

## FARINHA DE LARVA DE MOSCA SOLDADO NEGRO (*HERMETIA ILLUCENS*) EM DIETA EXTRUSADAS SOBRE A SAÚDE ORAL DE CÃES

RAFAELA S. CARVALHO<sup>1</sup>, ELIAS L. S. NETO<sup>2</sup>; RAYSSA K. N. CARDOSO<sup>1</sup>; LUNA A. T. A. SANTOS<sup>1</sup>; MIRNA X. S. SANTOS<sup>1</sup>; WILMER A. Z. RESTAN<sup>2</sup>; BRUNA A. LOUREIRO<sup>1</sup>

1 Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, Brasil; 2 Universidade Federal da Paraíba, Areia, Paraíba, Brasil  
Contato: rafaelasjcarvalho@gmail.com / Apresentador: : RAFAELA S. CARVALHO

**Resumo:** Objetivou-se avaliar o efeito da farinha de *Hermetia illucens* (HI) sobre saúde oral de cães na quantificação de bactérias produtoras de compostos sulfurados voláteis (CSV); escore de mau hálito e microbiota da saliva. Antes do início do estudo todos os animais foram submetidos a limpeza dentária. Oito cães beagle foram utilizados em delineamento crossover, com 2 dietas e dois períodos de 50 dias: onde 4 cães consumiram dieta contendo farinha de HI e 4 cães consumiu dieta com farinha de vísceras de frango. Ao final do primeiro período os tratamentos foram invertidos. Após 50 dias de consumo da dieta HI, verificou-se redução significativa na contagem de bactérias produtoras de CSV, alteração nos índices de riqueza da diversidade alfa (Eveness Pielou) e tendência a menor escore do mau hálito neste grupo. O grupo HI apresentou maior abundância relativa de *Moraxella* na saliva. Este gênero é reconhecido com indicador de saúde oral, presente em maior abundância em bocas saudáveis e reduzido na doença periodontal, o que indica o potencial da HI na prevenção da doença periodontal. A HI diminuiu a concentração de bactérias produtoras de CSV, parece prevenir a halitose e modula positivamente a microbiota oral, contribuindo com aspectos importantes da saúde oral de cães.

**PalavrasChaves:** doença periodontal; hálito; farinha de insetos; petfood

## BLACK SOLDIER FLY LARVA MEAL (*HERMETIA ILLUCENS*) IN EXTRUSED DIET ON THE ORAL HEALTH OF DOGS

**Abstract:** The aim was to evaluate the effect of *Hermetia illucens* (HI) meal on the oral health of dogs in the quantification of bacteria producing volatile sulfur compounds (CVS), bad breath score and saliva microbiota. Prior to the start of the study, all animals underwent dental cleaning. Eight beagle dogs were used in a crossover design, with 2 diets and two periods of 50 days: where 4 dogs consumed a diet containing HI meal and 4 dogs consumed a diet with poultry viscera meal. At the end of the first period, treatments were reversed. After 50 days of consumption of the HI diet, there was a significant reduction in the count of bacteria producing CSV, alteration in the alpha diversity richness indices (Eveness Pielou) and a tendency to lower bad breath scores in this group. The HI group had a higher relative abundance of *Moraxella* in saliva. This genus is recognized as an indicator of oral health, present in greater abundance in healthy mouths and reduced in periodontal disease, which indicates the potential of HI in the prevention of periodontal disease. HI decreased the concentration of CSV-producing bacteria, seems to prevent halitosis and positively modulates the oral microbiota, contributing to important aspects of oral health in dogs.

**Keywords:** periodontal disease; breath; insect meal; dog food

**Introdução:** A busca por novos ingredientes de alta qualidade e menor impacto ambiental é crescente em petfood. Além de qualidade nutricional, é desejável que estes apresentem atividade funcional<sup>1</sup>. O uso de insetos na nutrição pet tem sido foco de estudos<sup>2</sup>. Devido a capacidade de crescer em resíduos orgânicos de baixo valor nutricional e composição nutricional rica em gordura e proteína, a larva da mosca soldado-negro (*Hermetia illucens*, HI) tem se destacado<sup>3</sup>. A HI possui potencial antimicrobiano devido à altas concentrações de ácido láurico e peptídeos antimicrobianos<sup>2</sup>, capazes de estimular o sistema imune e atuar contra microrganismos patógenos<sup>4</sup>. A doença periodontal pode ser prevenida ou controlada através da remoção de placa e cálculos dentários. Certos alimentos podem não apenas auxiliar na remoção da placa bacteriana, mas também modular a microbiota oral e contribuir com a saúde oral de cães<sup>5</sup>. Objetivou-se avaliar o efeito de dieta contendo BSFL sobre parâmetros de saúde oral de cães.

