



**SUPLEMENTAÇÃO DE PROBIÓTICO PARA  
FILHOTES CÃES DA RAÇA BEAGLES  
RECEBENDO ALIMENTOS COMERCIAIS**

**MARCUS ANTÔNIO ROSSI FELICIANO**

2008

**MARCUS ANTÔNIO ROSSI FELICIANO**

**SUPLEMENTAÇÃO DE PROBIÓTICO PARA FILHOTES CÃES DA  
RAÇA BEAGLES RECEBENDO ALIMENTOS COMERCIAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Zootecnia, área de concentração em Nutrição de Monogástricos, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientadora

Prof<sup>a</sup> Flávia Maria de Oliveira Borges Saad

LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2008

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

Feliciano, Marcus Antônio Rossi.

Suplementação de probiótico para filhotes cães da raça Beagles recebendo alimentos comerciais / Marcus Antônio Rossi Feliciano. -- Lavras : UFLA, 2008.  
105 p. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2008.

Orientador: Flávia Maria de Oliveira Borges Saad.

Bibliografia.

1. Cão. 2. Probiótico. 3. Digestibilidade. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 636.708557

**MARCUS ANTÔNIO ROSSI FELICIANO**

**SUPLEMENTAÇÃO DE PROBIÓTICO PARA FILHOTES CÃES DA  
RAÇA BEAGLES RECEBENDO ALIMENTOS COMERCIAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Zootecnia, área de concentração em Nutrição de Monogástricos, para obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 17 de janeiro de 2008

Prof. Carlos Artur Lopes Leite	DMV/UFLA-MG
Prof. <sup>a</sup> Priscila Vieira Rosa Logato	DZO/UFLA-MG
Prof. <sup>a</sup> Roberta Hilsdorf Piccoli do Vale	DCA/UFLA-MG

Prof.<sup>a</sup> Flávia Maria de Oliveira Borges Saad  
UFLA  
(Orientadora)

LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2008

"Toda noite quando vou dormir morro. E, na manha seguinte quando acordo,  
renasço."  
(Mahatma Gandhi)

## OFEREÇO

*Aos meus pais Marcos Antonio Feliciano e Rosa Maria Rossi Feliciano,  
por fazerem parte da minha história e conquistas.*

*Aos meus irmãos Abner, Bruno, Carlos Artur, Carlos Eduardo,  
Eduardo, Endrigo, Gabriel, Letícia e Tatiana pelo apoio e força em todos os  
momentos desta caminhada.*

*Às amigas Adriana e Anelise pelas palavras de conforto durante as  
dificuldades.*

*Ao meu tio Francisco Rossi pelo incentivo e auxílio nos momentos de  
necessidade.*

*Às famílias que adquiri e fui abraçado durante meu Mestrado, Vítor,  
Mabel, Abner, Yonne e Cássia.*

*À minha falecida avó Vicentina Feliciano que mesmo em outro plano  
tem grande importância ao mudar minha maneira de observar a vida, meus  
estudos e a me ensinar que devemos lutar por tudo de maneira simples e com  
grande humildade.*

*Ao meu amor, sincero, puro e grandioso.*

## AGRADECIMENTOS

À minha orientadora professora Flávia Maria de Oliveira Borges Saad, pela credibilidade que me foi dada. Agradeço pela oportunidade e orientação durante a realização do meu mestrado. Deixo também meu agradecimento por sua paciência e compreensão para comigo.

Ao nosso Deus que me abençoa todos os dias com o nascer do sol de Lavras e o pôr do sol de São Sebastião do Paraíso. Aos animais, todos. Em especial aos meus.

Ao meu pai e minha mãe. Alicerces da minha vida, moldes dos meus atos, fontes de sentimentos de humildade e simplicidade para os momentos mais difíceis que tive.

À minha avó Vicentina e meu avô Abner. Pessoas maravilhosas que estiveram comigo durante todo esse processo.

Às minhas famílias... Aos meus irmãos, raros, que se consagram. Tão importantes que não se esquecem. Fortes, que protegem. Presentes, que participam. Sagrados, que perenizam. Doam à vida e se eternizam.

À Ana Júlia. Mesmo não estando comigo neste momento, faz parte da minha vida. Sou grato a ela a quem tenho um amor grandioso, verdadeiro e eterno. Amo, simplesmente amo.

Ao professor Carlos Artur Lopes Leite pelas palavras e ensinamentos de como ser um profissional e um ser humano mais cauteloso e dedicado ao trabalho. Pelas orientações acadêmicas e pelos conselhos de irmão.

Aos meus Co-orientadores professores Carlos Artur Lopes Leite, Priscila Rosa Logato, Roberta Hilsdorf Piccoli, Antônio Gilberto Bertechini e Roberto Alves Braga Jr. pelo carinho e respeito oferecidos nas etapas do meu experimento.

## **BIOGRAFIA**

*Marcus Antônio Rossi Feliciano, filho de Marcos Antonio Feliciano e Rosa Maria Rossi Feliciano, nasceu em São Sebastião do Paraíso, MG.*

*Em setembro de 1999, ingressou na Universidade Federal de Lavras, onde em Julho de 2004, obteve o título de Médico Veterinário.*

*Em março de 2005, iniciou o curso de Pós-graduação Especialização em Residência Médico-Veterinária na Área de Diagnóstico por Imagem em Pequenos Animais, na Universidade Federal de Lavras – MG,*

*Em março de 2007, ingressou no curso de Pós-graduação, Mestrado, tendo concentrado seus estudos na área de Nutrição de Monogástricos.*

*Em setembro de 2007, foi classificado e selecionado para o Programa de Pós-graduação, Doutorado em Medicina Veterinária, UNESP/Jaboticabal, na primeira colocação.*

*Em janeiro de 2008, submeteu-se a defesa de dissertação para obtenção do título de “Mestre”.*

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	iii
LISTA DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE QUADROS.....	viii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	x
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	3
2.1 Probióticos e suas funções.....	3
2.2 Digestibilidade e escore fecal.....	7
2.3 Microbiologia e escore fecais.....	10
2.4 Parâmetros hematológicos.....	18
2.5 Diagnóstico por imagem.....	19
2.5.1 Ultra-sonografia.....	19
2.5.2 Radiografia.....	22
3 OBJETIVOS.....	24
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	25
4.1 Local e instalações.....	25
4.2 Animais e tratamentos.....	26
4.2.1 Primeira Fase experimental.....	27
4.2.2 Segunda Fase experimental.....	29
4.3 Digestibilidade.....	30
4.4 Análise das fezes e microbiologia.....	32
4.4.1 Amostras e análises realizadas.....	32
4.4.2 Coleta das amostras.....	32
4.4.3 Quantificação de coliformes totais e termotolerantes na água.....	32
4.4.4 Quantificação de coliformes termotolerantes na dieta.....	33
4.4.5 Preparo das amostras de fezes.....	34
4.4.6 Enumeração de <i>Escherichia coli</i> presentes nas fezes dos animais.....	34
4.4.7 Enumeração de bactérias do ácido láctico.....	34
4.4.8 Enumeração de <i>Clostridium perfringens</i> .....	34
4.4.9 Enumeração de <i>Bifidobacterium</i> sp.....	35
4.4.10 Avaliação do escore fecal.....	36
4.5 Análises hematológicas.....	37
4.6 Diagnóstico por imagem.....	37
4.7 Delineamento experimental e análises estatísticas.....	40
4.7.1 Modelo estatístico.....	41

<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	42
<b>5.1 Digestibilidade e escore fecal</b> .....	42
<b>5.2 Microbiologia e pH fecais</b> .....	51
<b>5.3 Análises hematológicas</b> .....	59
<b>5.4 Diagnóstico por imagem</b> .....	62
<b>5.4.1 Ultra-sonografia</b> .....	62
<b>5.4.2 Radiografia</b> .....	64
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	70
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	71
<b>ANEXOS</b> .....	80

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição da microbiota do trato digestivo de cães com o número de microrganismos por grama de conteúdo de digesta.....	15
Tabela 2: Níveis de garantia dos probióticos utilizados no experimento..	27
Tabela 3: Níveis de garantia das rações <i>Super Premium</i> e <i>Standard</i> utilizadas no experimento.....	28
Tabela 4: Resultados das análises das rações <i>Super Premium</i> e <i>Standard</i> utilizadas no experimento.....	42
Tabela 5 – Valores médios de coeficientes de digestibilidade da matéria seca (CDMS) e proteína bruta (CDPB), caracterizados pela troca de uma dieta <i>Super Premium</i> para uma dieta comercial <i>Standard</i> , para filhotes de cães Beagle, segundo o tipo de tratamento na Fase 1.....	42
Tabela 6 - Valores médios de coeficientes de digestibilidade da matéria seca (CDMS) e proteína bruta (CDPB), caracterizados pela troca de uma dieta comercial <i>Standard</i> para uma dieta <i>Super Premium</i> , para filhotes de cães Beagle, segundo o tipo de tratamento na Fase 2.....	43
Tabela 7 - Valores médios de coeficientes de digestibilidade da energia bruta (CDEB) e coeficiente metabolizável da energia bruta (CMEB), caracterizados pela troca de uma dieta <i>Super Premium</i> para uma dieta comercial <i>Standard</i> , para filhotes de cães Beagle, segundo o tipo de tratamento na Fase 1.....	44
Tabela 8 - Valores médios de coeficientes de digestibilidade da energia bruta (CDEB) e coeficiente metabolizável da energia bruta (CMEB), caracterizados pela troca de uma dieta comercial <i>Standard</i> para uma dieta <i>Super Premium</i> , para filhotes de cães Beagle, segundo o tipo de tratamento na Fase 2.....	45
Tabela 9 - Valores médios de energia digestível, em Kcal/Kg, da ração com base na matéria natural (EDMN) e seca (EDMS), caracterizados pela troca de uma dieta <i>Super Premium</i> para uma dieta comercial <i>Standard</i> , para filhotes de cães Beagle, segundo o tipo de tratamento na Fase 1.....	46
Tabela 10- Valores médios de energia digestível, em Kcal/Kg, da ração com base na matéria natural (EDMN) e seca (EDMS), caracterizados pela troca de uma dieta comercial <i>Standard</i> para uma dieta <i>Super Premium</i> , para filhotes de cães Beagle, segundo o tipo de tratamento na Fase 2.....	47
Tabela 11 - Valores médios de energia metabolizável, em Kcal/kg, da ração com base na matéria natural (EMMN) e seca (EMMS), caracterizados pela troca de uma dieta <i>Super Premium</i> para uma dieta comercial <i>Standard</i> , para filhotes de cães Beagle, segundo o tipo de tratamento na Fase 1.....	47

Tabela 12 - Valores médios de energia metabolizável, em Kcal/Kg, da ração com base na matéria natural (EMMN) e seca (EMMS), caracterizados pela troca de uma dieta comercial <i>Standard</i> para uma dieta <i>Super Premium</i> , para filhotes de cães Beagle, segundo o tipo de tratamento na Fase 2.....	48
Tabela 13 – Valores do escore fecal verificados, na Fase 1 do experimento caracterizada pela troca de uma dieta <i>Super Premium</i> para uma dieta comercial <i>Standard</i> , para filhotes de cães Beagle.....	49
Tabela 14 – Valores do escore fecal verificados, na Fase 2 do experimento caracterizada pela troca de uma dieta comercial <i>Standard</i> para uma dieta <i>Super Premium</i> , para filhotes de cães Beagle.....	49
Tabela 15 – Valores médios de crescimento de colônias de <i>E.coli</i> (log NMP/g) verificadas na microbiota fecal, caracterizados pela troca de uma dieta <i>Super Premium</i> para uma dieta comercial <i>Standard</i> , para filhotes de cães Beagle, na Fase 1 do experimento.....	52
Tabela 16 - Valores médios de crescimento de colônias de <i>E.coli</i> (log NMP/g) verificadas na microbiota fecal, caracterizados pela troca de uma dieta comercial <i>Standard</i> para uma dieta <i>Super Premium</i> , para filhotes de cães Beagle, na Fase 2 do experimento.....	52
Tabela 17 - Valores médios de crescimento de colônias de <i>Clostridium</i> (log UFC/g) verificadas na microbiota fecal, caracterizados pela troca de uma dieta <i>Super Premium</i> para uma dieta comercial <i>Standard</i> , para filhotes de cães Beagle, na Fase 1 do experimento.....	53
Tabela 18 - Valores médios de crescimento de colônias de <i>Clostridium</i> (log UFC/g) verificadas na microbiota fecal, caracterizados pela troca de uma dieta comercial <i>Standard</i> para uma dieta <i>Super Premium</i> , para filhotes de cães Beagle, na Fase 2 do experimento.....	54
Tabela 19 - Valores médios de crescimento de colônias de <i>Lactobacillus</i> (log UFC/g) verificadas na microbiota fecal, caracterizados pela troca de uma dieta <i>Super Premium</i> para uma dieta comercial <i>Standard</i> , para filhotes de cães Beagle, na Fase 1 do experimento.....	55
Tabela 20 - Valores médios de crescimento de colônias de <i>Lactobacillus</i> (log UFC/g) verificadas na microbiota fecal, caracterizados pela troca de uma dieta comercial <i>Standard</i> para uma dieta <i>Super Premium</i> , para filhotes de cães Beagle, na Fase 2 do experimento.....	55
Tabela 21 - Valores médios de crescimento de colônias de <i>Bifidobacterium</i> (log UFC/g) verificadas na microbiota fecal, caracterizados pela troca de uma dieta <i>Super Premium</i> para uma dieta comercial <i>Standard</i> , para filhotes de cães Beagle, na Fase 1 do experimento.....	56

Tabela 22 - Valores médios de crescimento de colônias de <i>Bifidobacterium</i> (log UFC/g) verificadas na microbiota fecal, caracterizados pela troca de uma dieta comercial <i>Standard</i> para uma dieta <i>Super Premium</i> , para filhotes de cães Beagle, na Fase 2 do experimento.....	57
Tabela 23 - Valores médios de pH fecais, caracterizados pela troca de uma dieta <i>Super Premium</i> para uma dieta comercial <i>Standard</i> , para filhotes de cães Beagle, na Fase 1 do experimento.....	57
Tabela 24 - Valores médios de pH fecais, caracterizados pela troca de uma dieta comercial <i>Standard</i> para uma dieta <i>Super Premium</i> , para filhotes de cães Beagle, na Fase 2 do experimento.....	58
Tabela 25 - Valores séricos médios de globulina, em g/dL, caracterizados pela troca de uma dieta <i>Super Premium</i> para uma dieta comercial <i>Standard</i> , para filhotes de cães Beagle, na Fase 1 do experimento.....	59
Tabela 26 - Valores séricos médios de globulina, em g/dL, caracterizado pela troca de uma dieta comercial <i>Standard</i> para uma dieta <i>Super Premium</i> , para filhotes de cães Beagle, na Fase 2 do experimento.....	59
Tabela 27 - Valores séricos médios de proteína total, em g/dL, caracterizados pela troca de uma dieta <i>Super Premium</i> para uma dieta comercial <i>Standard</i> , para filhotes de cães Beagle, na Fase 1 do experimento.....	60
Tabela 28 - Valores séricos médios de proteína total, em g/dL, caracterizados pela troca de uma dieta comercial <i>Standard</i> para uma dieta <i>Super Premium</i> , para filhotes de cães Beagle, na Fase 2 do experimento.....	60
Tabela 29 - Valores séricos médios de albumina, em g/dL, caracterizado pela troca de uma dieta <i>Super Premium</i> para uma dieta comercial <i>Standard</i> , para filhotes de cães Beagle, na Fase 1 do experimento.....	61
Tabela 30 - Valores séricos médios de albumina, em g/dL, caracterizado pela troca de uma dieta comercial <i>Standard</i> para uma dieta <i>Super Premium</i> , para filhotes de cães Beagle, na Fase 2 do experimento.....	61
Tabela 31 - Valores médios de espessura da parede intestinal, em mm, avaliados por meio do exame ultra-sonográfico, caracterizado pela troca de uma dieta <i>Super Premium</i> para uma dieta comercial <i>Standard</i> , para filhotes de cães Beagle, na Fase 1 do experimento.....	62
Tabela 32 - Valores médios de espessura da parede intestinal, em mm, avaliados por meio do exame ultra-sonográfico, caracterizado pela troca de uma dieta comercial <i>Standard</i> para uma dieta <i>Super Premium</i> , para filhotes de cães Beagle, na Fase 2 do experimento.....	63
Tabela 33 - Valores médios de área de gás intestinal ao raio-x, em cm <sup>2</sup> , caracterizados pela troca de uma dieta <i>Super Premium</i> para uma dieta	

comercial <i>Standard</i> , para filhotes de cães Beagle, na Fase 1 do experimento.....	65
Tabela 34 - Valores médios de área de gás intestinal ao raio-x, em cm <sup>2</sup> , caracterizados pela troca de uma dieta comercial <i>Standard</i> para uma dieta <i>Super Premium</i> , para filhotes de cães Beagle, na Fase 2 do experimento.....	65
Tabela 35 – Escores médios de gás intestinal ao raio-x, em função dos tratamentos estudados, para filhotes de cães Beagle, na Fase 1 do experimento.....	68
Tabela 36 – Escores médios de gás intestinal ao raio-x, em função dos tratamentos estudados, para filhotes de cães Beagle, na Fase 2 do experimento.....	68

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Imagem ultra-sonográfica de alça intestinal normal, visibilizando as 5 camadas: A) face da mucosa; B) mucosa; C) submucosa; D) muscular e E) subserosa/serosa (Fonte: Froes, 2004).....	21
Figura 2: Gaiolas metabólicas com animais.....	26
Figura 3: Colônias com os microorganismos avaliados: 1) <i>Bifidobacterium</i> sp.; 2) <i>Lactobacillus</i> sp.; 3) <i>Clostridium</i> sp.; 4) <i>E. coli</i> .....	36
Figura 4: Equipamento ultra-sonográfico Toshiba® SSH-140A.....	38
Figura 5: Cão da raça Beagle contido em decúbito dorsal para exame ultra-sonográfico. Observar o elemento transdutor do equipamento ( <i>seta</i> ).....	39
Figura 6: Escores das fezes de filhotes de cães Beagle: A) escore fecal 1; B) escore fecal 2; C) escore fecal 3 e D) escore fecal 4.....	51
Figura 7: Imagem ultra-sonográfica de alça intestinal normal, visibilizando as 5 camadas: A) face da mucosa; B) mucosa; C) submucosa; D) muscular e E) subserosa/serosa (Fonte: Froes, 2004), em I. Imagem ultra-sonográfica de cão filhote da raça Beagle, do tratamento 2, com mensuração da espessura e avaliação morfológica das camadas murais ( <i>seta</i> ), em II.....	64
Figura 8: Detalhe de radiografia abdominal de cães filhotes Beagle, na projeção laterolateral. Notam-se alças intestinais (circundadas) com presença de gás, formando uma imagem radiotransparente.....	66
Figura 9: Detalhe de radiografia abdominal, de cães filhotes Beagle, na projeção laterolateral, processada no programa computacional Image J®. Nota-se melhor distinção entre área de gás e alças intestinais (circundadas).	67
Figura 10: Escore de gás intestinal, obtido pela análise de radiografias em cães filhotes Beagle.....	69

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Efeitos benéficos das bactérias intestinais ao hospedeiro.....	16
Quadro 2 – Efeitos das bactérias intestinais prejudiciais ao hospedeiro...	17
Quadro 3: Cronograma experimental.....	30

## RESUMO

FELICIANO, Marcus Antônio Rossi. **Suplementação de probiótico para filhotes cães da raça Beagles recebendo alimentos comerciais**. 2008. 105p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.\*

Com o objetivo de avaliar os efeitos de probióticos no trato gastrointestinal em cães filhotes, foi conduzido experimento no Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), utilizando 18 animais de ambos os sexos, raça Beagle, no período de 27 dias. As variáveis analisadas foram: digestibilidade e escore fecal, microbiologia e pH fecais, alterações em exames de diagnóstico por imagem e análises hematológicas dos cães. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com três tratamentos e seis repetições, totalizando 18 unidades experimentais, para todos os parâmetros avaliados. O experimento foi dividido em duas fases: Fase 1: troca da dieta comercial de alta qualidade para a de qualidade padrão; Fase 2: troca da dieta comercial de qualidade padrão para a de alta qualidade. Os tratamentos experimentais consistiram em tratamento 1: controle; tratamento 2: probiótico 1; tratamento 3: probiótico 2. Os dados obtidos, por meio deste experimento, mostraram que tanto nas Fases 1 e 2 não houve diferença significativa para os coeficientes de digestibilidade da matéria seca, da proteína bruta e da energia bruta, assim como para o escore fecal. No entanto, na primeira fase, houve melhora do coeficiente de metabolicidade da energia bruta, provavelmente por uma menor excreção de nitrogênio na urina. O tratamento 2, contendo principalmente *Lactobacillus*, apresentou resultados significativos ( $P < 0,25$ ) nas análises microbiológicas. Detectou-se significância ( $P < 0,05$ ) no uso de probióticos pelo exame ultra-sonográfico, sendo que não foi visibilizada qualquer alteração ecogênica em camadas compatível com alteração patológica. A utilização de probiótico não apresentou significância ( $P > 0,05$ ) nos níveis de gás intestinal mensurados pela área observada. Houve significância na Fase 2 ( $P < 0,05$ ), ou seja, melhora nos níveis séricos avaliados pelas análises hematológicas, mas isso não pode ser imputado ao uso de probiótico e sim à melhoria da alimentação. Desta forma, conclui-se que o uso de probióticos pode ser benéfico para a saúde intestinal e dos cães, especialmente quando se utiliza dietas com qualidade inferior.

---

\*\* Comitê de Orientação: Flávia Maria de Oliveira Borges Saad – UFLA/DZO (Orientadora); Carlos Artur Lopes Leite – UFLA/DMV; Priscila Vieira Rosa Logato – UFLA/DZO; Roberta Hilsdorf Piccoli do Vale – UFLA/DCA.

