato de *Yucca schidigera* (YSE) (CHEEKE, 1999).

Além da fração saponina, a YSC também contém glicocomponentes, os quais são estruturas moleculares altamente termoestáveis que têm habilidade de capturar moléculas de amônia no tubo digestivo, neutralizando seus efeitos tóxicos e convertendo-a em outro tipo de composto nitrogenado não-tóxico melhorando assim as condições intestinais. Esses componentes acabam então por reduzirem a quantidade de amônia lançada para o ambiente (em torno de 34%), bem como sulfito de hidrogênio (50%) e outros gases tóxicos produzidos no processo de degradação das excreções, que melhora as condições ambientais das áreas de confinamento animal, parâmetros produtivos e condições de produção (PERIS; CALAFAT, 2001).

Existem dois produtos obtidos a partir dos galhos da YSC que estão disponíveis no mercado, os quais são o pó da *Yucca*, em que os galhos são secos e finamente triturados; e o extrato de *Yucca*, o qual é obtido pela prensa mecânica dos galhos, que resulta em suco que é concentrado por evaporação. Esses produtos possuem selo GRAS (Geralmente Reconhecido como Seguro) fornecido pela FDA (Food and Drug Administration) que permite seu uso na dieta (PIACENTE; PIZZA; OLESZEK, 2005).

Na produção animal a YSC é largamente estudada na alimentação de suínos, aves e bovinos (WESTENDARP, 2005), porém pouco pesquisada em cães e gatos (LOWE; KERSHAW, 1997; MAIA et al., 2010; ROQUE et al., 2011). A suplementação dietética com produtos da YSC é relatada por produzir efeitos positivos na taxa de crescimento (CLINE et al., 1996); eficiência alimentar (MADER; BRUMM, 1997); redução dos níveis de amônia ambiental e metabólica, com conseqüente redução do aparecimento de doenças respiratórias; melhora na absorção de nutrientes, conversão alimentar e ganho de peso diário (PERIS; CALAFAT, 2001); redução no índice de natimortalidade em suínos (CLINE et al., 1996; HERPIN; VINCENT; CHEEKE, 2004); redução na produção de gases (GIFFARD et al., 2001) e na concentração sérica de colesterol (KAYA; ERDOGAN; ERDOGAN, 2003) em diferentes espécies. Outras aplicações incluem o uso de YSE como agente espumante em bebidas e, também, na produção de culturas como controladores de nematoides e fungos, agente de umedecimento e estimulante do crescimento de culturas (CHEEKE, 1999).

2.1.1 Odor fecal e produção de gás

A YSC tem sido constantemente utilizada como aditivo alimentar em criações intensivas e para animais de companhia com o objetivo de reduzir o odor fecal (WALLACE; ARTHAUD; NEWBOLD, 1994). O maior alvo de estudos, utilizando a YSC, ainda está baseado na criação intensiva de animais, em que os locais são caracterizados por possuírem grande concentração de amônia volátil, sendo essa tóxica para os animais. Além disso, as altas concentrações de amônia e gás sulfídrico em ambientes fechados causam problemas na saúde de animais, que acaba por retardar o desenvolvimento, além de aumentar a susceptibilidade a várias doenças (HEADON et al., 1991).

Diversas teorias têm sido levantadas sobre o mecanismo pelo qual a YSC reduz o odor fecal. Dentre elas tem-se a inibição da enzima urease (ASPLUND, 1991; PRESTON et al., 1987), ligação à amônia (HEADON; DAWSON, 1990) ou modificação da microbiota colônica (BINGHAM; BELLOW; BELLOW, 1975, BINGHAM; HARRIS; LAGA, 1978). Apesar do longo histórico de sua utilização para esse fim, ainda existem incertezas quanto à identificação dos componentes ativos e modo de ação. Segundo Killeen et al. (1998), os efeitos de YSC sobre a produção de amônia provavelmente não são atribuídas às saponinas. Dessa forma, os glicocomponentes têm sido sugeridos como a fração ativa, bem como os compostos fenólicos, os quais são conhecidos por sua capacidade de ligação aos grupos amino dos aminoácidos, processo pelo qual também se liga à amônia (CHEEKE; OTERO, 2005).

No cólon, a fermentação bacteriana de aminoácidos endógenos e não digeridos leva à formação de substâncias putrefativas que são responsáveis pelo mau odor das fezes. Esses compostos incluem amônia, aminas alifáticas (agmatina, cadaverina, feniletilamina, tiramina e putrescina), ácidos graxos de cadeia ramificada (isobutirato e isovalerato), indóis (indol, 3-metil indol, 2-metilindol, 2,3-metilindol e 2,5-metilindol), fenois (fenol, p-cresol e 4-etilfenol), e compostos voláteis sulfurados (dimetil disulfeto, dietil disulfeto, di-n-propil dissulfeto e di-n-butil disulfeto). Esses compostos são produzidos pelos aminoácidos por processo de desaminação, como por exemplo a amônia; descarboxilação (ácidos graxos de cadeia curta e aminas alifáticas) (HUSSEIN; FLICKINGER; FAHEY, 1999). Dessa forma, o odor é influenciado indiretamente pela quantidade elevada de proteína na dieta e, principalmente, pela sua baixa digestibilidade.

O asco do ser humano pelo odor fecal parece ser principalmente determinado pela combinação e intensidade de compostos específicos (HAMMOND et al., 1974; MOORE; JESSOP; OSBORNE, 1987) do que pela

sua simples presença ou ausência (LOWE; KERSHAW, 1997). Em estudos em cães e gatos, Lowe e Kershaw (1997) observaram, por meio de painel de odor avaliado por humano, que a inclusão de 250 e 125ppm de YSE, respectivamente, reduziram o odor das fezes nessas espécies e alterou a matriz química de compostos voláteis fecais. Roque et al. (2011) também encontraram redução do odor fecal de gatos para os níveis de inclusão de 125 e 375ppm de YSE. Já Maia et al. (2010) não encontraram diferença significativa no odor fecal de cães com a inclusão de 125, 250 e 375ppm de YSE.

Segundo Lowe et al. (1997), a melhoria do aroma fecal pelo YSE deve envolver um efeito direto ou indireto sobre a produção ou persistência de um ou mais compostos químicos responsáveis pelo odor; e que vários mecanismos alternativos poderão ser postulados, incluindo a alteração na atividade metabólica do intestino do animal ou de sua microbiota intestinal, produzindo diferentes concentrações de metabólitos finais; mudança de permeabilidade da membrana do intestino, de modo que as concentrações dos compostos fossem afetadas; ou até a ligação de um ou mais compostos odoríferos para diminuir o odor.

De acordo com Koide et al. (2000 citado por FELICIANO et al., 2010), o gás intestinal é identificável em radiografias abdominais como uma imagem radiotransparente. A quantidade de gás e sua extensão são consideradas um reflexo da função intestinal, podendo estar normais, aumentadas ou diminuídas, de acordo com os diversos estados patológicos, fisiológicos ou nutricionais. Entretanto, a avaliação da quantidade de gás intestinal ainda é muito subjetiva.

Giffard et al. (2001), avaliando o efeito da YSC na flatulência em cães, observaram que esse aditivo não afetou a produção total de gás e o número e frequência de episódios de flatulência, entretanto reduziu em 38% a produção de sulfeto de hidrogênio *in vitro*. Maia (2008), analisando a área de gás produzida no trato gastrointestinal de cães da raça beagle, alimentados com 125, 250 e

375ppm de YSE, não observou diferença na produção de gás entre os níveis testados. Da mesma forma, Roque (2009) não observou diferença na produção de gás intestinal em gatos alimentados com os mesmos níveis de YSE.

2.1.2 Escore fecal

O escore fecal é uma medida qualitativa, normalmente associada à digestibilidade do alimento, uma vez que alimentos altamente digestíveis tendem a produzir fezes sólidas, de menor volume e bem formadas (CASE et al., 2010). A avaliação do escore fecal tem sido uma ferramenta bastante utilizada pelos nutricionistas para verificar a qualidade das fezes, a qual acaba sendo importante para o proprietário de animais de companhia (AQUINO, 2009), uma vez que o aspecto fecal pode ser indicativo de saúde gastrointestinal do animal. A consistência e a qualidade das fezes correlacionam-se com sua quantidade de água intrínseca, de forma que quanto mais água essas possuem, mais pastosas e mal formadas se tornam (COWELL et al., 2000). Já as fezes com teor de água muito baixo, podem predispor à retenção fecal e distúrbios digestivos.

Na literatura existem alguns sistemas de avaliação de escore fecal em uma escala que varia de 1 a 5. Segundo Clapper et al. (2001) e Lowe e Kershaw (1997) o escore 1: corresponde a fezes duras e secas; escore 2: fezes duras, formadas e secas; escore 3: fezes macias, bem formadas, úmida; escore 4: fezes macias, sem forma definida; escore 5: fezes líquidas, diarreia. Já segundo Parreira (2003), o escore 1: refere-se a fezes líquidas, diarreia; escore 2: fezes macias sem forma definida; escore 3: fezes macias, bem formadas e úmidas; escore 4: fezes duras, secas, firmes, e bem formadas; escore 5: fezes muito duras e ressecadas.

Hauptli e Lovato (2006), em estudo com suínos alimentados com associação de saponinas (extrato de *Yucca schidigera* e *Quillaja saponaria*)

observaram que as fezes dos animais que receberam a mistura de aditivos apresentaram fezes significativamente mais duras do que o animais que receberam dieta sem esse aditivo. Lowe e Kershaw (1997), em estudo com gatos que consumiram YSE (125ppm), observaram que existe uma interação significativa entre YSE e sexo do animal, de forma que a utilização de YSE em machos tornou as fezes mais moles, enquanto que nas fêmeas, essas tenderam a ser mais duras e bem formadas.

Maia et al. (2010), em estudo com cães suplementados com YSE (0, 125, 250 e 375ppm) e utilizando a avaliação de escore fecal descrita por Parreira (2003), observaram melhora no escore fecal dos cães que consumiram o aditivo em relação ao grupo controle. O melhor escore fecal foi do grupo de cães alimentados com dieta contendo 375ppm de YSE. No entanto, Roque et al. (2011), em estudos com gatos consumindo os mesmos níveis de YSE, não observaram diferença significativa entre os níveis testados para o escore fecal.

2.1.3 Digestibilidade

Há muitos anos pesquisas vêm sendo feitas no intuito de determinar os efeitos das saponinas sobre a absorção de nutrientes através da membrana intestinal. Johnson et al. (1986), ao avaliarem glicosídeos triterpenoides e esteroides sobre o transporte intestinal, observaram que algumas saponinas aumentam a permeabilidade das células da mucosa intestinal *in vitro* facilitando a captação de substâncias no intestino, que normalmente seriam inabsorvíveis. Ainda, segundo esses autores, as saponinas afetam a permeabilidade das células intestinais por formar complexos com esteróis, a citar o colesterol, na membrana das células da mucosa.

Tal fato ainda foi confirmado por Gee et al. (1996) que ao investigarem o efeito de glicoalcaloides da batata e tomate e uma mistura de saponinas da

Gypsophila sobre linhagens de células cultivadas do epitélio da mucosa intestinal de ratos e seres humanos, observaram aumento da permeabilidade aparente da borda em escova, que pode ter implicações importantes no que concerne à maior captação de moléculas, em que sua passagem pelo epitélio é normalmente restrita. Em continuidade, foi observado ainda que as saponinas de *Gypsophila* aumentaram a absorção de β -lactoglobulina, uma proteína presente no colostro absorvida apenas por neonatos nas primeiras horas após o nascimento.

Com base no coeficiente de digestibilidade aparente do extrato etéreo em particular, Cheeke (1999) relata possível efeito da saponina sobre os lipídeos, de modo a reduzir sua absorção em monogástricos. Essa afirmação está de acordo com os resultados encontrados por Jenkins e Atwal (1994), que encontraram redução no coeficiente de digestibilidade aparente do extrato etéreo em dietas para frangos suplementadas com 0,9% de saponina.

Até então pouco se sabe a respeito das interações químicas entre proteínas e saponinas ou o impacto da adição de saponinas dietéticas a diferentes proteínas. Dessa forma, Potter et al. (1993) utilizaram saponinas da *Quillaja* adicionada à caseína e proteína isolada de soja e observaram que complexos de alto peso molecular foram formados gradualmente entre saponinas e caseínas, com a molécula de β -caseína sendo mais susceptível à formação do complexo. Em contraste, as proteínas de soja formaram agregados insolúveis durante o aquecimento independente da presença de saponinas. Uma possível explicação para esse fato é que há saponinas endógenas presentes na proteína isolada de soja; ou que a proteína de soja, por si só, não é resistente ao aquecimento e formando naturalmente agregados insolúveis. Um grande número de alimentos e matéria-primas contêm saponinas e proteínas e a natureza das interações entre eles influenciam o valor nutritivo de uma dieta. Sendo assim, essas interações

precisam ser estudadas para elucidar possíveis relações estrutura-atividade (FRANCIS et al., 2002).

Maia et al. (2010), ao avaliarem a inclusão de YSE nos níveis 0, 125, 250 e 375ppm na dieta de cães não encontraram alteração no coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca (CDAMS), extrato etéreo (CDAEE) e proteína bruta (CDAPB). Da mesma forma, Roque et al. (2011), avaliando os mesmos níveis de inclusão de YSE na dieta de gatos não encontraram melhora no CDAMS e CDAPB. Em contrapartida, Amber, Yakout e Hamed (2004), ao estudarem o efeito da inclusão de YSE nos níveis de 0 e 250ppm na dieta de coelhos, observaram aumento da digestibilidade da MS, PB e EE no grupo de animais suplementados com esse aditivo em relação ao grupo controle. Também há relatos de que saponinas dietéticas reduzem a absorção de alguns nutrientes como minerais e vitaminas. Em experimento *in vitro*, certas saponinas formam complexos insolúveis com ferro e zinco, que pode reduzir a proporção de minerais na dieta que está disponível para a absorção (WEST et al., 1978). Southon et al. (1988) observaram que saponinas da *Gypsophila* na dieta diminuíram a concentração média de ferro no fígado, em virtude da ineficiente absorção desse mineral como consequência da formação de complexo saponina-ferro, tornando-o indisponível para absorção.

Omoruyi, McAnuff-Harding e Asemota (2006), avaliando a ação da suplementação de 1% de saponina, sobre a excreção de minerais em ratos, não encontraram diferenças na excreção de magnésio, cálcio e zinco, já para o ferro, foi observado aumento da sua excreção, somente na primeira semana do experimento. O sódio e o potássio também apresentaram diferença significativa. Houve uma redução na excreção dos eletrólitos, durante todo o período experimental, que levou a acreditar que a saponina pode induzir mudanças funcionais na membrana, afetando a absorção de minerais.

Com relação ao efeito das saponinas sobre o aproveitamento de vitaminas, Jenkins e Atwal (1994), ao usar uma dieta com 0,9% de saponinas triterpenoides da *Gypsophila* e *Quillaja*, para pintos, concluíram que ambas saponinas podem interferir na absorção de vitamina A e E, uma vez que foram observadas reduzidas concentrações de retinol e vitamina E plasmáticos; e retinol, vitamina A palmitato e vitamina E no fígado. Entretanto, ao alimentá-los com saponina esteroidal na mesma quantidade não foi observado nenhum efeito em qualquer um desses parâmetros avaliados.

2.1.4 Metabolismo de nitrogênio

Efeitos da YSC no metabolismo do nitrogênio inclui a redução na concentração de ureia e amônia sérica. Componentes da YSC podem alterar a função renal aumentando a taxa de depuração de ureia, com consequente diminuição de ureia e amônia sanguíneas (HRISTOV et al., 1999; WALLACE; ARTHAUD; NEWBOLD, 1994).

Dessa forma, Killen et al. (1998) realizaram um estudo avaliando os efeitos da suplementação dietética com YSE ou frações sobre o metabolismo de nitrogênio. As frações foram butanol extratível (BE – fração saponina) e não-butanol extratível (NBE- fração não saponina). A fração NBE foi responsável pela redução das concentrações séricas de ureia e amônia e aumento da concentração fecal de amônia e da atividade da urease no intestino grosso. Já a fração BE reduziu a concentração de indoís no intestino grosso e reduziu a atividade da urease no intestino grosso. Segundo os autores, a redução da ureia no sangue deve ser causada pela diminuição da taxa de síntese hepática ou por aumento da taxa de depuração plasmática de ureia.

Em um estudo semelhante, Duffy et al. (2001), fornecendo a ratos YSC, a fração butanol extratível (BE – fração saponina) ou a fração não-butanol

extratível (NBE- fração não saponina) no nível de 200 ppm, observaram nos três grupos de animais suplementados reduzido nível de ureia sérica. Além disso, a atividade das enzimas do ciclo da ureia (arginase e argininosuccinato liase) foi significativamente menor *in vivo*, embora nenhum efeito tenha sido observado *in vitro*. Preston et al. (1987) observaram redução na ureia sérica em ratos alimentados com 120ppm de saponina, assim como Amber, Yakout e Hamed (2004) após suplementarem coelhos com 250ppm de YSE. Maia (2008) e Roque et al. (2011) não observaram alteração na concentração sérica de ureia em cães e gatos, respectivamente. Já Lowe e Kershaw (1997) relataram que a concentração sérica de ureia foi significativamente maior em gatos alimentados com 125ppm de YSE, embora permanecendo no limite superior do intervalo de referência.

2.1.5 Parâmetros hematológicos

As saponinas são conhecidas por exercerem uma ação lítica na membrana dos eritrócitos, que parece ser resultante da afinidade da porção aglicona aos esteróis de membrana eritrocitária, particularmente o colesterol com o qual forma complexos insolúveis (BANGHAM; HORNE, 1962; GLAUERT; DINGLE; LUCY, 1962 citado por FRANCIS et al., 2002). Dessa forma, verifica-se que as saponinas são altamente tóxicas quando administradas por via intravenosa mas muito menos quando fornecida por via oral (JOHNSON et al., 1986).

Segundo Hu, Konoki e Tachibana (1996), as saponinas podem induzir mudança de permeabilidade na membrana lipossomal sem colesterol quando elas são glicosiladas nos carbonos 3 e 28 da aglicona oleanólico. Entretanto há relato de que a interação entre saponinas e membranas biológicas é mais complexa. Brain, Hadgraft e Al-Shatalebi (1990) observaram que a inserção da aglicona na bicamada lipídica independe da presença de colesterol. Já Winter

(1994) propôs que saponinas promovem hemólise ao aumentar o transporte de água pelo canal hídrico em vez de atuar sobre a fase lipídica.

Seeman, Cheng e Iles (1973), ao estudarem membranas de eritrócitos humanos lesadas por hemólise osmótica e por saponinas, observaram poros de menor tamanho quando eritrócitos foram tratados com saponinas; entretanto esses eram de longa duração e presumivelmente permanentes. Em estudo subsequente, quando poros de hemáceas tratadas com saponinas foram comparadas com poros oriundos do tratamento com vitamina A, observou-se que as perfurações provocadas por saponinas foram de longa duração, tornando as membranas permanentemente permeáveis a grandes moléculas como a ferritina (SEEMAN, 1974 citado por FRANCIS et al., 2002).

Kaya, Erdogan e Erdogan (2003) não relataram diferença significativa na contagem de eritrócitos, volume globular, volume corpuscular médio e hemoglobina corpuscular média de codornas suplementadas com 100 e 200ppm de *Yucca schidigera*. Aslan et al. (2005), em estudo com galinhas poedeiras suplementadas com YSE (0, 100, 150 e 200ppm), também, não observaram diferenças significativas na contagem de hemácias, volume globular, concentração de hemoglobina, volume globular médio e concentração de hemoglobina corpuscular média entre os níveis testados. Lowe e Kershaw (1997), ao alimentarem gatos com YSE (125ppm), não observaram nenhuma mudança significativa no hematócrito e hemoglobina, entretanto a contagem de glóbulos vermelhos tendeu a um aumento aparente de significância limítrofe ($p=0,054$). Maia (2008) e Roque et al. (2011) não observaram ação hemolítica das saponinas em cães e gatos, respectivamente.

