

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DA PLACA BACTERIANA DA DOENÇA PERIODONTAL EM CÃES

FONSECA, S. A.¹; GALERA, P. D.²; SILVA, A. S.³; SILVA, A. B. R.³; PERECMANIS, S.²; MARÇOLA, T. G.³; DRUMMOND, V. O.³.

INTRODUÇÃO

A doença periodontal (DP) é uma das alterações orais mais comuns em cães e pode afetar sua saúde e qualidade de vida (REZENDE et al, 2004). Ela acomete o tecido de suporte do dente e o periodonto, sendo a principal causa de perda de dentes em animais domésticos (WEST-HYDE & FLOYD, 1997; DOMINGUES et al, 1999). Dentre os fatores predisponentes a esta afecção incluem-se raça, idade, genética, dieta, mastigação e saúde do animal (HOFFMANN & GAENGLER, 2004). Entretanto, é a presença de bactérias que influencia no processo contínuo da DP e atribui-se à placa bacteriana a causa da maioria das afecções bucais (DOMINGUES et al, 1999; MEIRA et al, 2007). Existem dois tipos de placa, a supra e a subgingival. A placa supragengival é geralmente composta por bactérias aeróbias Gram positivas, enquanto a placa subgingival é mais complexa. O surgimento e a progressão da DP caracterizam-se pelo desvio no tipo predominante da microflora subgingival, que ocorre na ausência de higiene bucal (BRUSCHI et al, 2006). Microorganismos aeróbios, como *Actinomyces* e *Streptococcus*, aderem à camada da placa madura, podendo acarretar retração ou hiperplasia gengival. Com a evolução do processo, a microbiota passa a ser anaeróbia e, geralmente, Gram negativa (DOMINGUES et al, 1999; REZENDE et al, 2004). *Bacteróides* (*Porphyromonas*) e *Fusobacterium* são os microorganismos anaeróbios subgingivais mais comumente associados à periodontite (WEST-HYDE & FLOYD, 1997). As bactérias, por meio de seu metabolismo, produzem enzimas e toxinas que lesam as estruturas periodontais e iniciam uma resposta inflamatória, podendo contribuir para a proliferação bacteriana (REZENDE et al, 2004). Além da afecção bucal, as bactérias presentes em lesões na cavidade oral podem penetrar na corrente sanguínea e se acumular em outros órgãos, principalmente rins, fígado e coração, e neles causar lesões (DOMINGUES, 1997). Verifica-se então que, para o estabelecimento da etiopatogenia da DP e de sua terapia adequada, é importante a determinação da microbiota da placa bacteriana subgingival, objetivo desse estudo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram avaliados 20 cães da raça labrador retriever, 14 machos (70%) e 6 fêmeas (30%), com peso médio de 35,2kg e idades variando entre 1 e 8 anos. Na consulta inicial, os animais foram submetidos a exames pré-operatórios, com avaliação odontológica, exames físicos e laboratoriais (hemograma completo e bioquímicos) e eletrocardiograma (ECG) – este, apenas em animais com idade acima de 7 anos. Os

¹ Aluna da graduação em Medicina Veterinária da UnB, Brasília – DF. E-mail: unb@stellaalves.com. Colônia Agrícola Samambaia Chácara 122 P, Taguatinga, CEP: 72110-600, Brasília – DF.

² Professora da graduação em Medicina Veterinária da UnB – DF.

³ Residente em Medicina Veterinária da UnB, Brasília – DF.

bioquímicos realizados foram: uréia, creatinina, alanina aminotransferase e fosfatase alcalina. À avaliação odontológica, os animais foram clinicamente classificados quanto ao grau de DP em muito discreto, discreto, moderado, avançado e muito avançado. Cada animal foi submetido a uma coleta de amostra de placa bacteriana subgingival. Para as coletas, foram utilizadas luvas cirúrgicas e tubos de papel para endodontia número 40, ambos estéreis, e os animais foram submetidos à contenção física. As coletas foram realizadas afastando-se a gengiva com o auxílio de uma pinça anatômica e introduzindo-se os cones de papel em sítios periodontais que apresentavam sinais clínicos de inflamação. Após a coleta, os cones com material subgingival foram encaminhados em meio tioglicolato (Biobrás[®]), preparado conforme normas do fabricante, ao Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília. No laboratório, as amostras foram incubadas a 37°C por 24 horas. Ato contínuo, foram inoculadas em ágar sangue (Oxoid[®]), preparado conforme normas do fabricante e suplementado com 5% de sangue de ovelha defibrinado, e incubadas sob anaerobiose com uso de Jarra de Gaspak a 37°C por até 48 horas. As colônias crescidas após esse período foram identificadas por análise morfofocelar (coloração de Gram) e testes bioquímicos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