## ABSTRACT

FELICIANO, Marcus Antônio Rossi **Probiotic supplementation to Beagle puppies receiving commercial foods**. 2008. 105p. Dissertation (Master in Animal Science) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.\*

Aiming at evaluating the probiotic effects in gastrointestinal tract in puppies, a research was carried out at the Animal Science Department of the Universidade Federal of Lavras (UFLA), using 18 males and females Beagle puppies, during 27 days. The analyzed variables were: digestibility and faecal score, microbiology and faecal pH, imaging diagnostic exam alterations and hematologic analyses of the dogs. The experimental delineation was fully casualized, with 3 treatments and 6 repetitions, totalizing 18 experimental unities, for all available parameters. The research was divided in two levels, Level 1: changing high quality commercial food to standard; Level 2: changing standard quality commercial food to high quality. The experimental treatments were treatment 1: control; treatment 2: probiotic 1; treatment 3: probiotic 2. The obtained results showed that there was no significative difference in dry matter, protein, energy digestibility coefficients and faecal score. However, in Level 1 there was improvement in energy metabolicity coefficient, probably due to nitrogen decrease in the urine. The treatment 2, containing mainly *Lactobacillus*, presented significative results ( $P < 0,25$ ) in the microbilogic analysis. It was detected significance ( $P < 0,05$ ) in the probiotic through ultrasonography, when was not observed ecogenic alterations in layers compatible to pathologic alterations. The probiotic application presented no significance ( $P > 0,05\%$ ) in the bowel gas levels measured in the observed area. There was significance in level 2 ( $P < 0,05\%$ ) with improve in the serum levels evaluated by hematologic analysis, but this occurred probably due to a better food intake than due to the probiotic utilization. It was concluded that probiotics use can bring benefits to canine intestinal health specially when using low quality foods.

---

\* Guidance Committee: Flávia Maria de Oliveira Borges Saad – UFLA/DZO (Adviser); Carlos Artur Lopes Leite – UFLA/DMV; Priscila Vieira Rosa Logato – UFLA/DZO; Roberta Hilsdorf Piccoli do Vale – UFLA/DCA (co-advisers).

## 1 INTRODUÇÃO

Durante anos o homem tem usado microrganismos no processamento dos alimentos. Os benefícios do consumo desses produtos contendo microrganismos para o equilíbrio da microbiota intestinal são conhecidos desde épocas remotas, mas somente no século XX é que foram obtidos resultados positivos, pois nos anos anteriores não havia sido feito nenhum estudo da aplicação desses produtos na profilaxia e terapia de doenças e na promoção da saúde.

Os probióticos são definidos como aditivos alimentares contendo microrganismos vivos que afetam positivamente e beneficiam o hospedeiro, balanceando a microbiota intestinal. Alguns autores acreditam que os microrganismos probióticos deveriam ocorrer naturalmente em suas espécies alvo para serem efetivos, mas desde que encontrem condições para colonizar o trato gastrointestinal e persistam por algum tempo, podem ser considerados potenciais probióticos.

Um dos critérios importantes para a escolha de um probiótico é a especificidade das espécies de microrganismos ao hospedeiro. Entretanto, o conhecimento a respeito da microbiota intestinal canina é ainda muito limitado. A maioria dos produtos probióticos comerciais para cães não possui microrganismos de origem canina. Muitos desses produtos contêm também *Enterococcus faecium*, questionado por sua segurança à saúde do animal.

Diversos trabalhos avaliaram o efeito da suplementação de probióticos para humanos e animais de produção na digestibilidade dos nutrientes, mas ainda há poucas pesquisas publicadas estudando-os nos animais de companhia. Sendo assim, é de grande relevância este trabalho para a área de pesquisa em Nutrição de Cães e Gatos.

Diante do exposto, este trabalho estuda a utilização de probióticos como suplementos aos animais e à realização de análises que ainda não foram

determinadas e especificadas pela literatura, havendo ineditismo em algumas destas avaliações.

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da suplementação de dois tipos de probióticos na alimentação de cães filhotes da raça Beagle, recebendo dois tipos de dieta (de alta e baixa qualidade), sobre a digestibilidade dos nutrientes, escore e microbiota fecais, alterações em exames de diagnóstico por imagem e parâmetros sanguíneos.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Probióticos e suas funções

Através dos anos a palavra probiótico vem sendo usada de diversas maneiras. Ela foi usada originalmente para descrever substâncias produzidas por protozoários que estimulavam outras substâncias, mais tarde foi usada para denominar suplementos microbianos que exerciam efeito benéfico sobre o hospedeiro afetando a sua microbiota intestinal. Em uma forma generalista, este termo foi definido de forma a se referir a organismos ou substâncias que contribuem para o equilíbrio da microbiota intestinal. No entanto, esta definição não é satisfatória porque é imprecisa, pois permite a inclusão dos antibióticos nesse conceito, portanto, a melhor definição para probióticos seria como suplemento alimentar microbiano vivo, capaz de afetar benéficamente o hospedeiro, melhorando o equilíbrio da sua microbiota intestinal (Fernandez et al., 2000). Borges et al. (2003) citam que o termo probiótico, de origem grega, significa para a vida.

Os produtos probióticos contêm, mais comumente, bactérias produtoras de lactato, como *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, contudo, essas bactérias também produzem butirato (Swanson et al., 2002b). Bactérias do gênero *Bacillus* podem ser usadas tendo como vantagem a capacidade de esporular, fato que lhes confere maior resistência à passagem pelo estômago (Coppola & Turnês, 2004). Os *Enterococcus* têm efeitos inibitórios sobre importantes enteropatógenos, como *Escherichia coli* enterotoxigênica, *Salmonella*, *Shigella* e *Clostridium*. Dessa forma, é sugerida sua inclusão como agente anti-diarreico (Benyacoub et al., 2003). Além de bactérias, também é usado como probiótico a levedura *Saccharomyces boulardii* (Tomasik & Tomasik, 2003).

Três possíveis mecanismos de atuação são atribuídos a esses microrganismos considerados probióticos, sendo o primeiro deles a supressão do número de células microbianas viáveis por meio da produção de compostos com atividade antimicrobiana, a competição por nutrientes e a competição por sítios de adesão (Saad, 2006). Dessa maneira, os probióticos agem promovendo a exclusão competitiva, em que os microrganismos benéficos competem com os patogênicos por sítios de fixação e nutrientes (Coppola & Turnês, 2004).

O segundo desses mecanismos é a alteração do metabolismo microbiano, por meio do aumento ou da diminuição da atividade enzimática. O terceiro modo de ação dos probióticos consiste no estímulo da imunidade do hospedeiro, por meio do aumento dos níveis de anticorpos e da atividade dos macrófagos. Sendo assim, o espectro de atividade dos probióticos pode ser dividido em efeitos nutricionais, fisiológicos e antimicrobianos (Saad, 2006).

Como os microrganismos probióticos aderem à parede intestinal e colonizam o trato gastrintestinal (Tomasik & Tomasik, 2003), estes devem ser capazes de sobreviver à acidez do estômago e de resistir à digestão pela bile (Weese & Anderson, 2002). Devido à acidez intestinal, promovida pela produção de ácido lático pelos probióticos, ocorre um aumento seletivo do número total de microrganismos intestinais, entretanto, este incremento funciona de forma seletiva. As bactérias benéficas, como *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, são resistentes ao meio ácido, enquanto que as bactérias prejudiciais à saúde dos animais, como *Clostridium*, *Escherichia coli*, *Listeria*, *Shigella* e *Salmonella*, são sensíveis a esse meio (Borges et al., 2003).

Fuller (1995) relata que os resultados obtidos com o uso de probióticos podem ser afetados por vários fatores como: tipo de microrganismo; método de produção; método de administração; viabilidade da preparação; condição do hospedeiro e condição da microbiota intestinal.

Segundo Nunes (1998), o modo de ação dos inúmeros probióticos consiste na produção de peróxido de hidrogênio (agente bactericida), de substâncias antibióticas, de enzimas digestivas (função essa que assume maior importância em animais jovens) e de vitaminas do complexo B, além de prevenirem o acúmulo de amins tóxicas e amônia e estimularem o apetite (cujo mecanismo é desconhecido).

Tomasik & Tomasik (2003) citam ainda que os efeitos positivos dos probióticos não se limitam apenas ao trato gastrointestinal. Eles podem reduzir os sinais de alergia, como foi observado em crianças. Estudos em seres humanos revelaram efeitos benéficos na redução dos sinais de intolerância alimentar à lactose, redução no excesso de hormônios sexuais e aumento nos níveis séricos de ácido fólico, niacina, riboflavina e vitamina K.

Já os estudos com animais mostraram diminuição da frequência de câncer de cólon com o uso de probióticos. O mecanismo exato dos efeitos benéficos das bactérias lácticas, na prevenção do câncer de cólon, não está totalmente esclarecido, mas estudos realizados têm mostrado que os metabólitos dessas bactérias atuam na carcinogênese com ações anti-mutagênicas (Wollowski et al., 2001).

Benyacoub et al. (2003) citam que o estresse e as mudanças na dieta são condições que afetam a microbiota intestinal de cães e para os quais os probióticos devem então ser benéficos.

A dificuldade em se trabalhar com probióticos, nos alimentos para cães e gatos, segundo Borges et al. (2003), encontra-se no processamento. Os alimentos secos são extrusados e passam por altas temperaturas (acima de 180°C) e, embora seja por poucos segundos, esta elevação da temperatura é suficiente para eliminar os microrganismos. Dessa forma, os probióticos devem ser incorporados pós-extrusão.

De acordo com Coppola & Turnes (2004), as evidências sobre os benefícios decorrentes do uso dos probióticos justificam o aprofundamento dos estudos sobre seu modo de ação, a fim de otimizar sua utilização como profiláticos, promotores de crescimento e imunomoduladores.

Levando em consideração a importância da microbiota intestinal e a ação das bactérias dessa microbiota na manutenção da “saúde” do ambiente intestinal, vários autores concordam que o probiótico pode ser usado em qualquer situação em que o equilíbrio da microbiota intestinal possa estar sendo afetado (Fernandez et al., 2000).

Segundo Fernandez et al. (2000), o uso de probióticos em monogástrico pode ser recomendável em três diferentes situações: **1)** ajudar na manutenção da estabilidade da microbiota intestinal não patogênica; **2)** restaurar a estabilidade da microbiota intestinal após um desequilíbrio; **3)** promover a estabilidade da microbiota intestinal não patogênica nos recém-nascidos.

Os fatores mais importantes responsáveis pelo desequilíbrio da microbiota intestinal estão associados ao estresse, qualquer que seja sua forma (doenças, trocas alimentares, desmama, mudança brusca de ambiente, etc), e ao uso de antibióticos orais (Fernandez et al., 2000). Estes autores ainda consideram a higiene excessiva, capaz de restringir o acesso da mãe ao recém nascido, um fator que influencia no equilíbrio da microbiota intestinal.

Existe a opinião popular de que eles reduzem a variação no consumo, aumentam a eficiência da conversão alimentar e a longevidade, previnem diarreias em animais jovens e ajudam a estabilizar a população microbiana normal dos intestinos (Fernandez et al., 2000).

Fernandez et al. (2000) citam que a indicação terapêutica para os probióticos depende do momento em que este for administrado. Em infecções subclínicas do trato gastrointestinal, onde os patógenos ainda não conseguiram multiplicar-se, seu uso foi efetivo, porém, depois da sua multiplicação o

resultado não foi satisfatório, mas houve ainda influência do probiótico. Porém, em condições nas quais os animais já apresentavam sinais clínicos nenhum efeito curativo foi observado. Estes mesmos autores citam a recomendação do uso de probióticos principalmente como preventivo nas infecções bacterianas de animais recém-nascidos.

Os probióticos são mais comum e eficientemente utilizados em ocasiões estressantes como desmama, mudança de alimentação, falha na ingestão de colostro, transporte dos animais para um novo local, alta concentração de animais, doenças concorrentes e após tratamento com antibióticos (Fernandez et al., 2000).

## **2.2 Digestibilidade e escore fecal**

A digestibilidade é um critério importante para avaliar a proporção de nutrientes disponíveis para absorção pelo organismo. Deve ser realizada a partir de ensaios alimentares, em que os produtos são administrados por um período de cinco a sete dias para adaptação; depois desse tempo, são calculados os coeficientes de digestibilidade (Case et al., 1998).

Neste contexto, a ação de microrganismos no trato gastrointestinal pode influenciar favoravelmente a quantidade, biodisponibilidade e digestibilidade de alguns nutrientes da dieta. A hidrólise enzimática bacteriana, por exemplo, pode aumentar a biodisponibilidade de proteínas, gorduras e a liberação de aminoácidos livres (Saad, 2006). De acordo com Fernandez et al. (2000), a mucosa do trato gastrointestinal possui o ambiente ideal para a colonização e crescimento de microrganismos que são importantes na digestão e na absorção de nutrientes dietéticos tais como carboidratos, proteínas, lipídios, minerais e na síntese de vitaminas.

As bactérias do gênero *Bifidobacterium* e da família Bacteroidaceae são reconhecidas pelo auxílio na digestão e absorção de alimentos. No entanto, para exercerem as suas funções como fornecedoras de nutrientes para a mucosa do cólon e conseqüente melhoria da digestibilidade de nutrientes é importante que substratos como proteínas de qualidade sejam fornecidas na dieta (Bengmark, 2000).

Alguns estudos foram realizados para cães e seres humanos com a suplementação de probióticos associados com a avaliação de digestibilidade. No entanto, os estudos que demonstram maior consistência de dados são verificados em suínos, principalmente.

Em seres humanos, observou-se que a suplementação de *Lactobacillus acidophilus* diminuiu a porcentagem de matéria orgânica das fezes. Como no estudo não foram utilizados marcadores que permitissem a mensuração direta da digestibilidade, os autores sugeriram que essa alteração poderia ter ocorrido pelo aumento no aproveitamento de nutrientes, diminuição da biodisponibilidade mineral ou ainda devido a um fator desconhecido (Swanson et al., 2002a).

Em suínos, Utiyama (2004), ao fornecer probióticos com bactérias do gênero *Bacillus* para leitões desmamados em condições de baixo desafio, verificou a melhora na digestibilidade da energia. Já Böhmer et al. (2005) ao suplementarem *Enterococcus faecium* associado à inulina não encontraram efeitos significativos destes sobre a digestibilidade ileal e fecal dos nutrientes. Segundo citado por Xuan et al. (2001), ao fornecer três diferentes níveis (0,1; 0,2 e 0,3%) de um probiótico, avilamicina ou ractocom® a leitões com 21 dias, verificaram que os melhores resultados para a digestibilidade de nutrientes foram obtidos quando administrado o nível de 0,2% de probiótico. Huang et al. (2004) ao suplementarem *Lactobacillus* a leitões desmamados verificaram melhor aproveitamento do nitrogênio total.

Em cães, Swanson et al. (2002a) verificaram que a administração de *Lactobacillus acidophilus* aumentou a digestibilidade da matéria seca, da matéria orgânica e da proteína bruta. No entanto, não foi possível esclarecer se essa melhora no aproveitamento do alimento ocorreu no intestino delgado ou pela ação das bactérias no intestino grosso. De qualquer forma, esses efeitos foram melhores quando os microorganismos estiveram associados aos frutoligossacarídeos (FOS) - efeito simbiótico.

No entanto, segundo Rutz & Lima (2001), ainda há poucas evidências para afirmar que os probióticos influem positivamente na digestibilidade de nutrientes, o que é confirmado pela ausência de resultados benéficos em alguns trabalhos. Pasupaty et al. (2001) apud Correa et al. (2002), avaliando a suplementação de probióticos para filhotes de cães com 10 meses, sem raça definida, não encontraram diferenças significativas na digestibilidade da matéria seca, matéria orgânica, proteína e energia bruta; o mesmo foi citado por Biourgue et al. (1998) em relação à matéria seca, proteína, lipídeo e energia metabolizável.

Resultados negativos na adição de probióticos também foram encontrados por Hesta et al. (2003), que verificaram que a adição na dieta destes suplementos pode diminuir a digestibilidade aparente da proteína, mas desconhece-se o mecanismo pelo qual isso ocorre.

Por sua vez, o escore fecal é utilizado para avaliar as características das fezes, como consistência, forma e umidade. Estas, estão associadas com o nível de digestibilidade do alimento. Desta forma, um alimento de alta digestibilidade produz fezes sólidas e bem formadas, firmes e escuras, enquanto grandes quantidades de fezes e consistência líquida indicam menor utilização dietética. Para essa avaliação, utiliza-se uma escala que varia de 1 a 5 (Flickinger, 2003; Veronesi, 2003).

Segundo Veronesi (2003), os escores fecais com suas respectivas características são os seguintes: **1**, fezes muito duras e ressecadas com *pellets* secos e pequenos; **2**, fezes duras, secas, firmes, macias e bem formadas; **3**, fezes macias, bem formadas, úmidas, com formato preservado; **4**, fezes macias, sem forma definida; **5**, fezes líquidas. Hernot et al. (2005) comentam que um escore 2 muitas vezes é considerado ótimo por representar fezes bem formadas, fáceis de coletar, mas não tão secas.

Normalmente, os probióticos favorecem a digestão dos alimentos melhorando as características das fezes, ou seja, mantendo um escore fecal proporcional ao nível de digestibilidade (Veronesi, 2003). Swanson et al. (2002a) não observaram diferenças quando probióticos com *Lactobacillus acidophilus* foram administrados. No entanto, a associação com FOS proporcionou a obtenção de fezes com melhores escores fecais.

### **2.3 Microbiologia e pH fecais**

As várias porções do trato gastrointestinal (TGI) possuem funções e características morfológicas específicas. Desta forma, é esperado que os microrganismos presentes sejam também específicos em cada local de colonização, assim, cada espécie microbiana colonizará segmentos do trato digestivo nos quais estará mais bem adaptada (Fernandez et al., 2000).

Além das espécies bacterianas que estão sempre presentes no TGI e fazem o papel mais importante da população residente normal, existem ainda espécies que estão em menor número, como contaminantes e transientes oriundos da boca e da dieta. Segundo Fernandez et al. (2000), a cavidade oral é considerada a maior fonte de bactérias que colonizam o TGI. O número de bactérias na boca é de  $10^7$  UFC/g de secreções residuais. Já o estômago é praticamente livre de bactérias, possuindo apenas de  $10^1$  a  $10^2$  microrganismos por grama de secreções

residuais, sendo que estes números aumentam após as refeições e abaixam significativamente após a secreção de ácido clorídrico. O intestino delgado vazio apresenta  $10^1$  a  $10^2$  microrganismos por grama de conteúdo na parte cranial e aumenta para  $10^3$  a  $10^4$  na parte caudal. No intestino grosso este número está entre  $10^{10}$  a  $10^{11}$  por grama de conteúdo.

A distribuição e o tamanho da população bacteriana intestinal são determinados pelas funções normais do TGI e pelos fatores ambientais que são capazes de interagirem no lúmen do trato digestivo. A microbiota estabelecida após o nascimento, permanece relativamente constante, a não ser que mudanças na função fisiológica do hospedeiro, de seu ambiente ou a troca da dieta modifiquem o ambiente intra-luminal do trato digestivo (Fernandez et al., 2000).

A regulação fisiológica da microbiota intestinal é exercida por uma série de funções que são necessárias para manter cada espécie bacteriana em seus locais de colonização e em níveis normais de crescimento. Esta regulação previne possíveis efeitos patológicos tais como: crescimento anormal da microbiota residente, colonização por microrganismos de sítios atípicos da mucosa e fixação de microrganismos transientes ou patogênicos (Fernandez et al., 2000).

Fernandez et al. (2000) citam os seguintes fatores como responsáveis pela regulação da microbiota intestinal:

**1) Secreções gástricas do ácido clorídrico:**

A secreção normal de ácido clorídrico mantém o ambiente estomacal relativamente estéril uma vez que destrói as bactérias que conseguem alcançar o estômago. O ácido clorídrico ainda previne a colonização e/ou invasão do trato digestivo posterior por patógenos. Quando a secreção de ácido clorídrico é inibida ou reduzida no intestino delgado dos cães, há aumento do crescimento bacteriano (*E. coli* e *Clostridium*), na porção cranial deste segmento.

**2) Peristaltismo intestinal:**

O peristaltismo intestinal é necessário para manter baixas concentrações de bactérias no intestino delgado, prevenindo a multiplicação excessiva dos microrganismos numa determinada porção do trato intestinal, expulsando-os rapidamente e impedindo sua fixação e multiplicação. Quando ocorre a perda da função peristáltica, o número de bactérias gastrintestinais pode aumentar e microrganismos fecais podem aparecer na parte cranial do intestino delgado. Nestas circunstâncias *Bacteroides*, *Bifidobateria* e coliformes passam a ser predominantes.

### 3) Barreira mucosa :

A barreira mucosa é uma camada de células com uma superfície protetora de mucopolissacarídeos e imunoglobulinas. Ela previne a colonização bacteriana, e por conseqüência, evita a invasão e aderência de bactérias patogênicas, dificultando a absorção de toxinas. Além disso, a população de bactérias não patogênicas, normalmente aderidas à superfície da mucosa, previne a colonização por bactérias patogênicas transientes. Sendo consideradas exceções, *Shigella*, *Salmonella* e *E. coli*, são espécies enteroinvasivas e a barreira é efetiva em prevenir a invasão de um grande número de microrganismos intestinais.

### 4) Imunoglobulinas:

As imunoglobulinas são sintetizadas pelo hospedeiro na lâmina própria e são barreiras importantes contra doenças. As imunoglobulinas do tipo IgA são produzidas nas células do plasma e secretadas na superfície das células das mucosas, no entanto, são direcionadas a organismos específicos, potencialmente patogênicos; portanto, elas não regulam o número de bactérias normalmente existente no lúmen intestinal, mas visam diretamente os agentes patogênicos.

### 5) Intra-regulação da microbiota bacteriana:

A população bacteriana normal é muito estável, dificultando assim, a colonização do intestino por outras bactérias. Esta estabilidade é comprovada

pela possibilidade de um segmento intestinal possuir certas espécies e outro segmento possuir espécies diferentes. Agentes potencialmente patogênicos, quando ingeridos, na maioria das vezes não são capazes de produzir doenças.

#### **6) Dieta do animal:**

A influência exercida pela alimentação tem sido mais estudada em seres humanos, embora se saiba que ela também atua na microbiota intestinal dos animais. Poucos estudos discutiram o efeito da dieta na microbiota normal em diferentes sítios no TGI. Alguns destes estudos descrevem efeitos da dieta mudando o local da colonização de algumas espécies bacterianas, bem como a sua quantidade no TGI. A deficiência de proteína na dieta, por exemplo, está associada com a diarreia tropical, que se caracteriza pelo aumento do número total de bactérias no intestino delgado e pelo índice, além do normal, de coliformes.

Deste modo, torna-se claro que a dieta pode causar mudanças na população de microrganismos e levar o animal a processos patológicos, e neste sentido, muitos pontos ainda precisam ser esclarecidos. Também é possível que o crescimento exacerbado da microbiota seja um evento secundário à má nutrição, sendo que ela geralmente tem efeito na colonização por uma grande variedade de microrganismos, que levam a algumas doenças crônicas e debilitantes (Fernandez et al., 2000).