2.1.6 Colesterol

As saponinas purificadas e presentes nos alimentos demonstram reduzir a concentração plasmática de colesterol em algumas espécies (MALINOW et al., 1977; OAKENFULL et al., 1979), que tornou o mecanismo da atividade hipocolesterolêmica dessas substâncias de interesse científico. Entretanto, observa-se que as saponinas podem agir de diferentes formas sobre os teores séricos de colesterol. Algumas saponinas interagem diretamente com o colesterol produzindo um complexo insolúvel, impedindo a absorção do colesterol no intestino delgado (MALINOW et al., 1977). Isso ocorre em virtude da associação da porção hidrofóbica da saponina (aglicona ou sapogenina) com o núcleo esterol hidrofóbico de colesterol formando uma agregação micelar (CHEEKE; PIACENTE; OLESZEK, 2006). Já outras saponinas parecem afetar o mecanismo de colesterol indiretamente ao interagir com ácidos biliares, uma das vias de eliminação de colesterol (OAKENFULL et al., 1979, 1984). Dessa forma, os ácidos biliares desviados do ciclo entero-hepático seriam substituídos pela síntese hepática a partir do colesterol. Há, ainda, a hipótese de que a ação membranolítica das saponinas pode aumentar a taxa de esfoliação das células intestinais resultando em um aumento da perda de colesterol da membrana celular contida nas células esfoliadas (CHEEKE, 1999).

Sidhu e Oakenfull (1986), ao investigarem os efeitos das saponinas da *Saponaria officinalis*, da soja e da *Quillaja saponaria* na absorção do sal biliar colato de sódio em ratos, observaram que essas saponinas reduziram a taxa de absorção desse sal biliar. Sendo assim, esses pesquisadores concluíram que as saponinas e ácidos biliares formam micelas no intestino delgado que indisponibilizam moléculas de ácidos biliares para a reabsorção, aumentando, assim, sua excreção fecal, podendo levar à conseqüente redução no colesterol sérico.

Jenkins e Atwal (1994), ao estudarem os efeitos da inclusão de 0,9% de saponinas triterpenoides e esteroides à dieta sobre o metabolismo de colesterol e ácidos biliares, identificaram que as saponinas triterpenoides aumentaram a excreção de colesterol, porém não houve qualquer alteração na excreção de ácidos biliares ou coprostanol. As concentrações de colesterol total sérico e de colesterol em lipoproteína de alta densidade (HDL) não foram afetados. A alimentação com saponina esteoidal não afetou nenhum dos parâmetros anteriormente descritos. Em contrapartida, Southon et al. (1988), utilizando saponinas triterpenoides em ratos, observaram redução significativa na concentração sérica de colesterol.

Kaya, Erdogan e Erdogan (2003), suplementando codornas com 100 e 200ppm de YSC, observaram redução significativa nos níveis séricos de colesterol e triglicérides quando comparados ao grupo-controle. Entretanto, em ambos os parâmetros não houve diferença significativa entre os grupos suplementados com diferentes teores de YSC. Aslan et al. (2005), em estudo com galinhas poedeiras suplementadas com YSE nos níveis de 0, 100, 150 e 200ppm relataram que, na quarta semana de suplementação, houve redução significativa da colesterolemia nos grupos de animais suplementados com 150 e 200ppm de YSE em relação ao grupo-controle. Na oitava semana de estudo, a redução significativa da colesterolemia também passou a ser observada em animais suplementados com 100ppm de YSE.

Oakenfull et al. (1979), ao examinarem os efeitos de saponinas nas dietas de ratos com baixo e alto teor de colesterol sobre o metabolismo dos ácidos biliares e colesterol plasmático, observaram que a alimentação com saponinas e colesterol reduziu significativamente a concentração de colesterol no plasma. Não houve nenhuma ação independente de saponinas na concentração de colesterol plasmático, mas seu efeito interativo com o colesterol dietético foi altamente significativo. Ainda nesse estudo, as saponinas dietéticas

aumentaram a excreção de ácidos biliares e esteróis neutros nas fezes e induziu um aumento na taxa de secreção de ácidos biliares quando utilizada uma dieta rica em colesterol.

Sendo assim, diversas saponinas dietéticas têm uma ação hipocolesterolêmica, entretanto, fatores tais como concentração de saponinas e colesterol e a presença de outros ligantes de ambos compostos podem desempenhar um papel importante, causando assim diferenças entre os resultados de estudos (FRANCIS et al., 2002).

Os efeitos colesterolêmicos das proteínas dietéticas têm sido estudados em seres humanos (CARROLL, 1991) e diversos modelos animais (KIM et al., 1978; NAGATA; TANAKA; SUGANO, 1981). Em geral, as proteínas vegetais têm efeito hipocolesterolêmico, enquanto as proteínas animais têm efeito hipercolesterolêmico. Os mecanismos que descrevem os efeitos das proteínas na indução de mudanças em lipídios do sangue ainda não foram elucidados, entretanto, parecem ser complexos (HAGEMEISTER et al., 1990; SCHOLZ-AHRENS et al., 1990) e inúmeras são as suposições quanto a esses mecanismos de ações. Tem-se sugerido que as proteínas de origem vegetal, em relação a de origem animal, exercem seus efeitos lipêmicos em nível intestinal, afetando a absorção de lipídios e circulação entero-hepática de colesterol, alterando o metabolismo lipídico e a atividade do receptor de lipoproteína (HO; KIM; LEE, 1989; SAMMAN; KHOSLA; CARROL, 1989). Há a hipótese, também, de que aminoácidos absorvidos diretamente afetam o metabolismo lipídico e a atividade do receptor (GADDI et al., 1991). Adicionalmente, foi postulado que os efeitos colesterolêmicos podem ser em razão dos compostos não-proteicos, como a grande variedade de fitoquímicos presente em proteínas vegetais, mas ausente em proteínas animais (POTTER et al., 1993).

Como descrito anteriormente, estudos sobre fonte proteica e saponinas apontam que as mesmas podem influenciar o metabolismo lipídico, no entanto,

pouco se conhece sobre as interações químicas entre as proteínas e as saponinas ou o impacto da adição de saponinas na dieta com diferentes proteínas sobre a lipidemia. Sendo assim, Potter et al. (1993), ao realizarem um estudo em ratos adicionando saponina da *Quillaja saponaria* à caseína e proteína isolada de soja observaram que a adição de saponina à essas fontes proteicas não interferiu na concentração sérica de lipídeos totais; entretanto, foi observada redução significativa de lipoproteína de baixa densidade (LDL) e relação LDL/HDL sérica quando a saponina foi adicionada à caseína. Quando a saponina foi adicionada à proteína isolada de soja, as concentrações de HDL e LDL e a relação LDL/HDL não foram alteradas. Esses resultados acabam por relatar que a natureza da proteína dietética pode influenciar consideravelmente nos efeitos das saponinas no metabolismo lipídico.

2.2 Parâmetros sanguíneos e urinários

2.2.1 Proteínas totais, albumina e globulina

O plasma contém diversas proteínas com uma vasta gama de funções que incluem coagulação do sangue (fibrinogênio), defesas do hospedeiro contra patógenos (imunoglobulinas, complemento), transporte de metabólitos (transferrina, albumina), regulação do metabolismo celular (hormônios), prevenção de proteólise (α -1-antitripsina), prestação de balanço de nitrogênio para a nutrição (albumina) e manutenção da pressão osmótica (albumina). Portanto, a determinação da concentração de proteínas séricas é importante meio auxiliar de diagnóstico em bioquímica clínica, uma vez que perfis anormais de proteínas séricas podem ser identificados em algumas doenças (ECKERSALL, 2008).

A concentração de proteína no plasma reflete um equilíbrio entre as concentrações proteicas intra e extravascular, entretanto, a concentração de proteína no sangue não prediz adequadamente o total de reserva corporal de proteína. Verifica-se, até então, que há remoção contínua de proteínas plasmáticas da circulação, em virtude do catabolismo pelos tecidos, bem como pela perda no tubo digestivo e no sistema urinário, podendo esta perda ser compensada pela ingestão dietética e produção endógena (THOMAS, 2000). Melo et al. (2006) descreveram que o teor de proteína dietética altera variáveis como proteínas séricas e eritrograma.

A concentração sérica de albumina pode ser indicador do conteúdo de proteína na dieta, muito embora as mudanças ocorram lentamente. A diminuição da concentração de albumina sérica indica deficiência proteica; já a hiperalbuminemia representa aumento relativo de albumina secundária à desidratação (GONZÁLEZ; SCHEFFER, 2003). A homeostase da albumina é usada como um indicador da função hepática; entretanto, é um parâmetro inespecífico, uma vez que sua concentração reflete o efeito de muitas variáveis como taxa de síntese hepática, taxa de degradação e volume de distribuição (CENTER, 1996; COLICHON; TOREZAN FILHO; STRAUSS, 2001; TENNANT, 1997 citado por KITAMURA, 2008). A concentração de globulina geralmente não é afetada, exceto em casos de extrema restrição dietética. A redução plasmática também pode ocorrer naqueles pacientes que apresentam síndrome de má digestão ou absorção (THOMAS, 2000).

A mudança na relação albumina:globulina (A:G) é frequentemente o primeiro sinal de uma discrasia proteica (ECKERSALL, 2008). A hiperalbuminemia pode ser observada em casos de desidratação, já a hipoalbuminemia é melhor avaliada junto à relação A:G. Assim, a hipoalbuminemia associada ao aumento normal das concentrações de globulina (diminuição da relação A:G) ocorre secundariamente à perda seletiva de

albumina, como por exemplo, em síndrome nefrótica e glomerulonefrite; sequestro no espaço extravascular, como em efusões cavitárias ou vasculopatia; ou diminuição na produção, como em casos de insuficiência hepática, má nutrição, má absorção e má digestão. A hipoalbuminemia associada à hipoglobulinemia (relação A:G normal) sugere superidratação, perda sanguínea aguda, lesões exsudativas ou enteropatia com perda de proteína (THOMAS, 2000).

Os valores de referência para proteínas totais, albumina e globulina e relação albumina:globulina (A:G) encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1 Intervalos de referência de proteínas plasmáticas de cães adultos saudáveis

Proteínas plasmáticas	Intervalos de referência
Proteínas totais (mg/dL)	5,4 - 7,1
Albumina (mg/dL)	2,6 - 3,3
Globulina (mg/dL)	2,7 - 4,4
Relação albumina:globulina	0,59 - 1,11

Fonte: Kaneko, Harvey e Bruss (2008)

2.2.2 Hemograma

Na medicina veterinária, os testes hematológicos tornaram-se parte da rotina da avaliação diagnóstica da segurança de alimentos e fármacos e de estudos de pesquisa. Muitos laboratórios geralmente usam-nos para documentar a anemia ou a policitemia, o hematócrito ou volume globular, contagem de eritrócitos totais e concentração de hemoglobina. Esses valores devem ser igualmente reduzidos com a diminuição da massa eritrocitária, refletindo a gravidade da anemia do animal. Se eles não forem igualmente reduzidos, os índices hematimétricos volume corpuscular médio (VCM) e concentração de

hemoglobina corpuscular média (CHCM) podem esclarecer a diferença. Os índices hematimétricos (VCM e CHCM) são usados na classificação morfológica da anemia. O VCM classifica o eritrócito como microcítico (pequeno), normocítico ou macrocítico (grande); já a CHCM denomina o eritrócito como hipocrômico (concentração reduzida) ou normocrômico (concentração normal). A classificação hiperocrômica normalmente é considerada como erro laboratorial o qual implica que o eritrócito tem mais hemoglobina por unidade de volume que uma célula normal (TVEDTEN; WEISS, 2000).

Os valores de referência para parâmetros hematológicos encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2 Intervalos de referência de parâmetros hematológicos de cães adultos saudáveis

Parâmetros Hematológicos	Intervalos de referência
Hematócrito (%)	37-55
Eritrócitos ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	5,5-8,5
Hemoglobina (g/dL)	12-18
VCM¹ (fl)	60-77
HCM² (pg)	19,5-24,5
CHCM³ (%)	32-36
Plaquetas (μL)	200.000-500.000

Fonte: Adaptado de Jain (1993)

¹VCM: Volume Corpuscular Médio; ²HCM: Hemoglobina Corpuscular Média; ³CHCM: Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média

2.2.3 Metabolismo lipídico

Os lipídeos são biomoléculas insolúveis em água essenciais para a função fisiológica normal. Os triglicerídeos constituem a maior parte do lipídio dietético e são fonte de energia química que pode ser armazenada em adipócitos e mobilizada de acordo com a necessidade. O colesterol é o maior componente

das membranas celulares e é precursor essencial de hormônios esteróides, vitaminas e ácidos biliares.

Em virtude da insolubilidade do lipídio em meio aquoso, seu transporte até o sítio de utilização ou armazenamento é feito por meio da formação de complexos lipídio-proteína denominados lipoproteínas, os quais veiculam colesterol, ésteres de colesterol e triglicerídeos (BARRIE; WATSON, 1995). Quatro principais classes de lipoproteínas são conhecidas: quilomícrons, lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e lipoproteínas de alta densidade (HDL). Os quilomícrons e VLDL são lipoproteínas ricas em triglicerídeos, em contrapartida, o HDL e LDL agem predominantemente como transportadores de colesterol e ésteres de colesterol (BARRIE; WATSON, 1995; NELSON; DELANEY; ELLIOT, 2009).

O principal responsável pela síntese do colesterol e pela sua excreção para o organismo é o fígado, podendo a lesão hepática provocar aumento ou diminuição da concentração sérica de colesterol (JOHNSON, 1992). Segundo Thrall (2004), na doença hepática pode haver aumento da concentração sérica de triglicerídeos e de colesterol, sendo a hipercolesterolemia decorrente da menor captação hepática do colesterol do sangue e menor excreção de colesterol na bile. Ainda segundo esse autor, é possível que o fígado afetado também produza e secrete uma lipoproteína anormal, com alto teor de colesterol, no sangue. Segundo Rebar et al. (1981), a alteração no metabolismo de lipídios na doença hepática está associada à diminuição dos níveis da enzima lecitina colesterol aciltransferase (LCAT), responsável pela esterificação do colesterol, levando assim ao aumento do colesterol livre. A hipocolesterolemia está mais associada a doenças hepáticas como enfermidade do parênquima hepático e/ou cirrose, que determinam insuficiência hepática (THRALL, 2004).

O grande problema na solicitação de dosagem de lipoproteínas séricas, como HDL, VLDL e LDL, dá-se pelo fato da ausência de valores de referência

em cães, que dificulta a interpretação dos resultados. Para cães, o intervalo de referência para teor sérico de colesterol é de 135-270 mg/dL; e de triglicérides é de 20-112 mg/dL (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 2008).

2.2.4 Testes hepáticos

Um dos mecanismos em que pode ser observado o aumento da atividade enzimática sérica é por meio do extravasamento celular de enzimas provocado por lesão de células. Independente da enzima que está sendo analisada, é importante saber sua origem tecidual mais provável, que permite limitar a lista de possíveis tecidos lesados. Dessa forma, quando se detecta aumento da atividade sérica de uma enzima, apenas os tecidos que a contêm são considerados locais potenciais da lesão. Além disso, sua concentração pode ser alta em um ou em poucos tecidos, sendo assim, quando se detecta aumento dessa atividade sérica, os tecidos que apresentam maior concentração dela são locais mais prováveis de lesão. A enzima ideal para o diagnóstico seria aquela específica para apenas um tecido, entretanto, quase nenhuma enzima utilizada como teste diagnóstico é encontrada apenas em um tecido, mas algumas delas estão presentes apenas em poucos tecidos (THRALL, 2004).

Geralmente os profissionais tentam relacionar a magnitude do aumento da atividade enzimática sérica ao tipo ou grau de lesão de determinado tecido, entretanto nem sempre isso é verdadeiro, uma vez que a necrose de um tecido pode provocar aumento da atividade sérica enzimática, mas a lesão subletal difusa no mesmo tecido pode levar a um aumento ainda maior. Destarte, a magnitude da atividade sérica da enzima não é um indicador confiável do tipo ou grau de lesão tecidual (THRALL, 2004).

Atividade enzimática sérica de enzimas hepáticas são incluídos rotineiramente na seleção de painéis de bioquímica sérica ao serem considerados

como marcadores de lesão hepatocelular e biliar. O aumento da atividade dessas enzimas normalmente localizadas no citosol de hepatócitos em alta concentração no sangue reflete lesão estrutural ou funcional da membrana celular, que permitiria essas enzimas escaparem para o sangue. Quatro enzimas são específicas do fígado, ainda que em graus variáveis, sendo essas a alanina aminotransferase (ALT), a aspartato aminotransferase (AST), sorbitol desidrogenase (SDH) e a glutamato desidrogenase (GLDH) (THRALL, 2004). Neste trabalho será dada maior ênfase à ALT.

A atividade da ALT é encontrada em diversos órgãos do corpo, porém a magnitude de sua atividade varia conforme a espécie, de modo que, em cães, sua atividade por grama de fígado é ao menos quatro vezes maior do que em outros órgãos, tais como no músculo esquelético e no coração (HOFFMANN; SOLTER, 2008). Sendo assim essa enzima é considerada altamente hepato-específica em cães, muito embora haja relato sobre a possibilidade de aumento da atividade sérica de ALT em cães com lesão muscular grave sem lesão hepática aparente. Qualquer substância ou enfermidade que cause lesão de hepatócitos, desde lesão de membrana até necrose de hepatócitos, pode aumentar a atividade sérica dessa enzima, uma vez que ela está livre no citoplasma. Em cães, a ALT, às vezes, é usada como único parâmetro para diagnóstico de lesão de hepatócitos, pois é mais específica que a AST (THRALL, 2004).

O fluxo biliar prejudicado, denominado de colestase, pode ser detectado por meio da determinação da atividade sérica de enzimas cujo aumento de produção seja induzido pela estase biliar. Uma das enzimas séricas utilizadas na detecção da colestase é a fosfatase alcalina (FA). Essa enzima está presente no fígado, osso, rim, mucosa intestinal e renal e na placenta, sendo na mucosa intestinal de cães encontrada sua maior atividade. Na maioria das espécies domésticas, a FA intestinal não é encontrada no soro, e no fígado, que tem atividade de FA relativamente baixo, contribui com mais da metade da atividade

no soro (HOFFMANN; SOLTER, 2008). Segundo Thrall (2004), é possível notar aumento marcante da atividade sérica da FA em cães com colestase, uma vez que o aumento de pressão do lúmen de ductos biliares induz a aumento na produção de FA pelos hepatócitos e possivelmente pelas células epiteliais desse ducto. Em colestase, a FA sérica geralmente aumenta antes que ocorra elevação do teor sérico de bilirrubina.

A bilirrubina é um resíduo da degradação da molécula heme da hemácea. Em sua forma inicial, não é solúvel em água, estando dessa forma ligada à albumina no plasma para ser transportada ao fígado, onde é conjugada com o ácido glicurônico, denominado então como bilirrubina conjugada ou direta (KERR, 2003). O aumento da concentração sérica de bilirrubina pode ser decorrente do aumento da produção de hemoglobina, em virtude do maior grau de hemólise, a menor taxa de absorção ou conjugação de bilirrubina pelos hepatócitos e ao prejuízo ao fluxo biliar. A medição de bilirrubina sérica abrange a determinação de bilirrubina total, conjugada e não conjugada. De forma geral, a hiperbilirrubinemia associada à hemólise ou à menor absorção hepática de bilirrubina tende a aumentar significativamente a concentração de bilirrubina não conjugada, e menor elevação, se presente, no teor de bilirrubina conjugada. Já a colestase deve provocar aumento acentuado no teor de bilirrubina conjugada e elevação menor, se houver, de bilirrubina não conjugada (THRALL, 2004).

Os intervalos de referência da atividade de enzimas hepáticas sérica em cães, bem como a concentração de bilirrubina total e frações sérica encontram-se descritos na Tabela 3.

Tabela 3 Intervalos de referência da atividade sérica de enzimas hepáticas e bilirrubina total e frações em cães adultos saudáveis

Enzimas Hepáticas	Intervalos de referência
ALT ¹ (U/L)	21-102
FA ³ (U/L)	20-156
Bilirrubina total (mg/dL)	0,10-0,50
Bilirrubina direta (mg/dL)	0,06-0,12
Bilirrubina indireta (mg/dL)	0,01-0,49

Fonte: Kaneko, Harvey e Bruss (2008)

¹ALT: Alanina Aminotransferase; ³FA: Fosfatase Alcalina

2.2.5 pH e densidade urinária

A urina é a principal rota de eliminação de produtos do metabolismo proteico (como ureia, amônia e creatinina), minerais e água (DIBARTOLA, 1992). Quando a urina se encontra supersaturada com minerais e o pH urinário é favorável para a cristalização, minerais precipitados saem da solução para formar cristais (ROBERTSON et al., 2002), os quais, quando acumulados, podem formar urólitos (HOUSTON et al., 2003).