À avaliação clínica odontológica dos 20 animais, nenhum apresentou grau muito discreto, 6 (30%) animais apresentaram grau discreto, 10 (50%) apresentaram grau moderado, 4 (20%) apresentaram grau avançado e nenhum apresentou grau muito avançado de DP. Os animais com grau discreto apresentaram média de idade de 3,1 anos, os com grau moderado apresentaram média de 3,9 anos e os com grau avançado apresentaram média de 6,5 anos (tabela 1). A maior frequência de grau avançado em animais mais velhos também foi descrita por SORENSEN et al (1980), GENCO et al (1998) e LOGAN & BOYCE (1994). Da mesma forma, DUARTE & LOTUFO (1997), em humanos, e REZENDE et al (2004) em cães, observaram correlação entre a DP e a idade do animal. Porém, no segundo trabalho, em apenas 18,9% dos animais estudados o índice de placa aumentou com o decorrer da idade. No trabalho de EURIDES et al (1996), por outro lado, os índices de placa foram semelhantes nas diferentes faixas etárias de cães.

Grau da doença periodontal	Quantidade de animais	Média de idade (anos)
Muito discreto	0	-
Discreto	6 (30%)	3,1
Moderado	10 (50%)	3,9
Avançado	4 (20%)	6,5
Muito avançado	0	-

Tabela1 – Quantidade de animais em cada classificação clínica de grau de doença periodontal e média de idade em anos.

Das 20 amostras de placa bacteriana subgingival coletadas, 17 (85%) apresentaram crescimento bacteriano e foram isoladas 21 colônias. Das 21 colônias, 11 (52,38%) foram identificadas como *Staphylococcus spp.*, 4 (19%) como *Pasteurella spp.*, 4 (19,04%) como *Bacillus spp.*, 1 (4,76%) como *Levedura* e 1 (4,76%) como *Enterococcus spp* (quadro 1).

Quadro 1 – Grau de doença periodontal de cada animal avaliado e microorganismos isolados.

Animal	Grau da doença periodontal	Microorganismo isolado
1	Discreto	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
2	Moderado	<i>Bacillus spp.</i>
3	Avançado	<i>Pasteurella pneumotropica</i> <i>Pasteurella caballi</i>
4	Moderado	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
5	Discreto	<i>Staphylococcus aureus</i>
6	Avançado	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Bacillus spp.</i>
7	Moderado	<i>Staphylococcus lentus</i>
8	Moderado	<i>Staphylococcus gallinarum</i>
9	Discreto	<i>Bacillus spp.</i>
10	Discreto	Sem crescimento
11	Moderado	<i>Pasteurella multocida</i>
12	Moderado	<i>Pasteurella multocida</i>
13	Moderado	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
14	Moderado	<i>Levedura</i>
15	Moderado	<i>Staphylococcus lentus</i>
16	Discreto	Sem crescimento
17	Avançado	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Bacillus spp.</i>
18	Avançado	<i>Staphylococcus gallinarum</i> <i>Enterococcus spp.</i>
19	Discreto	<i>Staphylococcus lentus</i>
20	Moderado	Sem crescimento

O gênero *Staphylococcus* compõe a microbiota oral de cães saudáveis e sua presença não indica necessariamente doença, pois possui baixo potencial periodontopatogênico (GAETTI-JARDIM et al, 2007). A alta incidência de *Pasteurella*, por sua vez, também foi relatada por BARON et al (1994) e BRAGA et al (2005). Os autores desse último trabalho acreditam que a freqüente contaminação causada por *Pasteurella spp* em feridas de mordidas de cães em humanos, demonstrada por TALAN et al (1999), sugere a possibilidade de os cães serem reservatório natural dessa bactéria. Nos estudos de HARVEY et al (1995a) e HARVEY et al (1995b), 56 a 58% dos microorganismos subgingivais isolados de cães e gatos foram aeróbios Gram positivos (*Staphylococcus*

spp e *Streptococcus spp*); os anaeróbios Gram negativos, a maioria *Porphyromonas* ou *Prevotella*, corresponderam a cerca de 16%. No trabalho de DOMINGUES et al (1999), foi avaliada apenas a microbiota anaeróbia envolvida na DP de cães, sendo isoladas bactérias dos gêneros *Porphyromonas spp*, *Bacteroides spp*, *Eubacterium spp*, *Actinomyces spp*, *Propionibacterium spp*, *Prevotella spp* e *Gemella spp*. Nos trabalhos de GIOSO (1993), DOMINGUES et al (1999) e LACERDA & ALESSI (2002), observou-se principalmente bactérias aeróbias Gram positivas em estágios iniciais da DP em cães e, com a evolução do processo, bactérias anaeróbias, mais patogênicas. Da mesma forma, neste estudo, nenhum animal teve o grau de DP classificado clinicamente como muito avançado e todos os microorganismos isolados foram anaeróbios facultativos. Todos os cães com DP avançada apresentaram isolamento de duas colônias diferentes, sugerindo maior diversidade na microbiota periodontal de animais doentes. BRAGA et al (2005) obtiveram resultados semelhantes, com isolamento de um número maior de colônias em animais com doença periodontal do que em animais saudáveis.