A mudança na dieta é capaz de influenciar a microbiota no intestino delgado com maior intensidade do que no intestino grosso. Em alguns casos ocorre o crescimento de leveduras e microrganismos anaeróbios. A dieta também pode provocar mudanças na ação da atividade das enzimas fecais, por exemplo, afetam a produção e ação da  $\beta$ -gluconidase,  $\beta$ -glucosidase,  $\beta$ -galactosidase, nitroredutase, azoredutase, 7- $\alpha$ -dehidroxilase e colesterol desidrogenase. As dietas ricas em proteínas oriundas do leite e em fibras, são capazes de produzir mudanças significativas na atividade das enzimas

bacterianas fecais, e estas mudanças estão associadas com a redução da incidência de alguns distúrbios intestinais (Fernandez et al., 2000).

O desenvolvimento da microbiota inicia-se ao nascimento do animal, quando o trato gastrintestinal do feto é colonizado ainda no canal do parto e imediatamente ao entrar em contato com o ambiente. Estudos em cães da raça Beagle mostraram que os colonizadores mais numerosos durante as primeiras horas de vida são *Bacteroides*, *Eubacteria*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* e cocos anaeróbicos, enquanto *Clostridium* e *Streptococcus* são mais tardios (Mentula, 2005).

Camargo et al. (2006) citam que nas espécies monogástricas, como o cão, a microbiota residente do intestino delgado proximal é composta principalmente por estreptococos, estafilococos e lactobacilos. Ainda no intestino delgado, podem ser vistas pequenas quantidades de coliformes e, intermitentemente, microrganismos anaeróbios ou Gram negativos (Tabela 1).

Tabela 1 – Composição da microbiota do trato digestivo de cães com o número de microrganismos por grama de conteúdo de digesta.

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

Fonte: adaptada de Fernandez et al. (2000).

AE: aeróbico

AN: anaeróbico

ANF: anaeróbico facultativo

ID: intestino delgado

IG: intestino grosso

Tannock (1998) comenta que essas espécies da microbiota intestinal formam um ecossistema complexo e dinâmico, responsável por influenciar fatores microbiológicos, imunológicos, fisiológicos e bioquímicos no

hospedeiro. Dessa forma, a principal função metabólica da microbiota, segundo Leahy et al. (2005), é a fermentação de resíduos não digeridos da dieta.

Os microrganismos probióticos são capazes de se associarem com outras espécies do mesmo gênero ou não, formando populações estáveis antagonizando ou competindo com microrganismos potencialmente patogênicos. É possível alterar o número de algumas espécies bacterianas no intestino canino mudando componentes da dieta (Simpson et al., 2002) (Quadros 1 e 2).

Quadro 1 – Efeitos benéficos das bactérias intestinais ao hospedeiro

Gênero	Síntese de vitaminas e proteínas	Auxílio na digestão e absorção de alimentos	Previnem a colonização por patógenos	Antagonizam bactérias prejudiciais ao intestino
<i>Bacteroidaceae</i>	+	+	+	+
<i>Peptostreotococcus</i>	-	-	+	+
<i>Eubacterium</i>	-	-	+	+
<i>Lactobacillus</i>	-	-	-	+
<i>Bifidobacterium</i>	+	+	-	+
<i>Spirillaceae</i>	+	-	+	+
<i>Escherichia coli</i>	+	-	-	+
<i>Streptococcus</i>	-	-	-	+

Fonte: Fernandez et al. (2000)

Quadro 2 – Efeitos das bactérias intestinais prejudiciais ao hospedeiro

Gênero	Putrefação no intestino	Aerogênese	Toxinogênese	Patogenicidade
<i>Bacteroidaceae</i>	+			
<i>Peptostreotococcus</i>		+		
<i>Eubacterium</i>		+		
<i>Lactobacillus</i>		+		
<i>Escherichia coli</i>	+	+		+
<i>Streptococcus</i>				+
<i>Clostridium</i>	+	+	+	-
<i>Staphylococcus</i>	+		+	+
<i>Pseudomonas</i>	+		+	+
<i>E. coli</i> (patogênica)	+		+	+
<i>Proteus</i>	+			+
<i>Bacteroidaceae</i> (patogênica)		+	+	+

Fonte: Fernandez et al. (2000)

Os microrganismos probióticos levam a diminuição da tensão das paredes intestinais causada pela fermentação bacteriana, induzindo a produção de hidrogênio, dióxido de carbono, sulfeto de hidrogênio e metano (Tomasik & Tomasik, 2003). Menos de 1% do volume de gás dos flatos é responsável pelo mau odor das fezes, sendo que a maioria dessa quantidade é atribuída aos gases sulfúricos produzidos pelas bactérias durante as reações oxidativas. A suplementação com probióticos pode aumentar a quantidade de substrato para as bactérias redutoras de enxofre, aumentando as concentrações de compostos sulfúricos nas fezes (Swanson et al., 2002b).

De acordo com Mentula (2005), o pH das fezes caninas é, geralmente, em torno de 6,2. Um aumento na concentração de lactato, frequentemente, diminui o pH luminal e é importante característica antimicrobiana para várias espécies patogênicas (Swanson et al., 2002b).

## **2.4 Parâmetros hematológicos**

A porção líquida do sangue possui 8% de sólidos, dos quais 6,5% são proteínas, tendo como principais frações as albuminas e as globulinas (Prata & Sgarbieri, 2005).

Os lipídeos totais, colesterol e proteínas séricas (proteínas totais e frações, albumina e globulinas) apresentam níveis diminuídos devido à administração de probióticos, segundo Marcinakova et al. (2006).

Lee (1997) comenta que há ocorrência de modulação nos níveis de colesterol sérico e da utilização da lactose, em seres humanos. Algumas dessas bactérias têm a habilidade de desconjugar ácidos biliares, aumentando seus níveis plasmáticos.

A análise das proteínas plasmáticas pode ser empregada como avaliação do estado nutricional do animal. A concentração sérica de albumina pode ser indicador do conteúdo de proteína na dieta, muito embora as mudanças ocorram lentamente. Para detecção de mudanças significativas na concentração de albumina sérica é necessário um período mínimo de um mês, devido à baixa velocidade de síntese e de degradação. A concentração de globulina não é afetada pela dieta, exceto em casos de limitação dietética extrema de proteína (Thomas, 2000).

Enfatizando a descrição do autor acima, Melo et al. (2006) descrevem que os níveis de proteína nas dietas alteram algumas variáveis hematológicas, como proteínas e o eritrograma, sem prejudicar o sistema de defesa orgânico. Desta forma, sabe-se que a dieta tem papel importante na produção de proteínas e suas frações, mas não se sabe a relação entre essas variáveis e a suplementação de probióticos, sendo que não foi ainda descrito pela literatura a associação da utilização destes suplementos com a produção de proteínas totais séricas e suas frações em cães filhotes da raça Beagle.

## **2.5 Diagnóstico por imagem**

Os métodos diagnósticos por imagem são indicados na avaliação de doenças gastrintestinais de origem obstrutiva, inflamatória (causada por estresse ou algum fator bacteriano), neoplásica e em alterações de motilidade (Baber & Mahaffey, 1998; Hall & Simpson, 2000).

### **2.5.1 Ultra-sonografia**

Os primeiros relatos do uso da ultra-sonografia no trato gastrintestinal de pequenos animais iniciaram-se a partir de 1989 (Penninck et al., 1989; Penninck et al., 1990; Penninck et al., 1994).

Penninck (2002) cita que os fatores que limitavam a ultra-sonografia nos segmentos intestinais de pequenos animais eram: a variabilidade do conteúdo intraluminal gasoso, a dificuldade de identificação do segmento intestinal acometido e a resolução da imagem dos equipamentos e transdutores.

Atualmente, com a utilização de transdutores de alta frequência (7,5MHz) a ultra-sonografia apresenta grande importância na abordagem diagnóstica das enfermidades gastrintestinais (Hudson & Mahaffey, 1995; Homco, 1996; Penninck, 2002).

Segundo Patnaik et al. (1980) e Nyland et al. (1981) a grande vantagem da ultra-sonografia sobre outras técnicas de imagem é permitir a avaliação da arquitetura dos tecidos e estruturas de maneira não invasiva, sem a necessidade de tranqüilizantes ou anestésicos, apenas com preparo do paciente. Este preparo consiste em jejum alimentar de no mínimo quatro horas e administração de dimeticona (12 gotas por animal a cada oito horas), um dia antes do exame.

No entanto, as limitações do exame ultra-sonográfico, de acordo com Froes (2004), são os artefatos provocados pelo ar intraluminal. Esses artefatos comprometem o exame de pacientes que apresentem acúmulo acentuado de gás no trato gastrointestinal, tornando a ultra-sonografia pouco sensível para o diagnóstico de enfermidades como, por exemplo, a torção gástrica e as obstruções intestinais gasosas.

Os animais são inicialmente examinados em decúbito dorsal e, posteriormente, movimentados para o decúbito direito ou esquerdo durante o exame, com a intenção de promover uma melhor janela acústica por meio do deslocamento do fluido intraluminal para a região de interesse (Biller et al., 1994).

Penninck et al. (1989), descrevem que as cinco camadas intestinais identificadas ultra-sonograficamente são, na direção do lúmen para fora: **1)** mucosa visibilizada como uma linha hiperecótica em contato com o lúmen; **2)** mucosa-hipoecótica; **3)** submucosa-hiperecótica; **4)** muscular própria-hipoecótica; **5)** subserosa/serosa-hiperecótica (Figura 1). Já no lúmen são descritos quatro tipos de constituintes: **1)** fluido anecótico; **2)** muco, que se apresenta como material ecogênico sem sombreamento acústico; **3)** ar, apresentando reflexão com sombreamento acústico; e **4)** alimento, anecótico com pontos ecogênicos.

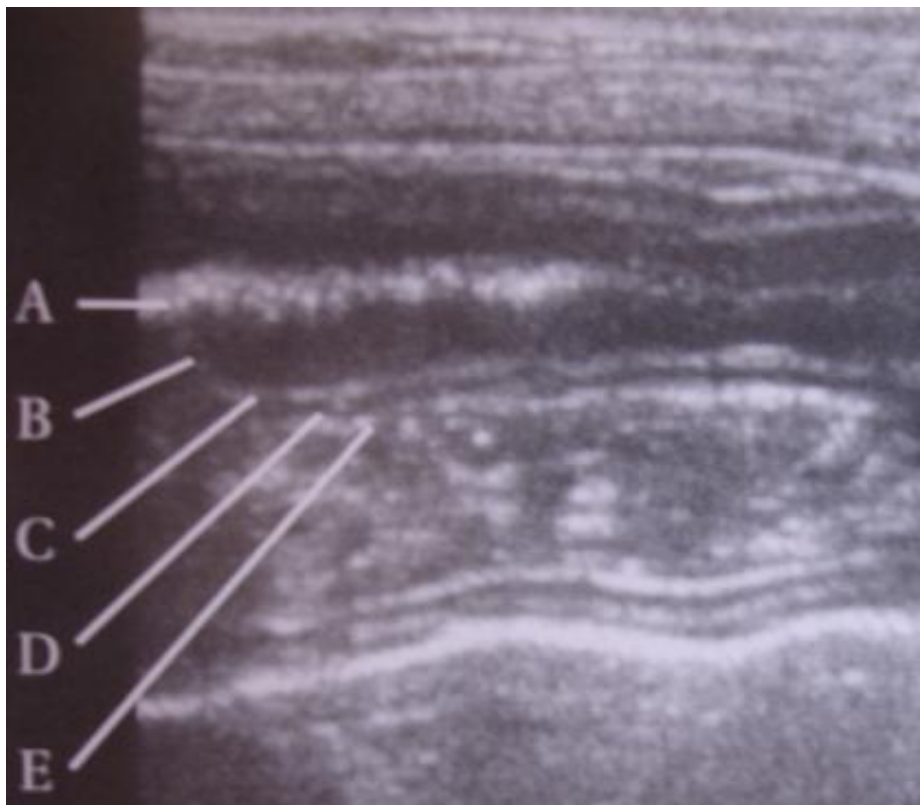


Figura 1: Imagem ultra-sonográfica de alça intestinal normal, visibilizando as 5 camadas: A) face da mucosa; B) mucosa; C) submucosa; D) muscular e E) subserosa/serosa (Fonte: Froes, 2004).

O duodeno proximal é estudado na região cranioventral do abdômen, ao lado do rim e lobos hepáticos direitos. A espessura da parede do duodeno em cães normais está em torno de 5mm em raças grandes, 4mm em raças médias e 3mm em raças de pequeno porte (Penninck et al., 1989; Newell et al., 1999; Penninck, 2002).

A espessura das demais porções do intestino delgado em cães é de 2 a 3mm (Froes, 2004) e localizam-se na região média do abdômen e, para o exame, o baço e a bexiga são utilizados como janela acústica. Não é possível determinar

a exata localização dos segmentos do intestino, à exceção da porção duodenal (Penninck et al., 1989; Penninck, 2002).

Embora o exame ultra-sonográfico não seja adequado para a avaliação do intestino grosso por causa do conteúdo luminal fecal e/ou gasoso, o cólon descendente pode ser identificado pela imagem em forma de “C” produzida pelo gás dorsalmente à bexiga urinária. A parede costuma ser mais fina que o restante do trato gastrintestinal (Homco, 1996; Newell et al., 1999).

O espessamento da parede gastrintestinal é o achado sonográfico mais comumente visibilizado em casos de doença inflamatória do trato gastrintestinal (Baber & Mahaffey, 1998; Penninck, 2002).

Essa inflamação é caracterizada por um espessamento mais extenso, com a estratificação das camadas parietais preservadas, ou seja, as camadas apresentam-se bem diferenciadas, com nítido predomínio da visibilização da camada submucosa. A doença inflamatória gastrintestinal também apresenta uma linfadenomegalia mesentérica (aumento de tamanho dos linfonodos e de sua ecogenicidade), que é relativamente comum na doença ativa (Penninck et al., 1990).

Dessa forma, as técnicas de ultra-sonografia abdominal são úteis para a avaliação da estrutura intestinal normal, espessura da parede e peristaltismo.

### **2.5.2 Radiografia**

O trato gastrintestinal é visibilizado nas radiografias devido ao contraste de gordura, mesentério e omento com o conteúdo luminal (Burk & Ackerman, 1996).

O intestino normalmente contém fluido (que aparece com uma imagem com densidade de tecido), alimento (que pode ter uma imagem com densidade de tecido ou osso) ou ar. O ar presente no trato gastrintestinal geralmente é

resultado de aerofagia. Ocasionalmente, um segmento do intestino pode conter material com densidade e padrão de fezes (apresentando uma imagem com mistura de densidade de tecido e osso), assim como metal, agentes de contraste e corpos estranhos (Burk & Ackerman, 1996).

Segundo Koide et al. (2000), o gás intestinal é facilmente identificável em radiografias abdominais, como uma imagem radiotransparente, sendo de grande uso no diagnóstico das afecções intestinais. A quantidade de gás, assim como sua extensão, é considerada um reflexo da função intestinal, podendo estar normal, aumentada ou diminuída de acordo com os diversos estados patológicos, fisiológicos ou nutricionais, porém a avaliação dessa quantidade de gás se torna muito subjetiva.

O gás presente no tudo digestivo produz imagens que permitem reconhecer os diferentes segmentos intestinais (Cortés, 2002). Há relatos, na medicina humana, de escore de área de gás em 1991. Koide et al. (2000) realizaram um trabalho em que radiografias foram escaneadas e, por meio de um *software*, traçou-se a área de regiões intestinais com gás, calculou-se o volume e definiu-se um escore de volume de gás. É um método promissor na veterinária e não invasivo.

### **3 OBJETIVO**

O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da suplementação de dois tipos de probióticos para cães filhotes da raça Beagle, recebendo dois tipos de dieta (de alta e baixa qualidade), sobre a digestibilidade dos nutrientes, escore e microbiota fecais, alterações em exames de diagnóstico por imagem e parâmetros sanguíneos.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Local e instalações

O experimento foi realizado no Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras - UFLA, nas instalações do Centro Experimental em Nutrição de Animais de Companhia (CENAC).

Durante a fase de adaptação alimentar, os animais foram acondicionados em canil individual com área média de 5,4 m<sup>2</sup>. O piso do canil era de cimento liso, com solário. Os bebedouros utilizados foram do tipo chupeta, fixados na parede de fundo do canil a uma altura média de 50 cm. Os comedouros utilizados foram do tipo giratório, localizados a cerca de 35 cm do solo.

Na fase experimental, os animais foram alojados em gaiolas metabólicas, constituídas de arame galvanizado e chapas metálicas abaixo, para coleta e avaliação das fezes, onde sob cada gaiola foi colocada uma bandeja com um orifício no centro que conduzia a urina a baldes plásticos (Figura 2), durante todo este período, com fornecimento de água por meio de bebedouros chupeta e alimentação por meio de comedouros individuais.



Figura 2: Gaiolas metabólicas com animais.

#### 4.2 Animais e tratamentos

Foram utilizados 18 cães, da raça Beagle, filhotes de 2 a 6 meses de idade, distribuídos ao acaso em três tratamentos: **1)** controle (administração somente de ração); **2)** administração de ração + probiótico 1 e **3)** administração de ração + probiótico 2.

O experimento foi dividido em duas fases:

- **(FASE 1)** avaliação e comparação dos efeitos dos probióticos com a mudança de uma dieta de alta qualidade (*Super Premium*) para uma dieta comercial padrão (*Standard*);
- **(FASE 2)** avaliação e comparação dos efeitos dos probióticos com a mudança de uma dieta comercial *Standard* para uma dieta *Super Premium*.

As terminologias *Standard* e *Super Premium* são usuais na indústria de alimentos comerciais para cães e gatos e entre os consumidores. Estas denominações serão utilizadas ao longo desse trabalho para denominar as dietas de qualidade padrão e superior, respectivamente.

A composição dos probióticos encontra-se descrita na Tabela 2.

Tabela 2: Níveis de garantia dos probióticos utilizados no experimento.

Composição Microbiológica	Probiótico 1	Probiótico 2
<i>Bifidobacterium</i>	1,0 x 10 <sup>8</sup> UFC/g	-
<i>Lactobacillus</i>	9,1 x 10 <sup>7</sup> UFC/g	4,3 x 10 <sup>8</sup> UFC/g
<i>Enterococcus</i>	1,2 x 10 <sup>8</sup> UFC/g	3,1 x 10 <sup>8</sup> UFC/g
<i>Pediococcus</i>	-	3,5 x 10 <sup>8</sup> UFC/g

Dados de rotulagem, fornecidos pelo fabricante.

A alteração da dieta e o jejum alimentar foram utilizados como um desafio nutricional para os cães, na avaliação dos efeitos dos probióticos.

#### 4.2.1 Primeira fase experimental

Na primeira fase, os animais passaram por adaptação nutricional de 11 dias com ração *Super Premium* (Tabela 3), alojados em baias coletivas, sendo respeitada a divisão dos tratamentos propostos. No décimo segundo dia, foi realizado um jejum de 24 horas. No décimo terceiro dia os animais passaram a receber ração *Standard* (Tabela 3) e iniciou-se a suplementação com probióticos via oral.

Tabela 3: Níveis de garantia das rações *Super Premium* e *Standard* utilizadas no experimento.

Níveis Nutricionais na Matéria Seca (%)	Ração <i>Super Premium</i>	Ração <i>Standard</i>
Umidade (máximo)	10	12
Proteína Bruta (mínimo)	32	26
Extrato etéreo (mínimo)	20	7
Matéria Fibrosa (máximo)	2,5	4,5
Matéria Mineral (máximo)	6,3	10
Calcio (máximo)	1,0	2,0
Fósforo (mínimo)	0,8	0,9

Dados de rotulagem, fornecidos pelo fabricante.

A quantidade de ração oferecida a cada animal foi pesada e administrada duas vezes ao dia, individualmente. Para cálculo da quantidade de ração, utilizou-se a energia metabolizável da ração (descrita no rótulo) e as necessidades calóricas de cada cão, dada pela seguinte fórmula (Heusner, 1985): Exigência de energia (Kcal) =  $159 \times PV^{0,67}$  x fator de correção (de acordo com a idade de cada animal – 1,2 a 2,0), onde PV = peso corporal. O cálculo da ração foi obtido pela utilização da exigência energética de cada animal dividida pela disponibilidade da energia metabólica da ração.

Após o período de 11 dias de adaptação dos animais com a ração *Super Premium* e anteriormente ao jejum de 24 horas e troca da ração, foram realizadas microbiologia fecal, exames de diagnóstico por imagem e coleta de sangue para mensuração de proteínas totais séricas e frações, de todos os animais. Após o jejum, os animais passaram a receber ração *Standard* e suplementação com probióticos (com exceção do tratamento controle), a cada 12 horas, na posologia recomendada pelo fabricante (três gramas diários para cada cão, recomendado para animais em estresse ou doença inflamatória do trato gastrointestinal). A mensuração do escore fecal foi iniciada após o jejum (início da administração de probióticos) e se estendeu por oito dias (início da Fase 2). A coleta de fezes para digestibilidade iniciou-se após o final da administração do probiótico (15 dias

após cada adaptação) e se estendeu por cinco dias consecutivos. No último dia de administração dos probióticos, foram repetidas as coletas para as análises microbiológicas das fezes, exames de diagnóstico por imagem e mensuração de proteínas totais séricas e frações, de cada tratamento.

A ração comercial *Standard* foi fornecida por sete dias. No último dia de fornecimento desta ração, foram realizadas análises microbiológicas das fezes, ultra-sonografia e radiografia abdominais e coleta de sangue para mensuração de proteínas totais séricas e frações, de todos os animais, que serviram como parâmetros para a Fase 2.

#### **4.2.2 Segunda fase experimental**

Na segunda fase, os animais passaram por adaptação nutricional de sete dias com ração comercial *Standard* e procedeu-se a troca da ração para a *Super Premium*, antes da suplementação com os probióticos. Igualmente à Fase 1, no dia anterior à troca, os animais foram submetidos a um jejum de 24 horas. Os demais procedimentos foram semelhantes aos executados na Fase 1.

O cronograma do experimento está no Quadro 3.

Quadro 3: Cronograma experimental.