Por muitos anos, diversos pesquisadores observaram que a composição dietética influencia o pH urinário, mas somente recentemente ficou claro que é possível a modificação e o ajuste do pH urinário simplesmente pela dieta. Assim, as indústrias de alimentos para animais de companhia passaram a formular alimentos que pudessem favorecer um pH urinário ideal (YAMKA; FRIESEN; SCHAKENRAAD, 2006), aumentando a segurança dos produtos comerciais e permitindo melhoria do pH urinário desencadeado pela dieta, diminuindo a ocorrência de urólitos de estruvita e oxalato de cálcio.

A ação dos alimentos sobre o pH urinário é o efeito resultante de seus nutrientes e dos ácidos derivados do mesmo (KRUGER; ALLEN, 2000). Tal fato foi relatado por Patience (1990) em sua revisão, o qual diz existir uma

estreita relação entre o metabolismo dos aminoácidos e homeostase ácido-base, de forma que esse equilíbrio é obtido em parte pela alteração do metabolismo de aminoácidos não apenas no rim, mas também no fígado, músculo e tecido esplâncnico. Dessa forma, a oxidação de aminoácidos contribui para a carga total de ácidos e bases impostas ao animal. Destarte, o perfil aminoacídico das proteínas, bem como a quantidade podem influenciar o pH urinário dos animais.

A ingestão de proteína dietética pode ser um importante fator na determinação da composição urinária, uma vez que a urina é o mais importante meio excretório de metabólitos do metabolismo da proteína (ZENTEK; SCHULZ, 2004). Entretanto, a fonte proteica é um dos fatores determinantes no pH urinário, de modo que a dieta com maior quantidade de ingredientes de origem animal contém menos sais de potássio do que as dietas à base de cereais, os quais são responsáveis pela produção de urina mais alcalina (HARRINGTON; LEMMAN, 1970; HOLSWORTH, 1987).

Atualmente, verifica-se que a maior contribuição de ácidos da dieta é dada pela oxidação de aminoácidos sulfurados e pelo balanço de ânions (Cl, S, P) e cátions (Na, Ca, K e Mg) metabolizáveis (MARKWELL; BUFFINGTON; SMITH, 1998 citado por CARCIOFI, 2007). Os alimentos usados para prevenção de urólitos de estruvita em cães devem levar à produção de urina com pH em torno de 6,2 e 6,4, enquanto que para a sua dissolução, deve proporcionar pH entre 5,9 e 6,1 (CARCIOFI, 2007). Para urólitos de oxalato de cálcio, recomenda-se apenas que sejam evitadas dietas que super acidifiquem a urina (BARTGES et al., 1994). O pH urinário de cães deve estar entre 6,2 e 6,6.

A densidade específica da urina, que indica uma estimativa do conteúdo de soluto, avalia a capacidade dos túbulos renais em concentrar ou diluir a urina. A isostenúria absoluta, ou seja, a densidade urinária é igual à densidade do plasma, varia de 1,008 a 1,012. Na prática, a variação isostenúrica geralmente se estende até 1,017. Densidade inferior a 1,008 indica que os túbulos renais estão

funcionando para diluir a urina ou perderam a capacidade de concentrá-la, verificado por exemplo na doença renal crônica; e densidade superior a 1,030 em cães sugere que os túbulos estão trabalhando para concentrar a urina (THRALL, 2004).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Lavras (Anexo 1), sendo, então, conduzido dentro das normas legais e éticas de bem-estar animal.

3.1 Local e instalações

O experimento foi realizado no Centro de Estudos em Nutrição de Animais de Companhia (CENAC), no Departamento de Zootecnia (DZO) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), localizada no município de Lavras, no Estado de Minas de Gerais.

Durante a fase de adaptação e quando necessária coleta de fezes frescas, os animais foram alojados em baias individuais, que apresentam a área de 4,5m² (1,5m de largura x 3,0m de comprimento), com área de solário, comedouro suspenso e bebedouros automáticos do tipo chupeta.

No período de coleta de amostras, os animais foram alojados em gaiolas metabólicas com 0,70m de altura, 0,85m de largura e 0,70m de profundidade. Essas são constituídas de arame galvanizado e chapas metálicas nas laterais, além da bandeja coletora para fezes com fundo telado que permite a coleta da urina sem contaminação fecal. Cada gaiola possui bebedouro e comedouro individual.

As análises bromatológicas foram realizadas no Laboratório de Pesquisa Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

3.2 Animais utilizados e tratamentos experimentais

Foram utilizados 20 cães adultos da raça beagle, machos e fêmeas com idade média de três anos e meio, com peso médio de $14,2 \pm 1,65$ kg, saudáveis, previamente vacinados e desverminados. O experimento foi dividido em dois períodos experimentais. Em cada período, os animais foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial com dois níveis de proteína e quatro níveis de YSE, considerado um animal como uma parcela experimental, totalizando 40 parcelas experimentais e considerando período como fonte de variação no modelo estatístico. A duração total do ensaio foi de 40 dias, sendo 14 dias de adaptação e seis dias de coleta de dados em cada período experimental (Tabela 4). A descrição dos tratamentos experimentais encontra-se na Tabela 5.

Tabela 4 Cronograma experimental

Cronograma experimental	Dia do experimento	
	Período 1	Período 2
Adaptação	0 a 13°	0 a 14°
Painel de odor	14°	Não executado
Coleta de amostras para análise de N amoniacal	15°	15°
Coleta de amostras para digestibilidade	16° a 20°	16 ^a a 20°
Determinação do escore fecal	16° a 20°	16 ^a a 20°
Coleta de amostras para pH e densidade urinária	18° a 20°	18° a 20°
Exames radiográficos e ultrassonográficos	20°	20°
Coleta de amostras sanguíneas	20°	20°

Tabela 5 Tratamentos experimentais empregados no estudo

Tratamentos	Alimentos
1	Ração comercial seca com 21% de PB ¹
2	Controle 1 + 250ppm de extrato de YSC ²
3	Controle 1 + 500ppm de extrato de YSC
4	Controle 1 + 750ppm de extrato de YSC
5	Ração comercial seca com 29% de PB
6	Controle 2 + 250ppm de extrato de YSC
7	Controle 2 + 500ppm de extrato de YSC
8	Controle 2 + 750ppm de extrato de YSC

¹PB: Proteína Bruta; ²YSC: *Yucca schidigera*

Os níveis nutricionais e a composição básica dos alimentos comerciais secos utilizados no experimento, segundo o fabricante, estão descritos nas Tabelas 6 e 7.

Tabela 6 Níveis nutricionais na matéria natural e composição básica¹ apresentados no rótulo da ração comercial considerada como Tratamento 1

Níveis nutricionais	(%)
Umidade (máx.)	12
Proteína Bruta (mín.)	21
Extrato Etéreo (mín.)	11
Fibra Bruta (máx.)	3,5
Matéria Mineral (máx.)	9
Cálcio (máx.)	2,2
Fósforo (mín.)	1
Ácido linolênico	0,23
Ácido linoléico	1,15

¹Composição básica: quirera de arroz, milho integral moído, farinha de vísceras, farinha de trigo, farelo de soja, farinha de carne e ossos, gordura animal estabilizada, carne bovina mecanicamente desossada, hidrolisado de carne de frango, levedura seca de cervejaria, farelo de glúten de milho-60, espinafre, fosfato bicálcio, semente de linhaça, ovo em pó, cloreto de sódio (sal comum), extrato de alho, cloreto de potássio, premix vitamínico e premix mineral.

Tabela 7 Níveis nutricionais na matéria natural e composição básica¹ apresentados no rótulo da ração comercial considerada como Tratamento 5

Níveis nutricionais	(%)
Umidade (máx.)	13
Proteína Bruta (mín.)	29
Extrato Etéreo (mín.)	11
Fibra Bruta (máx.)	3,0
Matéria Mineral (máx.)	8,0
Cálcio (máx.)	2,0
Fósforo (mín.)	0,9
Ácido linolênico	0,23
Ácido linoléico	1,15

¹Composição básica: milho integral moído, carne mecanicamente separada de frango, arroz quebrado, farelo de soja, farinha de vísceras, ovo desidratado, gordura de frango, levedura seca de cana-de-açúcar, farinha de trigo, farinha de glúten de milho-60, glicerina, leite integral em pó, semente de linhaça, cloreto de sódio (sal comum), fosfato bicálcio, corante artificial vermelho 40, dióxido de titânio, corante artificial amarelo, corante natural caramelo, cloreto de potássio, premix vitamínico mineral.

A composição nutricional do extrato de *Yucca schidigera* utilizado nesse experimento, de acordo com o fabricante, está descrito na Tabela 8.

Tabela 8 Níveis nutricionais do extrato de *Yucca schidigera* empregada no estudo, com base na matéria natural

Níveis nutricionais	(%)
Umidade	5,00
Proteína Bruta	2,50
Extrato etéreo	3,00
Fibra Bruta	24,00
Cinzas	6,00
Carboidrato (incluindo saponinas)	59,50
Saponinas	> 7,00

Os níveis nutricionais das dietas experimentais, de acordo com resultados encontrados na análise laboratorial, estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 Níveis nutricionais das dietas obtidas por meio de análise laboratorial, com base na matéria seca

Tratamento	Níveis nutricionais (%)		
	PB	EE	MM
(1) 21% PB + 0ppm YSE	25,38	10,61	6,14
(2) 21% PB + 250ppm YSE	25,64	11,74	6,27
(3) 21% PB + 500ppm YSE	24,86	11,07	6,42
(4) 21% PB + 750ppm YSE	25,71	11,08	6,03
(5) 29% PB + 0ppm YSE	34,55	10,72	7,76
(6) 29% PB + 250ppm YSE	34,16	11,85	7,20
(7) 29% PB + 500ppm YSE	33,42	11,31	7,40
(8) 29% PB + 750ppm YSE	34,32	10,91	7,30

YSE: extrato de *Yucca schidigera*; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; MM: matéria mineral.

As rações comerciais foram isentas de YSE ou qualquer fonte de saponina. A quantidade de alimento fornecido a cada animal atendeu às necessidades energéticas diárias de manutenção de cães adultos ativos, de acordo com o National Research Council - NRC (2006), calculados pela fórmula: $130 \text{ kcal} \times (\text{PC em kg})^{0,75}$. O alimento foi pesado diariamente, e a água oferecida *ad libitum*.

A quantidade de YSE oferecida para cada animal foi calculada, de acordo com o consumo individual em gramas, com base na matéria seca do alimento. Para facilitar veiculação do aditivo, o YSE foi encapsulado, de modo que cada animal recebeu uma cápsula diariamente, durante os períodos experimentais. Os animais que pertenceram ao tratamento sem adição do aditivo

também receberam cápsulas, porém sem qualquer tipo de substância com o objetivo de evitar o efeito placebo.

3.3 Procedimento experimental

3.3.1 Teste de redução de odor de fezes

O teste de análise sensorial das fezes ocorreu no 14º dia do período de adaptação, sendo esse então realizado apenas do primeiro período experimental. O protocolo utilizado para realização dessa análise foi similar àquele descrito por Morales (1994), porém com algumas adaptações, conforme descrito por Maia (2008) e Roque (2009). Pela manhã, foi realizada a coleta de fezes frescas, as quais foram homogeneizadas por tratamento, sendo a quantidade de 200 gramas colocados em caixas de isopor separados. Participaram dessa avaliação 81 voluntários da comunidade acadêmica da Universidade Federal de Lavras, não familiarizados com a rotina do canil. Os avaliadores passaram por três etapas de avaliação. Primeiramente foi feita a comparação das duas amostras padrão, sendo uma constituída de fezes dos animais que consumiram o Tratamento 1(P1), e a outra de fezes de animais alimentados com o Tratamento 5 (P2).

Nas etapas seguintes, as avaliações sempre foram feitas comparando-se as mostras numeradas de 1 a 3, referentes aos tratamentos experimentais 2, 3 e 4 ou 6, 7, e 8, os quais continham aditivo, à sua respectiva amostra padrão (P1 ou P2), referente ao Tratamento experimental 1 ou 5, sem qualquer aditivo. Os valores atribuídos às amostras seguiram uma escala de 0 a 4, conforme pode ser observado no Anexo 1.

Ao final da análise sensorial, os dados obtidos foram reagrupados de forma que o número de observações das escalas 0 e 1 foram somados e

considerados como mais fétido e o número de observações das escalas 3 e 4 foram somados e considerados como menos fétido. Tal medida foi adotada para reduzir o grau de erro em razão da possível dificuldade dos avaliadores em definir o grau do odor das amostras.

3.3.2 Coletas de amostras para determinação de nitrogênio amoniacal fecal

A coleta de amostras de fezes para determinação do nitrogênio amoniacal foi realizada no décimo quinto dia do primeiro e segundo período experimental. Os animais foram retirados das gaiolas metabólicas e colocados no chão em *box* individual, previamente limpo como estímulo para defecação instantânea, sendo a coleta realizada imediatamente. As amostras foram colocadas em sacos plásticos individuais identificados e imediatamente congeladas para posterior análise, seguindo metodologia adaptada de Silva e Queiroz (2002).

3.3.3 Coletas de amostras para digestibilidade, pH e densidade urinária

A coleta de amostras para digestibilidade foi feita durante cinco dias, compreendidos assim entre o décimo sexto e o vigésimo dia do primeiro e segundo período experimental. As dietas fornecidas e as sobras foram pesadas, bem como as fezes coletadas diariamente. Do décimo oitavo ao vigésimo dia, juntamente com o ensaio de digestibilidade, as amostras de urina passaram a ser coletadas em garrafas plásticas com funil e imersas em gelo acopladas à gaiola metabólica. A produção urinária de cada animal, em intervalos de 24 horas, foi homogeneizada e o pH e densidade determinados em potenciômetro digital de bancada (QUIMIS, modelo Q400A, Diadema-SP) e refratômetro clínico, respectivamente.

As fezes foram coletadas em sacos plásticos previamente identificados por animal, tratamento e período experimental, pesadas e armazenadas em freezer a -20°C. Ao final do período de coleta, as amostras foram descongeladas à temperatura ambiente, homogeneizadas, colocadas em bandejas de alumínio identificadas por animal, pesadas e colocadas em estufa de ventilação forçada (65°C) durante 72 horas. Ao serem retiradas das estufas, as bandejas foram novamente pesadas e moídas em moinho do tipo Thomas-Wiley, utilizando-se peneira de 1mm e acondicionadas em potes plásticos previamente identificados para posteriores análises.

3.3.4 Escore fecal

Simultaneamente à coleta de fezes para digestibilidade, as amostras fecais tiveram seu escore determinado diariamente por um único observador, em ambos os períodos, utilizando a escala proposta por Parreira (2003), em que o escore um referiu-se a fezes líquidas, diarreia; escore dois, fezes macias sem forma definida; escore três, fezes macias, bem formadas e úmidas; escore quatro, fezes duras, secas, firmes, e bem formadas; escore cinco, fezes muito duras e ressecadas.

3.3.5 Exames radiográficos e ultrassonográficos

No vigésimo dia de cada período experimental os animais foram submetidos a exames radiográficos e ultrassonográficos no setor de Diagnóstico por Imagem do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Lavras.

Os animais foram radiografados em duas posições, laterolateral esquerda e ventrodorsal. Foi utilizado o equipamento gerador de Raio-X Meditronix (modelo BR-200, Meditronix, Chicago, IL, USA) e filmes Kodak® tamanho

30x40cm, aplicando-se a técnica de 50kV e 0,15mAs. Ao final do experimento, todas as radiografias foram identificadas com uma escala de 1,0cm, fotografadas com câmera digital e digitalizadas (Figura 2), sendo feito então o contorno das áreas de gás no programa Photoshop CS4[®]. Em seguida, essas áreas foram recortadas (Figura 3) para que, assim, as imagens pudessem ser analisadas no software *Image Processing and Analyses in Java* (Image J[®]), obtendo, desse modo, a área de gás das alças intestinais de todos os animais, conforme metodologia descrita por Aquino (2009).

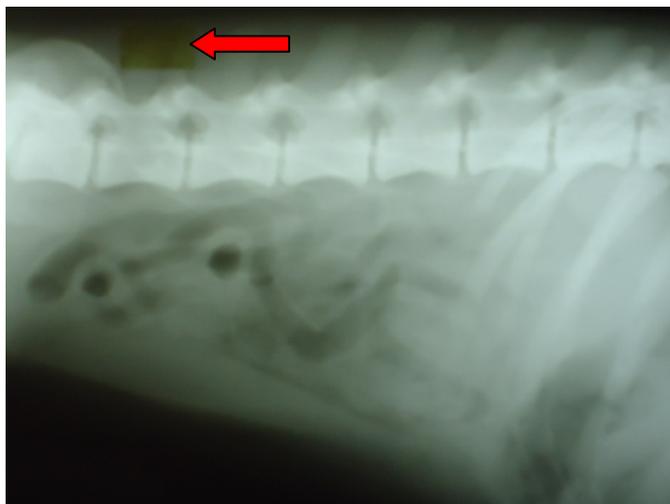


Figura 2 Imagem fotográfica da radiografia laterolateral de um cão, com a seta vermelha indicando a escala de 1,0cm

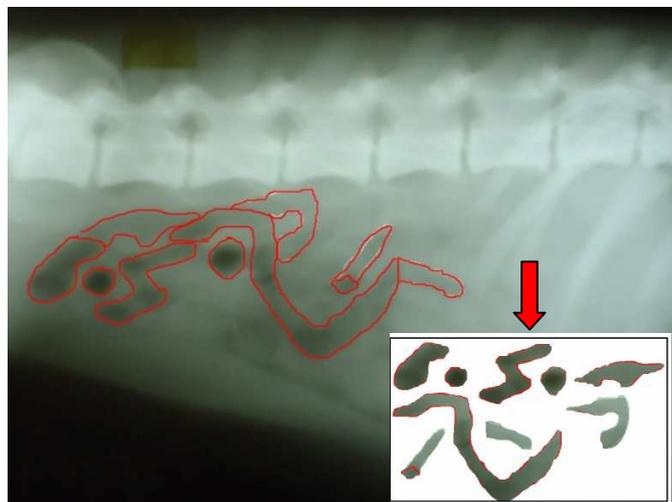


Figura 3 Imagem fotográfica da radiografia laterolateral de um cão com marcações das áreas de gás feitas no programa Photoshop CS4[®]. Seta vermelha indica os recortes das áreas de gás

Ainda no vigésimo dia de ambos os períodos experimentais foi feito o exame ultrassonográfico para mensuração de espessura de mucosa do intestino delgado, na região do duodeno. Os cães tiveram o abdômen tricotomizado e, em seguida, contidos em decúbito dorsal. Foram realizadas três mensurações em cada animal e a média delas utilizada para análise estatística. A espessura da parede intestinal foi determinada fazendo-se a medição entre a superfície serosa ecogênica externa e a interface mucosa/lúmen (Figura 4). Esse exame foi realizado com o equipamento Toshiba SSH-140A, com transdutor de 5MHz.



Figura 4 Imagem ultrassonográfica do abdômen de um cão com seta vermelha mostrando a espessura da parede intestinal, na região proximal do duodeno. O círculo vermelho evidencia a mensuração da espessura em milímetros

3.3.6 Coleta de amostras sanguíneas

No vigésimo dia de cada período experimental também foram coletadas amostras de sangue de todos os animais no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Lavras. O sangue de cada animal foi coletado da veia jugular com auxílio de seringa e colocado em tubos coletores específicos. As amostras colocadas em tubo sem anticoagulante foram envoltos em papel alumínio e destinadas para análise de ureia pelo método cinético de ponto fixo; bilirrubina total, direta e indireta por meio do método colorimétrico - sulfanílico diazotado; colesterol, triglicerídeos, VLDL e HDL pelo método colorimétrico enzimático; proteínas totais, albumina e globulina por meio do método de biureto e colorimétrico verde de bromocresol; alanina aminotransferase pelo método cinético enzimático; e fosfatase alcalina, pelo método de Roy mod. As amostras

colocadas em tubos contendo o anticoagulante EDTA sódico foram destinadas para a análise de eritrograma e plaquetas, ambas por contagem manual. Após a coleta, os tubos foram alojados em caixas de isopor refrigeradas e levadas para o Laboratório In Vitro na cidade de Lavras, Minas Gerais, onde foram realizadas as análises.