CONCLUSÃO

Houve crescimento bacteriano subgingival em 85% dos cães com DP e todos os microorganismos isolados foram anaeróbios facultativos. Observou-se também correlação entre a severidade da DP e a idade dos animais. Os principais gêneros isolados em animais de diferentes graus de DP foram *Staphylococcus* e *Pasteurella*, o que pode sugerir presença natural dessas bactérias na cavidade oral de animais saudáveis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARON, E.; PETERSON L. R.; FINEGOLD S. M. **Diagnostic microbiology**. 9 ed. Flórida: Missouri Mosby. 1994, 958p.
- BRAGA, C. A. S. B.; RESENDE, C. M. F.; PESTANA, A. C. N. R.; CARMO, L. S.; COSTA, J. E.; SILVA, L. A. F.; CARVALHO, M. A. R. Isolamento e identificação da microbiota periodontal de cães da raça Pastor Alemão. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 2, p. 385 – 390, 2005.
- BRUSCHI, M.L.; PANZERI, H.; FREITAS, O.; LARA, E.H.G.; GREMIÃO, M.P.D. Sistemas de liberação de fármaco intrabolsa periodontal. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v. 42, n. 1, p. 29 – 47, 2006.
- DOMINGUES, L. M.; ALESSI, A. C.; SCHOKEN-ITURRINO, R. P.; DUTRA, L. S. Microbiota saprófita associada à doença periodontal em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 51, n. 4, 1999.
- DUARTE, C. A.; LOTUFO, R. F. M. Etiopatogenia da doença periodontal e cárie – Importância da placa bacteriana. In: **Prevenção na Clínica Odontológica**. São Paulo: Artes Médicas, cap. 4, p. 30 – 50, 1997.
- EURIDES, D.; GONÇALVES, G. F.; MAZZANTI, A.; BUSO, A. M. Placa bacteriana dentária em cães. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 26, n. 3, p. 419 – 422, 1996.
- GAETTI-JARDIM, J.E.; GAETTI-JARDIM, E.C.; LINS, S.A.; OLIVEIRA, S.A.; SEMENOFF, A.S. Susceptibilidade de bactérias anaeróbias isoladas de infecções

periplantares e periodontais ao metronidazol, lincosaminas, macrolídeos e tetraciclina. **Odonto Ciência**, Rio Grande do Sul, v. 22, n. 56, p. 131 – 137, 2007.

GENCO, C.A.; DYKE, T.V.; AMAR, S. Animal models for Porphyromonas gingivalis-mediated periodontal disease. **Trends in Microbiology**, Londres, v. 6, n. 11, p. 444 – 449, 1998.

GIOSO, M.A. **Odontologia Veterinária: Pequenos Animais**. 2 ed. São Paulo. 1993, 45p.

HARVEY, C.E.; THORNBERRY, C.; MILLER, B. Subgingival bactéria – Comparison of culture results in dogs and cats with gingivitis. **Journal of Veterinary Dentistry**, Virginia, v. 12, n. 4, p. 147 – 150, 1995a.

HARVEY, C.E.; THORNBERRY, C.; MILLER, B.; SHOFER, F. Antimicrobial susceptibility of subgingival bacterial flora in dogs with gingivitis. **Journal of Veterinary Dentistry**, Virginia, v. 12, n. 4, p. 151 – 155, 1995b.

HOFFMANN, T.; GAENGLER, P., 1996. Periodontia. In.: ROZA, M.R. **Odontologia em Pequenos Animais**. 1. ed. Rio de Janeiro: L.F. Livros de Veterinária, p. 119 – 134, 2004.

LACERDA, M. S.; ALESSI, A. C. Avaliação histobacteriológica de dentes envolvidos com doença periodontal em cães, após raspagem periodontal. **Journal of Bioscience**, Bangalore, v. 18, n. 1, p. 137 – 149, 2002.

LOGAN, E. L.; BOYCE, E. N. Oral health assesment in dogs: parameters and methods. **Journal of Veterinary Dentistry**, Virginia, v. 11, n. 2, p. 58 – 63, 1994.

MEIRA, A.L.T.; TODESCAN, S.M.C.; AZOUBEL, E.; BITTENCOURT, S.; AZOUBEL, M.C.F. Uso de antimicrobianos locais em periodontia: Uma abordagem crítica. **Periodontia**, v. 12, n. 1, p. 83 – 89, 2007.

REZENDE, R. J.; SILVA, F. O. C.; MILKEN, V. M. F.; LIMA, C. A. P.; LIMA, T. B. F. Frequência de placa bacteriana dental em cães. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 20, n. 2, p. 113 – 118, 2004.

SORENSEN, W. P.; LÖE, H.; RAMPJORD. Periodontal disease in the beagle dog. **Journal of Periodontal Research**, v. 15, n. 4, p. 380 – 389, 1980.

WEST-HYDE, L.; FLOYD, M. Odontologia. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária. Moléstias do Cão e do Gato**, 4. ed., São Paulo: Manole, v. 2, p. 1523 – 1524, 1997.