Dias	Data	Ração	Estresse	Escore	PRO	Micro	DG	Sangue	Raio x	US
1º	9/04	SP								
2º	10	SP								
3º	11	SP								
4º	12	SP								
5º	13	SP								
6º	14	SP								
7º	15	SP								
8º	16	SP								
9º	17	SP								
10º	18	SP								
11º	19	SP				Micro		Sangue	Raio x	US
12º	20	Jejum	Gaiola	SC	Pro					
13º	21	St	Gaiola	SC	Pro					
14º	22	St	Gaiola	SC	Pro	Micro		Sangue	Raio x	US
15º	23	St	Gaiola	SC			DG			
16º	24	St	Gaiola	SC			DG			
17º	25	St	Gaiola	SC			DG			
18º	26	St	Gaiola	SC			DG			
19º	27	St	Gaiola	SC		Micro	DG	Sangue	Raio x	US
20º	28	Jejum	Gaiola	SC	Pro					
21º	29	SP	Gaiola	SC	Pro					
22º	30	SP	Gaiola	SC	Pro	Micro		Sangue	Raio x	US
23º	1/05	SP	Gaiola	SC			DG			
24º	2	SP	Gaiola	SC			DG			
25º	3	SP	Gaiola	SC			DG			
26º	4	SP	Gaiola	SC			DG			
27º	5	SP	Gaiola	SC			DG			

**St:** Ração *Standard*; **SP:** Ração *Super Premium*; **SC:** Escore Fecal; **Pro:** Administração de Probiótico; **Micro:** Microbiologia; **DG:** Coleta para Digestibilidade; **US:** Ultra-sonografia; **Raio x:** Radiografia; **Sangue:** Coleta de Amostras Sanguíneas.

### 4.3 Digestibilidade

As análises químicas das fezes foram realizadas no Laboratório de Análise de Alimentos do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras.

Após o período de coleta, as amostras de fezes foram descongeladas em temperatura ambiente (aproximadamente 12 horas), homogeneizadas e colocadas em pratos de alumínio, pesadas em balança analítica e, em seguida, colocadas em estufa de ventilação forçada a 80°C, por um período de 24 horas. Depois de retiradas da estufa, e atingindo o equilíbrio com a temperatura

ambiente, as amostras foram pesadas, moídas em moinho de martelo com malha de 1mm e acondicionadas em frascos, para a realização das análises químicas.

As amostras de fezes pós e pré-secagem foram avaliadas quanto à energia, proteína e matéria seca, conforme metodologia descrita por Silva & Queiroz (2002).

Concluída a pré-secagem das amostras, moídas e armazenadas em vidros hermeticamente fechados, procedeu-se à técnica para determinação da matéria seca, proteína bruta e energia bruta das fezes, de acordo com Silva & Queiroz (2002).

Após cálculo da secagem definitiva procedeu-se o cálculo do coeficiente de digestibilidade da matéria seca, pela fórmula:  $\{[(\% \text{ de matéria seca da ração} \times \text{quantidade de ração consumida em g}) - (\% \text{ matéria seca das fezes} \times \text{quantidade das fezes em g})] / (\% \text{ de matéria seca da ração} \times \text{quantidade de ração consumida em g})\} \times 100$ .

Após determinação da proteína bruta das fezes procedeu-se o cálculo do coeficiente de digestibilidade da proteína, pela fórmula:  $\{[(\% \text{ de proteína bruta da ração} \times \text{quantidade de ração consumida em g}) - (\% \text{ proteína bruta das fezes} \times \text{quantidade das fezes em g})] / (\% \text{ de proteína bruta da ração} \times \text{quantidade de ração consumida em g})\} \times 100$ .

A energia bruta das fezes foi determinada por meio de bomba calorimétrica e após isso procedeu-se o cálculo da energia digestível pela seguinte fórmula: energia bruta da ração – energia bruta das fezes. Já a energia metabolizável foi calculada pela fórmula:  $[\text{energia digestível} - (\text{proteína bruta digestível} \times 1,25)] / \text{consumo}$ .

#### **4.4 Análises microbiológicas e das fezes**

##### **4.4.1 Amostras e análises realizadas**

A água fornecida aos animais foi analisada quanto a sua potabilidade segundo a Resolução número 518 de 2004 (Brasil, 2004). As dietas fornecidas aos animais foram avaliadas microbiologicamente pela quantificação de coliformes termotolerantes. Nas fezes coletadas foram quantificados *Escherichia coli*, bactérias do ácido láctico, *Clostridium perfringens* e *Bifidobacterium* sp.

##### **4.4.2 Coleta das amostras**

Foram coletadas amostras de 200mL de água de dessedentação dos animais periodicamente durante o decorrer do experimento. Cerca de 100g de amostras das dietas foram coletados anteriormente à sua ministração aos animais para posteriores análises microbiológicas.

As fezes dos animais foram coletadas no máximo após 15 minutos da defecação, acondicionadas em sacos plásticos estéreis e levadas imediatamente para análise.

Todas as análises foram realizadas segundo metodologia proposta por Silva et al. (2001) com modificações quando citadas, no Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Ciência dos Alimentos.

##### **4.4.3 Quantificação de coliformes totais e termotolerantes na água**

O teste presuntivo para coliformes totais foi realizado utilizando-se 100mL de água. A técnica utilizada foi a do Número Mais Provável, onde foram

dispensados em 10 tubos de ensaio contendo tubos de Durhan e caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), duas vezes concentrado, 10mL de água. Após homogeneização os tubos foram incubados a 37° C por 24h em estufa BOD. Aqueles que apresentaram formação de gás e turvação foram considerados positivos no teste presuntivo. A seguir, alíquotas dos tubos positivos foram transferidas para tubos de ensaio contendo cerca de 9mL de caldo bile verde brilhante (VB) e tubo de Durhan. Após inoculação esses foram incubados a 37°C por 24h em estufa BOD, sendo esse teste denominado de confirmativo. Os tubos que apresentaram gás e turvação foram considerados positivos para coliformes totais. Concomitantemente à transferência de alíquota para tubos contendo caldo VB, alíquotas dos mesmos tubos positivos no teste presuntivo foram transferidas para tubos contendo cerca de 9mL de caldo *Escherichia coli* (EC) e tubo de Durhan, esses foram incubados a 45°C por 24h em banho-maria. Os tubos que apresentaram turvação e gás foram considerados positivos para coliformes termotolerantes.

#### **4.4.4 Quantificação de coliformes termotolerantes na dieta**

A técnica empregada foi a do Número Mais Provável, onde utilizou-se 3 séries de três tubos. Alíquotas de 1mL das diluições adequadas, realizadas em tubos contendo água peptonada 0,1%, foram dispensadas em tubos contendo tubos de Durhan e cerca de 9mL de LST; após semeadura, estes foram incubados a 37°C por 24h em estufa BOD. Após esse período, alíquotas dos tubos que apresentavam turvação e gás foram retiradas e semeadas em tubos de ensaio contendo tubos de Durhan e cerca de 9mL de caldo EC. Estes foram incubados em banho-maria a 45°C por 24h. Aqueles que apresentavam turvação e gás foram considerados positivos para coliformes termotolerantes.

#### **4.4.5 Preparo das amostras de fezes**

Após coleta e transporte das amostras de fezes dos animais, essas tiveram alíquotas de 10g mensuradas e transferidas para tubos de ensaio contendo água peptonada 0,1%. A partir da diluição inicial, diluições adequadas foram realizadas para posterior plaqueamento em meios de cultivo adequados.

#### **4.4.6 Enumeração de *Escherichia coli* presentes nas fezes dos animais**

Foi utilizada a técnica de plaqueamento em superfície. Alíquotas de 0,1mL das diluições adequadas foram transferidas, em triplicata, para placas de Petri contendo ágar Eosina Azul de Metileno (EMB) e espalhadas com alça de Driglasky. Após espalhamento as placas foram incubadas a 37°C por 24h. Após esse período colônias típicas de *E. coli* foram enumeradas.

#### **4.4.7 Enumeração de bactérias do ácido láctico**

Alíquotas de 1mL das diluições adequadas foram transferidas para placas de Petri, seguidas da adição de cerca de 15mL de ágar Man, Rogosa e Sharpe, utilizando-se assim a técnica de plaqueamento em profundidade. Após plaqueamento e solidificação do meio de cultura, as placas foram incubadas a 30°C por 24-48h. Após esse período as colônias formadas foram enumeradas.

#### **4.4.8 Enumeração de *Clostridium perfringens***

Alíquotas de 0,1mL das diluições adequadas foram semeadas em placas de Petri contendo cerca de 15mL de meio seletivo para *Clostridium perfringens* (SPS). As alíquotas foram espalhadas com alça de Drigalsky sobre o ágar e

posteriormente as placas foram incubadas a 44°C em condições de anaerobiose, por 48h. Após esse período as colônias que se apresentavam negras foram quantificadas.

#### **4.4.9 Enumeração de *Bifidobacterium* sp.**

Foi utilizada a técnica de plaqueamento por profundidade. Aliquotas de 1mL das diluições adequadas foram semeadas em placas de Petri e adicionadas de cerca de 15mL de meio RCM. Após homogeneização e endurecimento do ágar, as placas foram incubadas a 37°C em condições de anaerobiose, por 72h. Após esse período, as colônias que se apresentavam com coloração creme foram quantificadas (Camaschella et al, 1998).

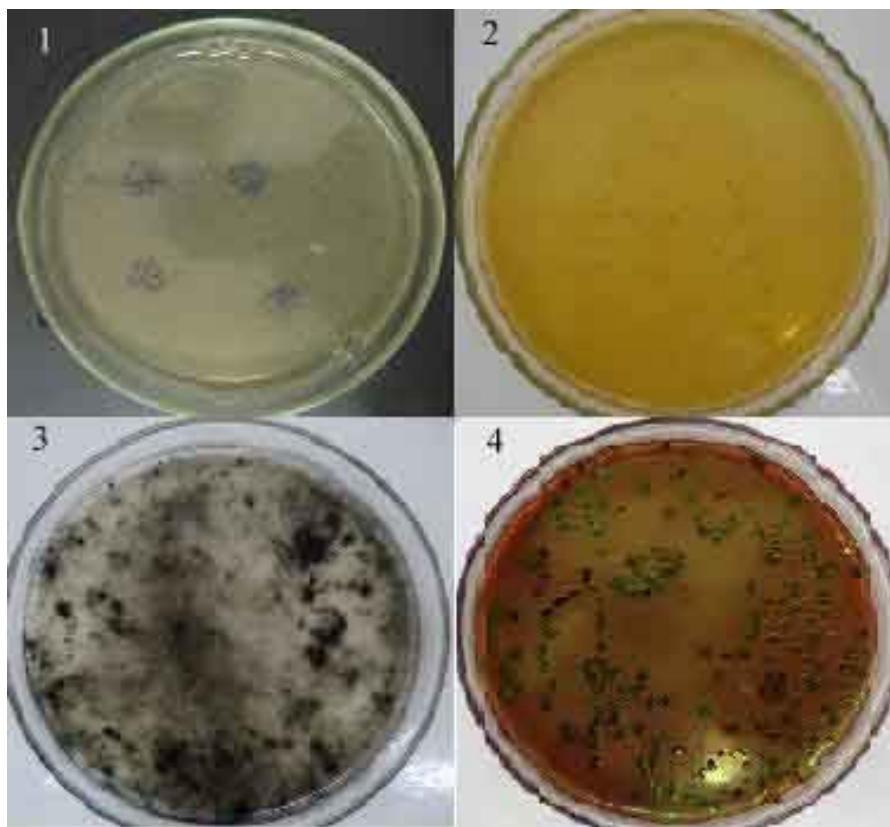


Figura 3: Colônias com os microrganismos avaliados: 1) *Bifidobacterium* sp.; 2) *Lactobacillus* sp.; 3) *Clostridium* sp.; 4) *E. coli*.

#### 4.4.10 Avaliação do escore fecal

A determinação do escore fecal foi feita por meio de observação visual das fezes e suas características e graduação em uma escala de 1 a 5: **1**, fezes muito duras e ressecadas com *pellets* secos e pequenos; **2**, fezes duras, secas, firmes, macias e bem formadas; **3**, fezes macias, bem formadas, úmidas, com formato preservado; **4**, fezes macias, sem forma definida; **5**, fezes líquidas; segundo o proposto por Veronesi (2003).

#### **4.5 Análises hematológicas**

As amostras de sangue foram coletadas no primeiro dia anterior ao início do período experimental e ao final dos tratamentos propostos, acondicionadas em frascos Vacutainer® e analisadas quanto às concentrações de proteínas totais e fracionadas (globulina), no Laboratório In Vitro, em Lavras – MG, pelo método de análise colorimétrica.

#### **4.6 Diagnóstico por imagem**

Os animais foram submetidos à avaliação ultra-sonográfica e radiográfica, pelo Serviço de Diagnóstico por Imagem do Setor de Clínica de Pequenos Animais, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Lavras.

Ao exame ultra-sonográfico foi avaliada a espessura da parede gastrintestinal de cada cão, buscando-se doença inflamatória gastrintestinal, segundo o descrito por Froes (2004). Os exames foram realizados 24 horas antes da mudança da dieta e nos dias de administração dos probióticos de cada fase de experimentação. Para o exame, foi utilizado o aparelho Toshiba® SSH-140A, com transdutores de 3,75 e 7,5MHz (Figura 4).



Figura 4: Equipamento ultra-sonográfico Toshiba® SSH-140A.

Antes de cada exame, os cães foram tricotomizados amplamente no abdômen. O animal foi contido em decúbito dorsal e aplicado gel acoplador específico para realização do exame ultra-sonográfico, de acordo com a metodologia de Biller et al. (1994) (Figura 5).



Figura 5: Cão da raça Beagle contido em decúbito dorsal para exame ultrassonográfico. Observar o elemento transdutor do equipamento (*seta*).

Ao exame radiográfico foram avaliados a presença de gás em alças intestinais e o espessamento da parede do trato gastrintestinal. Os exames foram realizados 24 horas antes da mudança da dieta e nos dias de administração dos probióticos de cada fase de experimentação. O equipamento utilizado foi o aparelho radiográfico Meditronix<sup>®</sup> BR-200 e as chapas radiográficas Kodak<sup>®</sup> tamanho 24x30cm.

Os animais foram radiografados na projeção laterolateral esquerda. As radiografias foram reveladas, fixadas e interpretadas pelo Serviço de Diagnóstico por Imagem do DMV/UFLA.

Após análise qualitativa realizada pelo Diagnóstico por Imagem em Pequenos Animais, foi dado um escore de gás intestinal de 1 a 3 (pouca, moderada e grande quantidade de gás, respectivamente), adaptado do descrito

em medicina humana por Koide et al. (2000), mas ainda inédito em medicina veterinária.

A análise quantitativa foi realizada com auxílio do programa computacional Image J<sup>®</sup>, disponibilizado pelo Departamento de Engenharia Agrícola da Universidade Federal de Lavras. Para esta análise, todas as radiografias foram fotografadas por uma câmera digital, Sony<sup>®</sup> 7.2 megapixels, para posterior análise.

As radiografias foram fotografadas com câmera digital, demarcando-se a alça intestinal a ser estudada com uma régua graduada em centímetros. As análises se basearam em segmentação da área desejada, por meio de limiares de contraste, *threshold* e análise da área correspondente à porção segmentada e correspondente ao gás intestinal. Os limiares de contraste foram ajustados para cada imagem, que trazia uma referência de tamanho por meio de uma graduação em centímetros (régua).

Os dados provenientes das áreas analisadas pelo *software* foram comparados com as avaliações de um especialista em radiologia, que atribuía um grau de concentração de gás de acordo com uma escala de valores de 1 a 3, relacionados a pouca, moderada e alta quantidade de gás intestinal, respectivamente.

#### **4.7 Delineamento experimental e análises estatísticas**

O delineamento experimental utilizado no experimento foi o inteiramente casualizado, com três tratamentos e seis repetições, totalizando 18 unidades experimentais, para todos os parâmetros avaliados.

Os dados foram previamente testados para normalidade dos resíduos e homogeneidade das variâncias (teste F). Quando essas premissas não eram respeitadas, era realizada a transformação logarítmica. As médias reais ou

transformadas foram avaliadas por meio de análise de variância e a separação de médias pelo teste Tukey e *t* de Student, no PROC MEANS-SAS<sup>®</sup>. As variáveis qualitativas, como o escore fecal e de gás intestinal, foram avaliadas pelo teste de Kruskal-Wallis. Foram demonstrados em gráficos pelo WINDOWS EXCEL<sup>®</sup> alguns dados obtidos.

#### 4.7.1 Modelo estatístico

As fases experimentais foram conduzidas segundo um delineamento inteiramente casualizado com seis repetições. Os tratamentos foram arranjados segundo um esquema de parcela subdividida com os probióticos como tratamento de parcela e as datas avaliadas na subparcela. O modelo estatístico que descreve os dados é o que se segue:

$$y_{jik} = \mu + p_i + e_{ik} + d_j + pd_{ij} + \varepsilon_{ijk}, \text{ em que:}$$

$y_{jik}$  é o valor da variável dependente que recebeu o *i*-ésimo probiótico na *k*-ésima repetição e *j*-ésimo dia de avaliação, com  $k = 1, \dots, 6$ ;

$\mu$  é uma constante associada a cada observação;

$p_i$  é o efeito do *i*-ésimo probiótico, com  $i = 1, 2, 3$ ;

$e_{ik}$  é o erro experimental associado à parcela, normalmente distribuído com média zero e variância comum, considerado *erro a* da análise de variância;

$d_j$  é o efeito do *j*-ésimo dia de avaliação, com  $j = 1, 2$ ;

$pd_{ij}$  é o efeito da interação entre o *i*-ésimo probiótico com o *j*-ésimo dia de avaliação;

$\varepsilon_{ijk}$  é o erro experimental associado à subparcela, normalmente distribuído com média zero e variância comum, considerado *erro b* da análise de variância.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Digestibilidade e escore fecal

A composição das dietas para energia bruta, matéria seca e proteína bruta, bem como as médias referentes aos coeficientes de digestibilidade da matéria seca (CDMS) e da proteína bruta (CDPB) para as Fases 1 e 2 do experimento estão demonstradas a seguir nas Tabelas 4, 5 e 6.

Tabela 4: Resultados das análises das rações *Super Premium* e *Standard* utilizadas no experimento.

Níveis Nutricionais	Ração <i>Super Premium</i>	Ração <i>Standard</i>
Matéria Seca (%)	92,12	91,8
Energia Bruta	3.874	4.730
Proteína Bruta (%)	33,7	27

Tabela 5 – Valores médios de coeficientes de digestibilidade da matéria seca (CDMS) e proteína bruta (CDPB), caracterizada pela troca de uma dieta *Super Premium* para uma dieta comercial *Standard*, para filhotes de cães Beagle, segundo o tipo de tratamento na Fase 1.

Tratamentos	Médias	
	CDMS	CDPB
<b>Controle</b>	76,97 ( $\pm 3,16$ )	74,36 ( $\pm 4,77$ )
<b>Probiótico 1</b>	80,57 ( $\pm 4,70$ )	78,33 ( $\pm 6,72$ )
<b>Probiótico 2</b>	77,78 ( $\pm 1,57$ )	73,83 ( $\pm 3,52$ )
<b>CV (%)</b>	4,33	6,86

(): desvio-padrão

médias seguidas de letras maiúscula distintas, na coluna, diferem pelo teste Tukey em nível nominal de significância de 5%.

probiótico 1: *Bifidobacterium*;

probiótico 2: *Lactobacillus*.

A suplementação com probióticos não alterou ( $P > 0,05$ ) os coeficientes de digestibilidade da MS e PB, na Fase 1 (Tabela 5). Estes dados contrariam Hesta et al. (2003) que observaram uma diminuição desses parâmetros e Swanson et al.

(2002a) que encontraram que a administração de *Lactobacillus acidophilus* aumentou a digestibilidade da matéria seca e da proteína bruta.

A troca da ração de *Standard* para *Super Premium* (Fase 2) também não levou a diferenças significativas ( $P>0,05$ ) nos dados de matéria seca e proteína, mas isso não pode ser comparado com o uso de probiótico e sim com a melhoria da alimentação (qualidade de ingredientes), pois alguns autores citam a diminuição destes dados com o uso de probióticos (Marcinakova et al., 2006). Sugere-se a realização de novos experimentos para avaliar melhor as características morfofisiológicas das alças intestinais e sua associação com a celularidade, de forma a esclarecer alguns resultados.

Tabela 6 - Valores médios de coeficientes de digestibilidade da matéria seca (CDMS) e proteína bruta (CDPB), caracterizados pela troca de uma dieta comercial *Standard* para uma dieta *Super Premium*, para filhotes de cães Beagle, segundo o tipo de tratamento na Fase 2.

Tratamentos	Médias	
	CDMS	CDPB
<b>Controle</b>	83,92 ( $\pm 3,85$ )	87,88 ( $\pm 2,68$ )
<b>Probiótico 1</b>	82,35 ( $\pm 2,79$ )	85,64 ( $\pm 1,87$ )
<b>Probiótico 2</b>	82,62 ( $\pm 1,79$ )	84,91 ( $\pm 3,29$ )
<b>CV (%)</b>	3,53	3,11

(): desvio-padrão

médias seguidas de letras maiúscula distintas, na coluna, diferem pelo teste Tukey em nível nominal de significância de 5%.

probiótico 1: *Bifidobacterium*;

probiótico 2: *Lactobacillus*.

As médias dos coeficientes de digestibilidade e de metabolicidade da energia bruta para as Fases experimentais 1 e 2 estão apresentadas nas Tabelas 7 e 8.

Tabela 7 - Valores médios de coeficientes de digestibilidade da energia bruta (CDEB) e coeficiente metabolizável da energia bruta (CMEB), caracterizados pela troca de uma dieta *Super Premium* para uma dieta comercial *Standard*, para filhotes de cães Beagle, segundo o tipo de tratamento na Fase 1.

Tratamentos	Médias	
	CDEB	CMEB
<b>Controle</b>	82,06 ( $\pm$ 2,45)	77,21 ( $\pm$ 2,09)B
<b>Probiótico 1</b>	84,72 ( $\pm$ 3,98)	77,64 ( $\pm$ 3,45)B
<b>Probiótico 2</b>	82,06 ( $\pm$ 1,40)	80,73 ( $\pm$ 1,30)A
<b>CV (%)</b>	3,40	3,18

(): desvio-padrão

médias seguidas de letras maiúscula distintas, na coluna, diferem pelo teste Tukey em nível nominal de significância de 5%.

probiótico 1: *Bifidobacterium*;

probiótico 2: *Lactobacillus*.