3.4 Análises bromatológicas e metodologia dos cálculos

As análises bromatológicas das dietas experimentais, fezes e urina foram realizadas no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras ao final dos períodos experimentais. Para determinação dos coeficientes de digestibilidade aparente, as dietas e fezes foram analisadas quanto à matéria seca (MS), proteína bruta (PB), e matéria mineral (MM), conforme metodologia descrita por Silva e Queiroz (2002). As análises de extrato etéreo em hidrólise ácida dos alimentos e das fezes foram realizadas conforme protocolo da Association of Official Analytical Chemists - AOAC (1995)

Os cálculos para obtenção dos coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca e dos nutrientes (em %), conforme determinações da Associação Nacional dos Fabricantes de Alimentos para Animais de Estimação - ANFALPET (2009) e o balanço aparente de nitrogênio estão descritos a seguir:

Coeficiente de Digestibilidade Aparente da Matéria Seca (CDAMS):

$$\text{CDAMS (\%)} = [(a-b)/a] \times 100$$

em que:

a = consumo de alimento na matéria seca (g)

b = excreção fecal na matéria seca (g)

Coefficiente de Digestibilidade Aparente (CDA) dos nutrientes:

$$\text{CDA nutriente (\%)} = \{[(a \times b) - (c \times d)] / (a \times b)\} \times 100$$

em que:

a = consumo de alimento na matéria seca (g)

b = % do nutriente no alimento

c = excreção fecal na matéria seca (g)

d = % do nutriente nas fezes

Balanço aparente de nitrogênio (BAN):

$$\text{N ABS} = \text{N CONS} - \text{N FEC}$$

$$\text{BAN (g/dia)} = \text{N ABS} - \text{N URINA}$$

em que:

N ABS = Nitrogênio Absorvido (g/dia)

N CONS = Nitrogênio Consumido (g/dia)

N FEC = Nitrogênio Fecal (g/dia)

N URINA = Nitrogênio Urinário (g/dia)

BAN = Balanço Aparente de Nitrogênio

3.5 Análises estatísticas

Os dados obtidos, exceto da análise sensorial e escore fecal, foram submetidos à análise de variância e para atender a normalidade dos resíduos (Teste de Shapiro-Wilk) e homogeneidade das variâncias (Teste de Levene) os pontos influentes foram identificados pela Distância de Cook e descartados. Para os níveis de YSE, foram testados os ajustes de regressão polinomial de primeiro e segundo grau e, como estes modelos tiveram um coeficiente de determinação muito baixo ($R^2 < 0,50$), as médias dos níveis de YSE e de PB foram comparadas pelo teste de Scott-Knott ao nível de significância de 5%. O escore fecal, por se

tratar de uma variável qualitativa, teve seus resultados analisados pela estatística não paramétrica por meio do teste Kruskal-Wallis para as amostras independentes e pelo teste Wilcoxon para as amostras pareadas. Os dados foram analisados por meio do programa computacional **R**: a language and environment for statistical computing (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2010).

A análise sensorial, também, por se tratar de uma variável qualitativa, teve seus resultados analisados por estatística não paramétrica. O teste para uma proporção foi utilizado para a análise dos dados obtidos nos contrastes feitos na análise sensorial. Para verificar se existiam evidências de efeito de tratamento, seja de teor de PB ou de YSE, foi utilizado o teste de McNemar, de modo que para os casos onde se obtiveram respostas com mais de dois níveis, usou-se uma extensão do teste McNemar. Os dados referentes a essa variável foram analisados por meio do programa computacional SAS[®] 9.0 (SAS INSTITUTE INC, 1999). O modelo estatístico utilizado no experimento foi:

$$Y_{ijkm} = \mu + \tau_i + \alpha_j + \beta_m + (\tau\alpha)_{ij} + \varepsilon_{ijkm}$$

em que:

Y_{ijkm} = é o valor da variável dependente da parcela submetida ao i-ésimo nível de inclusão do aditivo no j-ésimo teor de proteína, m-ésimo período e k-ésima repetição;

μ = constante inerente a todas as observações;

τ_i = efeito do i-ésimo da inclusão do aditivo, com $i = 1, \dots, 4$;

α_j = efeito do j-ésimo teor de proteína, com $j = 1$ e 2 ;

β_m = efeito do m-ésimo período, com $m = 1$ e 2 ;

$(\tau\alpha)_{ij}$ = efeito da interação entre τ_i e α_j ;

ε_{ijkm} = erro experimental associado à parcela submetida ao i-ésimo nível de inclusão do aditivo, no j-ésimo nível de proteína no m-ésimo período e k-ésima repetição.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Coeficientes de digestibilidade aparente das dietas experimentais e balanço de nitrogênio

Os valores médios de coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca, proteína bruta, extrato etéreo e da matéria mineral, da análise independente de níveis de inclusão de YSE e teores de PB encontram-se na Tabela 10.

Para todas as variáveis acima descritas, o teor de PB dietético e o nível de inclusão de YSE testados tiveram comportamentos independentes e não apresentaram, portanto, interação entre os mesmos. Partindo-se para a análise independente dos níveis de YSE e PB, o CDAMS diferiu significativamente ($p=0,0012$) entre os teores de PB, cuja dieta contendo 21% de PB apresentou maior CDAMS (Tabela 10). Essa diferença no CDAMS pode ser decorrente da alta inclusão de algum ingrediente, seja proteico ou energético, que possui reduzida digestibilidade da matéria seca, como, por exemplo, o farelo de soja (CARCIOFI et al., 2006; FÉLIX, 2009) ou farinha de trigo na dieta com 29% de PB.

Em relação à ausência de efeito significativo pela inclusão do YSE sobre a digestibilidade dos nutrientes (Tabela 10), os resultados desse trabalho estão de acordo com aqueles encontrados por Maia et al. (2010) com cães e Roque et al. (2011) com gatos, ambos utilizando a inclusão de 0, 125, 250 e 375ppm de YSE. Ainda assim, Bergero et al. (1995), ao avaliarem os efeitos da inclusão de YSE (0 e 120ppm) na dieta de coelhos, também, não observaram qualquer efeito do aditivo sobre a digestibilidade da MS e PB, entretanto, relataram redução no CDAEE naqueles animais alimentados com YSE. De forma contrária, Amber, Yakout e Hamed (2004), avaliando apenas o nível de inclusão de 250ppm de YSE na dieta de coelhos, relataram aumento da digestibilidade da MS, PB e EE.

Tabela 10 Coeficientes de digestibilidade aparente da matéria seca (CDAMS), proteína bruta (CDAPB), extrato etéreo (CDAEE), matéria mineral (CDAMM), em percentagem (%), em base na matéria seca, conforme os níveis de extrato de *Yucca schidigera* (YSE) e proteína bruta (PB) em dietas para cães (média ± erro padrão da média)

VAR.	YSE (ppm)				p*	PB (%)		p*	CV
	0	250	500	750		21	29		
CDAMS	83,94 ± 0,64	84,95 ± 0,96	84,41 ± 0,54	85,68 ± 0,59	NS	85,86 ± 0,42*	83,63 ± 0,45	0,0012	2,32
CDAPB	86,25 ± 0,66	87,25 ± 0,88	85,84 ± 0,48	87,10 ± 0,58	NS	86,43 ± 0,56	86,79 ± 0,37	NS	2,45
CDAEE	93,36 ± 0,60	94,42 ± 0,50	94,08 ± 0,33	93,01 ± 0,58	NS	93,90 ± 0,42	93,53 ± 0,32	NS	1,64
CDAMM	35,14 ± 3,16	37,05 ± 4,16	39,20 ± 1,56	42,52 ± 1,75	NS	39,44 ± 2,14	37,51 ± 1,73	NS	22,86

VAR.: variáveis; p*: significância $p < 0,05$ pelo teste de Scott-Knott na mesma linha para PB; NS: não significativo; CV: coeficiente de variação

Os valores médios de nitrogênio consumido, absorvido, fecal, urinário e o balanço aparente de nitrogênio da análise independente de níveis de inclusão de YSE e teores de PB encontram-se na Tabela 11.

Para todas as variáveis acima descritas, o teor de PB dietético e o nível de inclusão de YSE testados tiveram comportamentos independentes e não apresentaram, portanto, interação entre os mesmos. Partindo-se para a análise independente dos níveis de YSE e PB, foi encontrada diferença significativa no consumo, absorção e excreção de nitrogênio entre aqueles animais alimentados com 21 e 29% de PB, ainda assim, o balanço de nitrogênio não diferiu significativamente (Tabela 11).

Preston et al. (1987), alimentando ratos com 16, 22 ou 28% de PB observaram aumento na excreção de nitrogênio nas fezes e urina, com o aumento do teor proteico na dieta. Hoffman et al. (2001), também, relataram aumento na ingestão de nitrogênio, nitrogênio fecal, nitrogênio absorvido e nitrogênio urinário em quantidades crescentes de proteína bruta na dieta de novilhas. Figueroa, Lewis e Miller (2000), em estudo com suínos alimentados com crescentes níveis de PB dietética, observaram aumento linear na ingestão, retenção e excreção fecal e urinária de nitrogênio com o aumento de proteína dietética. Com base nesses estudos e nos resultados obtidos no presente trabalho, pode-se inferir que o aumento de proteína na dieta pode levar ao aumento no consumo, retenção e excreção fecal e urinária de nitrogênio.

Com base nos resultados encontrados para os níveis de YSE (Tabela 11), pode-se inferir que esses níveis de inclusão do aditivo para cães adultos não interferem significativamente na ingestão, retenção e excreção de nitrogênio.

Tabela 11 Nitrogênio consumido (N CON), nitrogênio absorvido (N ABS), nitrogênio fecal (N FEC), nitrogênio urinário (N UR) em g/dia, e balanço aparente de nitrogênio (BAN), conforme os níveis de extrato de *Yucca schidigera* (YSE) e proteína bruta (PB) em dietas para cães (média ± erro padrão da média)

VAR.	YSE (ppm)				p*	PB (%)		p*	CV
	0	250	500	750		21	29		
N CON	10,03 ± 0,64	9,81 ± 0,56	9,54 ± 0,50	10,21 ± 0,54	NS	8,49 ± 0,19*	11,31 ± 0,24	0,0001	10,42
N ABS	8,66 ± 0,58	8,54 ± 0,46	8,19 ± 0,44	8,91 ± 0,50	NS	7,34 ± 0,18*	9,82 ± 0,22	0,0001	10,90
N FEC	1,37 ± 0,09	1,27 ± 0,12	1,35 ± 0,08	1,30 ± 0,07	NS	1,15 ± 0,05*	1,49 ± 0,05	0,0001	17,89
N UR	5,04 ± 0,81	5,44 ± 0,64	4,61 ± 0,38	5,31 ± 0,72	NS	3,97 ± 0,36*	6,23 ± 0,40	0,0002	32,78
BAN	3,63 ± 0,60	3,10 ± 0,45	3,58 ± 0,54	3,60 ± 0,65	NS	3,36 ± 0,37	3,59 ± 0,42	NS	51,91

VAR.: variáveis; p*: significância p<0,05 pelo teste de Scott-Knott na mesma linha para PB; NS: não significativo; CV: coeficiente de variação

4.2 Escore fecal

Os valores médios de escore fecal estão apresentados nas Tabelas 12 a 14.

Tabela 12 Escore fecal médio de cães adultos alimentados com dieta contendo 21% de proteína bruta (PB) e diferentes níveis de inclusão de extrato de *Yucca schidigera* (YSE) (média \pm erro padrão da média)

Tratamento	Médias	p*	CV
(1) 21% PB + 0ppm YSE	3,96 \pm 0,04	NS	4,39
(2) 21% PB + 250ppm YSE	3,82 \pm 0,08		
(3) 21% PB + 500ppm YSE	4,00 \pm 0,00		
(4) 21% PB + 750ppm YSE	3,96 \pm 0,04		

p*: significância $p < 0,05$ pelo Teste de Kruskal-Wallis; NS: não significativo; CV: coeficiente de variação

Tabela 13 Escore fecal médio de cães adultos alimentados com dieta contendo 29% de proteína bruta (PB) e diferentes níveis de inclusão de extrato de *Yucca schidigera* (YSE) (média \pm erro padrão da média)

Tratamento	Médias	p*	CV
(5) 29% PB + 0ppm YSE	3,94 \pm 0,04	NS	4,39
(6) 29% PB + 250ppm YSE	3,78 \pm 0,07		
(7) 29% PB + 500ppm YSE	3,84 \pm 0,12		
(8) 29% PB + 750ppm YSE	3,76 \pm 0,11		

p*: significância $p < 0,05$ pelo Teste de Kruskal-Wallis; NS: não significativo; CV: coeficiente de variação

Tabela 14 Comparações de escore fecal de cães adultos alimentados com dieta contendo 21% ou 29% de proteína bruta (PB) e diferentes níveis de inclusão de extrato de *Yucca schidigera* (YSE) (média \pm erro padrão da média)

Contrastes	Médias	p*
(1) 21% PB + 0ppm YSE	3,96 \pm 0,04	NS
(5) 29% PB + 0ppm YSE	3,94 \pm 0,04	
(2) 21% PB + 250ppm YSE	3,82 \pm 0,08	NS
(6) 29% PB + 250ppm YSE	3,78 \pm 0,07	
(3) 21% PB + 500ppm YSE	4,00 \pm 0,00	NS
(7) 29% PB + 500ppm YSE	3,84 \pm 0,12	
(4) 21% PB + 750ppm YSE	3,96 \pm 0,04	NS
(8) 29% PB + 750ppm YSE	3,76 \pm 0,11	

p*: significância $p < 0,05$ pelo Teste de Wilcoxon pareado; NS: não significativo

Como pode ser observada nas Tabelas 12 e 13, a inclusão de diferentes níveis de YSE tanto em ração com 21% de PB quanto em ração com 29% de PB não alterou significativamente o escore fecal. E embora tenha sido observado menor CDAMS no grupo de animais alimentados com dietas contendo 29% de PB (Tabela 10), esse não levou à mudança significativa na qualidade fecal em relação aos demais tratamentos experimentais, com e sem inclusão de YSE. Desta maneira, esses resultados mostram que os níveis de inclusão de YSE testados não interferiram na qualidade fecal de cães adultos alimentados com dieta contendo 21% ou 29% de PB. Da mesma forma, os diferentes teores de proteína na dieta não alteraram o escore fecal (Tabela 14)

Os resultados deste trabalho estão de acordo ao descrito por Roque et al. (2011) que, em estudo com gatos alimentados com 0 a 375ppm de YSE, também, não encontraram diferença significativa no escore fecal médio. Em contrapartida, Maia et al. (2010) descreveram em seu estudo melhora no escore fecal de cães que consumiram dieta contendo YSE (125, 250 e 375ppm), quando

comparado à dieta controle, onde a concentração de 375ppm de YSE levou a fezes mais firmes e bem formadas. Lowe e Kershaw (1997) não observaram alteração na forma física das fezes de cães consumindo 250ppm de YSE. No entanto, esses autores, no mesmo estudo, ainda observaram que existe uma interação significativa entre YSE e o sexo em gatos, de forma que a YSE (125ppm) em machos tornou as fezes mais moles, enquanto que as fêmeas produziram fezes que tenderam a ser mais duras e bem formadas. Uma vez que no presente trabalho os animais foram distribuídos de maneira que houvesse um equilíbrio na quantidade de machos e fêmeas, em cada tratamento, não foi possível observar o efeito YSE e o sexo do animal.

4.3 Painel de odores

Os resultados da análise sensorial das fezes dos cães estão apresentados nas Tabelas 15 a 25.

No presente estudo, a amostra fecal dos animais que consumiram a dieta com 21% de PB foi menos fétida do que daqueles que consumiram dieta contendo 29% de PB (Tabela 15), que leva a sugerir que o teor de proteína pode interferir significativamente na produção do odor fecal. Isso corrobora com os dados obtidos por Le et al. (2007) que, em experimento avaliando os efeitos do nível de PB dietética (12, 15 e 18%) na emissão de odor fecal de suínos, observaram redução de 80% nesse parâmetro, quando substituiu o alimento com 18% de PB por outro com 12% de PB. Da mesma forma, Hayes et al. (2004), observando a taxa de emissão de odor de suínos alimentados com diferentes níveis de PB (13, 16, 19 e 22%) observaram redução significativa nessa taxa em 33 e 31%, quando os animais foram alimentados com dieta contendo 16% e 13% de PB, respectivamente, em comparação à dieta que continha 19% de PB.

Tabela 15 Comparação do odor de fezes de cães adultos alimentados com dietas com 21% de proteína bruta (Tratamento 1) ou 29% de proteína bruta (Tratamento 5), ambas sem inclusão de extrato de *Yucca schidigera*

Menos fétido	n	Proporção (%)	p*
Tratamento 1	60	74,0	< 0,01
Tratamento 5	21	26,0	

p*: significância $p < 0,05$ pelo teste de uma proporção

Tabela 16 Comparações do odor de fezes de cães adultos alimentados com dietas contendo 21% ou 29% de proteína bruta (PB) com e sem inclusão de extrato de *Yucca schidigera* (YSE)

Contrastes¹	Odor fecal			p*	
	Mais	Igual	Menos	Mais vs Igual	Mais vs Menos
Contraste 1	32 39,50%	20 24,70%	29 35,80%	<0,01	0,56
Contraste 2	26 32,10%	22 27,20%	33 40,70%	0,38	0,12
Contraste 3	32 39,50%	14 17,30%	35 43,20%	<0,01	0,51
Contraste 4	38 46,90%	21 25,90%	22 27,20%	<0,01	<0,01
Contraste 5	27 33,30%	13 16,10%	41 50,60%	<0,01	<0,01
Contraste 6	33 40,70%	24 29,60%	24 29,60%	0,04	0,04

p*: significância $p < 0,05$ pelo teste de uma proporção;

¹Contraste 1: Tratamento 2 (dieta com 21% de PB + 250ppm de YSE) vs Tratamento 1 (dieta com 21% de PB); Contraste 2: Tratamento 3 (dieta com 21% de PB + 500ppm de YSE) vs Tratamento 1; Contraste 3: Tratamento 4 (dieta com 21% de PB + 750ppm de YSE) vs Tratamento 1; Contraste 4: Tratamento 6 (dieta com 29% de PB + 250ppm de YSE) vs Tratamento 5 (dieta com 29% de PB); Contraste 5: Tratamento 7 (dieta com 29% de PB + 500ppm de YSE) vs Tratamento 5; Contraste 6: Tratamento 8 (dieta com 29% de PB + 750ppm de YSE) vs Tratamento 5

Considerando os resultados demonstrados na Tabela 16, as dietas contendo 21% de PB com inclusão de 250 ou 750ppm de YSE levaram à produção de fezes com odor diferente quando comparados à dieta com o mesmo teor proteico sem adição de YSE. Entretanto, não houve diferença significativa quanto à inclusão desses níveis na redução ou aumento do odor fecal. Para os tratamentos contendo o teor de proteína de 29%, a inclusão de 250 ou 750ppm de YSE levaram à produção de fezes mais fétidas, e a inclusão de 500ppm de YSE resultou em fezes menos fétidas, quando comparadas a animais consumindo a mesma dieta sem a inclusão desse aditivo. Dessa forma, para o nível de 21% de PB na dieta, nenhum dos três níveis de inclusão de YSE resultou na redução significativa do odor fecal dos cães, já para o nível de 29% de PB, somente a inclusão de 500ppm de YSE resultou na redução significativa do odor fecal.

Segundo resultado de outro estudo, a inclusão de 125, 250 e 375ppm de YSE não foram eficazes na redução do odor fecal de cães alimentados com dietas contendo 31% de PB na matéria natural (MAIA et al., 2010). Já Lowe e Kershaw (1997), em estudo com cães e gatos alimentados com dietas contendo 27 e 30% de PB, respectivamente, observaram que as inclusões de 250ppm de YSE para cães e 125ppm de YSE para gatos, no prazo de quinze dias, reduziram o odor fecal, sendo este efeito maximizado em 24 dias. Roque et al. (2011), em estudo com gatos, relataram que as amostras de fezes referentes aos tratamentos que continham 125 e 375ppm de YSC obtiveram os melhores valores atribuídos ao odor em relação ao controle e ao tratamento com 250ppm de YSC. Os diferentes resultados dos estudos podem ser em função da fonte de proteína utilizada, uma vez que a digestibilidade dessa interfere diretamente nas características fecais.

