

PRÓPOLIS E ROMÃ (*PUNICA GRANATUM L.*) EM BISCOITOS ASSADOS PARA CÃES: IMPACTOS NA SAÚDE E MICROBIOMA ORAL

PIETRA F. B. SANTOS¹, LARISSA S.M. BAPTISTA¹, MANOELA K.R. SANTOS¹, CAROLINE F.D. PINTO², LUCÉLIA HAUPTLI¹, GLAUBER WAGNER¹, TATIANY A.T. SORATTO¹, LUCIANO TREVIZAN², PRISCILA O. MORAES¹

Universidade Federal de Santa Catarina¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul²
Contato: pietra.zoot15@gmail.com / Apresentador: PIETRA F. B. SANTOS

Resumo: O objetivo do estudo foi avaliar biscoitos assados contendo um blend de extrato de romã e própolis na saúde oral de cães. Doze cães Beagle foram divididos em 3 tratamentos, referente ao tipo de biscoito recebido, biscoito basal, sem aditivo; biscoito basal com 0,6% hexametáfosfato de sódio; biscoito basal com blend de 0,6% de extrato de romã e 0,6% de extrato de própolis. Foi avaliada a área coberta por cálculo dental no início e aos 19 dias da oferta dos biscoitos, e realizada a coleta de amostras orais para a análise do microbioma via sequenciamento Illumina. Os dados foram submetidos a ANOVA, seguido de Tukey 0,5%. Todos os cães apresentaram redução da área coberta por cálculo dental aos 19 dias. No entanto, cães do tratamento com blend (T3) apresentaram maior percentual de redução ($p < 0,05$). Aos 19 dias houve uma redução na abundância relativa das famílias Actinomycetaceae e Spirochaetaceae e um aumento de Moraxellaceae e Defluvitaleaceae, para todos os cães. Os cães que receberam biscoitos com blend (T3) apresentaram aumento das famílias Neisseriaceae e Pasteurellaceae. O uso do blend de extratos de romã e própolis em biscoitos assados foi eficiente em melhorar a saúde oral, reduzindo a área coberta por cálculo dentário e modulando a microbiota oral em cães.

PalavrasChaves: aditivo; Beagle; cálculo dentário; microbiota; tártaro

PROPOLIS AND PROMEGRANATE (*PUNICA GRANATUM L.*) IN BAKED SNACKS FOR DOGS: IMPACT ON ORAL HEALTH AND MICROBIOMA OF DOGS

Abstract: The aim of this study was to evaluate the effectiveness of baked snacks containing a blend of pomegranate and propolis extracts compared to sodium hexametaphosphate on oral health oral and microbiota of dogs. A total of 12 Beagle were divided into 3 groups, each receiving a respective treatment with baked biscuits containing: 0.6% sodium hexametaphosphate, or a blend with 0.6% of each extract or without any additive (control group). The area covered by dental calculus was evaluated at 0 and 19 days after the biscuits were offered, and oral samples were collected for microbiome analysis using Illumina sequencing. For statistical analysis, ANOVA was used followed by Tukey 0.5%. All treatments showed a reduction in the covered area at the end of the 19 days, however, the blend treatment showed a higher percentage ($p < 0.05$). At 19 days there was a reduction in the relative abundance of Actinomycetaceae and Spirochaetaceae and an increase of Moraxellaceae and Defluvitaleaceae, for all treatments. The group that received the blend showed an increase in the Neisseriaceae and Pasteurellaceae. The use of a blend of pomegranate and propolis extracts in baked biscuits was efficient to improve oral health, reducing the area covered by dental calculus and modulating the oral microbiota.

Keywords: dental calculus; microbiota; oral health; snacks

Introdução: A doença periodontal tem alta prevalência na população canina. A fase inicial é caracterizada pela formação da placa dentária que consiste de um biofilme aderido ao esmalte do dente, compostos principalmente por microrganismos envoltos por proteínas e glicoproteínas salivares e do fluido gengival. A comunidade bacteriana da estrutura do biofilme é dinâmica (Stella et al., 2018). Fontes de polifosfatos, como o hexametáfosfato de sódio, são utilizados em alimentos comerciais para prevenir a mineralização da placa dentária e formação do cálculo dentário (Paiva et al., 2007). Santos et al. (2021) observaram que a utilização dos biscoitos com extrato de romã e própolis foi eficiente para a redução de área coberta de cálculo dentário em cães, assemelhando-se a resposta do hexametáfosfato de sódio. O objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência de biscoitos assados contendo um blend de extratos de romã e própolis em comparação ao hexametáfosfato de sódio na saúde oral e microbiota canina.

Material e Métodos: Os biscoitos foram produzidos de acordo com Santos et al. (2021), formando os tratamentos: biscoito sem a adição de aditivos, biscoitos com 0,6% hexametáfosfato de sódio e; biscoito contendo blend com 0,6% de extrato de romã e 0,6% de própolis. A composição nutricional analisada foi de 6,11% de umidade, 4206 kcal/kg de energia bruta e 11,7% de proteína bruta. Os biscoitos foram ofertados por 19 dias e o consumo individual diário foi calculado para não exceder 10% da energia de manutenção. Foram utilizados 12 cães Beagle, machos e fêmeas não castrados, com idade de 4 anos, totalizando 4 animais por tratamento, sem limpeza dental prévia. A dieta consumida pelos cães não continha aditivo para a saúde oral. Para calcular a área coberta por cálculo dentária a arcada dentária foi fotografada em ambos os lados nos dias zero, 3, 7, 11, 15 e 19 de experimento, as imagens foram analisadas utilizando o software Image-Pro® Plus, de acordo com a metodologia descrita por Abdalla et al. (2009). Foi verificada a normalidade dos dados pelo teste Shapiro-Wilk, submetidos a análise de variância e diferenças avaliadas pelo teste de Tukey 5%. Para a análise de microbiota foi coletada utilizando swab nas gengivas no início do experimento e no final (dia 19). Amostras de quatro cães foram agrupadas para sequenciamento com base no tratamento e tempo de coleta utilizando o sequenciamento Illumina. Foram analisados os índices de alfa-diversidade e os dados de abundância relativa, conforme Vieira et al (2020).