Verificando a Tabela 7, notou-se que os valores médios de coeficiente de metabolicidade da energia bruta (CMEB) na Fase 1, caracterizada pela troca de dieta *Super Premium* para a *Standard*, apresentaram resultados significativos, ou seja, a utilização do probiótico 2 obteve melhores resultados que os outros tratamentos, sugerindo-se que a utilização deste seja mais efetiva para a digestibilidade. Isto indica que entre as bactérias benéficas, os *Lactobacillus* são os microrganismos mais efetivos na digestibilidade de nutrientes, neste experimento. Como não foram encontradas diferenças significativas para os coeficientes de digestibilidade da energia bruta, os resultados sugerem que os *Lactobacillus* podem ter auxiliado na diminuição da excreção de nitrogênio pela urina, aumentando assim o coeficiente de metabolicidade da energia bruta. Isto foi anteriormente proposto por Korniewicz (1992), apud Correa (2002) ao encontrar resultados semelhantes do uso de probióticos em leitões. Esse efeito foi observado na fase de troca de uma ração de maior para uma de menor qualidade de ingredientes, tendo um efeito quando o valor biológico da proteína é diminuído e a utilização de proteína como fonte energética e geração de catabólitos é maior. A melhora no coeficiente de metabolicidade, com a ausência

de resultados no coeficiente de digestibilidade de energia, reforça o papel dos probióticos na conservação do nitrogênio, já que cerca de 40% deste elemento é excretado na urina (Marcato & Lima, 2005). Essa melhor utilização do nitrogênio poderia ser resultado da hidrólise bacteriana com aumento da biodisponibilidade de aminoácidos livres (Saad, 2006) ou então pela produção de ácido butírico que serve como fonte de energia para colonócitos (cerca de 70% do consumo energético dessas células), economizando o uso de aminoácidos pelas células intestinais (Scheppach, 1994).

Tabela 8 - Valores médios de coeficientes de digestibilidade da energia bruta (CDEB) e coeficiente metabolizável da energia bruta (CMEB), caracterizados pela troca de uma dieta comercial *Standard* para uma dieta *Super Premium*, para filhotes de cães Beagle, segundo o tipo de tratamento na Fase 2.

Tratamentos	Médias	
	CDEB	CMEB
<b>Controle</b>	89,38 ( $\pm 1,91$ )	82,18 ( $\pm 1,71$ )
<b>Probiótico 1</b>	88,30 ( $\pm 1,62$ )	81,28 ( $\pm 1,55$ )
<b>Probiótico 2</b>	88,65 ( $\pm 1,62$ )	81,70 ( $\pm 1,46$ )
<b>CV (%)</b>	1,94	1,93

(): desvio-padrão

médias seguidas de letras maiúscula distintas, na coluna, diferem pelo teste Tukey em nível nominal de significância de 5%.

probiótico 1: *Bifidobacterium*;

probiótico 2: *Lactobacillus*.

Ao contrário do ocorrido na Fase 1, não foram observadas diferenças ( $P > 0,05$ ) na segunda Fase com a substituição de ração *Standard* para *Super Premium*. Possivelmente, esses resultados foram devido à alta qualidade e ao melhor perfil aminoacídico da ração *Super Premium*. Este melhor perfil de aminoácidos, possivelmente, incrementou o valor biológico da proteína dietética, diminuindo a excreção de nitrogênio urinário.

Os dados deste experimento contrastam com os obtidos por Biourgue (1998) que ao utilizarem *Lactobacillus* para cães não obtiveram resultados positivos sobre o coeficiente de metabolicidade da energia.

Para determinar se a melhora na utilização do nitrogênio, que possivelmente acarretou em maior coeficiente de metabolicidade da energia, é uma ação direta da ação bacteriana ou de melhor aproveitamento no intestino delgado poderiam ser realizadas avaliações da digestibilidade ileal. No entanto, tal procedimento além de ser contra os princípios dos comitês de ética e bem estar animal no que se refere à experimentação com animais de companhia, também apresenta complicações comuns à espécie, como infecção da ferida cirúrgica, rotação da cânula, peritonite e enterite, o que limita sua realização (Vasconcellos, 2005).

Os valores médios para energia digestível e energia metabolizável na matéria natural e na matéria seca em ambas as fases do experimento estão apresentados nas Tabelas 9,10,11 e 12.

Tabela 9 - Valores médios de energia digestível, em Kcal/Kg, da ração com base na matéria natural (EDMN) e seca (EDMS), caracterizados pela troca de uma dieta *Super Premium* para uma dieta comercial *Standard*, para filhotes de cães Beagle, segundo o tipo de tratamento na Fase 1.

Tratamentos	Médias	
	EDMN	EDMS
<b>Controle</b>	3.436,3 (±102,7)	3743,2 (±111,9)
<b>Probiótico 1</b>	3.547,5 (±166,5)	3864,4 (±181,4)
<b>Probiótico 2</b>	3.436,2 (±58,6)	3743,2 (±63,9)
<b>CV (%)</b>	3,39	3,39

(): desvio-padrão

médias seguidas de letras maiúscula distintas, na coluna, diferem pelo teste Tukey em nível nominal de significância de 5%.

probiótico 1: *Bifidobacterium*;

probiótico 2: *Lactobacillus*.

Tabela 10- Valores médios de energia digestível, em Kcal/Kg, da ração com base na matéria natural (EDMN) e seca (EDMS), caracterizados pela troca de uma dieta comercial *Standard* para uma dieta *Super Premium*, para filhotes de cães Beagle, segundo o tipo de tratamento na Fase 2.

Tratamentos	Médias	
	EDMN	EDMS
<b>Controle</b>	4588,2 (±97,9)	4980,7 (±106,3)
<b>Probiótico 1</b>	4532,7 (±83,3)	4920,4 (±90,4)
<b>Probiótico 2</b>	4551,0 (±83,3)	4940,3 (±90,4)
<b>CV (%)</b>	1,94	1,94

(): desvio-padrão

médias seguidas de letras maiúscula distintas, na coluna, diferem pelo teste Tukey em nível nominal de significância de 5%.

probiótico 1: *Bifidobacterium*;

probiótico 2: *Lactobacillus*.

Tabela 11 - Valores médios de energia metabolizável, em Kcal/kg, da ração com base na matéria natural (EMMN) e seca (EMMS), caracterizados pela troca de uma dieta *Super Premium* para uma dieta comercial *Standard*, para filhotes de cães Beagle, segundo o tipo de tratamento na Fase 1.

Tratamentos	Médias	
	EMMN	EMMS
<b>Controle</b>	3.185,3 (±87,5)	3.469,9 (±95,3)
<b>Probiótico 1</b>	3.283,1 (±144,3)	3.576,4 (±157,2)
<b>Probiótico 2</b>	3.187,1 (±54,3)	3.471,8 (±59,1)
<b>CV (%)</b>	3,18	3,18

(): desvio-padrão

médias seguidas de letras maiúscula distintas, na coluna, diferem pelo teste Tukey em nível nominal de significância de 5%.

probiótico 1: *Bifidobacterium*;

probiótico 2: *Lactobacillus*.

Os resultados demonstram que o uso do probiótico não foi significativo ( $P>0,05$ ), ou seja, houve semelhança na digestibilidade independentemente de seu uso ou de seu tipo o que contraria as citações de Hesta et al. (2003), National Research Council (2006) e Marcinakova et al. (2006). Estes autores comentam que poderia haver uma diminuição da digestibilidade e da disponibilização de nutrientes com o uso de probióticos, devido à produção excessiva de metabólitos por parte das bactérias que poderiam ter uma ação irritativa sobre a mucosa do

cólon. No entanto, em concentrações moderadas, poderiam trazer efeitos benéficos (Soares, 1996 apud Correa, 2002). Swanson et al. (2002a) citam que os *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são produtores de lactato e butirato. Estes metabólitos podem ser convertidos em energia na cadeia metabólica, corroborando desta forma os dados expostos nas tabelas. Estes mesmos autores relatam o aumento no crescimento e na conversão alimentar em suínos suplementados com probióticos, o que não foi relatado em animais de companhia, inclusive no presente estudo.

Tabela 12 - Valores médios de energia metabolizável, em Kcal/Kg, da ração com base na matéria natural (EMMN) e seca (EMMS), caracterizados pela troca de uma dieta comercial *Standard* para uma dieta *Super Premium*, para filhotes de cães Beagle, segundo o tipo de tratamento na Fase 2.

Tratamentos	Médias	
	EMMN	EMMS
<b>Controle</b>	4218,6 (±87,6)	4579,4 (±95,1)
<b>Probiótico 1</b>	4172,5 (±79,6)	4529,4 (±86,5)
<b>Probiótico 2</b>	4193,8 (±75,0)	4552,6 (±81,4)
<b>CV (%)</b>	1,93	1,93

(): desvio-padrão

médias seguidas de letras maiúscula distintas, na coluna, diferem pelo teste Tukey em nível nominal de significância de 5%.

probiótico 1: *Bifidobacterium*;

probiótico 2: *Lactobacillus*.

Com relação ao escore fecal os escores médios estão apresentados nas Tabelas 13 e 14.

Tabela 13 – Valores do escore fecal verificados, na Fase 1 do experimento caracterizada pela troca de uma dieta *Super Premium* para uma dieta comercial *Standard*, para filhotes de cães Beagle.

Escore	Fase 1		
	Controle	Probiótico 1	Probiótico 2
1	0	0	0
2	2	2	0
3	38	40	42
4	1	0	0
5	1	0	0
<b>Total</b>	42	42	42

teste estatístico de Kruskal-Wallis em nível nominal de significância de 5%;

probiótico 1: *Bifidobacterium*;

probiótico 2: *Lactobacillus*;

escore das fezes de acordo com Veronesi (2003).

A maioria dos escores fecais encontram-se concentrados na classificação 3, que significa fezes macias, úmidas e com formato preservado, segundo Veronesi (2003) (Figura 6).

Tabela 14 – Valores do escore fecal verificados, na Fase 2 do experimento caracterizada pela troca de uma dieta comercial *Standard* para uma dieta *Super Premium*, para filhotes de cães Beagle.

Escore	Fase 2		
	Controle	Probiótico 1	Probiótico 2
1	0	0	0
2	25	25	23
3	12	8	10
4	1	7	9
5	4	2	0
<b>Total</b>	42	42	42

teste estatístico de Kruskal-Wallis em nível nominal de significância de 5%;

probiótico 1: *Bifidobacterium*;

probiótico 2: *Lactobacillus*;

escore das fezes de acordo com Veronesi (2003).

Na Fase 2, grande parte dos escores fecais encontram-se distribuídos na classificação 2 (Figura 6), diferente do encontrado na Fase 1, onde a maioria concentrava-se no escore 3. Pode-se conjecturar que o aumento da qualidade do alimento foi o responsável por incrementar o escore fecal obtido nesta Fase.

Não houve diferenças significativas para o escore fecal, o que não corrobora com Veronesi (2003) que relata que os probióticos melhoram a digestibilidade dos nutrientes mantendo um escore fecal condizente a este nível de digestibilidade. No entanto, corroboram com Swanson et al. (2002a) que observaram as mesmas características de escore fecal com a utilização de probióticos. No presente estudo, a não observação de efeito na digestibilidade dos nutrientes refletiu no escore fecal. De qualquer forma, é importante ressaltar que os escores na Fase 2 na troca do alimento de menor para o de melhor qualidade e em que a digestibilidade de nutrientes e energia foram maiores, foram melhores do que os apresentados na Fase 1. Isto nos sugere que a utilização de probióticos pode apresentar um efeito benéfico quando se trabalha com dietas padrão.



Figura 6: Escores das fezes de filhotes de cães Beagle: A) escore fecal 5; B) escore fecal 4; C) escore fecal 3 e D) escore fecal 2.

## 5.2 Microbiologia e pH fecais

As análises da água e das dietas dadas aos animais durante o período experimental não apresentaram alterações microbiológicas, ou seja, não verificou-se o crescimento de coliformes totais ou termotolerantes nas amostras analisadas.

Os valores médios do número de *E.coli*, *Clostridium perfringens*, *Bifidobacterium* sp. e *Lactobacillus* sp. nas fezes, nas Fases 1 e 2 do experimento, caracterizadas pela troca de uma dieta *Super Premium* para uma

dieta *Standard* e de uma dieta *Standard* para uma dieta *Super Premium*, respectivamente, encontram-se delineados nas Tabelas 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 e 22. Foi usado um nível nominal de significância de 5% e valores logarítmicos de contagem das colônias, usados em microbiologia.

Tabela 15 – Valores médios de crescimento de colônias de *E.coli* (log NMP/g) verificadas na microbiota fecal, caracterizados pela troca de uma dieta *Super Premium* para uma dieta comercial *Standard*, para filhotes de cães Beagle, na Fase 1 do experimento.

Datas	Tratamentos			Médias
	Controle	Probiótico 1	Probiótico 2	
<b>Dia 1</b>	5,49 ( $\pm 0,79$ )	5,85 ( $\pm 1,35$ )	6,24 ( $\pm 0,52$ )	5,58 ( $\pm 0,95$ )
<b>Dia 3</b>	7,22 ( $\pm 1,62$ ) a	5,14 ( $\pm 0,32$ )b	5,86 ( $\pm 0,56$ )ab	5,98 ( $\pm 1,15$ )
<b>Médias</b>	6,35 ( $\pm 1,47$ )	5,05 ( $\pm 0,98$ )	5,49 ( $\pm 0,56$ )	-
<b>CV (%)</b>	13,99			

(): desvio-padrão

médias seguidas de letras maiúscula distintas na coluna e minúsculas distintas na linha diferem pelo teste t Student em nível nominal de significância de 5%.

probiótico 1: *Bifidobacterium*;

probiótico 2: *Lactobacillus*;

datas: primeira (1) e última (3) data de aplicação do probiótico.

Tabela 16 - Valores médios de crescimento de colônias de *E.coli* (log NMP/g) verificadas na microbiota fecal, caracterizados pela troca de uma dieta comercial *Standard* para uma dieta *Super Premium*, para filhotes de cães Beagle, na Fase 2 do experimento.

Datas	Tratamentos			Médias
	Controle	Probiótico 1	Probiótico 2	
<b>Dia 1</b>	6,46 ( $\pm 1,08$ )	4,76 ( $\pm 1,29$ )	5,01 ( $\pm 0,91$ )	5,41 ( $\pm 1,29$ )
<b>Dia 3</b>	6,20 ( $\pm 0,78$ )	4,81 ( $\pm 0,50$ )	5,79 ( $\pm 0,78$ )	5,60 ( $\pm 0,89$ )
<b>Médias</b>	6,33 ( $\pm 0,91$ )a	4,78 ( $\pm 0,93$ )b	5,40 ( $\pm 0,90$ )ab	-
<b>CV (%)</b>	16,67			

(): desvio-padrão

médias seguidas de letras maiúscula distintas na coluna e minúsculas distintas na linha diferem pelo teste t Student em nível nominal de significância de 5%.

probiótico 1: *Bifidobacterium*;

probiótico 2: *Lactobacillus*;

datas: primeira (1) e última (3) data de aplicação do probiótico.

Os valores médios de crescimento de *E. coli* nas Fases 1 e 2 do experimento, caracterizadas pelas trocas de dietas, demonstraram que as médias não diferem entre os tratamentos na data 1, mas que na data 3 há uma diferença significativa entre os resultados obtidos dos tratamentos com relação ao controle, sendo observada diminuição do número médio de *E. coli*, nos tratamentos com probióticos. No entanto, por se tratar de um microrganismos importantes para a segurança e saúde alimentar, os microbiologistas consideram que variações mínimas nos dados microbiológicos, transformados em logaritmos, devem ser considerados significativos até um nível seguro de aproximadamente 80%, assim seria encontrada significância na Fase 1 até 21,74% e na Fase 2 em 0,33% (vide Tabelas IX e X em ANEXO).

Tabela 17 - Valores médios de crescimento de colônias de *Clostridium* (log UFC/g) verificadas na microbiota fecal, caracterizados pela troca de uma dieta *Super Premium* para uma dieta comercial *Standard*, para filhotes de cães Beagle, na Fase 1 do experimento.

Datas	Tratamentos			Médias
	Controle	Probiótico 1	Probiótico 2	
<b>Dia 1</b>	3,79 ( $\pm 1,65$ )	3,56 ( $\pm 0,92$ )	5,21 ( $\pm 1,03$ )	4,19 ( $\pm 1,39$ )
<b>Dia 3</b>	5,15 ( $\pm 0,83$ )	4,37 ( $\pm 1,30$ )	4,25 ( $\pm 0,50$ )	4,59 ( $\pm 1,03$ )
<b>Médias</b>	4,47 ( $\pm 1,54$ )	3,97 ( $\pm 0,88$ )	4,73 ( $\pm 1,19$ )	-
<b>CV (%)</b>	27,58			

(): desvio-padrão

médias seguidas de letras maiúscula distintas na coluna e minúsculas distintas na linha diferem pelo teste t Student em nível nominal de significância de 5%.

probiótico 1: *Bifidobacterium*;

probiótico 2: *Lactobacillus*;

datas: primeira (1) e última (3) data de aplicação do probiótico.

Tabela 18 - Valores médios de crescimento de colônias de *Clostridium* (log UFC/g) verificadas na microbiota fecal, caracterizados pela troca de uma dieta comercial *Standard* para uma dieta *Super Premium*, para filhotes de cães Beagle, na Fase 2 do experimento.

Datas	Tratamentos			Médias
	Controle	Probiótico 1	Probiótico 2	
<b>Dia 1</b>	4,68 ( $\pm 1,11$ )	3,87 ( $\pm 1,35$ )	3,71 ( $\pm 1,19$ )	4,09 ( $\pm 1,23$ )
<b>Dia 3</b>	4,49 ( $\pm 0,65$ )	3,49 ( $\pm 0,30$ )	4,24 ( $\pm 1,22$ )	4,07 ( $\pm 0,89$ )
<b>Médias</b>	4,59 ( $\pm 0,87$ )	3,68 ( $\pm 0,96$ )	3,97 ( $\pm 1,18$ )	
<b>CV (%)</b>	19,32			

(): desvio-padrão

médias seguidas de letras maiúscula distintas na coluna e minúsculas distintas na linha diferem pelo teste t Student em nível nominal de significância de 5%.

probiótico 1: *Bifidobacterium*;

probiótico 2: *Lactobacillus*;

datas: primeira (1) e última (3) data de aplicação do probiótico.

Em relação ao crescimento de colônias de bactérias *Clostridium perfringens*, não foi possível observar diferença na tabela de médias entre os valores dos tratamentos e controle nas Fases 1 e 2 do experimento. Entretanto, por se tratar de um microrganismo importante para a segurança e saúde alimentar, os microbiologistas consideram que variações mínimas nos dados microbiológicos, transformados em logaritmos, devem ser considerados

significativos até um nível seguro de aproximadamente 80%, assim seria encontrada significância na Fase 1 até 19,8% e na Fase 2 até 22,17% (vide Tabelas XI e XII em ANEXO).

Tabela 19 - Valores médios de crescimento de colônias de *Lactobacillus* (log UFC/g) verificadas na microbiota fecal, caracterizados pela troca de uma dieta *Super Premium* para uma dieta comercial *Standard*, para filhotes de cães Beagle, na Fase 1 do experimento.

Datas	Tratamentos			Médias
	Controle	Probiótico 1	Probiótico 2	
<b>Dia 1</b>	8,05 ( $\pm 1,13$ )	8,02 ( $\pm 0,90$ )	8,10 ( $\pm 1,69$ )	8,06 ( $\pm 1,21$ )B
<b>Dia 3</b>	9,92 ( $\pm 0,61$ )	9,29 ( $\pm 0,20$ )	9,70 ( $\pm 1,08$ )	9,64 ( $\pm 0,72$ )A
<b>Médias</b>	8,98 ( $\pm 1,31$ )	8,66 ( $\pm 1,00$ )	8,90 ( $\pm 1,59$ )	
<b>CV (%)</b>	10,04			

(): desvio-padrão

médias seguidas de letras maiúscula distintas na coluna e minúsculas distintas na linha diferem pelo teste t Student em nível nominal de significância de 5%.

probiótico 1: *Bifidobacterium*;

probiótico 2: *Lactobacillus*;

datas: primeira (1) e última (3) data de aplicação do probiótico.

Tabela 20 - Valores médios de crescimento de colônias de *Lactobacillus* (log UFC/g) verificadas na microbiota fecal, caracterizados pela troca de uma dieta comercial *Standard* para uma dieta *Super Premium*, para filhotes de cães Beagle, na Fase 2 do experimento.

Datas	Tratamentos			Médias
	Controle	Probiótico 1	Probiótico 2	
<b>Dia 1</b>	9,88 ( $\pm 0,75$ )	9,79 ( $\pm 1,38$ )	9,80 ( $\pm 0,70$ )	9,82 ( $\pm 0,93$ )A
<b>Dia 3</b>	8,84 ( $\pm 1,27$ )	8,39 ( $\pm 1,09$ )	8,68 ( $\pm 1,07$ )	8,64 ( $\pm 1,10$ )B
<b>Médias</b>	9,36 ( $\pm 1,13$ )	9,09 ( $\pm 1,40$ )	9,24 ( $\pm 1,04$ )	
<b>CV (%)</b>	13,66			

(): desvio-padrão

médias seguidas de letras maiúscula distintas na coluna e minúsculas distintas na linha diferem pelo teste t Student em nível nominal de significância de 5%.

probiótico 1: *Bifidobacterium*;

probiótico 2: *Lactobacillus*;

datas: primeira (1) e última (3) data de aplicação do probiótico.

Foi possível verificar aumento nos valores médios de crescimento de *Lactobacillus* na Fase 1 do experimento, em relação à data. Verificou-se também que houve aumento nos valores médios de crescimento de *Bifidobacterium* na

Fase 1 do experimento, em relação à data. Entretanto, por se tratar de microrganismos importantes para a segurança e saúde alimentar, os microbiologistas consideram que variações mínimas nos dados microbiológicos, transformados em logaritmos, devem ser considerados significativos até um nível seguro de aproximadamente 80%, assim seria encontrada significância na Fase 1 até 80,99% e na Fase 2 até 74,56% para os *Lactobacillus* (vide Tabelas XIII e XIV em ANEXO). Para *Bifidobacterium* na Fase 1 até 78,01% e na Fase 2 até 10,10% (vide Tabelas XV e XVI em ANEXO).

Estes resultados confirmam os achados de Borges et al. (2003), que correlacionam o efeito da acidez intestinal (aumento da produção de ácido láctico) com aumento do número total de microrganismos intestinais; entretanto este incremento funciona de forma seletiva. As bactérias benéficas, como *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, são resistentes (aumento de colônias) ao meio ácido, enquanto que as bactérias prejudiciais são sensíveis (diminuição de colônias), como o *Clostridium* e *E. coli*.

Tabela 21 - Valores médios de crescimento de colônias de *Bifidobacterium* (log UFC/g) verificadas na microbiota fecal, caracterizados pela troca de uma dieta *Super Premium* para uma dieta comercial *Standard*, para filhotes de cães Beagle, na Fase 1 do experimento.

