

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE ZOOTECNIA**

HELOÍSA LARA SILVA

**A RELAÇÃO ENTRE A SAÚDE ORAL E MICROBIOMA EM
CÃES UTILIZANDO A TECNOLOGIA 16S: UMA REVISÃO
SISTEMÁTICA**

FLORIANÓPOLIS, SC

2023

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE ZOOTECNIA**

HELOÍSA LARA SILVA

**A RELAÇÃO ENTRE A SAÚDE ORAL E MICROBIOMA EM
CÃES UTILIZANDO A TECNOLOGIA 16S: UMA REVISÃO
SISTEMÁTICA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
como exigência para obtenção do Diploma de
Graduação em Zootecnia da Universidade Federal
de Santa Catarina.

Orientadora: Profa. Priscila de Oliveira Moraes

FLORIANÓPOLIS, SC

2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Silva, Heloísa Lara

A RELAÇÃO ENTRE A SAÚDE ORAL E MICROBIOMA EM CÃES
UTILIZANDO A TECNOLOGIA 16S : Uma revisão sistemática /
Heloísa Lara Silva ; orientadora, Priscila de Oliveira
Moraes, 2023.

43 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências
Agrárias, Graduação em Zootecnia, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Zootecnia. 2. Animais de companhia. 3. Microbioma.
4. Periodontite. I. Moraes, Priscila de Oliveira. II.
Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em
Zootecnia. III. Título.

Helóisa Lara Silva

**A RELAÇÃO ENTRE A SAÚDE ORAL E MICROBIOMA EM CÃES
UTILIZANDO A TECNOLOGIA 16S: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA**

Esta Monografia de Trabalho de Conclusão de Curso foi julgada aprovada e adequada para obtenção do grau de Zootecnista.

Florianópolis, 12 de junho de 2023

Banca Examinadora:

Prof.^a Dr.^a Priscila de Oliveira Moraes
Orientadora
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.^a Dr.^a Lucélia Hauptli

Caroline Fredrich Dourado Pinto

RESUMO

A periodontite é uma doença que afeta cães de todas as raças, tamanhos e idades. Os microrganismos presentes na cavidade oral são os principais agentes responsáveis pelo desenvolvimento e agravação da condição. Sendo assim diversos estudos vêm caracterizando o microbioma oral afim de entender melhor seu papel na saúde dos animais. O objetivo do presente estudo é realizar uma revisão sistemática da literatura, reunindo dados sobre a microbiota e microbioma oral de cães e suas variações em diferentes estados de saúde oral. A presente revisão sistemática encontrou 25 artigos que trazem dados de caracterização da microbiota e microbioma oral, publicados entre 2008 e 2022, e, destes, selecionou 4 artigos que comparam o microbioma em diferentes estados de saúde oral utilizando de tecnologias de sequenciamento genético para identificação das bactérias e suas abundâncias. Os filos e famílias das bactérias encontradas nos cães são divergentes àqueles encontrados no microbioma oral humano. A principal família relacionada ao microbioma não saudável foi a *Peptostreptococcaceae*. As principais famílias relacionadas ao microbioma saudável foram *Neisseriaceae*, *Flavobacteriaceae*, *Moraxellaceae* e *Pasteurellaceae*. A literatura comparando os microbiomas orais saudáveis e não saudáveis ainda é escassa.

Palavras-chave: animais de companhia, microbioma, periodontite

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

SBS	Sequenciamento por síntese (Sequencing by synthesis)
PCR	Reação em cadeia da polimerase (Polymerase chain reaction)
ONT	Oxford Nanopore Technologies
PRISMA	Itens Preferenciais de Relatórios para Revisões Sistemáticas e Meta-Análises
SRD	Sem raça definida
TMO	Transplante de microbiota oral

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	8
2.	OBJETIVOS	10
2.1.	Objetivos Gerais	10
2.2.	Objetivos Específicos	10
3.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
3.1.	Saúde oral dos cães	11
3.2.	A microbiota oral canina	13
3.3.	Metodologias de sequenciamento genético	13
4.	METODOLOGIA	18
4.1.	Pesquisa Literária	18
4.2.	Critérios de Inclusão e Exclusão	18
5.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	21
5.1.	Visão geral dos artigos	21
5.2.	Características gerais dos animais estudados	10
5.3.	Características da microbiota oral	13
5.4.	Comparação entre a microbiota de uma boca saudável e não saudável	15
6.	CONCLUSÕES	20
7.	REFERÊNCIAS	21

