EFEITO DO USO DE OSSOS COMO ITENS MASTIGATÓRIOS SOBRE A MICROBIOTA ORAL DE CÃES ADULTOS A CURTO PRAZO

GIOVANE KREBS[1], CAROLINE FREDRICH DOURADO PINTO[1]; VÍVIAM NUNES PIGNONE[2], ALEXANDRE KLEBER SILVEIRA[3]; JULIO FURTADO[1]; LUCIANO TREVIZAN[1]

[1]Departamento de Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil[2]AllPet Odonto, Rio Grande do Sul, Brasil[3]Departamento de Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Contato: giokrebs@gmail.com

Resumo: O cálculo dentário (CD) é um dos principais sintomas associados à periodontite em cães. A remoção mecânica da placa bacteriana e do CD ocorre através da profilaxia oral periódica e pelo uso de itens mastigatórios. Estudos recentes demonstraram a eficácia de ossos na remoção do CD, porém as alterações na microbiota oral decorrentes deste processo permanecem desconhecidas. O objetivo do estudo foi avaliar o efeito da suplementação com ossos autoclavados do tipo esponjoso (OEA) ou compacto (OCA) por 13 dias contínuos sobre a microbiota oral de cães com CD pré-existente. Amostras de saliva (SAL) e do conteúdo do sulco gengival (SG) foram coletadas nos dias 0 - previamente à suplementação - e 14 dias após. As amostras foram analisadas em pool por tratamento pelo sequenciamento da região V3/V4 do gene 16S rDNA pelo Illumina MiSeq. A proporção de Proteobacteria aumentou na SAL (33,0% vs. 52,4%) e no SG (17,5% vs. 76,3%) após a suplementação com OEA. Moraxella sp. e Bergeyella sp. aumentaram na SAL e no SG do grupo OEA. Não houve alterações na abundância de filos e gêneros bacterianos no grupo OCA, com predomínio de Porphyromonas sp. na SAL e SG antes e após a suplementação. A suplementação contínua com OEA produziu ampla modificação na microbiota oral das regiões analisadas.
PalavrasChaves: Ossos autoclavados; filo bacteriano; gênero bacteriano; saúde oral

EFFECT OF USE OF BONES AS MASTIGATORY ITEMS ON THE ORAL MICROBIOTA OF ADULTS DOGS IN A SHORT-TERM

Abstract: Dental calculus (DC) is one of the main symptoms associated with periodontitis in dogs. The mechanical removal of plaque and DC occurs through periodic oral prophylaxis and the use of masticatory items. Recent studies have demonstrated the effectiveness of bones in removing DC, however the changes in the oral microbiota resulting from this process remain unknown. The aim of the study was to evaluate the effect of supplementation with autoclaved spongy (ASB) or compact (ACB) bones for 13 continuous days on the oral microbiota of dogs with pre-existing DC. Samples of saliva (SAL) and gingival sulcus content (GS) were collected on days 0 - before supplementation - and 14 days after. Samples were analyzed in pool by treatment by sequencing the V3 / V4 region of the 16S rDNA gene by Illumina MiSeq. The proportion of Proteobacteria increased in SAL (33.0% vs. 52.4%) and in GS (17.5% vs. 76.3%) after supplementation with ASB. Moraxella sp. and Bergeyella zoohelcum increased in SAL and GS of the ASB group. There were no changes in the phyla and genus bacterial abundance in the ACB group, with a predominance of Porphyromonas sp. in SAL and GS before and after supplementation. Continuous supplementation with ASB produced a wide modification in the oral microbiota of the analyzed regions.
Keywords: Autoclaved bones; bacterial phylum; bacterial genus; oral health

Introdução: A periodontite afeta 44 a 81% dos cães a partir dos 2 anos de idade (Kortegaard et al., 2008). A suplementação com itens mastigatórios mostrou-se eficiente na redução da placa supragengival e do cálculo dentário em cães (Marx et al., 2016; Quest, 2013). Recentemente, a microbiota oral associada à saúde e periodontite foi identificada pelo sequenciamento do gene 16S rRNA. Na placa saudável, predominam bactérias Gram-negativas como Porphyromonas sp., Bergeyella sp. e Moraxella sp., e na doença espécies anaeróbias Gram-positivas (Davis et al., 2013). O avanço da periodontite promove redução de Bergeyella zoohelcum, Moraxella sp., Pasteurellaceae sp. e Neisseria shayeganii (Wallis et al., 2015). Embora existam inúmeros produtos específicos para a saúde oral, faltam estudos demonstrando seus efeitos sobre a microbiota oral. Assim, o estudo avaliou os efeitos da suplementação contínua por 13 dias com ossos autoclavados de diferentes densidades sobre a microbiota oral de cães adultos