Datas	Tratamentos			Médias
	Controle	Probiótico 1	Probiótico 2	
<b>Dia 1</b>	8,63 (±1,13)	8,75 (±1,93)	9,00 (±0,93)	8,79 (±1,32)
<b>Dia 3</b>	9,68 (±0,45)	9,17 (±0,23)	9,59 (±0,46)	9,48 (±0,38)
<b>Médias</b>	9,16 (±0,98)	8,96 (±1,45)	9,29 (±0,76)	-
<b>CV (%)</b>	10,69			

(): desvio-padrão

médias seguidas de letras maiúscula distintas na coluna e minúsculas distintas na linha diferem pelo teste t Student em nível nominal de significância de 5%.

probiótico 1: *Bifidobacterium*;

probiótico 2: *Lactobacillus*;

datas: primeira (1) e última (3) data de aplicação do probiótico.

Tabela 22 - Valores médios de crescimento de colônias de *Bifidobacterium* (log UFC/g) verificadas na microbiota fecal, caracterizados pela troca de uma dieta comercial *Standard* para uma dieta *Super Premium*, para filhotes de cães Beagle, na Fase 2 do experimento.

Datas	Tratamentos			Médias
	Controle	Probiótico 1	Probiótico 2	
<b>Dia 1</b>	9,37 ( $\pm 1,00$ )	8,84 ( $\pm 0,42$ )	9,54 ( $\pm 0,54$ )	9,25 ( $\pm 0,72$ )A
<b>Dia 3</b>	8,31 ( $\pm 1,16$ )	8,02 ( $\pm 0,78$ )	8,71 ( $\pm 0,95$ )	8,34 ( $\pm 0,96$ )B
<b>Médias</b>	8,84 ( $\pm 1,17$ )	8,43 ( $\pm 0,74$ )	9,12 ( $\pm 0,85$ )	-
<b>CV (%)</b>	10,78			

(): desvio-padrão

médias seguidas de letras maiúscula distintas na coluna e minúsculas distintas na linha diferem pelo teste t Student em nível nominal de significância de 25%.

probiótico 1: *Bifidobacterium*;

probiótico 2: *Lactobacillus*;

datas: primeira (1) e última (3) data de aplicação do probiótico.

Dessa forma, com a administração dos probióticos, foi possível observar crescimento de espécies benéficas em detrimento às potencialmente patogênicas.

Os valores médios de pH das fezes nas Fases 1 e 2 do experimento, caracterizadas pelas trocas de dietas encontram-se a seguir nas Tabelas 23 e 24.

Tabela 23 - Valores médios de pH fecais, caracterizados pela troca de uma dieta *Super Premium* para uma dieta comercial *Standard*, para filhotes de cães Beagle, na Fase 1 do experimento.

Datas	Tratamentos			Médias
	Controle	Probiótico 1	Probiótico 2	
<b>Dia 1</b>	5,70 ( $\pm 0,25$ )	5,67 ( $\pm 0,24$ )	5,68 ( $\pm 0,15$ )	5,68 ( $\pm 0,20$ )A
<b>Dia 3</b>	5,31 ( $\pm 0,33$ )	5,50 ( $\pm 0,12$ )	5,52 ( $\pm 0,44$ )	5,44 ( $\pm 0,32$ )B
<b>Médias</b>	5,51 ( $\pm 0,34$ )	5,58 ( $\pm 0,20$ )	5,60 ( $\pm 0,32$ )	-
<b>CV (%)</b>	5,21			

(): desvio-padrão

médias seguidas de letras maiúscula distintas na coluna e minúsculas distintas na linha diferem pelo teste t Student em nível nominal de significância de 5%.

probiótico 1: *Bifidobacterium*;

probiótico 2: *Lactobacillus*.

datas: primeira (1) e última (3) data de aplicação do probiótico.

Tabela 24 - Valores médios de pH fecais, caracterizados pela troca de uma dieta comercial *Standard* para uma dieta *Super Premium*, para filhotes de cães Beagle, na Fase 2 do experimento.

Datas	Tratamentos			Médias
	Controle	Probiótico 1	Probiótico 2	
<b>Dia 1</b>	5,80 ( $\pm 0,30$ )Aa	5,77 ( $\pm 0,32$ )Aa	5,71 ( $\pm 0,26$ )Aa	5,76 ( $\pm 0,28$ )
<b>Dia 3</b>	5,44 ( $\pm 0,12$ )Bb	5,90 ( $\pm 0,32$ )Aa	6,13 ( $\pm 0,39$ )Ba	5,82 ( $\pm 0,41$ )
<b>Médias</b>	5,62 ( $\pm 0,29$ )	5,83 ( $\pm 0,31$ )	5,92 ( $\pm 0,39$ )	-
<b>CV (%)</b>	4,20			

(): desvio-padrão

médias seguidas de letras maiúscula distintas na coluna e minúsculas distintas na linha diferem pelo teste t Student em nível nominal de significância de 5%.

probiótico 1: *Bifidobacterium*;

probiótico 2: *Lactobacillus*.

datas: primeira (1) e última (3) data de aplicação do probiótico.

Analisando os dados das Tabelas 23 e 24, foi possível verificar que houve diminuição média no pH fecal na Fase 1, em relação à data, caracterizando a ação das bactérias produtoras de ácido lático, benéficas.

Os valores de pH na Fase 2, caracterizada pela troca de uma dieta comercial *Standard*, demonstraram que as médias não diferem entre os tratamentos na data 1, mas na data 3 há uma diferença significativa entre os resultados obtidos dos tratamentos e do controle. Nota-se que houve aumento do pH fecal dos tratamentos em relação ao controle, provavelmente devido à estabilização da microbiota intestinal.

De acordo com Mentula (2005), o pH fecal canino situa-se, geralmente, em torno de 6,2. Aumento na produção de ácido lático diminui o pH luminal, sendo importante característica antimicrobiana para várias espécies patogênicas (Swanson et al., 2002a). Essa alteração pode ser observada na Fase 1. Na Fase 2, não foi verificada essa alteração, contrariando a citação da literatura.

### 5.3 Análises hematológicas

Os valores médios de globulina, proteína total e albumina nas Fases 1 e 2, estão dispostos nas Tabelas 25, 26, 27, 28, 29 e 30.

Tabela 25 - Valores séricos médios de globulina, em g/dL, caracterizados pela troca de uma dieta *Super Premium* para uma dieta comercial *Standard*, para filhotes de cães Beagle, na Fase 1 do experimento.

Datas	Tratamentos			Médias
	Controle	Probiótico 1	Probiótico 2	
<b>Dia 1</b>	2,80 ( $\pm 0,42$ )	2,50 ( $\pm 0,23$ )	2,55 ( $\pm 0,10$ )	2,61 ( $\pm 0,30$ )
<b>Dia 3</b>	2,83 ( $\pm 0,49$ )	2,65 ( $\pm 0,22$ )	2,50 ( $\pm 0,21$ )	2,66 ( $\pm 0,34$ )
<b>Médias</b>	2,81 ( $\pm 0,44$ )	2,57 ( $\pm 0,23$ )	2,52 ( $\pm 0,16$ )	-
<b>CV (%)</b>	5,80			

(): desvio-padrão

médias seguidas de letras maiúscula distintas na coluna e minúsculas distintas na linha diferem pelo teste t Student em nível nominal de significância de 5%.

probiótico 1: *Bifidobacterium*;

probiótico 2: *Lactobacillus*.

datas: primeira (1) e última (3) data de aplicação do probiótico.

Tabela 26 -Valores séricos médios de globulina, em g/dL, caracterizados pela troca de uma dieta comercial *Standard* para uma dieta *Super Premium*, para filhotes de cães Beagle, na Fase 2 do experimento.

Datas	Tratamentos			Médias
	Controle	Probiótico 1	Probiótico 2	
<b>Dia 1</b>	3,16 ( $\pm 0,58$ )	2,95 ( $\pm 0,27$ )	2,70 ( $\pm 0,33$ )	2,93 ( $\pm 0,44$ )B
<b>Dia 3</b>	3,58 ( $\pm 0,52$ )	3,31 ( $\pm 0,34$ )	3,13 ( $\pm 0,20$ )	3,34 ( $\pm 0,40$ )A
<b>Médias</b>	3,37 ( $\pm 0,57$ )	3,13 ( $\pm 0,35$ )	2,91 ( $\pm 0,35$ )	-
<b>CV (%)</b>	8,41			

(): desvio-padrão

médias seguidas de letras maiúscula distintas na coluna e minúsculas distintas na linha diferem pelo teste t Student em nível nominal de significância de 5%.

probiótico 1: *Bifidobacterium*;

probiótico 2: *Lactobacillus*.

datas: primeira (1) e última (3) data de aplicação do probiótico.

Tabela 27 - Valores séricos médios de proteína total, em g/dL, caracterizados pela troca de uma dieta *Super Premium* para uma dieta comercial *Standard*, para filhotes de cães Beagle, na Fase 1 do experimento.

Datas	Tratamentos			Médias
	Controle	Probiótico 1	Probiótico 2	
<b>Dia 1</b>	5,68 (±0,48)	5,33 (±0,21)	5,21 (±0,28)	5,41 (±0,38)
<b>Dia 3</b>	5,55 (±0,56)	5,61 (±0,29)	5,28 (±0,43)	5,48 (±0,44)
<b>Médias</b>	5,61 (±0,50)	5,47 (±0,37)	5,25 (±0,24)	-
<b>CV (%)</b>	4,59			

(): desvio-padrão

médias seguidas de letras maiúscula distintas na coluna e minúsculas distintas na linha diferem pelo teste t Student em nível nominal de significância de 5%.

probiótico 1: *Bifidobacterium*;

probiótico 2: *Lactobacillus*.

datas: primeira (1) e última (3) data de aplicação do probiótico.

Tabela 28 - Valores séricos médios de proteína total, em g/dL, caracterizados pela troca de uma dieta comercial *Standard* para uma dieta *Super Premium*, para filhotes de cães Beagle, na Fase 2 do experimento.

Datas	Tratamentos			Médias
	Controle	Probiótico 1	Probiótico 2	
<b>Dia 1</b>	5,95 (±0,77)	5,96 (±0,37)	5,46 (±0,29)	5,79 (±0,54)B
<b>Dia 3</b>	6,50 (±0,66)	6,45 (±0,49)	6,10 (±0,27)	6,35 (±0,50)A
<b>Médias</b>	6,22 (±0,74)	6,20 (±0,49)	5,78 (±0,42)	-
<b>CV (%)</b>	3,73			

(): desvio-padrão

médias seguidas de letras maiúscula distintas na coluna e minúsculas distintas na linha diferem pelo teste t Student em nível nominal de significância de 5%.

probiótico 1: *Bifidobacterium*;

probiótico 2: *Lactobacillus*.

datas: primeira (1) e última (3) data de aplicação do probiótico.

Tabela 29 - Valores séricos médios de albumina, em g/dL, caracterizados pela troca de uma dieta *Super Premium* para uma dieta comercial *Standard*, para filhotes de cães Beagle, na Fase 1 do experimento.

Datas	Tratamentos			Médias
	Controle	Probiótico 1	Probiótico 2	
<b>Dia 1</b>	2,68 (±0,26)	2,83 (±0,21)	2,66 (±0,21)	2,72 (±0,23)
<b>Dia 3</b>	2,71 (±0,18)	2,96 (±0,23)	2,78 (±0,15)	2,82 (±0,21)
<b>Médias</b>	2,70 (±0,22)	2,90 (±0,22)	2,72 (±0,18)	-
<b>CV (%)</b>	3,81			

(): desvio-padrão

médias seguidas de letras maiúscula distintas na coluna e minúsculas distintas na linha diferem pelo teste t Student em nível nominal de significância de 5%.

probiótico 1: *Bifidobacterium*;

probiótico 2: *Lactobacillus*.

datas: primeira (1) e última (3) data de aplicação do probiótico.

Tabela 30 - Valores séricos médios de albumina, em g/dL, caracterizados pela troca de uma dieta comercial *Standard* para uma dieta *Super Premium*, para filhotes de cães Beagle, na Fase 2 do experimento.

Datas	Tratamentos			Médias
	Controle	Probiótico 1	Probiótico 2	
<b>Dia 1</b>	2,78 (±0,22)	2,95 (±0,28)	2,76 (±0,16)	2,83 (±0,23)B
<b>Dia 3</b>	2,91 (±0,29)	3,13 (±0,21)	2,96 (±0,23)	3,00 (±0,25)A
<b>Médias</b>	2,85 (±0,26)	3,04 (±0,25)	2,86 (±0,22)	-
<b>CV (%)</b>	5,38			

(): desvio-padrão

médias seguidas de letras maiúscula distintas na coluna e minúsculas distintas na linha diferem pelo teste t Student em nível nominal de significância de 5%.

probiótico 1: *Bifidobacterium*;

probiótico 2: *Lactobacillus*.

datas: primeira (1) e última (3) data de aplicação do probiótico.

Por meio das Tabelas 25, 26, 27, 28, 29 e 30 foi possível verificar aumentos médios nos níveis sanguíneos de globulinas, albuminas e proteínas totais na Fase 2 do experimento, em relação à data, provavelmente em detrimento da ração oferecida aos animais (*Super Premium*). A ração oferecida na Fase 2 tinha 6% de proteína a mais que a ração *Standard*, na matéria seca, e apresentando melhor qualidade do produto.

Apesar dos valores de globulinas, albuminas e proteínas totais aumentarem na Fase 2, eles se mantiveram ainda dentro dos valores de

referência para caninos, que são, segundo Bretas (2003), respectivamente: 2,3-5,2g/dL, 2,3-3,8g/dL e 5,4-7,7g/dL. Isso sugere ausência de doença inflamatória intestinal nos animais suplementados com probióticos, sugerindo apenas melhora dos níveis com a utilização da dieta.

## 5.4 Diagnóstico por imagem

### 5.4.1 Ultra-sonografia

Os valores médios de espessura da parede intestinal (EPI) nas Fases 1 e 2, caracterizadas pelas trocas de dietas, encontram-se a seguir, nas Tabelas 31 e 32.

Tabela 31 - Valores médios de espessura da parede intestinal, em mm, avaliados por meio do exame ultra-sonográfico, caracterizados pela troca de uma dieta *Super Premium* para uma dieta comercial *Standard*, para filhotes de cães Beagle, na Fase 1 do experimento.

Datas	Tratamentos			Médias
	Controle	Probiótico 1	Probiótico 2	
<b>Dia 1</b>	4,87 ( $\pm 0,69$ )	4,64 ( $\pm 0,49$ )	4,48 ( $\pm 0,42$ )	4,66 ( $\pm 0,54$ )
<b>Dia 3</b>	5,14 ( $\pm 0,58$ )	4,79 ( $\pm 0,37$ )	4,75 ( $\pm 0,51$ )	4,89 ( $\pm 0,50$ )
<b>Médias</b>	5,00 ( $\pm 0,62$ )	4,71 ( $\pm 0,45$ )	4,62 ( $\pm 0,44$ )	-
<b>CV (%)</b>	10,94			

(): desvio-padrão

médias seguidas de letras maiúscula distintas na coluna e minúsculas distintas na linha diferem pelo teste t Student em nível nominal de significância de 5%.

probiótico 1: *Bifidobacterium*;

probiótico 2: *Lactobacillus*.

datas: primeira (1) e última (3) data de aplicação do probiótico.

Tabela 32 - Valores médios de espessura da parede intestinal, em mm, avaliados por meio do exame ultra-sonográfico, caracterizados pela troca de uma dieta comercial *Standard* para uma dieta *Super Premium*, para filhotes de cães Beagle, na Fase 2 do experimento.

Datas	Tratamentos			Médias
	Controle	Probiótico 1	Probiótico 2	
<b>Dia 1</b>	5,42 ( $\pm 0,44$ )	5,45 ( $\pm 0,53$ )	5,52 ( $\pm 0,48$ )	5,46 ( $\pm 0,46$ )
<b>Dia 3</b>	5,03 ( $\pm 0,66$ )	5,74 ( $\pm 0,59$ )	6,01 ( $\pm 0,73$ )	5,59 ( $\pm 0,75$ )
<b>Médias</b>	5,23 b( $\pm 0,57$ )	5,59 ( $\pm 0,56$ )ab	5,77 ( $\pm 0,64$ )a	-
<b>CV (%)</b>	11,06			

(): desvio-padrão

médias seguidas de letras maiúscula distintas na coluna e minúsculas distintas na linha diferem pelo teste t Student em nível nominal de significância de 5%.

probiótico 1: *Bifidobacterium*;

probiótico 2: *Lactobacillus*.

datas: primeira (1) e última (3) data de aplicação do probiótico.

Analisando as Tabelas 31 e 32, verifica-se que houve aumento médio nas espessuras da parede das alças intestinais, por meio do exame ultra-sonográfico, na Fase 2, tendo sido observada esta diferença nos grupos tratamento com probiótico (camada intestinal mais espessa) em relação ao grupo controle.

Penninck et al. (1990) relatam a estratificação das camadas parietais preservadas, ou seja, as camadas apresentam-se bem diferenciadas, com nítido predomínio da visibilização da camada submucosa, como sugestivo de inflamação intestinal. No presente experimento, não foi visibilizada essa característica ultra-sonográfica, sugerindo-se que devido às condições saudáveis dos animais, não houve aumento da espessura em consequência das alterações inflamatórias, e sim sugerindo uma proliferação nas camadas da parede das alças intestinais (Figura 7).

Outro fator importante para embasar tal hipótese é a não visibilização de linfadenomegalia mesentérica (aumento de linfonodos e de sua ecogenicidade), contrariando os achados citados na literatura em doenças inflamatórias (Penninck et al., 1990).



Figura 7: Imagem ultra-sonográfica, realizada com transdutor de 3,75MHz, de cão filhote da raça Beagle, do tratamento 2, com mensuração da espessura e avaliação morfológica das camadas murais (*seta*).

#### 5.4.2 Radiografia

Os valores médios de área de gás intestinal, ao exame radiográfico, em centímetros quadrados (cm<sup>2</sup>), nas Fases 1 e 2, caracterizadas pelas trocas de dietas, encontram-se na Tabelas 33 e 34.

Tabela 33 - Valores médios de área de gás intestinal ao raio-x, em cm<sup>2</sup>, caracterizados pela troca de uma dieta *Super Premium* para uma dieta comercial *Standard*, para filhotes de cães Beagle, na Fase 1 do experimento.

Datas	Tratamentos			Médias
	Controle	Probiótico 1	Probiótico 2	
<b>Dia 1</b>	5,49 (±3,44)Aa	1,99 (±0,77)Aab	0,63 (±0,50)b	2,70 (±1,78)
<b>Dia 3</b>	1,25 (±0,77)B	0,67 (±0,50)B	1,51 (±0,99)	1,14 (±0,82)
<b>Médias</b>	3,37 (±3,22)	1,33 (±0,92)	1,07 (±0,88)	-
<b>CV (%)</b>	64,95			

(): desvio-padrão

médias seguidas de letras maiúscula distintas na coluna e minúsculas distintas na linha diferem pelo teste t Student em nível nominal de significância de 5%.

probiótico 1: *Bifidobacterium*;

probiótico 2: *Lactobacillus*.

datas: primeira (1) e última (3) data de aplicação do probiótico.

Tabela 34 - Valores médios de área de gás intestinal ao raio-x, em cm<sup>2</sup>, caracterizados pela troca de uma dieta comercial *Standard* para uma dieta *Super Premium*, para filhotes de cães Beagle, na Fase 2 do experimento.

Datas	Tratamentos			Médias
	Controle	Probiótico 1	Probiótico 2	
<b>Dia 1</b>	5,99 (±4,20)	2,14 (±1,54)	0,96 (±1,47)	3,03 (±3,10)
<b>Dia 3</b>	3,02 (±2,84)	3,05 (±2,71)	1,73 (±1,83)	2,60 (±3,12)
<b>Médias</b>	4,51 (±3,89)a	2,60 (±2,12)ab	1,65 (±1,64)b	-
<b>CV (%)</b>	70,88			

(): desvio-padrão

médias seguidas de letras maiúscula distintas na coluna e minúsculas distintas na linha diferem pelo teste t Student em nível nominal de significância de 5%.

probiótico 1: *Bifidobacterium*;

probiótico 2: *Lactobacillus*.

datas: primeira (1) e última (3) data de aplicação do probiótico.

Avaliando as Tabelas 33 e 34 verifica-se, na Fase 1, que houve uma diminuição média de área de gás intestinal ao exame radiográfico, em cm<sup>2</sup>, no grupo controle e no tratamento 1, em relação aos momentos das radiografias realizadas. Entre os tratamentos, observou-se que houve diferença naqueles em que foram utilizados probióticos em relação ao controle no primeiro momento, mas isso não pôde ser notado na segunda coleta. Desta forma, pode-se concluir que o uso de probióticos não influenciou na produção de gás intestinal quando

comparado com o grupo controle, pois no segundo momento não houve diferença entre os grupos analisados.

A Fase 2 apresenta diferença nas médias observadas entre os tratamentos do experimento, sendo notado aumento na produção de gás nos grupos tratados com probiótico e diminuição na área de gás no grupo controle.

Contrariando as afirmações de Koide et al. (2000), foi possível quantificar, por meio do *software* Image J<sup>®</sup> nas radiografias digitalizadas, a área do gás intestinal, não mais se tratando de uma medida subjetiva (Figuras 8 e 9).