As análises das mudanças de opiniões dos avaliadores para odor fecal, considerando os níveis de inclusão de YSE na dieta de cães com 21% de PB

estão demonstradas nas Tabelas 17 a 19.

Tabela 17 Avaliação da mudança de opinião para odor fecal de cães adultos, considerando o efeito do YSE (250 vs 500ppm) para o teor de proteína bruta (PB) dietética de 21%

Contraste 1 ¹	Contraste 2 ²			Total	p*
	igual	mais	menos		
igual	2 2,47%	13 16,05%	5 6,17%	20 24,69%	0,70
mais	14 17,28%	6 7,41%	12 14,81%	32 39,51%	
menos	6 7,41%	7 8,64%	16 19,75%	29 35,80%	
Total	22 27,16%	26 32,10%	33 40,74%	81 100%	

YSE: extrato de *Yucca schidigera*; p*: significância $p < 0,05$ pelo teste de McNemar;

¹Contraste 1: Tratamento 2 (dieta com 21% de PB + 250ppm de YSE) vs Tratamento 1 (dieta com 21% de PB); Contraste 2: Tratamento 3 (dieta com 21% de PB + 500ppm de YSE) vs Tratamento 1

Tabela 18 Avaliação da mudança de opinião para odor fecal de cães adultos, considerando o efeito do YSE (250 vs 750ppm) para o teor de proteína bruta (PB) dietética de 21%

Contraste 1 ¹	Contraste 3 ²			Total	p*
	igual	mais	menos		
igual	2 2,47%	9 11,11%	9 11,11%	20 24,69%	0,55
mais	5 6,17%	14 17,28%	13 16,05%	32 39,51%	
menos	7 8,64%	9 11,11%	13 16,05%	29 35,80%	
Total	14 17,28%	32 39,51%	35 43,21%	81 100%	

YSE: extrato de *Yucca schidigera*; p*: significância $p < 0,05$ pelo teste de McNemar;

¹Contraste 1: Tratamento 2 (dieta com 21% de PB + 250ppm de YSE) vs Tratamento 1 (dieta com 21% de PB); Contraste 3: Tratamento 4 (dieta com 21% de PB + 750ppm de YSE) vs Tratamento 1

Tabela 19 Avaliação da mudança de opinião para odor fecal de cães adultos, considerando o efeito do YSE (500 vs 750ppm) para o teor de proteína bruta (PB) dietética de 21%

Contraste 2 ¹	Contraste 3 ²			Total	p*
	igual	mais	menos		
igual	4 4,94%	8 9,88%	10 12,35%	22 27,16%	0,28
mais	2 2,47%	13 16,05%	11 13,58%	26 32,10%	
menos	8 9,88%	11 13,58%	14 17,28%	33 40,74%	
Total	14 17,28%	32 39,51%	35 43,21%	81 100%	

YSE: extrato de *Yucca schidigera*; p*: significância $p < 0,05$ pelo teste de McNemar;

¹ Contraste 2: Tratamento 3 (dieta com 21% de PB + 500ppm de YSE) vs Tratamento 1 (dieta com 21% de PB); Contraste 3: Tratamento 4 (dieta com 21% de PB + 750ppm de YSE) vs Tratamento 1

Considerando as análises demonstradas nas Tabelas 17 a 19, para cães alimentados com dietas contendo 21% de PB, não foi significativa a mudança de opinião dos avaliadores para o odor fecal desses animais para os contrastes dos três níveis de inclusão de YSE.

As análises das mudanças de opiniões dos avaliadores para odor fecal, considerando os níveis de inclusão de YSE na dieta de cães com 29 % de PB estão demonstradas nas Tabelas 20 a 22.

Na Tabela 20, pode ser observado que houve um efeito do nível de inclusão de YSE, em que cerca de 40% (16,05% + 8,64% 16,05%) dos participantes trocaram de opinião considerando o contraste cinco menos forte do que o contraste quatro. Ou seja, conforme aumentou a inclusão do aditivo, o odor se caracterizou como menos fétido no contraste cinco.

Tabela 20 Avaliação da mudança de opinião para odor fecal de cães adultos, considerando o efeito do YSE (250 vs 500ppm) para o teor de proteína bruta (PB) dietética de 29%

Contraste 4 ¹	Contraste 5 ²			Total	p*
	igual	mais	menos		
igual	3 3,70%	5 6,17%	13 16,05%	21 25,93%	0,01
mais	7 8,64%	18 22,22%	13 16,05%	38 46,91%	
menos	3 3,70%	4 4,94%	15 18,52%	22 27,16%	
Total	13 16,05%	27 33,33%	41 50,62%	81 100%	

YSE: extrato de *Yucca schidigera*; p*: significância $p < 0,05$ pelo teste de McNemar;

¹Contraste 4: Tratamento 6 (dieta com 29% de PB + 250ppm de YSE) vs Tratamento 5 (dieta com 29% de PB); Contraste 5: Tratamento 7 (dieta com 29% de PB + 500ppm de YSE) vs Tratamento 5

Tabela 21 Avaliação da mudança de opinião para odor fecal de cães adultos, considerando o efeito do YSE (250 vs 750ppm) para o teor de proteína bruta (PB) dietética de 29%

Contraste 4 ¹	Contraste 6 ²			Total	p*
	igual	mais	menos		
igual	6 7,41%	9 11,11%	6 7,41%	21 25,93%	0,84
mais	12 14,81%	13 16,05%	13 16,05%	38 46,91%	
menos	6 7,41%	10 12,35%	6 7,41%	22 27,16%	
Total	24 29,63%	32 39,51%	25 30,86%	81 100%	

YSE: extrato de *Yucca schidigera*; p*: significância $p < 0,05$ pelo teste de McNemar;

¹Contraste 4: Tratamento 6 (dieta com 29% de PB + 250ppm de YSE) vs Tratamento 5 (dieta com 29% de PB); Contraste 6: Tratamento 8 (dieta com 29% de PB + 750ppm de YSE) vs Tratamento 5

Tabela 22 Avaliação da mudança de opinião para odor fecal de cães adultos, considerando o efeito do YSE (500 vs 750ppm) para o teor de proteína bruta (PB) dietética de 29%

Contraste 5 ¹	Contraste 6 ²			Total	p*
	igual	mais	menos		
igual	6 7,41%	3 3,70%	4 4,94%	13 16,05%	0,04
mais	7 8,64%	13 16,05%	7 8,64%	27 33,33%	
menos	11 13,58%	16 19,75%	14 17,28%	41 50,62%	
Total	24 29,63%	32 39,51%	25 30,86%	81 100%	

YSE: extrato de *Yucca schidigera*; p*: significância $p < 0,05$ pelo teste de McNemar;

¹ Contraste 5: Tratamento 7 (dieta com 29% de PB + 500ppm de YSE) vs Tratamento 5 (dieta com 29% de PB); Contraste 6: Tratamento 8 (dieta com 29% de PB + 750ppm de YSE) vs Tratamento 5

Considerando a análise demonstrada na Tabela 21, para cães alimentados com dietas contendo 29% de PB, não foi significativa a mudança de opinião dos avaliadores para o odor fecal desses animais para os contrastes dos níveis de 250 e 750ppm de YSE.

Considerando a Tabela 22, houve efeito do nível de inclusão de YSE, de forma que aproximadamente 37% (3,70% + 13,58% + 19,75%) dos participantes trocaram de opinião para um maior odor fecal no contraste seis em relação ao contraste cinco. Ou seja, com o aumento do nível de inclusão do aditivo, as fezes tenderam a ser mais fétidas no contraste seis.

As análises das mudanças de opiniões dos avaliadores para odor fecal variando no teor de PB e mantendo os níveis de inclusão de 250, 500 e 750ppm estão demonstradas nas Tabelas 23 a 25.

Tabela 23 Avaliação da mudança de opinião para odor fecal de cães adultos, considerando o efeito do teor de PB (21% vs 29%) na inclusão de 250ppm de extrato de *Yucca schidigera* (YSE)

Contraste 1 ¹	Contraste 4 ²			Total	p*
	igual	mais	menos		
igual	3 3,70%	13 16,05%	4 4,94%	20 24,69%	0,04
mais	5 6,17%	17 20,99%	10 12,35%	32 39,51%	
menos	13 16,05%	8 9,88%	8 9,88%	29 35,80%	
Total	21 25,93%	38 46,91%	22 27,16%	81 100%	

PB: proteína bruta; p*: significância p<0,05 pelo teste de McNemar;

¹ Contraste 1: Tratamento 2 (dieta com 21% de PB + 250ppm de YSE) vs Tratamento 1 (dieta com 21% de PB); Contraste 4: Tratamento 6 (dieta com 29% de PB + 250ppm de YSE) vs Tratamento 5 (dieta com 29% de PB)

Tabela 24 Avaliação da mudança de opinião para odor fecal de cães adultos, considerando o efeito do teor de PB (21% vs 29%) na inclusão de 500ppm de extrato de *Yucca schidigera* (YSE)

Contraste 2 ¹	Contraste 5 ²			Total	p*
	igual	mais	menos		
igual	5 6,17%	9 11,11%	8 9,88%	22 27,16%	0,19
mais	3 3,70%	9 11,11%	14 17,28%	26 32,10%	
menos	5 6,17%	9 11,11%	19 23,46%	33 40,74%	
Total	13 16,05%	27 33,33%	41 50,62%	81 100%	

PB: proteína bruta; p*: significância p<0,05 pelo teste de McNemar;

¹ Contraste 2: Tratamento 3 (dieta com 21% de PB + 500ppm de YSE) vs Tratamento 1 (dieta com 21% de PB); Contraste 5: Tratamento 7 (dieta com 29% de PB + 500ppm de YSE) vs Tratamento 5 (dieta com 29% de PB)

Tabela 25 Avaliação da mudança de opinião para odor fecal de cães adultos, considerando o efeito do teor de PB (21% vs 29%) na inclusão de 750ppm de extrato de *Yucca schidigera* (YSE)

Contraste 3 ¹	Contraste 6 ²			Total	p*
	igual	mais	menos		
igual	5 6,17%	3 3,70%	6 7,41%	14 17,28%	0,15
mais	9 11,11%	12 14,81%	11 13,58%	32 39,51%	
menos	10 12,35%	17 20,99%	8 9,88%	35 43,21%	
Total	24 29,63%	32 39,51%	25 30,86%	81 100%	

PB: proteína bruta; p*: significância $p < 0,05$ pelo teste de McNemar;

¹ Contraste 3: Tratamento 4 (dieta com 21% de PB + 750ppm de YSE) vs Tratamento 1 (dieta com 21% de PB); Contraste 6: Tratamento 8 (dieta com 29% de PB + 750ppm de YSE) vs Tratamento 5 (dieta com 29% de PB)

Neste estudo, também pôde ser observado que o teor de PB na dieta pode interferir no melhor nível de inclusão de YSE. Pela Tabela 23, houve efeito do teor de proteína dietética para o mesmo nível de inclusão de YSE (250ppm), uma vez que cerca de 42% (16,05% + 16,05% + 9,88%) dos participantes trocaram de opinião para um maior odor fecal do contraste quatro em relação ao contraste um. Talvez isso tenha ocorrido pelo fato da inclusão de 250ppm de YSE não ter sido suficiente para reduzir o odor fecal de animais alimentados com alta quantidade de proteína. Para os demais níveis de inclusão de YSE, não foi observada diferença significativa quanto à mudança dos teores de PB.

Considerando as análises demonstradas nas Tabelas 24 e 25, para cães alimentados com dietas contendo 21% ou 29% de PB, não foi significativa a mudança de opinião dos avaliadores para o odor fecal desses animais sob o mesmo teor de inclusão de YSE, tanto para 500ppm (Tabela 24) quanto para 750ppm de YSE (Tabela 25).

4.4 Nitrogênio amoniacal

Os valores médios do nitrogênio amoniacal das fezes da análise independente de níveis de inclusão de YSE e teores de PB encontram-se na Tabela 26. Na variável nitrogênio amoniacal, o teor de PB dietético e o nível de inclusão de YSE testados tiveram comportamentos independentes e não apresentaram, portanto, interação entre os mesmos. Partindo-se para a análise independente dos níveis de YSE e PB, foi observado que os animais que não tiveram a inclusão do YSE em sua dieta (Tratamentos um e cinco) apresentaram maior concentração de nitrogênio amoniacal nas fezes em relação aos animais que consumiram os diferentes níveis de YSE (Tabela 26).

O resultado desse estudo está de acordo com estudo realizado por Amber, Yakout e Hamed (2004) que, ao incluírem 250ppm de YSE na dieta de coelhos, observaram redução significativa na concentração cecal de N amoniacal quando comparado ao grupo sem inclusão de YSE. Entretanto, não está de acordo ao observado por Hussain, Ismail e Cheeke (1996) que, em estudo com coelhos alimentados com diferentes teores de proteína (19 e 23%) e de YSE (0 e 250ppm), não observaram diferença significativa entre os tratamentos para nitrogênio amoniacal cecal. Da mesma forma, Preston et al. (1987), em estudo com ratos alimentados com diferentes teores de proteína (16, 22 e 28%) e de saponina da YSC (0 e 120ppm) relataram que os níveis de proteína, bem como a presença de saponina na dieta não afetaram a concentração de nitrogênio amoniacal cecal. Por meio dos resultados desse estudo, pode-se inferir que esses níveis de YSE incluídos na dieta reduziram a quantidade de amônia liberada no ambiente e, isso possivelmente ocorreu após os resíduos terem sido excretados pelo animal, talvez, pelo efeito de algum dos componentes do YSE sobre a atividade da urease bacteriana, uma vez que não foi observada alteração no metabolismo de nitrogênio.

Tabela 26 Nitrogênio amoniacal das fezes, em g/100g, conforme os níveis de extrato de *Yucca schidigera* (YSE) e proteína bruta (PB) estudados em cães adultos (média \pm erro padrão da média)

VAR.	YSE (ppm)				p*	PB (%)		p*	CV
	0	250	500	750		21	29		
N AMON	0,28 \pm 0,01*	0,25 \pm 0,02	0,23 \pm 0,02	0,22 \pm 0,01	0,030	0,23 \pm 0,01	0,25 \pm 0,01	NS	19,80

VAR.: variável; p*: significância $p < 0,05$ pelo teste de Scott-Knott para YSE; NS: não significativo; CV: coeficiente de variação

4.5 Área de gás e espessura de parede intestinal

Os valores médios da mensuração de área de gás e espessura de parede intestinal da análise independente de níveis de inclusão de YSE e teores de PB para cães encontram-se na Tabela 27.

Tanto para a variável área de gás, quanto para espessura de parede intestinal, foi observado que o teor de PB dietético e o nível de inclusão de YSE testados tiveram comportamentos independentes e não apresentaram, portanto, interação entre os mesmos. Partindo-se para a análise independente dos níveis de YSE e PB, houve efeito a $p=0,0558$ dos níveis de inclusão de YSE sobre a produção de gases intestinais (Tabela 27). A inclusão do aditivo nos níveis de 250 e 500ppm resultou na redução da produção de gás no intestino. Esse resultado pode ter sido decorrente da possível interferência da YSE na redução da atividade ou concentração da microbiota intestinal até determinado nível de inclusão e, conseqüentemente, redução da produção de gases por bactérias intestinais.

Nos cães, a parede intestinal normal apresenta uma espessura de 2 a 6mm (DELANEY; O'BRIEN; WALLER, 2003) e na região do duodeno, o intervalo de valores normais de espessamento da parede é de 3 a 6mm (PENNINCK et al., 2008 citado por AGUT, 2009). Com base nisso, pode-se dizer que os níveis de inclusão de YSE utilizados nesse experimento não conduziram à alteração na espessura da parede duodenal de cães, que pode ter sido decorrente do reduzido tempo do estudo.

Tabela 27 Área de gás (A. GÁS), em cm², e espessura de parede intestinal (E. PAR.), em mm, de cães adultos, conforme os níveis de extrato de *Yucca schidigera* (YSE) e proteína bruta (PB) dietéticos (média ± erro padrão da média)

VAR.	YSE (ppm)				p*	PB (%)		p*	CV
	0	250	500	750		21	29		
A. GÁS	8,86 ± 1,00*	7,72 ± 0,59	6,87 ± 1,14	10,40 ± 1,10*	0,0558	8,62 ± 0,56	8,14 ± 0,74	NS	29,63
E. PAR.	3,27 ± 0,14	3,41 ± 0,13	3,26 ± 0,10	3,38 ± 0,06	NS	3,30 ± 0,07	3,36 ± 0,09	NS	11,23

VAR. variáveis; p*: significância p<0,05 pelo teste de Scott-Knott na mesma linha para YSE; NS: não significativo; CV: coeficiente de variação

4.6 Parâmetros sanguíneos

Os valores médios de parâmetros hematológicos da análise independente de níveis de inclusão de YSE e teores de PB encontram-se na Tabela 28.

Para as variáveis hematócrito, contagem de hemácias, hemoglobina, VCM, HCM, CHCM e plaquetas, o teor de PB dietético e o nível de inclusão de YSE testados tiveram comportamentos independentes e não apresentaram, portanto, interação entre os mesmos. Partindo-se para a análise independente dos níveis de YSE e PB, foi encontrada diferença significativa na inclusão de 750ppm para as variáveis VCM e HCM e para o teor proteico da dieta, nos seguintes parâmetros, hematócrito, contagem de hemácias e hemoglobina (Tabela 28).

Os animais alimentados com dieta contendo 21% de PB apresentaram valor médio do hematócrito significativamente mais alto que aqueles animais alimentados com dieta contendo 29% de PB (Tabela 28), estando esse acima do intervalo de referência para cães adultos, que é de 37 a 55% (JAIN, 1993). Ainda assim, essa alteração também foi acompanhada do aumento significativo da contagem de hemácias (Tabela 28), embora esse esteja dentro do intervalo de referência proposto por Jain (1993), que é de 5,5 a 8,5 milhões/mm³; bem como do aumento de hemoglobina (Tabela 28) para níveis acima do intervalo de referência, que é de 12 a 18g/dL. Dessa forma, esse grupo de cães pode ter apresentado um quadro de aumento relativo de eritrócitos como resultado da redução do volume plasmático em virtude da desidratação ou do aumento de massa de células vermelhas secundárias à contração esplênica, que pode ter ocorrido em resposta à epinefrina liberada por alguns animais excitados. Esse mecanismo pode assim ter aumentado temporariamente o hematócrito sem aumento de proteínas plasmáticas totais (COWEL; TYLER; MEINKOTH, 1999).

Tabela 28 Hematócrito (HT) em %, hemácias (HM) em milhões/mm³, hemoglobina (HG) em g/dL, volume corpuscular médio (VCM) em fl, hemoglobina corpuscular média (HCM) em pg, concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) em % e plaquetas (PLQ) /mm³, de cães adultos, conforme os níveis de extrato de *Yucca schidigera* (YSE) e proteína bruta (PB) dietéticos (média ± erro padrão da média)

VAR.	YSE (ppm)				p*	PB (%)		p*	CV
	0	250	500	750		21	29		
HT	53,96 ± 2,87	53,63 ± 2,57	56,64 ± 2,96	52,00 ± 0,99	NS	55,57 ± 0,99*	52,06 ± 1,95	0,0268	8,01
HM	7,36 ± 0,38	7,31 ± 0,37	7,62 ± 0,40	7,21 ± 0,12	NS	7,81 ± 0,15*	6,93 ± 0,26	0,0181	13,05
HG	17,50 ± 0,68	17,58 ± 0,45	18,62 ± 0,37	16,91 ± 0,31	0,0461	18,10 ± 0,27*	17,06 ± 0,38	0,0229	6,86
VCM	69,50 ± 0,65	70,20 ± 0,59	70,00 ± 0,47	71,60 ± 0,43*	0,0826	70,60 ± 0,37	70,05 ± 0,45	NS	2,59
HCM	22,30 ± 0,21	22,22 ± 0,50	22,33 ± 0,31	22,90 ± 0,10*	0,0165	22,47 ± 0,26	22,42 ± 0,17	NS	2,18
CHCM	32,10 ± 0,18	32,40 ± 0,43	32,30 ± 0,42	32,00 ± 0,00	NS	32,10 ± 0,22	32,30 ± 0,22	NS	3,07
PLQ	274,30 ± 18,48	273,25 ± 18,19	275,10 ± 15,87	313,00 ± 19,45	NS	294,53 ± 11,18	274,42 ± 14,35	NS	19,92

VAR. variáveis; p*: significância p<0,05 pelo teste de Scott-Knott na mesma linha para PB ou YSE; NS: não significativo; CV: coeficiente de variação

Por outro lado, os resultados de pesquisas considerando os efeitos do teor proteico da dieta sobre parâmetros hematológicos ainda divergem. Lazzari et al. (2011), alimentando peixes jundiá (*Rhamdia quelen*) com três níveis proteicos (24, 27 e 30%) não encontraram diferenças na contagem de hemácias, hemoglobina e hematócrito ($p > 0,05$), entretanto, foi observado que o teor de 27% de PB conduziu a menores valores de plaqueta ($p < 0,01$) e maior concentração de hemoglobina corpuscular média ($p > 0,05$). Já Camargo, Pouey e Martins (2005), em estudo com a mesma espécie de peixe, porém alimentados com 30, 40 e 50% de PB observaram aumento linear nos valores de eritrócitos, hematócrito e hemoglobina de acordo com o nível proteico da dieta.