Material e Métodos: Foram utilizados 12 cães Beagle adultos (6 machos e 6 fêmeas), hígidos e inteiros, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado. Os animais foram mantidos em gaiolas metabólicas inox (1,0x1,0x1,5m) instaladas em sala com controle de temperatura, umidade e luminosidade por 20h com ossos e 4h livres no pátio. Os tratamentos foram compostos por ossos autoclavados esponjoso (OEA) e compacto (OCA), fornecidos diariamente por 13 dias consecutivos após a refeição da manhã. Os cães foram alimentados 2 vezes por dia, com dieta comercial seca, livre de polifosfatos, atendendo às necessidades energéticas de manutenção (130 kcal de EM x kg0,75/dia) de acordo com o NRC (2006). As amostras de saliva (SAL) e do conteúdo do sulco gengival (SG) foram coletadas individualmente nos dias 0 (previamente ao início da suplementação) e 14 (1 dia após o término da suplementação) por uma dentista veterinária. Um swab foi coletado de toda a cavidade oral (gengivas, língua, bochechas e dentes) representando a amostra de SAL. Outra amostra foi coletada diretamente do SG. As amostras de SAL e SG foram analisadas separadamente em pool: OEA - cães suplementados com osso esponjoso; OCA - cães suplementados com osso compacto. O sequenciamento da região V3/V4 do gene 16S rDNA foi realizado pela Neoprospecta Microbiome Technologies (Santa Catarina, Brasil), utilizando a plataforma MiSeq (Illumina, Inc., San Diego, CA). Análises qualitativas e quantitativas de filos e gêneros bacterianos foram realizadas por frequência nos

dias 0 e 14 na SAL e SG utilizando o Microsoft Excel 2019.

Resultado e Discussão: A suplementação com OEA e OCA foi eficiente na remoção do CD, com destaque para o efeito do OEA sobre a microbiota oral. Antes da suplementação os filos mais abundantes na SAL e SG dos dois grupos eram Bacteroidetes, Proteobacteria e Fusobacteria (Figura 1); similarmente ao encontrado por Sturgeon et al. (2013) em cães saudáveis. A suplementação com OEA promoveu alteração na abundância de filos e gêneros na SAL e SG (Figuras 1 e 2), com aumento acentuado de Moraxella e Bergeyella, gêneros relacionados à placa saudável e precoce (Sturgeon et al., 2013; Wallis et al., 2015). Além disso, o grupo OEA apresentou maior redução na abundância de Porphyromonas e Fusobacterium, bactérias associadas à periodontite (Flancman et al., 2018). A suplementação com OCA não alterou a abundância relativa de filos e gêneros na SAL e SG. Os gêneros mais abundantes nos dias 0 e 14 foram Porphyromonas e Fusobacterium, associados à periodontite leve e grave devido às suas características anaeróbias e oportunistas, favoráveis ao ambiente anaeróbico da inflamação (Davis et al., 2013). O efeito expressivo do OEA sobre a microbiota da SAL e SG pode ser devido às suas características físicas, principalmente a porosidade, que permite a penetração dos dentes na matriz óssea, aumentando o contato dente-osso como relatado por Marx et al. (2016). O CD consiste em carbonatos e fosfatos de cálcio, e apenas a abrasão mecânica é capaz de remover. Apesar da dureza, o OCA não permite o mesmo contato dente-osso, diminuindo assim a remoção mecânica do CD e a alteração da microbiota oral.