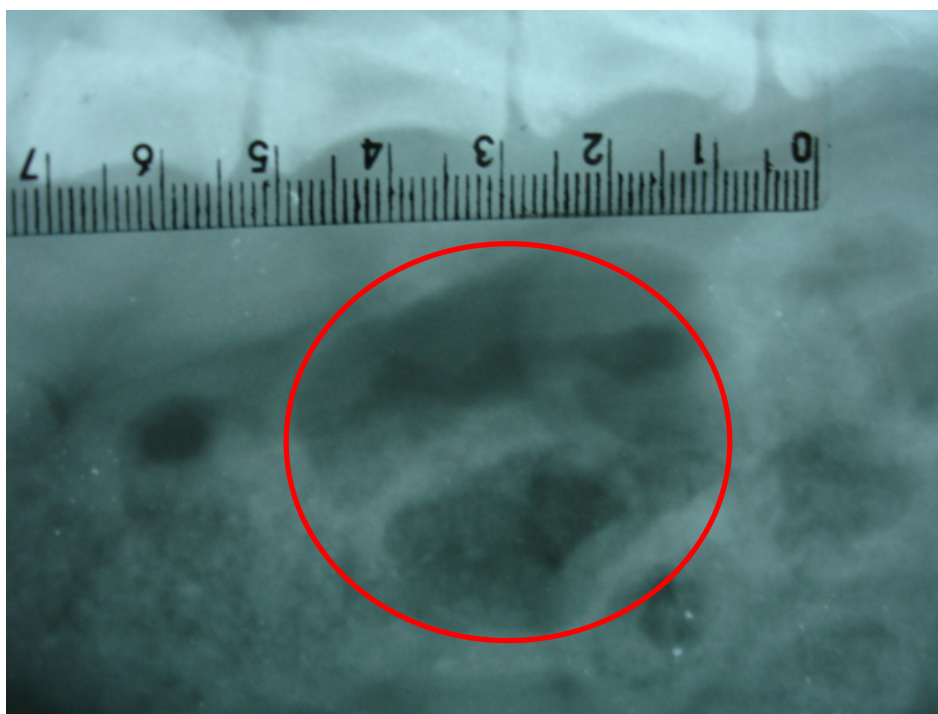


Figura 8: Detalhe de radiografia abdominal de cães filhotes Beagle, na projeção laterolateral. Notam-se alças intestinais (circundadas) com presença de gás, formando uma imagem radiotransparente.

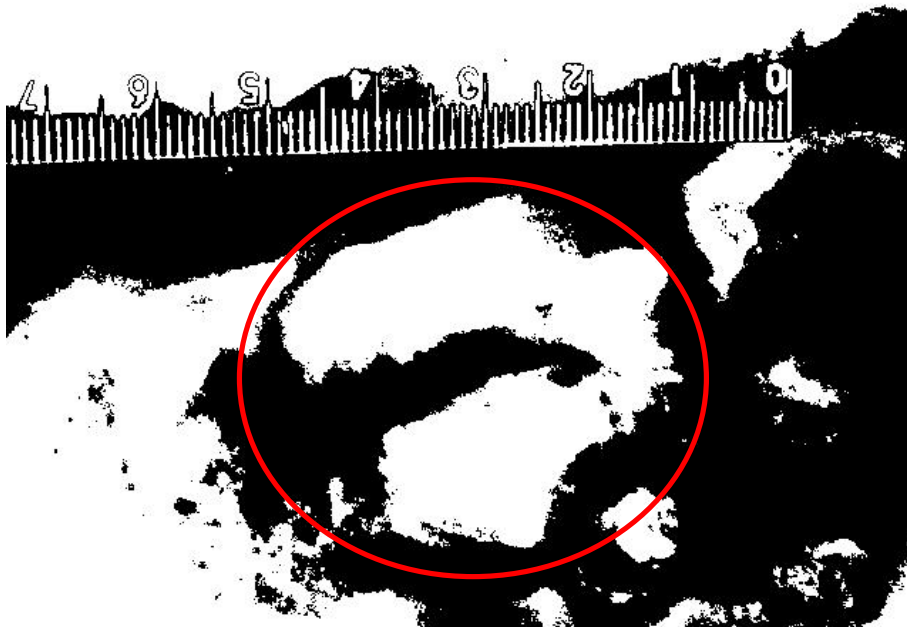


Figura 9: Detalhe de radiografia abdominal, de cães filhotes Beagle, na projeção laterolateral, processada no programa computacional Image J<sup>®</sup>. Nota-se melhor distinção entre área de gás e alças intestinais (circundadas).

De acordo com Swanson et al. (2002b) a suplementação com probióticos pode aumentar a quantidade de substrato para as bactérias redutoras de enxofre, aumentando as concentrações de compostos sulfúricos nas fezes; como consequência desse processo, há aumento da quantidade de gás. No experimento realizado, pode-se observar que na Fase 2, foram encontradas médias e diferenças entre os tratamentos, embasando essa citação. Entretanto, na Fase 1, não houve correlação com os achados citados por esses pesquisadores.

Tabela 35 – Escores médios de gás intestinal ao raio-x, em função dos tratamentos estudados, para filhotes de cães Beagle, na Fase 1 do experimento.

<b>Tratamentos</b>	<b>Escore médio</b>
Controle / <i>SuperPremium</i>	2,0
Controle / <i>Standard</i>	1,3
Probiótico 1 / <i>Super Premium</i>	1,8
Probitótico 1 / <i>Standard</i>	1,7
Probiótico 2 / <i>Super Premium</i>	2,0
Probitótico 2 / <i>Standard</i>	1,5
P > Qui-quadrado	0,3284

Tabela 36 – Escores médios de gás intestinal ao raio-x, em função dos tratamentos estudados, para filhotes de cães Beagle, na Fase 2 do experimento.

<b>Tratamentos</b>	<b>Escore médio</b>
Controle / <i>SuperPremium</i>	2,1
Controle / <i>Standard</i>	1,8
Probiótico 1 / <i>Super Premium</i>	1,5
Probitótico 1 / <i>Standard</i>	1,6
Probiótico 2 / <i>Super Premium</i>	2,0
Probitótico 2 / <i>Standard</i>	2,0
P > Qui-quadrado	0,5959

As Tabelas 35 e 36 não apontam significância entre os tratamentos na análise estatística aplicada, em relação ao escore de gás intestinal avaliado.

A Figura 10 correlaciona a avaliação quantitativa com a qualitativa da quantidade de gás intestinal, sugerindo uma graduação. Nesta figura, há correlação da área em cm<sup>2</sup> e os escores de gás intestinal.

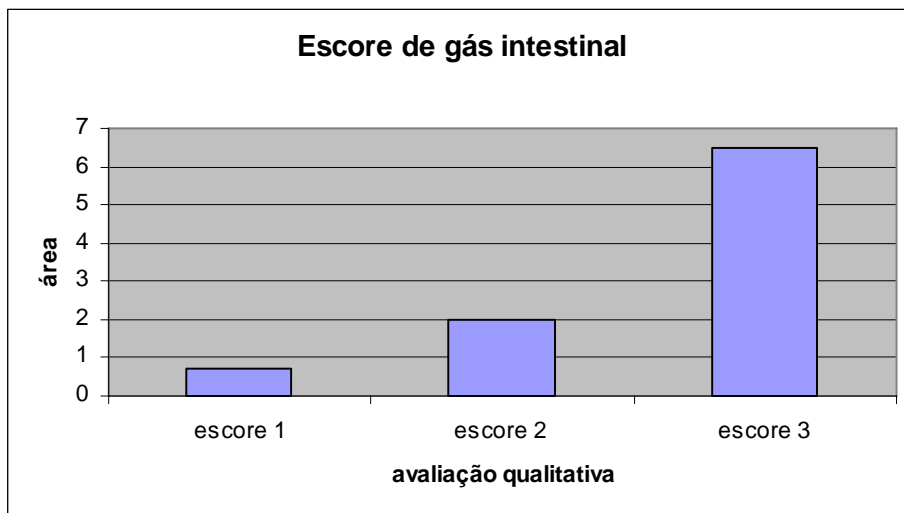


Figura 10: Escore de gás intestinal, obtido pela análise de radiografias em cães filhotes Beagle.

O método proposto permitiu a determinação de um escore, ou seja, uma avaliação quantitativa da produção de gás intestinal. Além disso, foi possível correlacionar este escore com a avaliação proveniente de um especialista, com imagens digitalizadas e processadas.

A avaliação quantitativa, ainda não descrita na literatura médica veterinária, permitiu a determinação de um escore de gás intestinal, de forma não invasiva, por meio do *software* Image J<sup>®</sup>.

A melhoria da correlação poderá ser conseguida com a transformação das áreas em volume, a partir dos dados obtidos em duas dimensões. A maior automação do processo irá depender do desenvolvimento de programas capazes de simular a interpretação humana, porém sem saber da real necessidade frente ao que já está sendo disponibilizado pela análise computacional proposta.

## 6 CONCLUSÃO

Nas condições do presente experimento, concluiu-se que os probióticos não foram similares em sua eficácia, uma vez que o probiótico 2 apresentou efeitos positivos no trato gastrintestinal para cães filhotes da raça Beagle, apresentando efeitos significativos na metabolicidade da energia bruta e melhores resultados sobre a microbiota e pH fecais, principalmente quando utilizados juntamente com dietas de menor qualidade de ingredientes.

Com base nesses resultados recomenda-se como melhor probiótico aquele contendo *Bifidobacterium* e maior concentração de *Lactobacillus* (probiótico 2).

Os resultados significativos encontrados no diagnóstico por imagem suportam a recomendação desta metodologia como ferramenta auxiliar em avaliações nutricionais de dietas para cães. Entretanto é conveniente salientar que o método utilizado para averiguar a área de gás intestinal e seu programa são recentes, necessitando de aperfeiçoamento para adequar as imagens realizadas e o mecanismo de mensuração da área de gás.

## REFÊRENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BABER, D.L.; MAHAFFEY, M.B. The stomach. In: THRALL, D.E. **Textbook of veterinary diagnostic radiology**. 3.ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1998. p.520-539.

BENGMARK, S. Colonic food: pre- and probiotics. **The American Journal of Gastroenterology**, v.95, n.1, p.5-7, 2000.

BENYACOUB, J.; CZARNECKI-MAULDEN, G.L.; CAVADINI, C. et al. Supplementation of food with *Enterococcus faecium* (SF68) stimulates immune functions in young dogs. **The Journal of Nutrition**, v.133, p.1158-1162, 2003.

BILLER, D.S.; PARTINGTON, B.P.; MIYABAYASHI, T. et al. Ultrasonographic appearance of the chronic hypertrophic pyloric gastropathy in the dog. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v.35, p.30-33, 1994.

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

BOHMER, B.M.; BRANNER, G.R.; ROTH-MAIER, D.A. Precaecal and faecal digestibility of inulin (DP 10–12) or an inulin/*Enterococcus faecium* mix and effects on nutrient digestibility and microbial gut flora. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.89, p.388-396, 2005.

BORGES, F.M.O.; SALGARELLO, R.M.; GURIAN, T.M. Recentes avanços na nutrição de cães e gatos. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE ANIMAIS

DE ESTIMAÇÃO, 3., 2003, Campinas. **Anais...** Campinas, Colégio Brasileiro de Alimentação Animal, 2003. p.21-60.

BRASIL. Portaria ANVISA nº 518, de 25 de março de 2004, Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativas ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade e dá outras providências. Portaria no 518. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, 26 mar. 2004.

BRETAS, F.A.V. **Guia terapêutico veterinário**. Lagoa Santa: Cem, 2003. 324p.

BURK, R.L.; ACKERMAN, N. The abdomen. In: \_\_\_\_\_. **Small animal radiology and ultrasonography: a diagnostic atlas and text**. 2<sup>nd</sup>ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1996. p.296-310.

CAMARGO, P.L.; ORTOLANI, M.B.T.; UENAKA, S.A. et al. Avaliação do efeito da suplementação terapêutica com probiótico em cães filhotes com gastroenterite hemorrágica **Semina: Ciências Agrárias**, v.27, n.3, p.453-462, 2006.

CAMASCHELLA P.; MIGNON O.; PIROVANO F. et al. Method for differentiated enumeration of mixed cultures of thermophilic lactic acid bacteria and bifidobacteria by using only one culture medium. **Lait**, v.78, p.461-467, 1998.

CASE, L.P.; CAREY, D.P.; HIRAKAWA, D.A. **Nutrição canina e felina – manual para profissionais**. Lisboa: Harcourt Brace, 1998. 424p.

COPPOLA, M.M.; TURNES, C.G. Probióticos e resposta imune. **Ciência Rural**, v.34, p.1297-1303, 2004.

CORREA, G.S.S.; GOMES, A.V.C.; CORREA, A.B. Digestibilidade da ração de frangos de corte suplementados com probióticos e antibiótico. **Ciência Rural**, v.32, p.687-691, 2002.

CORTÉS, C. Gases del abdome su utilidad diagnostica: gases endoluminales. **Revista Chilena de Radiologia**, v.8, p.5-12, 2002.

FERNANDEZ, P.C.C.; LADEIRA, I.Q.; FERREIRA, C.L.L.F. et al. Viabilidade do uso de probióticos na alimentação de monogátricos. **Cadernos Técnicos de Veterinaria e Zootecnia**, n.31, p.53-71, 2000.

FLICKINGER, E.A.; SCHREIJEN, E.M.W.C.; PATIL, A.R. et al. Nutrient digestibilities, microbial populations, and protein catabolites as affected by frutan supplementation of dog diets. **Journal of Animal Science**, v.81, p.2008-2018, 2003.

FROES, T.R. Ultra-sonografia do trato gastrointestinal. In: CARVALHO, C.F. **Ultra-sonografia em pequenos animais**. São Paulo: Roca, 2004. p.147-164.

FULLER, R. Probiotics in man and animals. **Journal of Applied Bacteriology**, v.66, p.365-378, 1995.

HALL, J.E.; SIMPSON, K.W. Diseases of the small intestine. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.D. **Textbook of veterinary internal medicine** – diseases of the dog and cat. 5<sup>th</sup>ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2000. p.1181-1237.

HERNOT, D.C.; BIOURGE, V.C.; MARTIN, L.J. et al. Relationship between total transit time and faecal quality in adult dogs differing in body size. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v.89, p.189-193, 2005.

HESTA, M.; ROOSEN, W.; JANSSENS, G.P.J. et al. Prebiotics affect nutrient digestibility but not faecal ammonia in dogs fed increased dietary protein levels. **British Journal of Nutrition**, v.90, p.1007-1014, 2003.

HEUSNER, A.A. Body size and metabolism. **Annual Review of Nutrition**, v.5, p.267-293, 1985.

HOMCO, L.D. Gastrointestinal tract. In: GREEN, R.W. **Small animal ultrasound**. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1996. p.149-176.

HUANG, C.H.; QIAO, S.Y.; LI, D.F. et al. Effects of *Lactobacilli* on the performance, diarrhea incidence, VFA concentration and gastrointestinal microbial flora of weaning pigs. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.17, n.3, p.401-409, 2004.

HUDSON, J.A.; MAHAFFEY, M.B. The gastrointestinal tract. In: CARTEE, R.E.; SEKER, B.A.; HUDSON, J.A. et al. **Practical veterinary ultrasound**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1995. p.107-134.

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

LEAHY, S.C.; HIGGINS, D.G.; FITZGERALD., G.G. et al. Getting better with bifidobacteria. **Journal of Applied Microbiology**, n.98, p.1303-1315, 2005.

LEE, H.S. **Characterization of three amylolytic strains of Lactobacilli isolated from pigs and their potential for use as probiotics**. 1997. 84p. Dissertação (Doutorado) - Oklahoma State University, Oklahoma.

MARCATO, S.M; LIMA, G.J.M.M. Efeito da restrição alimentar como redutor do poder poluente dos dejetos de suínos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, p. 855-863, 2005.

MARCINAKOVA, M.; SIMONOVA, M.; STROMPFOVA, V. et al. Oral applications of *Enterococcus faecium* strain EE3 in healthy dogs. **Folia Microbiology**, v.51, p.239-242, 2006.

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

MENTULA, S. Analysis of canine small intestinal and fecal microbiota. **National Public Health Institute**, v.8, p.1-86, 2005.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dogs and cats**. Washington: National Academy, 2006. p.347.

NEWELL, S.M.; GRAHAM, J.P.; ROBERTES, G.D. et al. Sonography of the normal feline gastrointestinal tract. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v.40, p.40-43, 1999.

NUNES, I. J. Nutrição animal básica. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, n.2, p.388, 1998.

NYLAND, T.G.; PARK, R.D.; LATTIMER, J.C. et al. Gray-scale ultrasonography of the canine abdomen. **Veterinary Radiology**, v.22, p.220-227, 1981.

PATNAIK, A.K.; HURVITZ, A.I.; JOHNSON, G.F. Canine intestinal adenocarcinoma and carcinoid. **Veterinary Pathology**, v.17, p.149-163, 1980.

PENNINCK, D.G. Gastrointestinal tract. In: NYLAND, T.G.; MATTOON, J.S. **Small animal diagnostic ultrasound**. 2<sup>nd</sup>ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2002. p.207-230.

PENNINCK, D.G.; MOORE, A.S.; TIDWELL, A.S. et al. Ultrasonography of alimentary lymphosarcoma in the cat. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v.35, p.199-204, 1994.

PENNINCK, D.G.; NYLAND, T.G.; FISHER, P.E. Ultrasonography of the normal canine gastrointestinal tract. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v.30, p.272-276, 1989.

PENNINCK, D.G.; NYLAND, T.G.; KERR, L.Y. et al. Ultrasonographic evaluation of gastrointestinal disease in small animals. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v.31, p.134-141, 1990.

PRATA, A.S.; SGARBIERI, V.C. Obtenção e caracterização química e nutricional das proteínas do soro de sangue bovino *in vitro*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.2, p.327-332, 2005.

RUTZ, F.; LIMA, G.J.M.M. O uso de antimicrobianos como promotores de crescimento no Brasil. In: Abraves, 2001, Embrapa Suínos e Aves. **Anais...** p.1-10, 2001.

SAAD, S.M.I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.42, p.1-16, 2006.

SCHEPPACH, S. Effects of short chain fatty acids on gut morphology and function. **Gut**, p. 35-38, 1994. Supplement.

SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. Determinação de gordura bruta ou do extrato etéreo. In: \_\_\_\_\_. **Análise de alimentos – métodos químicos e biológicos**. 3ª ed. Viçosa, MG: UFV, 2002. p.39-45.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 2.ed. São Paulo: Varela, 2001. 295 p.

SIMPSON, J.M.; MARTINEAU, B.; JONES, W.E. et al. Characterization of fecal bacterial populations in canines: effects of age, breed and dietary fiber. **Microbial Ecology**, v.44, p.186-197, 2002.

SWANSON, K.S.; GRIESHOP, C.M.; FLICKINGER, E.A. et al. Fructooligosaccharides and Fructooligosaccharides and *Lactobacillus acidophilus* modify bowel function and protein catabolites excreted by healthy humans. **The Journal of Nutrition**, v.132, p.3042-3050, 2002a.

SWANSON, K.S.; GRIESHOP, C.M.; FLICKINGER, E.A. et al. Fructooligosaccharides and *Lactobacillus acidophilus* modify gut microbial populations, total tract nutrients digestibilities and fecal protein catabolite concentrations in healthy adult dogs. **The Journal of Nutrition**, v.132, p.3721-3731, 2002b.

TANNOCK, G.W. Studies of intestinal microflora: a prerequisite for the development of probiotics. **International Dairy Journal**, v.8, n.6, p.527-533, 1998.

THOMAS, J. S. Overview of plasma protein. In: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N. C. **Schalm's veterinary hematology**. 5<sup>nd</sup>ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p. 891-898.

TOMASIK, P.J.; TOMASIK, P. Probiotics and prebiotics. **Cereal Chemists**, v.80, p.113-117, 2003.

UTIYAMA, C.E. Efeitos de antimicrobianos, prebióticos, probióticos e extratos vegetais sobre a microbiota intestinal, a frequência de diarreia e o desempenho

de leitões recém-desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.35, p.2359-2367, 2004.

VASCONCELOS, R.S. Métodos *in vivo* para avaliação de alimentos industrializados para cães e gatos. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE ANIMAIS DE ESTIMAÇÃO, 5., 2005, Campinas. **Anais...** Campinas, SP: 2005.

VERONESI, C. **Efeito de dois alimentos comerciais secos no consumo energético, peso vivo e peso metabólico, escore corporal, escore e peso fecal de cães adultos em manutenção e atividade.** 2003. 93p. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, São Paulo.

WEESE, J.S.; ANDERSON, M.E.C. Preliminary evaluation of *Lactobacillus rhamnosus* strain GG, a potential probiotic in dogs. **Canadian Veterinary Journal**, v.43, p.771-774, 2002.

WOLLOWSKI, I.; RECHKEMMER, G., POOL-ZOBEL, B.L. Protective role of probiotics and prebiotics in colon cancer. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.73, p.451-455, 2001.

XUAN, Z.N.; KIM, J.D.; HEO, K.N. et al. Effects of supplementation of a probiotics complex on growth performance. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v.14, n.10, p.1425-1428, 2001.