Na variável hemoglobina, embora tenha sido observado $p < 0,05$ para os diferentes níveis de inclusão de YSE, não foi detectada diferença entre as médias pelo teste Scott-Knott (Tabela 28).

Foi observado efeito a $p = 0,0826$ dos níveis de inclusão de YSE sobre o VCM (Tabela 28). Embora dentro dos valores de referência proposto por Jain (1993), a inclusão de YSE ao nível de 750ppm resultou no aumento significativo desse parâmetro, talvez em razão desse nível levar ao desenvolvimento de deficiência de vitamina B12 ou ácido fólico; ou pelo aumento da liberação de reticulócitos pela medula, possivelmente esta secundária à presença de hemólise. A anemia pode não ter sido detectada pela compensação na produção de eritrócitos imaturos pela medula.

Apesar das saponinas serem conhecidas por exercerem ação lítica sobre a membrana de eritrócitos (BANGHAM; HORNE, 1962; GLAUERT; DINGLE; LUCY, 1962 citado por FRANCIS et al., 2002), neste trabalho, essa ação não foi claramente observada uma vez que em nenhum dos níveis de inclusão foi observada qualquer alteração nos parâmetros, tais como contagem de eritrócitos, hematócrito e CHCM. Esses resultados estão de acordo com o observado por Aslan et al. (2005), Kaya, Erdogan e Erdogan (2003), Lowe e Kershaw (1997),

Maia (2008) e Roque et al. (2011), os quais também não encontraram alterações em parâmetros que pudessem remeter à possível ação hemolítica das saponinas da YSC.

Os valores médios das concentrações plasmáticas de proteínas totais, albumina, globulina e a relação albumina:globulina da análise independente de níveis de inclusão de YSE e teores de PB para cães encontram-se na Tabela 29.

Para as variáveis concentrações plasmáticas de proteínas totais, albumina, globulina e a relação albumina:globulina, o teor de PB dietético e o nível de inclusão de YSE testados tiveram comportamentos independentes e não apresentaram, portanto, interação entre os mesmos. Partindo-se para a análise independente, embora tenha sido verificado $p < 0,05$ na variável proteínas totais para os diferentes teores de proteína dietética, não foi detectada diferença entre as médias pelo teste Scott-Knott (Tabela 29).

Segundo Eckersall (2008), as proteínas plasmáticas são sensíveis a influências nutricionais, mas as mudanças são muitas vezes sutis e difíceis de detectar e interpretar. Hoffman et al. (2001), em um estudo em novilhas, aumentando a proporção de PB na dieta de 8% para 15% observaram aumento de proteínas séricas totais e de albumina, mas a relação albumina: globulina permaneceu a mesma. Polat, Cetin e Balci (2004), em estudo com avestruzes alimentados com dietas contendo 21 ou 23% de PB, observaram que o grupo de animais alimentado com maior teor proteico apresentou concentração de albumina e relação albumina:globulina significativamente aumentadas em relação ao grupo alimentado com dieta com menor teor proteico. Em contraste a esses estudos, a proteína sérica total não foi afetada em éguas grávidas por diferenças substanciais em quantidade e qualidade de proteína na dieta (VAN NIEKERK; VAN NIEKERK, 1997 citado por ECKERSALL, 2008).

Tabela 29 Concentrações plasmáticas de proteínas totais (PTOT), albumina (ALB), globulina (GLOB), em g/dL, e relação A/G de cães adultos, conforme os níveis de extrato de *Yucca schidigera* (YSE) e proteína bruta (PB) dietéticos (média ± erro padrão da média)

VAR.	YSE (ppm)				p*	PB (%)		p*	CV
	0	250	500	750		21	29		
PTOT	7,01 ± 0,13	7,01 ± 0,16	6,93 ± 0,06	7,10 ± 0,09	NS	6,92 ± 0,05	7,11 ± 0,10	0,0263	4,58
ALB	3,86 ± 0,15	3,73 ± 0,09	3,78 ± 0,07	3,82 ± 0,11	NS	3,76 ± 0,06	3,83 ± 0,09	NS	9,20
GLOB	3,15 ± 0,20	3,28 ± 0,10	3,15 ± 0,09	3,28 ± 0,11	NS	3,15 ± 0,06	3,28 ± 0,12	NS	13,16
R A/G	1,29 ± 0,07	1,14 ± 0,03	1,21 ± 0,05	1,18 ± 0,05	NS	1,20 ± 0,03	1,18 ± 0,04	NS	13,25

VAR. variáveis; p*: significância $p < 0,05$ pelo teste de Scott-Knott na mesma linha para PB; NS: não significativo; CV: coeficiente de variação.

Pela Tabela 29, para todos os níveis de YSE e teores de PB, a concentração de albumina encontrou-se elevada, que aumentou a relação albumina:globulina. Segundo Eckersall (2008) e Thrall (2004) a hiperalbuminemia ocorre por hemoconcentração como resultado da perda de água e desidratação. Entretanto, como neste trabalho não foi avaliado o balanço hídrico dos animais, não se pode inferir um possível quadro de desidratação nesses animais que justifiquem esses valores aumentados de albumina.

Corroborando com os resultados obtidos neste estudo, Alvares (2006), ao suplementar cães com YSE (0 e 2g de YSE/kg de ração), também, não observou alteração nas concentrações séricas de proteína total, albumina e globulina no grupo de animais que consumiram YSE. Já Kaya, Erdogan e Erdogan (2003), suplementando codornas com 100 e 200ppm de YSC não observaram alteração na concentração sérica de proteína total, entretanto observaram redução sérica dos teores de albumina nas codornas alimentadas com 100ppm de YSC.

Os valores médios da atividade enzimática da alanina aminotransferase e fosfatase alcalina, bem como a bilirrubina total e frações da análise independente de níveis de inclusão de YSE e teores de PB encontram-se na Tabela 30.

Para as variáveis acima descritas, o teor de PB dietético e o nível de inclusão de YSE testados tiveram comportamentos independentes e não apresentaram, portanto, interação entre os mesmos. Partindo-se para a análise independente dos níveis de YSE e PB, verificou-se que a inclusão de 750ppm de YSE levou a uma maior atividade da enzima ALT quando comparada aos demais níveis (Tabela 30), embora o valor médio encontrado esteja dentro do intervalo de referência proposto por Kaneko, Harvey e Bruss (2008).

Tabela 30 Atividade das enzimas alanina aminotransferase (ALT) e fosfatase alcalina (FA), em U/L, e de bilirrubina total (BTOT), bilirrubina direta (BDIR) e de bilirrubina indireta (BIND) em mg/dL, de cães adultos, conforme os níveis de extrato de *Yucca schidigera* (YSE) e proteína bruta (PB) dietéticos (média ± erro padrão da média)

VAR.	YSE (ppm)				p*	PB (%)		p*	CV
	0	250	500	750		21	29		
ALT	54,80 ± 3,79	60,60 ± 2,63	61,90 ± 5,62	78,80 ± 7,53*	0,0262	64,50 ± 4,18	63,55 ± 4,11	NS	27,16
FA	12,50 ± 1,15	14,63 ± 1,64	16,60 ± 2,47	17,00 ± 2,47	NS	16,83 ± 1,50	13,58 ± 1,31	NS	41,84
BTOT	0,25 ± 0,03	0,26 ± 0,04	0,32 ± 0,03	0,32 ± 0,04	NS	0,31 ± 0,02	0,27 ± 0,03	NS	28,89
BDIR	0,07 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,08 ± 0,01	NS	0,09 ± 0,01	0,07 ± 0,01	NS	35,01
BIND	0,18 ± 0,03	0,18 ± 0,03	0,24 ± 0,04	0,24 ± 0,03	NS	0,22 ± 0,02	0,20 ± 0,02	NS	40,10

VAR. variáveis; p*: significância $p < 0,05$ pelo teste de Scott-Knott na mesma linha para YSE; NS: não significativo; CV: coeficiente de variação.

Segundo Thrall (2004), uma lesão tóxica discreta, possivelmente secundária à ação de produtos tóxicos pode levar à lesão discreta de hepatócitos, tendo como resultado aumento leve a moderado da atividade de enzimas de extravasamento como a ALT. Ainda, segundo esse autor, em geral, essas alterações não provocam colestase, porém, se o edema celular for grave, os hepatócitos poderão comprimir os canalículos biliares e provocar colestase com consequente aumento da atividade das enzimas de indução, como por exemplo, a FA. Geralmente a colestase não é grave o suficiente para causar aumento da concentração sérica de bilirrubina.

Embora tenha se observado aumento da atividade da enzima ALT no grupo de animais que teve a inclusão de 750ppm de YSE na dieta, em relação aos outros tratamentos (Tabela 30), esse não foi superior ao limite máximo de referência encontrado na literatura. Seria importante ter sido realizado um exame ultrassonográfico no fígado para chegar ao diagnóstico de lesão hepática causada pelo alto teor de inclusão desse aditivo. Ainda assim, pode ser que esse alto nível de inclusão do aditivo cause lesão hepática mais severa, em longo prazo, o que não pôde ser observado neste estudo em razão do curto período de tempo em que esse aditivo foi fornecido aos animais.

Os valores médios das concentrações plasmáticas de colesterol, triglicerídeos, lipoproteína de muito baixa densidade e de alta densidade e ureia, da análise independente de níveis de inclusão de YSE e teores de PB para cães encontram-se na Tabela 31.

Para todas as variáveis anteriormente descritas, o teor de PB dietético e o nível de inclusão de YSE testados tiveram comportamentos independentes e não apresentaram, portanto, interação entre os mesmos.

Tabela 31 Concentrações séricas de colesterol (COL), triglicerídeos (TAG), lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), lipoproteína de alta densidade (HDL) e ureia (URE), em mg/dL, de cães adultos, conforme os níveis de extrato de *Yucca schidigera* (YSE) e proteína bruta (PB) dietéticos (média ± erro padrão da média)

VAR.	YSE (ppm)				p*	PB (%)		p*	CV
	0	250	500	750		21	29		
COL	159,70 ± 9,49	157,50 ± 10,25	148,00 ± 12,12	201,90 ± 23,10*	0,0534	179,20 ± 11,37	154,35 ± 10,36	NS	26,92
TAG	37,75 ± 4,43	38,60 ± 2,35	34,10 ± 1,82	40,33 ± 4,86	NS	38,24 ± 2,97	36,53 ± 2,45	NS	19,33
VLDL	7,55 ± 0,47	7,72 ± 0,47	6,82 ± 0,36	8,07 ± 0,90	NS	7,65 ± 0,30	7,50 ± 0,43	NS	19,33
HDL	151,90 ± 9,55	131,50 ± 5,56	140,70 ± 10,51	132,83 ± 6,36	NS	148,24 ± 6,14	132,83 ± 6,38	NS	19,52
URE	35,20 ± 2,57	30,90 ± 1,90	32,00 ± 1,70	31,10 ± 1,12	NS	30,00 ± 1,09*	34,60 ± 1,40	0,0073	17,28

VAR. variáveis; p*: significância p<0,05 pelo teste de Scott-Knott na mesma linha para PB ou YSE; NS: não significativo; CV: coeficiente de variação.

Na análise independente dos níveis de YSE e PB, houve efeito a $p=0,0534$ na inclusão de 750ppm de YSE para a concentração sérica de colesterol; bem como houve aumento significativo ($p<0,05$) na concentração sérica de ureia nos animais alimentados com dieta contendo 29% de PB (Tabela 31).

Para todos os tratamentos, os valores médios da concentração sérica de colesterol e triglicérides apresentaram-se dentro dos valores de normalidade conforme descrito por Kaneko, Harvey e Bruss (2008). Quanto ao efeito da inclusão de 750ppm de YSE sobre o nível de colesterol sérico, os resultados desse estudo não condizem ao relatado por Malinow et al. (1977) e Oakenfull et al. (1979), os quais afirmam que as saponinas purificadas e presentes nos alimentos reduzem a concentração sérica de colesterol.

Kaya, Erdogan e Erdogan (2003), em estudo com codornas consumindo dietas acrescidas de YSC (100 ou 200ppm), observaram redução significativa nos níveis séricos de colesterol e triglicérides em relação ao grupo controle. Da mesma forma, Aslan et al. (2005) também relataram redução no teor de colesterol sérico de galinhas poedeiras suplementadas com 100, 150 e 200ppm de YSE na oitava semana de suplementação em relação à dieta controle.

Entretanto, como pode ser observado na Tabela 30, os animais que consumiram 750ppm de YSE tiveram maior atividade da enzima ALT, sugerindo uma possível lesão tóxica discreta causada pela alta inclusão do aditivo. Dessa forma, o motivo pelo qual foi observada essa maior concentração de colesterol plasmático, nesse mesmo grupo de animais em relação aos demais grupos, pode ser decorrente ainda assim do início de uma possível lesão no fígado, uma vez que, segundo Johnson (1992), a lesão hepática pode levar à hipercolesterolemia ou hipocolesterolemia. Segundo Thrall (2004), na doença hepática pode haver aumento da concentração sérica de triglicérides e de colesterol, sendo a hipercolesterolemia decorrente da menor captação hepática

do colesterol do sangue e menor excreção de colesterol na bile. No entanto, Kitamura (2008), avaliando o perfil lipídico de cães com e sem doença hepática, observou que a maioria dos animais com hepatopatia apresentou níveis de colesterol dentro do intervalo de referência, discordando assim dos trabalhos encontrados na literatura.

Quanto ao efeito observado no aumento significativo de ureia plasmática em cães alimentados com dietas contendo altos níveis de PB (Tabela 31), tem-se que esse fato pode ter sido decorrente da maior quantidade de aminoácidos desaminados advindos dessa dieta, com conseqüente aumento no fluxo de transformação da amônia em ureia no fígado. Esse mecanismo foi relatado também por Maciel (2003) que, ao alimentar cães com dietas contendo diferentes teores de proteína (19, 24, 30, 36 e 41%), observou aumento dos valores de ureia plasmática à medida que se aumentou o teor de proteína na dieta. Bovée (1991) e Nap et al. (1991) também relataram esse mesmo efeito em cães.

Apesar dos altos níveis de inclusão de YSE não terem provocado alterações significativas na concentração sérica de ureia (Tabela 31), um dos efeitos desse aditivo no metabolismo de nitrogênio inclui a redução da ureia, uma vez que se suspeita que um dos seus componentes atue na função renal aumentando a taxa de depuração de ureia no sangue (KILLEN et al., 1998; HRISTOV et al., 1999; WALLACE; ARTHAUD; NEWBOLD, 1994). Tal fato foi comprovado por Amber, Yakout e Hamed (2004) após a suplementação de coelhos com 250ppm de YSE. Da mesma forma, Preston et al. (1987), em estudo com ratos alimentados com diferentes teores de proteína (16, 22 e 28%) e saponina da YSC (0 e 120ppm), observaram elevação na concentração de ureia plasmática com o aumento de PB nas dietas controle, entretanto, para esses três níveis de PB, a inclusão de 120ppm da saponina foi eficaz na redução dos níveis plasmáticos de ureia.

Em contrapartida, Hussain, Ismail e Cheeke (1996), em estudo com coelhos alimentados com diferentes teores de proteína (19 e 23%) e de YSE (0 e 250ppm), observaram que a ureia plasmática foi maior no grupos de animais que receberam maior teor proteico dietético com e sem YSE; e a inclusão do YSE em ambos os teores de proteína não interferiu na concentração plasmática de ureia. Ainda assim, em estudos utilizando YSE na alimentação de cães (MAIA, 2008) e gatos (ROQUE et al., 2011) também não foram observadas alterações significativas na ureia plasmática.

4.7 pH e densidade urinária

Os valores médios de pH e densidade urinária da análise independente de níveis de inclusão de YSE e teores de PB para cães encontram-se na Tabela 32.

Nas variáveis pH e densidade urinária, o teor de PB dietético e o nível de inclusão de YSE testados possuíram comportamentos independentes e não apresentaram, portanto, interação entre os mesmos. Partindo-se para a análise independente dos níveis de YSE e PB, encontrou-se que o grupo de animais alimentados com 29% de PB apresentaram maior pH urinário em relação àquele grupo alimentado com 21% de PB (Tabela 32).

Zentek e Schulz (2004), ao avaliarem duas fontes de proteína de origem vegetal e uma de origem animal, todas em alta e baixa quantidade na dieta de gatos, observaram menor pH urinário quando os animais consumiram dietas com baixa proteína de origem vegetal. Dessa forma, quanto maior a quantidade de proteínas de origem vegetal na dieta, maior tende a ser o pH urinário. Considerando os resultados de nitrogênio urinário obtidos no presente estudo (Tabela 11), o percentual de nitrogênio excretado via urinária, a partir do total de nitrogênio absorvido, foi maior para o teor de 29% PB (55,08%) do que para o

teor de 21% de PB (46,76%), comprovando uma maior quantidade de proteína de origem vegetal na dieta com 29% de PB.

Ainda assim, segundo Patience (1990), existe uma estreita relação entre o metabolismo dos aminoácidos e homeostase ácido-base, de forma que este equilíbrio é obtido em parte pela alteração do metabolismo de aminoácidos. Destarte, o perfil aminoacídico das proteínas, também, pode ter influenciado nessa diferença do pH urinário dos animais.

Para os níveis de inclusão de YSE, os resultados deste trabalho corroboram com os encontrados por Santos (2010) na inclusão de 375ppm de YSE na dieta de cães e por Roque et al. (2011) na inclusão de 125, 250 e 375ppm de YSE na dieta de gatos.

Dietas formuladas para produzir a urina com uma faixa de pH de 5,5-6,0 foram identificadas como adequadas para a dissolução e prevenção da recorrência de urólitos de estruvita em cães (STEVENSON; SMITH, 2012); enquanto para oxalato de cálcio, sua solubilidade é aumentada na urina com pH maior que 6,4 e tem maior formação de cristais em pH menor que 6,5 (WARE, 2006). Dessa forma, tanto os níveis de inclusão de YSE quanto os teores de PB estão favorecendo a formação de urólitos de estruvita, uma vez que esses levaram à produção de urina mais alcalina.

Tabela 32 pH urinário (pH URIN.) e densidade urinária (DENS. URIN.) de cães adultos, conforme os níveis de extrato de *Yucca schidigera* (YSE) e proteína bruta (PB) dietéticos (média ± erro padrão da média)

VAR.	YSE (ppm)				p*	PB (%)		p*	CV
	0	250	500	750		21	29		
pH URIN.	7,35 ± 0,14	7,29 ± 0,08	7,22 ± 0,18	7,20 ± 0,12	NS	7,02 ± 0,08*	7,51 ± 0,07	0,0001	4,92
DENS. URIN.	1,019 ± 2,20	1,018 ± 2,04	1,022 ± 1,72	1,021 ± 2,82	NS	1,019 ± 1,66	1,021 ± 1,48	NS	0,66

VAR. variáveis; p*: significância $p < 0,05$ pelo teste de Scott-Knott na mesma linha para PB; NS: não significativo; CV: coeficiente de variação.

5 CONCLUSÃO

Nas condições do presente estudo, pôde-se constatar que não existe interação entre os teores de proteína bruta da dieta e os níveis de inclusão de YSE.

A inclusão de 500ppm de YSE apresenta maior capacidade de redução do odor fecal de cães alimentados com dietas contendo 29% de proteína bruta.

O nível de inclusão de 750ppm de YSE na dieta de cães pode não ser seguro, uma vez que pode levar a possíveis lesões hepáticas, alterações no metabolismo de colesterol e alta produção de gases intestinais, sendo ainda necessários novos estudos para confirmação desses efeitos em longo prazo.