Resultado e Discussão: Houve maior redução do percentual da área coberta por cálculo dentário ao final do período experimental para os cães que consumiram biscoitos com o blend (T3) quando comparado aos demais tratamentos ($p = 0,049$). A fricção mecânica é um fator que pode auxiliar a redução da área coberta por cálculo, mesmo na ausência de aditivos.

Santos et al. (2021) demonstraram que biscoitos assados sem aditivos reduziram a área do cálculo dentário em cães (Figura 1). Não houve diferença estatística para os índices avaliados de alfa diversidade (CHAO-1, Shanon e Simpson). Quanto ao efeito do tempo, observou-se o efeito para 13 famílias e 4 gêneros em todos os cães avaliados. Destacando-se o efeito para a redução na abundância relativa de Actinomycetaceae e Spirochaetaceae e dos gêneros Actinomyces e Treponema, relacionadas com o início da periodontite, e um aumento das famílias Moraxellaceae e Defluvitaleaceae, relacionadas com uma boca canina saudável (Davis et al., 2013). Famílias gram-positivas aeróbicas Erysipelotrichaceae reduziram apenas nos cães que consumiram biscoitos com hexametáfosfato e blend (Figura 2). No entanto, houve um aumento na abundância relativa das famílias Neisseriaceae e Pasteurellaceae nos cães do tratamento blend. Estas famílias são gram-negativas, associadas a saúde oral de cães. Um cenário com uma redução de bactérias gram-negativas é um indicador do desenvolvimento da periodontite, principalmente associado ao aumento de bactérias gram-positivas como, por exemplo, Actinomycetaceae e Erysipelotrichaceae (Davis et al., 2013).

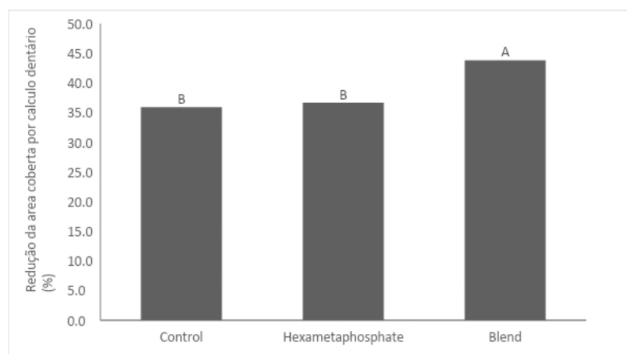


Figura 1- Porcentagem de redução total da cobertura por cálculo dentário. A, B: Médias com letras diferentes diferem-se pelo teste de Tukey ($p=0,049$)



Figura 2 – Mapa de calor da abundância relativa da microbiota dos cães nos dias 0 e 19 de experimento.

Conclusão: O consumo de biscoitos assados reduziu a área coberta do dente e reduziu bactérias gram-positivas relacionadas a periodontite em cães. Cães que consumiram biscoitos contendo blend de extratos de própolis e romã por 19 dias, apresentaram maior redução da área coberta e aumento de bactérias das famílias gram-negativas como Neisseriaceae e Pasteurellaceae.

Referências Bibliográficas: Abdalla, S. L., Silva, M. F., Pereira, A. R. C., Azevedo, F. D., Fernandes, J. I., Minono, G. P., & Botelho, R. P. 2009. **Computer quantification for the evaluation of dental plaque and dental calculus index in the digital image of vestibular surface of the teeth of dogs.** *Pesq. Vet. Bras.* 29(8):666-672. DAVIS, I. J. et al. **A cross-sectional survey of bacterial species in plaque from client owned dogs with healthy gingiva, gingivitis.** *PLoS ONE*, v. 8, n. 12, p. 1–12, 2013. SANTOS, M. K. R.; BAPTISTA, L. M. S.; HAUPTLI, L.; LIMA, A. L. F.; NETTO, D. P.; DAHLKE, F.; MORAES, P. O. **Development of baked biscuits containing propolis and pomegranate for oral health in dogs.** *Animal Feed Science and Technology*, 280, 115056, 2021. STELLA, J.L.; BAUER, A. E.; CRONEY, C. **A cross-sectional**

study to estimate prevalence of periodontal disease in a population of dogs (*Canis familiaris*) in commercial breeding facilities in Indiana and Illinois. PloS one, v. 13, n. 1, p. e0191395, 2018. PAIVA, A. C.; SAAD, F. M. O. B.; LEITE, C. A. L.; DUARTE, A.; PEREIRA, D. A. R.; JARDIM, C. A. C. **Eficácia dos coadjuvantes de higiene bucal utilizados na alimentação de cães.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 59, 1177-1183, 2007 VIEIRA, A. M.; SORATTO, T. A. T.; CARDINAL, K. M.; WAGNER, G., HAUPTLI, L.; LIMA, A. L. F.; RIBEIRO, A. M. L. **Modulation of the intestinal microbiota of broilers supplemented with monensin or functional oils in response to challenge by *Eimeria* spp.** PloS One, 15(8), e0237118, 2020.