**Material e Métodos:** Foram utilizados oito cães beagle (3,2±1,4 anos e 10,9±1,4 kg) e 2 alimentos extrusados isonutrientes (24% PB, 13,5% gordura, 6% cinzas e 4% FB) para manutenção de cães adultos: 1) contendo 26% de farinha de subprodutos de aves (SPA) e 2) contendo 29,5% de BSFL (ingrediente com 52% PB e 12% gordura). Todos os animais foram submetidos a limpeza dentária antes do estudo. O estudo foi conduzido em delineamento crossover, com 2 dietas e 2 períodos de 50 dias, com período washout de 7 dias (consumindo dieta premium comercial) entre períodos. Foram avaliados antes e após 50 dias de consumo os parâmetros de saúde oral: escore de mau hálito dos cães (escala de intensidade do odor de 0 a 5)<sup>7</sup> e cultivo em meio seletivo e contagem de bactérias produtoras de compostos sulfurados voláteis (CSV)<sup>8</sup> (Figura 1) utilizando amostras de placa dental dos cães (dentes caninos, pré molares e molares superiores e inferiores do lado esquerdo e direito da boca). No dia 50, saliva foi coletada para extração de DNA e amplificação da região do gene 16srRNA<sup>9</sup>. A diversidade alfa foi calculada pela biblioteca “phyloseq”, “vegan” e “microbiome”, a diversidade beta foi calculada utilizando o QUIIME2 pipeline, por perMANOVA (10.000 permutações). Diversidade alfa e abundâncias relativas foram analisadas por Mann-Whitney; escore do mau hálito foi analisado por teste Kruskal-Wallis e a contagem de bactérias produtoras de CSV por ANOVA com medidas repetidas no tempo.

**Resultado e Discussão:** A contagem de bactérias produtoras de CSV foi realizada nas diluições 10<sup>-3</sup> e 10<sup>-4</sup>, sendo observada diferença estatística entre os períodos de consumo e as dietas (P=0,047), onde HI promoveu menor concentração de bactérias produtoras de CSV após 50 dias de consumo (Figura 2). Este efeito pode estar associado a presença de peptídeos

antimicrobianos<sup>2</sup> na larva de mosca soldado-negro e maior teor de ácido láurico na dieta HI (1,56% vs 0%), que também tem ação sobre bactérias gram-negativas e positivas. Menor contagem de bactérias produtoras de CSV está relacionado à menor formação de placa dental, halitose e, conseqüentemente, prevenção e controle da doença periodontal em cães. Estas bactérias são responsáveis pela produção de compostos como sulfeto de hidrogênio, metil mercaptano e dimetilsulfeto, que contribuem com o mau hálito e são tóxicos para os tecidos de suporte do dente<sup>8</sup>. Verificou-se também, tendência da dieta HI a menor pontuação no escore de mau hálito (HI=1 e SPA=2, na escala) (P=0,097). Na avaliação da microbiota, a diversidade alfa diferiu entre dietas apenas no índice Evenness Pielou (P=0,035), indicando que não houve diferença na riqueza, mas sim, na distribuição das espécies; sem diferença significativa na diversidade beta. Verificou-se maior abundância relativa de *Moraxella*, na saliva de cães alimentados com HI (Figura 3). Esta espécie é reportada como uma das mais predominantes em bocas saudáveis<sup>10</sup>. Além disso, diversos estudos mostram uma correlação negativa entre maiores abundâncias relativas desta espécie com o aumento da doença periodontal<sup>11</sup>.



Figura 1. Colônias de bactérias produtoras de CSV em meio de cultura ágar base columbia enriquecido (Allaker et al, 2008) específico para cultivo de bactérias estritamente anaeróbicas.