REFERÊNCIAS

AGUT, A. Ultrasonography of the small intestine in small animals. **Veterinary Focus**, Camargue, v. 19, n. 1, p. 20-28, 2009.

ALVARES, A. A. A. **Influência da adição de extrato de *Yucca schidigera* nos parâmetros bioquímicos e hematológicos de cães adultos consumindo duas rações comerciais**. 2006. 47 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

AMBER, K. H.; YAKOUT, H. M.; HAMED, R. S. Effect of feeding diets containing *Yucca schidigera* extract or probiotic on growth, digestibility, nitrogen balance and caecal microbial activity of growing New Zealand White rabbits. In: WORLD RABBIT CONGRESS, 8., 2004, Puebla. **Proceedings...** Puebla: [s. n.], 2004. p. 737-745.

AQUINO, A. A. **Extrato seco de parede de levedura em dietas para gatos adultos**. 2009. 171 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

ASLAN, R. et al. Effects of various quantities of *Yucca schidigera* powder (Deodorase) added to diets on the performance, some hematological and biochemical blood parameters, and total antioxidant capacity of laying hens. **Revue de Médecine Vétérinaire**, Toulouse, v. 156, n. 6, p. 350-355, 2005.

ASPLUND, R. O. Urease inhibition by extracts and extract fractions from species of the plant genus *Yucca*. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 69, p. 113, 1991. (Suppl. 1).

ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS FABRICANTES DE ALIMENTOS PARA ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO. **Manual do programa integrado de qualidade pet**. 3. ed. São Paulo, 2008. 364 p.

BANGHAM, A. D.; HORNE, R. W. Action of saponins on biological cell membranes. **Nature**, London, v. 196, p. 952–953, 1962.

BARRIE, J.; WATSON, T. D. G. Hyperlipidemia. In: BONAGURA, J. D. **Kirk's current veterinary therapy XII**: small animal practice. Philadelphia: WB Saunders, 1995. p. 430-434.

BARTGES, J. W. et al. Prevalence of cystine and urate uroliths in bulldogs and urate uroliths in dalmatians. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 204, n. 12, p. 1914-1918, 1994.

BERGERO, D. et al. Effects of dietary inclusion *Yucca schidigera* extract or phillipsite tuff on digestibility and performances of growing rabbits. **World Rabbit Science**, Lempdes, v. 3, n. 4, p. 187-190, 1995.

BINGHAM, R.; BELLOW, B. A.; BELLOW, J. G. Yucca plant saponin in the management of arthritis. **Journal of Applied Nutrition**, La Habra, v. 7, p. 45-51, 1975

BINGHAM, R.; HARRIS, D. H.; LAGA, T. Yucca plant saponin in the treatment of hypertension and hypercholesterolemia. **Journal of Applied Nutrition**, La Habra, v. 30, p. 127-136, 1978.

BOVÉE, C. K. Influence of dietary on renal function in dogs. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 121, p. 128-139, 1991. (Suppl.).

BRAIN, K.; HADGRAFT, J.; AL-SHATALEBI, M. Membrane modification in activity of plant molluscicides. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 56, p. 663, 1990.

BRASIL. **Instrução Normativa n. 13, de 30 de novembro de 2004.** Regulamento técnico sobre aditivos para produtos destinados a alimentação animal. Brasília, 2004. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 22 nov. 2011.

CAMARGO, S. O.; POUHEY, J. L.; MARTINS, C. Parâmetros eritrocitários do jundiá (*Rhamdia quelen*) submetido à dieta com diferentes níveis de proteína. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 6, p. 1406-1411, 2005.

CARCIOFI, A. C. et al. Avaliação de dietas com diferentes fontes protéicas para cães adultos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 35, n. 3, p. 754-760, 2006.

CARCIOFI, A. C. Métodos para estudo das respostas metabólicas de cães e gatos a diferentes alimentos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 36, p. 235-249, 2007.

CARROLL, K. K. Review of clinical studies on cholesterol-lowering response to soy protein. **Journal of the American Dietetic Association**, Chicago, v. 91, p. 820-827, 1991.

CASE, L. P. et al. **Canine and feline nutrition: a resource for companion animal professionals**. 3rd ed. Missouri: Mosby, 2010. 562 p.

CENTER, S. A. Diagnostic procedures for evaluation of hepatic disease. In: GUILFORD, W. G. et al. **Strombeck's small animal gastroenterology**. 3rd ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1996. p.130-188.

CHEEKE, P. R. Actual and potential applications of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* saponins in human and animal nutrition, **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 77, n. 8, p. 1-10, 1999.

CHEEKE, P. R.; OTERO, R. Yucca, quillaja may have role in animal nutrition. **Feedstuffs**, Minnetonka, v. 77, n. 3, p. 1-10, 2005.

CHEEKE, P. R.; PIACENTE, S.; OLESZEK, W. Anti-inflammatory and anti-arthritic effects of *Yucca schidigera*: a review. **Journal of Inflammation**, New York, v. 3, n. 6, p. 1-7, 2006.

CLAPPER, G. M. et al. Ileal and total tract digestibilities and fecal characteristics of dogs as affected by soybean protein inclusion in dry, extruded diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 79, p. 1523-1532, 2001.

CLINE, J. L. et al. Effect of feeding micro-aid on stillbirths, preweaning mortality, blood oxygen values of piglets and blood urea nitrogen in sows. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 74, n. 189, 1996. (Suppl. 1).

COLICHON, Y. A.; TOREZAN FILHO, M. A.; STRAUSS, E. Métodos diagnósticos: provas de função hepática. In: GAYOTTO, L. C. C.; ALVES, V. A. F. **Doenças do fígado e vias biliares**. São Paulo: Atheneu, 2001. v. 1, p. 139-150.

COWELL, C. S. et al. Making commercial pet foods. In: HAND, M. S. et al. **Small Animal Clinical Nutrition**. 4th ed. Kansas: Mark Morris Institute, 2000. p.127-146.

COWEL, R. L.; TYLER, R. D.; MEINKOTH, J. H. **Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat**. 2nd ed. Philadelphia: Mosby, 1999.

DELANEY, F.; O'BRIEN, R. T.; WALLER, K. Ultrasound evaluation of small bowel thickness compared to weight in normal dogs. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, Raleigh, v. 44, p. 577-580, 2003.

DIBARTOLA, S. P. **Fluid therapy in small animal practice**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1992. 719 p.

DUFFY, C. F. et al. Effects of dietary supplementation with *Yucca schidigera* Roehl ex Ortgies and its Saponin and Non-Saponin fractions on rat metabolism. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 49, p. 3408-3413, 2001.

ECKERSALL, P. D. Proteins, proteomics, and the dysproteinemias. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W. H.; BRUSS, M. L. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 6. ed. San Diego:Academic, 2008. p. 117-155.

FELICIANO, M. A. R. et al. Avaliações ultrassonográfica e radiográfica dos efeitos da suplementação com dois tipos de probióticos sobre o intestino de cães filhotes. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 62, n. 5, p. 1109-1116, 2010.

FÉLIX, A. P. et al. Digestibilidade de derivados da soja em cães adultos. In: CONGRESSO INTERNACIONAL SOBRE NUTRIÇÃO DE ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO, 1., 2009, Campinas; SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO, 8., 2009, Campinas. **Anais...** Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal Campinas, 2009. p. 101-102.

FIGUEROA, J.; LEWIS, A.; MILLER, P. S. Nitrogen balance and growth trials with pigs fed low-crude protein, amino acid-supplemented diets. **Nebraska Swine Reports**, Nebraska, p. 26-28, 2000. Disponível em: <http://digitalcommons.unl.edu/coopext_swine/110>. Acesso em: 23 nov. 2011.

FRANCIS, G. et al. The biological action of saponins in animal systems: a review. **British Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 88, p. 587-605, 2002.

GADDI, A. et al. Dietary treatment for familial hypercholesterolemia-differential effects on dietary soy protein according to the apolipoprotein E phenotype. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 53, p. 1191-1196, 1991.

GEE, J. M. et al. Effects of saponins and glycoalkaloids on the permeability and viability of mammalian intestinal cells and on the integrity of tissue preparations *in vitro*. **Toxicology in Vitro**, Oxford, v. 10, p. 117-128, 1996.

GIFFARD, C. J. et al. Administration of charcoal, *Yucca schidigera*, and zinc acetate to reduce malodorous flatulence in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 218, n. 6, p. 892-896, 2001.

GLAUERT, A. M.; DINGLE, J. T.; LUCY, J. A. Action of saponin on biological membranes. **Nature**, London, v. 196, p. 953–955, 1962.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SCHEFFER, J. F. S. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. In: SIMPÓSIO DE PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA DA REGIÃO SUL DO BRASIL, 1., 2003, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre:UFRGS, 2003. p. 73-87.

HAGEMEISTER, H. et al. Plasma amino acids and cholesterol following consumption of dietary casein or soy protein in minipigs. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 120, 1305-1311, 1990.

HAMMOND, E. G. et al. Constituents of swine house odours. In: INTERNATIONAL LIVESTOCK ENVIRONMENT SYMPOSIUM, 1., 1974, St. Joseph. **Proceedings...** St. Joseph: American Society of Agricultural Engineers, 1974. p. 364-372.

HARRINGTON, J. T.; LEMANN, J. The metabolic production and disposal of acid and alkali. **The Medical Clinics of North America**, Philadelphia, n. 54, p. 1543-1554, 1970.

HAYES, E. T. et al. The influence of diet crude protein level on odour and ammonia emissions from finishing pig houses. **Bioresource Technology**, Essex, v. 91, p. 309-315, 2004.

HEADON, D. R.; DAWSON, K. A. Yucca extract controls atmospheric ammonia levels. **Feedstuffs**, Minnetonka, v. 16, p. 15-16, 1990.

HEADON, D. R. et al. Glycofractions of the Yucca plant and their role in ammonia control. In: ANNUAL SYMPOSIUM. BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY, 7., 1991, Nicholasville. **Proceedings...** Nicholasville: Alltech Technical, 1991. p. 95-108.

HERPIN, P.; VINCENT, A.; CHEEKE, P.R. Effect of feeding *Yucca schidigera* (DK powder) to the sow on piglet blood oxygenation and survival. **Proceedings, Western Section, American Society of Animal Science**, London, v. 55, p. 145-150, 2004.

HO, H. T.; KIM, D. N.; LEE, K. T. Intestinal apolipoprotein B-48 synthesis and lymphatic cholesterol transport are lower in swine fed high fat, high cholesterol diet with soy protein than with casein. **Atherosclerosis**, Limerick, v.77, p. 15-23, 1989.

HOFFMAN, P. C. et al. Short communication: effect of dietary protein on growth and nitrogen balance of Holstein heifers. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 84, n. 4, p. 843-847, 2001.

HOFFMANN, W. E.; SOLTER, P. F. Diagnostic enzymology of domestic animals. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W. H.; BRUSS, M. L. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 6th ed. San Diego: Academic, 2008. p. 351-412.

HOLSWORTH, J. Nutrition and nutritional disorders. In:_____. **Diseases of the cat: medicine and surgery**. Filadélfia: WB Saunders, 1987. p. 37-38. v. 1.

HOUSTON, D. M. et al. Feline urethral plugs and bladder uroliths: a review of 5484 submissions 1998-2003. **The Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, n. 44, p. 974-977, 2003.

HRISTOV, A. N. et al. Effect of *Yucca schidigera* on ruminal fermentation and nutrient digestion in heifers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 77, p. 2554–2563, 1999.

HU, M.; KONOKI, K.; TACHIBANA, K. Cholesterol-independent membrane disruption caused by triterpenoid saponins. **Biochimica et Biophysica Acta – Lipid Metabolism**, Amsterdam, v. 1299, p. 252–258, 1996.

HUSSAIN, I.; ISMAIL, A. M.; CHEEKE, P. R. Effects of feeding *Yucca schidigera* extract in diets varying in crude protein and urea contents on growth performance and cecum and blood urea and ammonia concentrations of rabbits. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 62, p. 121-129, 1996.

HUSSEIN, S. H.; FLICKINGER, E. A.; FAHEY, G. C. Petfood applications of inulin and oligofructose. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 129, p. 1454-1456, 1999. Suppl.

JAIN, N. C. Examination of the blood and bone marrow. In: _____. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. p. 1-18.

JENKINS, K.; ATWAL, A. S. Effects of dietary saponins on fecal bile acids and neutral sterols, and availability of vitamins A and E in the chick (Abstract). **The Journal of Nutritional Biochemistry**, Stoneham, v. 5, p. 134-137, 1994.

JOHNSON, I. T. et al. Influence of saponins on gut permeability and active nutrient transport in vitro. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 116, p. 2270-2277, 1986.

JOHNSON, K. R. Hiperlipidemia canina. In: ETTINGER, S. J. **Tratado de medicina interna veterinária**. 3. ed. São Paulo: Manole, 1992. v. 1, p. 210-215.

JOHNSTON, N. L. et al. Evaluation of *Yucca* saponin on broiler performance and ammonia suppression. **Poultry Science**, Champaign, v. 60, p. 2289-2292, 1981.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W. H.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6th ed. San Diego:Academic, 2008. p. 889-895.

KAYA, S.; ERDOGAN, Z.; ERDOGAN, S. Effect of different dietary levels of *Yucca schidigera* powder on the performance, blood parameters and egg yolk cholesterol of laying quails. **Journal of Veterinary Medicine A**, Berlin, v. 50, p. 14-17, 2003.

KERR, M. G. **Exames laboratoriais em medicina veterinária: bioquímica e hematologia**. 2. ed. São Paulo: Roca, 2003. p. 149-158.

KILLEEN, G. F. et al. The effects of dietary supplementation with *Yucca schidigera* extract or fractions thereof on nitrogen metabolism and gastrointestinal fermentation processes in the rat. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 76, n. 1, p. 91-99, Jan. 1998.

KIM, D. N. et al. Effects of a soy protein product on serum and tissue cholesterol concentrations in swine fed high-fat, high-cholesterol diets. **Experimental and Molecular Pathology**, San Diego, v. 29, p. 385-393, 1978.

KITAMURA, E. A. **Perfis hematológico, hepático, lipídico e lipoprotéico de cães (*Canis familiaris*) com doença hepática**. 2008. 130 p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2008.

KOIDE, A. et al. Quantitative analysis of bowel gas using plain abdominal radiograph in patients with irritable bowel syndrome. **The American Journal of Gastroenterology**, New York, v. 95, p. 1735-1741, 2000.

KRUGER, J. M.; ALLEN, T. A. Feline lower urinary tract disease. In: HAND, M. S. et al. **Small animal clinical nutrition**. 4th ed. Missouri: Mark Morris Institute, 2000. p. 689-724.

LAZZARI, R. et al. Hematologia de Jundiás em resposta ao nível de proteína na dieta. **Revista Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 12, n. 2, p. 192-197, 2011.

LE, P. D. et al. Effects of dietary crude protein level on odour from pig manure. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 1, p. 734-744, 2007.

LOWE, J. A. et al. The effect of *Yucca schidigera* extract on canine and feline faecal volatiles occurring concurrently with faecal aroma amelioration. **Research in Veterinary Science**, London, v. 63, p. 67-71, 1997.

LOWE, J. A.; KERSHAW, S. J. The ameliorating effect of *Yucca schidigera* extract on canine and feline faecal aroma. **Research in Veterinary Science**, London, v. 63, p. 61-66, 1997.

MACIEL, J. E. S. **Determinação da uréia sérica como medida de valor biológico de proteína para cães**. 2003. 62 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.

MADER, T. L; BRUMM, M. C. Effect of feeding sarsaponin in cattle and swine diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 65, p. 9–15, 1987.

MAIA, G. V. C. et al. Zeólitas e *Yucca schidigera* em rações para cães: palatabilidade, digestibilidade e redução de odores fecais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 39, n. 11, p. 2442-2446, 2010.

MAIA, G. V. C. **Zeólitas (Clinoptilolita) e *Yucca schidigera* em rações para cães: palatabilidade, digestibilidade e redução de odores fecais**. 2008. 70 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

MALINOW, M. R. et al. Prevention of elevated cholesterolemia in monkeys by alfalfa saponins. **Steroids**, Stoneham, v. 29, p. 105-110, 1977.

MARKWELL, P. J.; BUFFINGTON, C. T.; SMITH, B. H. E. The effect of diet on lower urinary tract diseases in cats. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, n. 128, p. 2753-2575, 1998.

MELO, J. F. B. et al. Efeito do conteúdo de proteína na dieta sobre os parâmetros hematológicos e metabólicos do bagre sul-americano *Rhamdia quelen*. **Revista Ciência Agroambiental**, Alta floresta, v. 1, p. 43-51, 2006.

MOORE, J. G.; JESSOP, L. D.; OSBORNE, D. N. Gas-chromatographic and mass-spectrometric analysis of the odour of human faeces. **Gastroenterology**, Baltimore, v. 93, p. 1321-1329, 1987.

MORALES, A. A. **La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica**. Zaragoza: Acribia. 1994. 198 p.

NAGATA, Y.; TANAKA, K.; SUGANO, M. Further studies on the hypocholesterolemic effect of soya bean protein in rats. **British Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 45, p. 233-241, 1981.

NAP, R. C. et al. Growth and skeletal development in great dane pups fed different levels of protein intake **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v.121, p. 107-113, 1991. Suppl.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dogs and cats**. Washington: National Academy of Science, National Academy, 2006. 398 p.

NELSON, R. W.; DELANEY, S.; ELLIOT, D. A. Disorders of metabolism. In: NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Small animal internal medicine**. 4th ed. St. Louis: Mosby Elsevier, 2009. p. 858-863.

OAKENFULL, D. G. et al. Effects of saponins on bile acids and plasma lipids in the rat. **British Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 42, p. 209-216, 1979.

OAKENFULL, D. G. et al. Prevention of dietary hypercholesterolemia in the rat by soya bean and quillaja saponins. **Nutrition reports international**, Los Altos, v. 29, p. 1039-1046, 1984.

OLESZEK, W. et al. Effects of some purified alfalfa (*Medicago sativa*) saponins on transmural potential difference in mammalian small intestine. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 65, p. 35-39, 1994.

OLESZEK, W. et al. Resveratrol and other phenolics from the bark of *Yucca schidigera* Roetzl. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 49, p. 747-752, 2001.

OMORUYI, F. O.; MCANUFF-HARDING, M.; ASEMOTA, H. N. Intestinal lipids and minerals in streptozotocin-induced diabetic rats fed bitter yam (*Dioscorea polygonoides*) saponin extract. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, Karachi, v. 19, n. 4, p. 269-275, 2006.

PARREIRA, P. R. **Efeito de dois alimentos comerciais secos e dois fornecimentos no consumo alimentar, peso vivo e metabólico, escore corporal, escore e volume fecal de cães adultos em atividade**. 2003. 84 p. Dissertação (Mestrado em Qualidade e Produtividade Animal) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

PATIENCE, J. F. A review of the role of acid-base in amino acid nutrition. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 68, p. 398-408, 1990.

PENNINCK, D. G. et al. Ultrasonographic evaluation of gastrointestinal disease in small animals. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, Raleigh, v. 31, p. 134-141, 1990.

PERIS, S.; CALAFAT, F. Acidification and other physiological additives. In: BRUFAU, J. **Feed manufacturing in the mediterranean region**: improving safety: from feed to food. Reus: Ciheam-Iamz, 2001. p. 63-70.

PIACENTE, S. et al. A novel phenolic spiro derivate, Yuccaone A, from *Yucca schidigera* bark. **Tetrahedron letters**, Elmsford, v. 43, p. 9133-9136, 2002.

PIACENTE, S.; PIZZA, C.; OLESZEK, W. Saponins and phenolics of *Yucca schidigera* Roezl: chemistry and bioactivity. **Phytochemistry Reviews**, Berlin, v. 4, p. 177-190, 2005.

POLAT, U.; CETIN, M.; BALLCI, F. Detection of serum protein fractions and their concentrations in laying and non-laying ostriches (*Struthio camelus*) fed with different dietary protein levels. **Revue de Medecine Veterinaire**, Toulouse, v. 155, n. 11, p. 570-574, 2004.

POTTER, S. M. et al. Protein-Saponin interaction and its influence on blood lipids. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 4, p. 1267-1291, 1993.

PRESTON, R. L. et al. Influence of sarsaponin on growth, feed and nitrogen utilization in growing male rats fed diets with added urea or protein. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 65, n. 2, p. 481-487, 1987.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R**: a language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2010. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>. Acesso em: 21 nov. 2011.