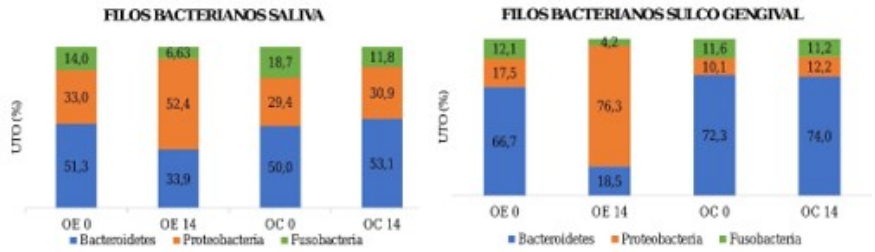


Figura 1. Filos bacterianos identificados pelo sequenciamento do gene 16S rDNA, representados por unidades taxonômicas operacionais (UTO), em cães Beagle adultos antes e após a suplementação com ossos esponjosos (OE) e ossos compactos (OC).

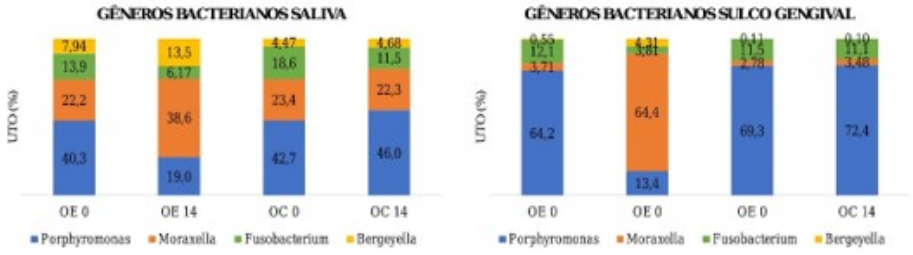


Figura 2. Gêneros bacterianos identificados pelo sequenciamento do gene 16S rDNA, representados por unidades taxonômicas operacionais (UTO), em cães Beagle adultos antes e após a suplementação com ossos esponjosos (OE) e ossos compactos (OC).

Conclusão: Como esperado, a maior remoção do CD promovida pelo OEA, devido à sua porosidade, impactou positivamente a microbiota oral aumentando a abundância relativa de bactérias associadas à saúde, tanto na SAL quanto no SG. Desta forma, itens mastigatórios eficientes na remoção de CD podem ter efeito na profilaxia oral devido à redução de bactérias patogênicas na cavidade oral.

Agradecimentos: Os autores agradecem o apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES.

Referências Bibliográficas: DAVIS, I. J.; WALLIS, C.; DEUSCH, O.; COLYER, A.; MILELLA, L.; LOMAN, N.; HARRIS, S. A cross-sectional survey of bacterial species in plaque form client owned dogs with healthy gingiva, gingivitis or mild periodontitis. PLoS One, v. 8, n. 12, e83158, 2013.FLANCMAN, R.; SINGH, A.; WEESE, J. S. Evaluation of the impact of dental prophylaxis on the oral microbiota of dogs. PLoS One, v. 13, n. 6, e0199676, 2018.KORTEGAARD, H. E.; ERIKSEN, T.; BAELUM, V. Periodontal disease in research beagle dogs – an epidemiological study. The Journal of Small Animal Practice, v. 49, n. 12, p. 610-616, 2008.MARX, F. R.; MACHADO, G. S.; PEZZALI, J. G.; MARCOLLA, C. S.; KESSLER, A. M.; AHLSTRØM, Ø.; TREVIZAN, L. Raw beef bones as chewing items to reduce dental calculus in Beagle dogs. Australian Veterinary Journal, v. 94, n. 1-2, p. 18-23, 2016.NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient requirements of dogs and cats. National Academies Press. Washington, USA, 2006.QUEST, B.W. Oral health benefits of a daily dental chew in dogs. Journal of Veterinary Dentistry, v. 30, n. 2, p. 84-87, 2013.STURGEON, A.; STULL, J. W.; COSTA, M. C.; WEESE, J. S. Metagenomic analysis of the canine oral cavity as revealed by high-throughput pyrosequencing of the 16S rRNA gene. Veterinary Microbiology, v. 162, n. 2-4, p. 891-898, 2013.WALLIS, C.; MARSHALL, M.; COLYER, A.; O'FLYNN, C.; DEUSCH, O.; HARRIS, S. A longitudinal assessment of changes in bacterial community composition associated with the development of periodontal disease in dogs. Veterinary Microbiology, v. 181, n. 271-282, 2015.