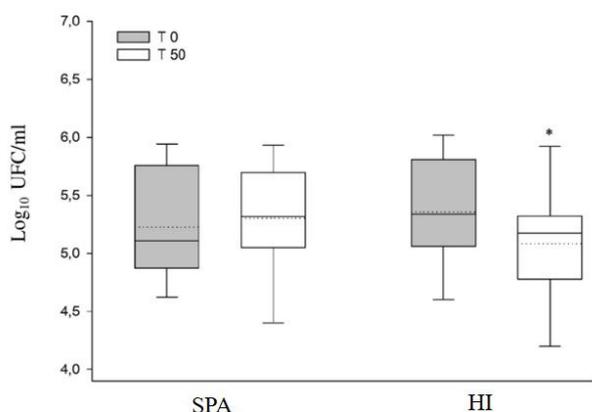


Figura 2. Efeito das dietas HI e SPA sobre bactérias produtoras de CSVs em placa dental de cães após 50 dias de consumo.

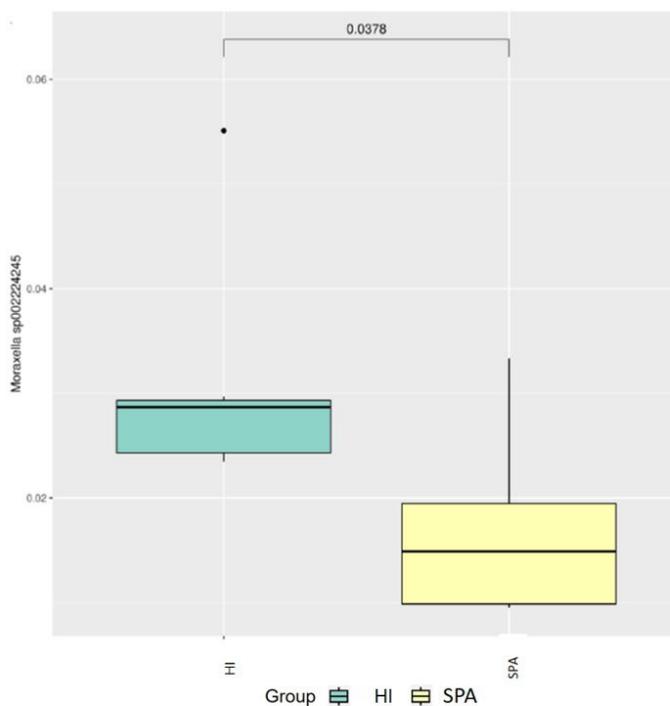


Figura 3. Efeito das dietas HI e SPA na abundância relativa da espécie *Moraxella sp002224245* na saliva de cães após 50 dias de consumo.

**Conclusão:** Recomenda-se o uso da larva de mosca soldado negro em dietas para cães, uma vez que este ingrediente modula positivamente a microbiota oral, aumentando a abundância de *Moraxella*, suprimindo bactérias produtoras de CSV e o mau hálito, melhorando os parâmetros de saúde oral de cães.

**Agradecimentos:** À Protix B.V pelo financiamento a pesquisa.

**Referências Bibliográficas:** 1LEI, X. J. et al. Evaluation of supplementation of defatted black soldier fly larvae meal in beagle dogs. *Annals of animal science*,19,20192IÑAKI, G. J. et al. Black soldier fly Prospection of the inclusion of insect-based ingredients in extruded foods. *Food Chemistry Advances*,1,20223MICKALAD, A. M. et al. Black Soldier Fly Larvae Protein Derivatives Potential to Promote Animal Health. *Animals*,10,20204BENZERTIHA, A. et al. Tenebrio molitor and Zophobas morio full-fat meals as functional feed additives affect broiler chickens' growth performance and immune system traits. *Poultry science*,99,20205OBA, P. M. et al. Microbiota populations in supragingival plaque, subgingival plaque, and saliva habitats of adult dogs. *Animal microbiome*,3,2021a6European Pet Food Industry (FEDIAF). Nutritional guidelines for complete and complementary pet food for cats and dogs 20207GREENMAN, J. et al. Study on the organoleptic intensity scale for measuring oral malodor. *Journal of dental research*,83,20048ALLAKER, R. P. et al. Topographic distribution of bacteria associated with oral malodour on the tongue. *Archives of oral biology*,53,8-12,20089ELLIOTT, D. R. et al. Cultivable oral microbiota of domestic dogs. *Journal of clinical microbiology*,43,5470-5476,200510DAVIS, E. M. Gene sequence analyses of the healthy oral microbiome in humans and companion animals a comparative review. *Journal of Veterinary Dentistry*,33,97-107,201611OBA, P. M. et al. Dental chews positively shift the oral microbiota of adult dogs. *Journal of animal science*,99,100,2021b