## ANEXOS

Tabela I - Análise de variância para os coeficientes de digestibilidade da matéria seca (CDMS) e proteína bruta (CDPB) caracterizados pela troca de uma dieta <i>Super Premium</i> para uma dieta comercial <i>Standard</i> , para filhotes de cães Beagle, segundo o tipo de tratamento na Fase 1.....	84
Tabela II - Análise de variância para os coeficientes de digestibilidade da matéria seca (CDMS) e proteína bruta (CDPB) caracterizados pela troca de uma dieta comercial <i>Standard</i> para uma dieta <i>Super Premium</i> , para filhotes de cães Beagle, segundo o tipo de tratamento na Fase 2.....	84
Tabela III - Análise de variância para os coeficientes de digestibilidade da energia bruta (CDEB) e coeficiente metabolizável da energia bruta (CMEB) caracterizados pela troca de uma dieta <i>Super Premium</i> para uma dieta comercial <i>Standard</i> , para filhotes de cães Beagle, segundo o tipo de tratamento na Fase 1.....	84
Tabela IV - Análise de variância para os coeficientes de digestibilidade da energia bruta (CDEB) e coeficiente metabolizável da energia bruta (CMEB) caracterizados pela troca de uma dieta comercial <i>Standard</i> para uma dieta <i>Super Premium</i> , para filhotes de cães Beagle, segundo o tipo de tratamento na Fase 2. ....	85
Tabela V - Análise de variância para a energia digestível, em Kcal/Kg, da ração com base na matéria natural (EDMN) e seca (EDMS) caracterizada pela troca de uma dieta <i>Super Premium</i> para uma dieta comercial <i>Standard</i> , para filhotes de cães Beagle, segundo o tipo de tratamento na Fase 1.....	85
Tabela VI - Análise de variância para a energia digestível, em Kcal/Kg, da ração com base na matéria natural (EDMN) e seca (EDMS) caracterizada pela troca de uma dieta comercial <i>Standard</i> para uma dieta <i>Super Premium</i> , para filhotes de cães Beagle, segundo o tipo de tratamento na Fase 2.....	85
Tabela VII - Análise de variância para energia metabolizável, em Kcal/kg, da ração com base na matéria natural (EMMN) e seca (EMMS) caracterizada pela troca de uma dieta <i>Super Premium</i> para uma dieta comercial <i>Standard</i> , para filhotes de cães Beagle, segundo o tipo de tratamento na Fase 1.....	86
Tabela VIII - Análise de variância para a energia metabolizável, em Kcal/Kg, da ração com base na matéria natural (EMMN) e seca (EMMS) caracterizada pela troca de uma dieta comercial <i>Standard</i> para uma dieta <i>Super Premium</i> , para filhotes de cães Beagle, segundo o tipo de tratamento na Fase 2.....	86
Tabela IX - Análise de variância para o crescimento de colônias de <i>E.coli</i> (log NMP/g) verificadas na microbiota fecal, caracterizado pela	

troca de uma dieta <i>Super Premium</i> para uma dieta comercial <i>Standard</i> , para filhotes de cães Beagle, na Fase 1 do experimento.....	86
Tabela X - Análise de variância para o crescimento de colônias de <i>E.coli</i> (log NMP/g) verificadas na microbiota fecal, caracterizado pela troca de uma dieta comercial <i>Standard</i> para uma dieta <i>Super Premium</i> , para filhotes de cães Beagle, na Fase 2 do experimento.....	87
Tabela XI- Análise de variância para o crescimento de colônias de <i>Clostridium</i> (log UFC/g) verificadas na microbiota fecal, caracterizado pela troca de uma dieta <i>Super Premium</i> para uma dieta comercial <i>Standard</i> , para filhotes de cães Beagle, na Fase 1 do experimento.....	87
Tabela XII - Análise de variância para o crescimento de colônias de <i>Clostridium</i> (log UFC/g) verificadas na microbiota fecal, caracterizado pela troca de uma dieta comercial <i>Standard</i> para uma dieta <i>Super Premium</i> , para filhotes de cães Beagle, na Fase 2 do experimento.....	88
Tabela XIII - Análise de variância para o crescimento de colônias de <i>Lactobacillus</i> (log UFC/g) verificadas na microbiota fecal, caracterizado pela troca de uma dieta <i>Super Premium</i> para uma dieta comercial <i>Standard</i> , para filhotes de cães Beagle, na Fase 1 do experimento.....	88
Tabela XIV - Análise de variância para o crescimento de colônias de <i>Lactobacillus</i> (log UFC/g) verificadas na microbiota fecal, caracterizado pela troca de uma dieta comercial <i>Standard</i> para uma dieta <i>Super Premium</i> , para filhotes de cães Beagle, na Fase 2 do experimento.....	88
Tabela XV - Análise de variância para o crescimento de colônias de <i>Bifidobacterium</i> (log UFC/g) verificadas na microbiota fecal, caracterizado pela troca de uma dieta <i>Super Premium</i> para uma dieta comercial <i>Standard</i> , para filhotes de cães Beagle, na Fase 1 do experimento.....	89
Tabela XVI - Análise de variância para o crescimento de colônias de <i>Bifidobacterium</i> (log UFC/g) verificadas na microbiota fecal, caracterizado pela troca de uma dieta comercial <i>Standard</i> para uma dieta <i>Super Premium</i> , para filhotes de cães Beagle, na Fase 2 do experimento.....	89
Tabela XVII - Análise de variância para pH fecais, caracterizados pela troca de uma dieta <i>Super Premium</i> para uma dieta comercial <i>Standard</i> , para filhotes de cães Beagle, na Fase 1 do experimento.....	89
Tabela XVIII - Análise de variância para o pH fecais, caracterizados pela troca de uma dieta comercial <i>Standard</i> para uma dieta <i>Super Premium</i> , para filhotes de cães Beagle, na Fase 2 do experimento.....	90
Tabela XIX - Análise de variância para a globulina, em g/dL,	

caracterizada pela troca de uma dieta <i>Super Premium</i> para uma dieta comercial <i>Standard</i> , para filhotes de cães Beagle, nas Fases 1 e 2 do experimento.....	90
Tabela XX - Análise de variância para a proteína total, em g/dL, caracterizada pela troca de uma dieta <i>Super Premium</i> para uma dieta comercial <i>Standard</i> , para filhotes de cães Beagle, nas Fases 1 e 2 do experimento.....	90
Tabela XXI - Análise de variância para a albumina, em g/dL, caracterizada pela troca de uma dieta <i>Super Premium</i> para uma dieta comercial <i>Standard</i> , para filhotes de cães Beagle, nas Fases 1 e 2 do experimento.....	91
Tabela XXII - Análise de variância para a espessura da parede intestinal, em mm, avaliados por meio do exame ultra-sonográfico, caracterizada pela troca de uma dieta <i>Super Premium</i> para uma dieta comercial <i>Standard</i> , para filhotes de cães Beagle, nas Fases 1 e 2 do experimento.....	91
Tabela XXIII - Análise de variância para a área de gás intestinal ao raio-x, em cm <sup>2</sup> , caracterizada pela troca de uma dieta <i>Super Premium</i> para uma dieta comercial <i>Standard</i> , para filhotes de cães Beagle, na Fase 1 do experimento.....	91
Tabela XXIV - Análise de variância para a área de gás intestinal ao raio-x, em cm <sup>2</sup> , caracterizada pela troca de uma dieta comercial <i>Standard</i> para uma dieta <i>Super Premium</i> , para filhotes de cães Beagle, na Fase 2 do experimento.....	92

Tabela I - Análise de variância para os coeficientes de digestibilidade da matéria seca (CDMS) e proteína bruta (CDPB) caracterizados pela troca de uma dieta *Super Premium* para uma dieta comercial *Standard*, para filhotes de cães Beagle, segundo o tipo de tratamento na Fase 1.

Fonte de Variação	G1	Quadrado Médio (p-valor)	
		CDMS	CDPB
<b>Tratamentos</b>	2	21,3987 (0,1902)	36,4216 (0,2868)
<b>Erro</b>	15	11,5187	26,8042
<b>P &lt; <math>\alpha</math></b>		0,6241	0,4231

$\alpha$ : 5% significância

Tabela II - Análise de variância para os coeficientes de digestibilidade da matéria seca (CDMS) e proteína bruta (CDPB) caracterizados pela troca de uma dieta comercial *Standard* para uma dieta *Super Premium*, para filhotes de cães Beagle, segundo o tipo de tratamento na Fase 2.

Fonte de Variação	G1	Quadrado Médio (p-valor)	
		CDMS	CDPB
<b>Tratamentos</b>	2	4,2688 (0,6183)	14,3568 (0,1693)
<b>Erro</b>	15	8,5964	7,1643
<b>P &lt; <math>\alpha</math></b>		0,1986	0,9000

$\alpha$ : 5% significância

Tabela III - Análise de variância para os coeficientes de digestibilidade da energia bruta (CDEB) e coeficiente metabolizável da energia bruta (CMEB) caracterizados pela troca de uma dieta *Super Premium* para uma dieta comercial *Standard*, para filhotes de cães Beagle, segundo o tipo de tratamento na Fase 1.

Fonte de Variação	G1	Quadrado Médio (p-valor)	
		CDEB	CMEB
<b>Tratamentos</b>	2	14,1246 (0,2024)	10,7054 (0,2003)
<b>Erro</b>	15	7,9336	5,9698
<b>P &lt; <math>\alpha</math></b>		0,8401	0,8195

$\alpha$ : 5% de significância

Tabela IV - Análise de variância para os coeficientes de digestibilidade da energia bruta (CDEB) e coeficiente metabolizável da energia bruta (CMEB) caracterizados pela troca de uma dieta comercial *Standard* para uma dieta *Super Premium*, para filhotes de cães Beagle, segundo o tipo de tratamento na Fase 2.

Fonte de Variação	G1	Quadrado Médio (p-valor)	
		CDEB	CMEB
<b>Tratamentos</b>	2	1,8276 (0,5537)	1,2126 (0,6228)
<b>Erro</b>	15	2,9711	2,4804
<b>P &lt; <math>\alpha</math></b>		0,1537	0,0683

$\alpha$ : 5% de significância

Tabela V - Análise de variância para a energia digestível, em Kcal/Kg, da ração com base na matéria natural (EDMN) e seca (EDMS) caracterizada pela troca de uma dieta *Super Premium* para uma dieta comercial *Standard*, para filhotes de cães Beagle, segundo o tipo de tratamento na Fase 1.

Fonte de Variação	G1	Quadrado Médio (p-valor)	
		EDMN	EDMS
<b>Tratamentos</b>	2	24.735,70 (0,2027)	29.352,22 (0,2027)
<b>Erro</b>	15	13.907,84	16.503,64
<b>P &lt; <math>\alpha</math></b>		0,8390	0,8389

$\alpha$ : 5% de significância

Tabela VI - Análise de variância para a energia digestível, em Kcal/Kg, da ração com base na matéria natural (EDMN) e seca (EDMS) caracterizada pela troca de uma dieta comercial *Standard* para uma dieta *Super Premium*, para filhotes de cães Beagle, segundo o tipo de tratamento na Fase 2.

Fonte de Variação	G1	Quadrado Médio (p-valor)	
		EDMN	EDMS
<b>Tratamentos</b>	2	4.804,90 (0,5540)	5.661,66 (0,5540)
<b>Erro</b>	15	7.819,55	9.214,47
<b>P &lt; <math>\alpha</math></b>		0,1535	0,1534

$\alpha$ : 5% de significância

Tabela VII - Análise de variância para energia metabolizável, em Kcal/kg, da ração com base na matéria natural (EMMN) e seca (EMMS) caracterizada pela troca de uma dieta *Super Premium* para uma dieta comercial *Standard*, para filhotes de cães Beagle, segundo o tipo de tratamento na Fase 1.

Fonte de Variação	Gl	Quadrado Médio (p-valor)	
		EMMN	EMMS
<b>Tratamentos</b>	2	18.780,21 (0,2003)	22.283,48 (0,2004)
<b>Erro</b>	15	10.473,76	12.429,04
<b>P &lt; <math>\alpha</math></b>		0,8166	0,8167

$\alpha$ : 5% de significância

Tabela VIII - Análise de variância para a energia metabolizável, em Kcal/Kg, da ração com base na matéria natural (EMMN) e seca (EMMS) caracterizada pela troca de uma dieta comercial *Standard* para uma dieta *Super Premium*, para filhotes de cães Beagle, segundo o tipo de tratamento na Fase 2.

Fonte de Variação	Gl	Quadrado Médio (p-valor)	
		EMMN	EMMS
<b>Probiótico (P)</b>	2	3.192,65 (0,6234)	3.762,27 (0,6234)
<b>Erro</b>	15	6.544,62	7.712,07
<b>P &lt; <math>\alpha</math></b>		0,0672	0,0672

$\alpha$ : 5% de significância

Tabela IX - Análise de variância para o crescimento de colônias de *E.coli* (log NMP/g) verificadas na microbiota fecal, caracterizado pela troca de uma dieta *Super Premium* para uma dieta comercial *Standard*, para filhotes de cães Beagle, na Fase 1 do experimento.

Fonte de Variação	Gl	Quadrado Médio (p-valor)
		Fase 1
<b>Probióticos (P)</b>	2	1,8866 (0,2174)
<b>Erro (a)</b>	15	1,1147
<b>Data (D)</b>	1	0,3158 (0,5167)
<b>D x P</b>	2	4,4904 (0,0121)
<b>Erro (b)</b>	13	0,7107
<b>P &lt; <math>\alpha</math></b>		0,8981

$\alpha$ : nível de significância 25%

Tabela X - Análise de variância para o crescimento de colônias de *E.coli* (log NMP/g) verificadas na microbiota fecal, caracterizado pela troca de uma dieta comercial *Standard* para uma dieta *Super Premium*, para filhotes de cães Beagle, na Fase 2 do experimento.

Fonte de Variação	G1	Quadrado Médio (p-valor)
		Fase 2
<b>Probióticos (P)</b>	2	7,3036 (0,0033)
<b>Erro (a)</b>	15	0,8544
<b>Data (D)</b>	1	0,3230 (0,5454)
<b>D x P</b>	2	0,8539 (0,3870)
<b>Erro(b)</b>	15	0,8437
<b>P &lt; <math>\alpha</math></b>		0,5691

$\alpha$ : nível de significância 25%

Tabela XI- Análise de variância para o crescimento de colônias de *Clostridium* (log UFC/g) verificadas na microbiota fecal, caracterizado pela troca de uma dieta *Super Premium* para uma dieta comercial *Standard*, para filhotes de cães Beagle, na Fase 1 do experimento.

Fonte de Variação	G1	Quadrado Médio (p-valor)
		Fase 1
<b>Probióticos (P)</b>	2	1,8002 (0,1980)
<b>Erro (a)</b>	15	0,9959
<b>Data (D)</b>	1	1,3801 (0,3506)
<b>D x P</b>	2	4,1535 (0,0945)
<b>Erro(b)</b>	14	1,4802
<b>P &lt; <math>\alpha</math></b>		0,5691

$\alpha$ : nível de significância 25%

Tabela XII - Análise de variância para o crescimento de colônias de *Clostridium* (log UFC/g) verificadas na microbiota fecal, caracterizado pela troca de uma dieta comercial *Standard* para uma dieta *Super Premium*, para filhotes de cães Beagle, na Fase 2 do experimento.

Fonte de Variação	G1	Quadrado Médio (p-valor)
		Fase 2
<b>Probióticos (P)</b>	2	2,5736 (0,2217)
<b>Erro (a)</b>	15	1,5427
<b>Data (D)</b>	1	0,0016 (0,9602)
<b>D x P</b>	2	0,6959 (0,3529)
<b>Erro(b)</b>	15	0,6228
<b>P &lt; <math>\alpha</math></b>		0,9869

$\alpha$ : nível de significância 25%

Tabela XIII - Análise de variância para o crescimento de colônias de *Lactobacillus* (log UFC/g) verificadas na microbiota fecal, caracterizado pela troca de uma dieta *Super Premium* para uma dieta comercial *Standard*, para filhotes de cães Beagle, na Fase 1 do experimento.

Fonte de Variação	G1	Quadrado Médio (p-valor)
		Fase 1
<b>Probióticos (P)</b>	2	0,3074 (0,8099)
<b>Erro (a)</b>	15	1,4379
<b>Data (D)</b>	1	21,0604 (0,0001)
<b>D x P</b>	2	0,2431 (0,7407)
<b>Erro(b)</b>	14	0,7930
<b>P &lt; <math>\alpha</math></b>		0,7960

$\alpha$ : nível de significância 25%

Tabela XIV - Análise de variância para o crescimento de colônias de *Lactobacillus* (log UFC/g) verificadas na microbiota fecal, caracterizado pela troca de uma dieta comercial *Standard* para uma dieta *Super Premium*, para filhotes de cães Beagle, na Fase 2 do experimento.

Fonte de Variação	G1	Quadrado Médio (p-valor)
		Fase 2
<b>Probióticos (P)</b>	2	0,2135 (0,7456)
<b>Erro (a)</b>	15	0,7134
<b>Data (D)</b>	1	12,6973 (0,0128)
<b>D x P</b>	2	0,1126 (0,9320)
<b>Erro(b)</b>	15	1,5906
<b>P &lt; <math>\alpha</math></b>		0,6058

$\alpha$ : nível de significância 25%

Tabela XV - Análise de variância para o crescimento de colônias de *Bifidobacterium* (log UFC/g) verificadas na microbiota fecal, caracterizado pela troca de uma dieta *Super Premium* para uma dieta comercial *Standard*, para filhotes de cães Beagle, na Fase 1 do experimento.

Fonte de Variação	G1	Quadrado Médio (p-valor)
		Fase 1
<b>Probióticos (P)</b>	2	0,3036 (0,7801)
<b>Erro (a)</b>	15	1,2029
<b>Data (D)</b>	1	3,9809 (0,0620)
<b>D x P</b>	2	0,2936 (0,7431)
<b>Erro(b)</b>	14	0,9679
<b>P &lt; <math>\alpha</math></b>		0,8314

$\alpha$ : nível de significância 25%

Tabela XVI - Análise de variância para o crescimento de colônias de *Bifidobacterium* (log UFC/g) verificadas na microbiota fecal, caracterizado pela troca de uma dieta comercial *Standard* para uma dieta *Super Premium*, para filhotes de cães Beagle, na Fase 2 do experimento.

Fonte de Variação	G1	Quadrado Médio (p-valor)
		Fase 2
<b>Probióticos (P)</b>	2	1,4468 (0,1010)
<b>Erro (a)</b>	15	0,5396
<b>Data (D)</b>	1	7,3622 (0,0119)
<b>D x P</b>	2	0,0583 (0,9376)
<b>Erro(b)</b>	15	0,9004
<b>P &lt; <math>\alpha</math></b>		0,7154

$\alpha$ : nível de significância 25%

Tabela XVII - Análise de variância para pH fecais, caracterizados pela troca de uma dieta *Super Premium* para uma dieta comercial *Standard*, para filhotes de cães Beagle, na Fase 1 do experimento.

Fonte de Variação	G1	Quadrado Médio (p-valor)
		Fase 1
<b>Probióticos (P)</b>	2	0,0261 (0,6899)
<b>Erro (a)</b>	15	0,0686
<b>Data (D)</b>	1	0,4878 (0,0303)
<b>D x P</b>	2	0,0432 (0,6086)
<b>Erro(b)</b>	14	0,0840
<b>P &lt; <math>\alpha</math></b>		0,9942

$\alpha$ : nível de significância 5%

Tabela XVIII - Análise de variância para o pH fecais, caracterizados pela troca de uma dieta comercial *Standard* para uma dieta *Super Premium*, para filhotes de cães Beagle, na Fase 2 do experimento.

Fonte de Variação	Gf	Quadrado Médio (p-valor)	
		Fase 2	
<b>Probióticos (P)</b>	2	0,2852 (0,1183)	
<b>Erro (a)</b>	15	0,1154	
<b>Data (D)</b>	1	0,0361 (0,4471)	
<b>D x P</b>	2	0,4820 (0,0040)	
<b>Erro(b)</b>	15	0,0592	
<b>P &lt; <math>\alpha</math></b>		0,1303	

$\alpha$ : nível de significância 5%

Tabela XIX - Análise de variância para a globulina, em g/dL, caracterizada pela troca de uma dieta *Super Premium* para uma dieta comercial *Standard*, para filhotes de cães Beagle, nas Fases 1 e 2 do experimento.

Fonte de Variação	Gf	Quadrado Médio (p-valor)	
		Fase 1	Fase 2
<b>Probióticos (P)</b>	2	0,2919 (0,2085)	0,6308 (0,1079)
<b>Erro (a)</b>	15	0,1674	0,2434
<b>Data (D)</b>	1	0,0177 (0,3976)	1,4803 (0,0003)
<b>D x P</b>	2	0,0302 (0,3037)	0,0036 (0,9498)
<b>Erro(b)</b>	15	0,0234	0,0698
<b>P &lt; <math>\alpha</math></b>		0,5230	0,6930

$\alpha$ : nível de significância 5%

Tabela XX - Análise de variância para a proteína total, em g/dL, caracterizada pela troca de uma dieta *Super Premium* para uma dieta comercial *Standard*, para filhotes de cães Beagle, nas Fases 1 e 2 do experimento.

Fonte de Variação	Gf	Quadrado Médio (p-valor)	
		Fase 1	Fase 2
<b>Probióticos (P)</b>	2	0,4102 (0,2233)	0,7519 (0,2327)
<b>Erro (a)</b>	15	0,2469	0,4672
<b>Data (D)</b>	1	0,0469 (0,3998)	2,7778 (<0,0001)
<b>D x P</b>	2	0,1302 (0,1589)	0,0169 (0,7235)
<b>Erro(b)</b>	15	0,0625	0,0512
<b>P &lt; <math>\alpha</math></b>		0,8475	0,2315

$\alpha$ : nível de significância 5%

Tabela XXI - Análise de variância para a albumina, em g/dL, caracterizada pela troca de uma dieta *Super Premium* para uma dieta comercial *Standard*, para filhotes de cães Beagle, nas Fases 1 e 2 do experimento.

Fonte de Variação	Gl	Quadrado Médio (p-valor)	
		Fase 1	Fase 2
<b>Probióticos (P)</b>	2	0,1425 (0,1870)	0,1353 (0,2472)
<b>Erro (a)</b>	15	0,2469	0,0881
<b>Data (D)</b>	1	0,0758 (0,0171)	0,2669 (0,0050)
<b>D x P</b>	2	0,0802 (0,4800)	0,0036 (0,8653)
<b>Erro(b)</b>	15	0,0086	0,0247

$\alpha$ : nível de significância 5%

Tabela XXII - Análise de variância para a espessura da parede intestinal, em mm, avaliados por meio do exame ultra-sonográfico, caracterizada pela troca de uma dieta *Super Premium* para uma dieta comercial *Standard*, para filhotes de cães Beagle, nas Fases 1 e 2 do experimento.

Fonte de Variação	Gl	Quadrado Médio (p-valor)	
		Fase 1	Fase 2
<b>Probióticos (P)</b>	2	0,4907 (0,1943)	0,9146 (0,0776)
<b>Erro (a)</b>	15	0,1680	0,3003
<b>Data (D)</b>	1	0,4807 (0,2049)	0,1573 (0,5268)
<b>D x P</b>	2	0,0154 (0,9454)	0,6295 (0,2196)
<b>Erro(b)</b>	15	0,2737	0,3747
<b>P &lt; <math>\alpha</math></b>		0,1705	0,8719

$\alpha$ : nível de significância 5%

Tabela XXIII - Análise de variância para a área de gás intestinal ao raio-x, em cm<sup>2</sup>, caracterizada pela troca de uma dieta *Super Premium* para uma dieta comercial *Standard*, para filhotes de cães Beagle, na Fase 1 do experimento.

Fonte de Variação	Gl	Quadrado Médio (p-valor)*
		Fase 1
<b>Probióticos (P)</b>	2	1,3920 (0,0138)
<b>Erro (a)</b>	15	0,2409
<b>Data (D)</b>	1	1,7303 (0,0077)
<b>D x P</b>	2	1,6370 (0,0029)
<b>Erro(b)</b>	14	0,1793
<b>P &lt; <math>\alpha</math></b>		0,2693

\* Valores transformados por raiz (x)

$\alpha$ : nível de significância 5%

Tabela XXIV - Análise de variância para a área de gás intestinal ao raio-x, em cm<sup>2</sup>, caracterizada pela troca de uma dieta comercial *Standard* para uma dieta *Super Premium*, para filhotes de cães Beagle, na Fase 2 do experimento.

Fonte de Variação	Gl	Quadrado Médio (p-valor)
		Fase 2
<b>Probióticos (P)</b>	2	27,3467 (0,0829)
<b>Erro (a)</b>	15	9,9605
<b>Data (D)</b>	1	1,4659 (0,6933)
<b>D x P</b>	2	12,5482 (0,2832)
<b>Erro(b)</b>	14	9,0131
<b>P &lt; <math>\alpha</math></b>		0,4769

$\alpha$ : nível de significância 5%