REBAR, A. H. et al. Red cell fragmentation in the dog: an editorial review. **Veterinary Pathology**, Washington, v. 18, p. 415- 426, 1981.

ROBERTSON, W. G. et al. Predicting the crystallization of urine from cats and dogs with respect to calcium oxalate and magnesium ammonium phosphate (struvite). **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, n. 132, p. 1637-1641, 2002.

ROQUE, N. C. et al. Increasing levels of zeolite and *Yucca schidigera* in diets for adult cats. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 40, n. 11, p. 2471-2475, 2011.

ROQUE, N. C. **Níveis de Zeólita (Clinoptilolita) e *Yucca schidigera* em rações de gatos adultos**. 2009. 86 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.

SAMMAN, S.; KHOSLA, P.; CARROLL, K. K. Effects of dietary casein and soy protein on metabolism of radiolabeled low density apolipoprotein B in rabbits. **Lipids**, Champaign, v. 24, p. 169-172, 1989.

SANTOS, J. P. F. **Inclusão de *Yucca schidigera* e zeólita (Clinoptilolita) em alimentos para cães e gatos: excreção de minerais**. 2010. 102 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

SAS INSTITUTE INC. **SAS/STAT® User's Guide**: version 9.0. Cary, 1999.

SCHOLZ-AHRENS, K. E. et al. Response of hormones modulating plasma cholesterol to dietary casein or soy protein in minipigs. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 120, 1387-1392, 1990.

SEEMAN, P.; CHENG, D.; ILES, G. H. Structure of membrane holes in osmotic and saponin hemolysis. **The Journal of Cell Biology**, New York, v. 56, p. 519-527, 1973.

SEEMAN, P. Ultrastructure of membrane lesions in immune lysis, osmotic lysis and drug-induced lysis. **Federation Proceedings**, Bethesda, v. 33, p. 2116–2124, 1974.

SIDHU, G. S.; OAKENFULL, D. G. A mechanism for the hypocholesterolaemic activity of saponins. **British Journal of Nutrition**, Southampton, v. 55, p. 643-649, 1986.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos**: métodos químicos e biológicos. Viçosa, MG: UFV, 2002. 235 p.

SOUTHON, S. et al. The effect of *Gypsophila* saponins in the diet on mineral status and plasma cholesterol concentration in the rat. **British Journal of Nutrition**, Southampton, v. 59, p. 49-55, 1988.

STEVENSON, A. E.; SMITH, B. H. E. Nutritional aspects of canine Struvite Urolithiasis. Disponível em: <<http://www.walthamusa.com/articles/STEVENSO.pdf>>. Acesso em: 11 jan. 2012.

TENNANT, B. C. Hepatic function. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5th ed. San Diego: Academic, 1997. p. 327-352.

THOMAS, J. S. Protein electrophoresis. In: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. **Schalm's veterinary hematology**. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p. 899-903.

THRALL, M. A. **Veterinary hematology and clinical chemistry**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004. 518 p.

TVEDTEN, H.; WEISS, D. J. Classification and laboratory evaluation of anemia. In: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. **Schalm's veterinary hematology**. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p. 143-150.

VAN NIEKERK, F. E.; VAN NIEKERK, C. H. The effect of dietary protein on reproduction in the mare: growth of foals, body mass of mares and serum protein concentration of mares during the anovulatory, transitional and pregnant periods. **Journal of the South African Veterinary Association**, Pretoria, v. 68, n. 3, p. 81- 85, 1997.

WALLACE, R. J.; ARTHAUD, L.; NEWBOLD, C. J. Influence of *Yucca schidigera* extract on ruminal ammonia concentrations and ruminal microorganisms. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 60, n. 6, p. 1762-1767, 1994.

WARE, W. A. Manifestações clínicas das doenças do trato urinário. In: NELSON, R. W.; COUTO, C. G. **Medicina interna de pequenos animais**. 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006. p. 549-616.

WEST, L. G. et al. In vitro studies on saponin-mineral complexation. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 43, p. 1342-1343, 1978.

WESTENDARP, H. Saponins in nutrition of swine, poultry and ruminants. **DTW. Deutsche tierärztliche Wochenschrift**, Hannover, v. 112, n. 2, p. 65-70, Feb. 2005.

WINTER, W. P. Mechanism of saponin induced red cell hemolysis: evidence for the involvement of aquaporin CHIP28. **Blood**, New York, v. 84, p. 445, 1994.

YAMKA, R. M.; FRIESEN, K. G.; SCHAKENRAAD, H. The prediction of urine pH using dietary cations and anions in cats fed dry and wet foods. **Journal of Applied Research in Veterinary Medicine**, Newtown, v. 4, n. 1, p. 58-66, 2006.

ZENTEK, J.; SCHULZ, A. Urinary composition of cats is affected by the source of dietary protein. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 134, p. 2162-2165, 2004.

ANEXO B - Protocolo de conformidade das condições éticas experimentais



UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS
Cx.P.3037 - Lavras - MG - 37200-000 - (35) 3829-5182 cba@nintec.ufla.br

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo nº 054/11, relativo ao projeto intitulado "CRESCENTES NÍVEIS DE INCLUSÃO DE *YUCCA SCHIDIGERA* EM DIETAS VARIANDO NOS NÍVEIS DE PROTEÍNA BRUTA E OS EFEITOS SOBRE AS CARACTERÍSTICAS FECAIS, DIGESTIBILIDADE E PARÂMETROS SANGUÍNEOS EM CÃES", que tem como responsável Flávia Maria de Oliveira Borges Saad, está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (Comissões Permanentes/PRP-Ufla), tendo sido aprovado na reunião de 01/06/2011.

CERTIFICATE

We hereby certify that the Protocol nº 054/11, related to the project entitled "INCREASING LEVELS OF INCLUSION IN DIETS VARYING *YUCCA SCHIDIGERA* EXTRACT LEVELS OF CRUDE PROTEIN AND THE EFFECTS ON FECAL CHARACTERISTICS, DIGESTIBILITY AND BLOOD PARAMETERS IN DOGS", under the supervision of Flávia Maria de Oliveira Borges Saad, is in agreement with the Ethics Principles in Animal Experimentation, adopted by the Bioethic Committee in Utilization of Animals (Comissões Permanentes/PRP-Ufla), and was approved in June 01, 2011.

Lavras, 01 de junho de 2011.

Prof. Gabriela Rodrigues Sampaio
Presidente em exercício da Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA

Universidade Federal de Lavras
Pró-Reitoria de Pesquisa / Comissões Permanentes
Campus Universitário -
Caixa Postal 3037 / CEP 37200-000 - Lavras, MG - Brasil
Tel.: +55 (35) 3829 5182
cba@nintec.ufla.br - www.prp.ufla.br

Tabela 1A Resumo da análise de variância para coeficiente de digestibilidade aparente da matéria seca (%)

Fontes de variação	G. L.	Q. M.	Pr>Fc
Bloco	1	1,166	0,5864
Proteína Bruta	1	49,015	0,0012
Yucca schidigera	3	5,553	0,2503
Proteína: Yucca	3	2,737	0,5539
Resíduos	31	3,859	
CV (%)	2,32		

Tabela 2A Resumo da análise de variância para coeficiente de digestibilidade aparente da proteína bruta (%)

Fontes de variação	G. L.	Q. M.	Pr>Fc
Bloco	1	3,493	0,3843
Proteína Bruta	1	0,599	0,7173
Yucca schidigera	3	4,555	0,3991
Proteína: Yucca	3	5,649	0,3054
Resíduos	31	4,486	
CV (%)	2,45		

Tabela 3A Resumo da análise de variância para coeficiente de digestibilidade aparente do extrato etéreo (%)

Fontes de variação	G. L.	Q. M.	Pr>Fc
Bloco	1	2,304	0,3299
Proteína Bruta	1	0,771	0,5711
Yucca schidigera	3	4,175	0,1723
Proteína: Yucca	3	6,588	0,0562
Resíduos	31	2,352	
CV (%)	1,64		

Tabela 4A Resumo da análise de variância para coeficiente de digestibilidade aparente da matéria mineral (%)

Fontes de variação	G. L.	Q. M.	Pr>Fc
Bloco	1	0,11	0,9703
Proteína Bruta	1	39,59	0,4798
Yucca schidigera	3	100,09	0,2941
Proteína: Yucca	3	6,76	0,5044
Resíduos	31	77,39	
CV (%)	22,86		

Tabela 5A Resumo da análise de variância para N consumido (g/dia)

Fontes de variação	G. L.	Q. M.	Pr>Fc
Bloco	1	0,821	0,3864
Proteína Bruta	1	79,592	0,0000
Yucca schidigera	3	0,824	0,5171
Proteína: Yucca	3	0,096	0,9649
Resíduos	31	1,064	
CV (%)	10,42		

Tabela 6A Resumo da análise de variância para N absorvido (g/dia)

Fontes de variação	G. L.	Q. M.	Pr>Fc
Bloco	1	0,8350	0,3358
Proteína Bruta	1	61,1150	0,0000
Yucca schidigera	3	0,8650	0,4102
Proteína: Yucca	3	0,1240	0,9339
Resíduos	31	0,8740	
CV (%)	10,90		

Tabela 7A Resumo da análise de variância para N fecal (g/dia)

Fontes de variação	G. L.	Q. M.	Pr>Fc
Bloco	1	0,00006	0,9735
Proteína Bruta	1	1,21838	0,0000
Yucca schidigera	3	0,01993	0,7845
Proteína: Yucca	3	0,03573	0,5951
Resíduos	31	0,05583	
CV (%)	17,89		

Tabela 8A Resumo da análise de variância para N urina (g/dia)

Fontes de variação	G. L.	Q. M.	Pr>Fc
Bloco	1	4,550	0,2113
Proteína Bruta	1	46,711	0,0002
Yucca schidigera	3	1,330	0,7011
Proteína: Yucca	3	5,780	0,1246
Resíduos	31	2,794	
CV (%)	32,78		

Tabela 9A Resumo da análise de variância para balanço aparente de nitrogênio

Fontes de variação	G. L.	Q. M.	Pr>Fc
Bloco	1	1,475	0,5061
Proteína Bruta	1	0,968	0,5897
Yucca schidigera	3	0,638	0,8985
Proteína: Yucca	3	4,240	0,2917
Resíduos	31	3,259	
CV (%)	51,91		

Tabela 10A Resumo da análise de variância para nitrogênio amoniacal fecal (g/100g)

Fontes de variação	G. L.	Q. M.	Pr>Fc
Bloco	1	0,005593	0,1312
Proteína Bruta	1	0,006369	0,1081
Yucca schidigera	3	0,007887	0,0307
Proteína: Yucca	3	0,000678	0,8303
Resíduos	29	0,002318	
CV (%)	19,80		

Tabela 11A Resumo da análise de variância para área de gás (cm²)

Fontes de variação	G. L.	Q. M.	Pr>Fc
Bloco	1	18,851	0,0920
Proteína Bruta	1	0,420	0,7964
Yucca schidigera	3	17,593	0,0558
Proteína: Yucca	3	2,570	0,7436
Resíduos	28	6,194	
CV (%)	29,63		

Tabela 12A Resumo da análise de variância para espessura de parede intestinal (mm)

Fontes de variação	G. L.	Q. M.	Pr>Fc
Bloco	1	2,2505	0,9900
Proteína Bruta	1	0,0378	0,6069
Yucca schidigera	3	0,0579	0,7437
Proteína: Yucca	3	0,0822	0,6273
Resíduos	31	0,1397	
CV (%)	11,23		

Tabela 13A Resumo da análise de variância para hematócrito (%)

Fontes de variação	G. L.	Q. M.	Pr>Fc
Bloco	1	26,297	0,2423
Proteína Bruta	1	99,968	0,0268
Yucca schidigera	3	1,483	0,7790
Proteína: Yucca	3	40,514	0,1491
Resíduos	31	18,512	
CV (%)	8,01		

Tabela 14A Resumo da análise de variância para hemácias (milhões/mm³)

Fontes de variação	G. L.	Q. M.	Pr>Fc
Bloco	1	4,5226	0,0346
Proteína Bruta	1	5,7660	0,0181
Yucca schidigera	3	0,3106	0,7998
Proteína: Yucca	3	0,8347	0,4516
Resíduos	31	0,9261	
CV (%)	13,05		

Tabela 15A Resumo da análise de variância para hemoglobina (g/dL)

Fontes de variação	G. L.	Q. M.	Pr>Fc
Bloco	1	4,2936	0,0983
Proteína Bruta	1	8,5222	0,0229
Yucca schidigera	3	4,4500	0,0461
Proteína: Yucca	3	2,2971	0,2199
Resíduos	27	1,4647	
CV (%)	6,86		

Tabela 16A Resumo da análise de variância para volume corpuscular médio (fl)

Fontes de variação	G. L.	Q. M.	Pr>Fc
Bloco	1	0,6250	0,6669
Proteína Bruta	1	2,6040	0,3819
Yucca schidigera	3	8,0920	0,0826
Proteína: Yucca	3	0,2250	0,9765
Resíduos	31	3,3100	
CV (%)	2,59		

Tabela 17A Resumo da análise de variância para hemoglobina corpuscular média (pg)

Fontes de variação	G. L.	Q. M.	Pr>Fc
Bloco	1	1,2895	0,0278
Proteína Bruta	1	0,0201	0,7747
Yucca schidigera	3	0,9663	0,0165
Proteína: Yucca	3	0,0717	0,8263
Resíduos	29	0,2404	
CV (%)	2,18		

Tabela 18A Resumo da análise de variância para concentração de hemoglobina corpuscular média (%)

Fontes de variação	G. L.	Q. M.	Pr>Fc
Bloco	1	0,1000	0,7515
Proteína Bruta	1	0,3375	0,5614
Yucca schidigera	3	0,3333	0,7963
Proteína: Yucca	3	1,5333	0,2175
Resíduos	31	0,9794	
CV (%)	3,07		

Tabela 19A Resumo da análise de variância para plaquetas (/mm³)

Fontes de variação	G. L.	Q. M.	Pr>Fc
Bloco	1	10051	0,0874
Proteína Bruta	1	1361	0,5202
Yucca schidigera	3	3686	0,3465
Proteína: Yucca	3	462	0,9327
Resíduos	29	3212	
CV (%)	19,92		

Tabela 20A Resumo da análise de variância para proteínas totais (g/dL)

Fontes de variação	G. L.	Q. M.	Pr>Fc
Bloco	1	0,3423	0,0780
Proteína Bruta	1	0,5607	0,0263
Yucca schidigera	3	0,0483	0,7064
Proteína: Yucca	3	0,2609	0,0750
Resíduos	31	0,1030	
CV (%)	4,58		

Tabela 21A Resumo da análise de variância para albumina (g/dL)

Fontes de variação	G. L.	Q. M.	Pr>Fc
Bloco	1	0,3423	0,1040
Proteína Bruta	1	0,1215	0,3260
Yucca schidigera	3	0,0296	0,8657
Proteína: Yucca	3	0,0698	0,6374
Resíduos	31	0,1220	
CV (%)	9,20		

Tabela 22A Resumo da análise de variância para globulina (g/dL)

Fontes de variação	G. L.	Q. M.	Pr>Fc
Bloco	1	8,31734	1,0000
Proteína Bruta	1	0,16020	0,3516
Yucca schidigera	3	0,05550	0,8180
Proteína: Yucca	3	0,15550	0,4680
Resíduos	31	0,17910	
CV (%)	13,16		

Tabela 23A Resumo da análise de variância para relação albumina:globulina

Fontes de variação	G. L.	Q. M.	Pr>Fc
Bloco	1	0,03516	0,2439
Proteína Bruta	1	0,00001	0,9865
Yucca schidigera	3	0,01360	0,6536
Proteína: Yucca	3	0,01906	0,5215
Resíduos	28	0,02481	
CV (%)	13,25		

Tabela 24A Resumo da análise de variância para atividade sérica da alanina aminotransferase (U/L)

Fontes de variação	G. L.	Q. M.	Pr>Fc
Bloco	1	24,00	0,7799
Proteína Bruta	1	16,50	0,8166
Yucca schidigera	3	1065,50	0,0262
Proteína: Yucca	3	148,50	0,6910
Resíduos	31	302,30	
CV (%)	27,16		

Tabela 25A Resumo da análise de variância para atividade sérica da fosfatase alcalina (U/L)

Fontes de variação	G. L.	Q. M.	Pr>Fc
Bloco	1	27,98	0,4114
Proteína Bruta	1	85,88	0,1552
Yucca schidigera	3	44,32	0,3650
Proteína: Yucca	3	1,87	0,9864
Resíduos	29	40,24	
CV (%)	41,84		

Tabela 26A Resumo da análise de variância para bilirrubina total (mg/dL)

Fontes de variação	G. L.	Q. M.	Pr>Fc
Bloco	1	0,078059	0,0024
Proteína Bruta	1	0,000695	0,7522
Yucca schidigera	3	0,012256	0,1746
Proteína: Yucca	3	0,011543	0,1951
Resíduos	24	0,006819	
CV (%)	28,89		

Tabela 27A Resumo da análise de variância para bilirrubina direta (mg/dL)

Fontes de variação	G. L.	Q. M.	Pr>Fc
Bloco	1	0,014175	0,0001
Proteína Bruta	1	0,001079	0,2289
Yucca schidigera	3	0,000163	0,8747
Proteína: Yucca	3	0,000076	0,9550
Resíduos	24	0,000708	
CV (%)	35,01		

Tabela 28A Resumo da análise de variância para bilirrubina indireta (mg/dL)

Fontes de variação	G. L.	Q. M.	Pr>Fc
Bloco	1	0,025706	0,0681
Proteína Bruta	1	0,000042	0,9390
Yucca schidigera	3	0,009603	0,2778
Proteína: Yucca	3	0,012382	0,1821
Resíduos	24	0,007045	
CV (%)	40,10		

Tabela 29A Resumo da análise de variância para colesterol (mg/dL)

Fontes de variação	G. L.	Q. M.	Pr>Fc
Bloco	1	9641	0,0363
Proteína Bruta	1	3619	0,1899
Yucca schidigera	3	5741	0,0534
Proteína: Yucca	3	1032	0,6767
Resíduos	31	2015	
CV (%)	26,92		

Tabela 30A Resumo da análise de variância para triglicerídeos (mg/dL)

Fontes de variação	G. L.	Q. M.	Pr>Fc
Bloco	1	212,50	0,0545
Proteína Bruta	1	5,95	0,7385
Yucca schidigera	3	52,62	0,4059
Proteína: Yucca	3	65,28	0,3128
Resíduos	25	52,23	
CV (%)	19,33		

Tabela 31A Resumo da análise de variância para VLDL (mg/dL)

Fontes de variação	G. L.	Q. M.	Pr>Fc
Bloco	1	8,5000	0,0545
Proteína Bruta	1	0,2380	0,7385
Yucca schidigera	3	2,1049	0,4059
Proteína: Yucca	3	2,6114	0,3128
Resíduos	29	2,0894	
CV (%)	19,33		

Tabela 32A Resumo da análise de variância para HDL (mg/dL)

Fontes de variação	G. L.	Q. M.	Pr>Fc
Bloco	1	1,44	0,9654
Proteína Bruta	1	2296,30	0,0926
Yucca schidigera	3	766,85	0,4001
Proteína: Yucca	3	4,07	0,9994
Resíduos	25	751,27	
CV (%)	19,52		

Tabela 33A Resumo da análise de variância para ureia (mg/dL)

Fontes de variação	G. L.	Q. M.	Pr>Fc
Bloco	1	32,40	0,3156
Proteína Bruta	1	256,27	0,0074
Yucca schidigera	3	39,67	0,3005
Proteína: Yucca	3	13,13	0,7387
Resíduos	31	31,14	
CV (%)	17,28		

Tabela 34A Resumo da análise de variância para pH urinário

Fontes de variação	G. L.	Q. M.	Pr>Fc
Bloco	1	0,040320	0,5779
Proteína Bruta	1	2,338400	0,0001
Yucca schidigera	3	0,043830	0,7939
Proteína: Yucca	3	0,099960	0,5121
Resíduos	31	0,127540	
CV (%)	4,92		

Tabela 35A Resumo da análise de variância para densidade urinária

Fontes de variação	G. L.	Q. M.	Pr>Fc
Bloco	1	0.000308	0,0134
Proteína Bruta	1	0.000068	0,2266
Yucca schidigera	3	0,000040	0,4583
Proteína: Yucca	3	0,000008	0,9079
Resíduos	31	0,000045	
CV (%)	0,66		