1. INTRODUÇÃO

A periodontite é uma doença que atinge entre 44% e 64% dos cães, sendo considerada a doença mais negligenciada na saúde animal (O'NEILL et al., 2014). A placa bacteriana ou biofilme dentário é um material de consistência pegajosa e amarelada que se forma sobre o esmalte dentário, é uma estrutura complexa resultante da colonização e do crescimento bacteriano sob a superfície oral, dentes e tecidos moles adjacentes (NIEMIEC, 2013), sendo apontada como o principal fator etiológico da doença periodontal. A composição desse biofilme é formada por uma matriz orgânica de agregado de bactérias e seus subprodutos, glicoproteínas salivares, partículas de alimentos, substâncias inorgânicas, células epiteliais e inflamatórias (RAKESH et al., 2018).

O cálcio presente na saliva é depositado na placa acumulada e forma o cálculo, que, além de ser mais difícil de remover, proporciona uma superfície áspera que se torna substrato para depósito e propagação de mais bactérias, favorecendo a acumulação de mais placa e aumento da irritação na gengiva (HARVEY; SHOFER; LASTER, 1994; OBA et al., 2021). A doença periodontal não se limita a causar problemas somente na boca. Há comprovações de que há correlação entre uma alta taxa de doença periodontal e mudanças nas válvulas átrio-ventriculares e, também, aumento de doenças de fígado e rins em cães da raça poodle (PAVLICA et al., 2008).

A identificação das bactérias que compõem a microbiota oral e suas dinâmicas pode auxiliar a compreender o início e desenvolvimento de doenças orais e outras infecções provenientes destas, além de fornecer informações importantes para diagnóstico e tratamento. As pesquisas referentes à caracterização da microbiota oral iniciaram com métodos de cultura, nos quais as bactérias são incubadas em placas e suas populações estudadas de acordo com o que era possível identificar por via de microscopia, neste método, porém, havia muitas limitações quantitativas e qualitativas das informações, como, por exemplo, da subestimação das bactérias anaeróbias que eram difíceis de serem extraídas e cultivadas. Também não é possível ter precisão quanto à diversidade de espécies presentes nas amostras (BYRNE et al., 2018).

Um avanço nas pesquisas microbiológicas veio com os métodos de sequenciamento genético que possibilitaram melhor acurácia nos estudos quanto às

bactérias anaeróbias e proporcionaram maior entendimento do quão diverso é, de fato, o domínio bactéria (STURGEON et al., 2013). Ainda assim, as diferentes metodologias de sequenciamento e diferentes bancos de dados podem apresentar variações nos resultados encontrados. A tecnologia de sequenciamento do gene do rRNA 16S, uma pequena subunidade do RNA ribossomal responsável pela tradução do DNA, é uma aliada dos laboratórios para caracterização da comunidade microbiana da cavidade oral. O gene rRNA 16S é o marcador genético mais amplamente utilizado para estudos de taxonomia e filogenia de bactérias: ele está presente em todas as bactérias, sua função não foi modificada com o passar do tempo e é um gene grande o suficiente (1500 pares de base) para levantamentos de bioinformática (BYRNE et al., 2018). A sequência do gene 16S rRNA pode fornecer informações para identificação a nível de gênero (90%) e espécie (65 a 83%), mas de 1 a 14% das leituras podem permanecer sem identificação (DRANCOURT et al., 2000; MIGNARD; FLANDROIS, 2006; WOO et al., 2003). Com a clonagem e sequenciamento dos genes 16S diretamente do ambiente, utilizando primers de PCR específicos, foi possível identificar que a diversidade microbiana é muito mais extensa do que o revelado pelos estudos baseados em métodos de cultura (JANDA; ABBOTT, 2007; PACE, 1997; PATEL, 2001; TRINGE; HUGENHOLTZ, 2008).

O objetivo do presente trabalho é, por via de revisão sistemática da literatura, compreender o perfil do microbioma oral de cães em diferentes situações de saúde oral.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos Gerais

Realizar uma revisão sistemática dos artigos que analisaram o microbioma oral de cães.

2.2. Objetivos Específicos

Elencar as técnicas utilizadas para avaliar o microbioma oral de cães;
Identificar as regiões de coleta para a análise do microbioma oral de cães;
Comparar o microbioma de uma cavidade oral de cães considerada saudável com uma não saudável.

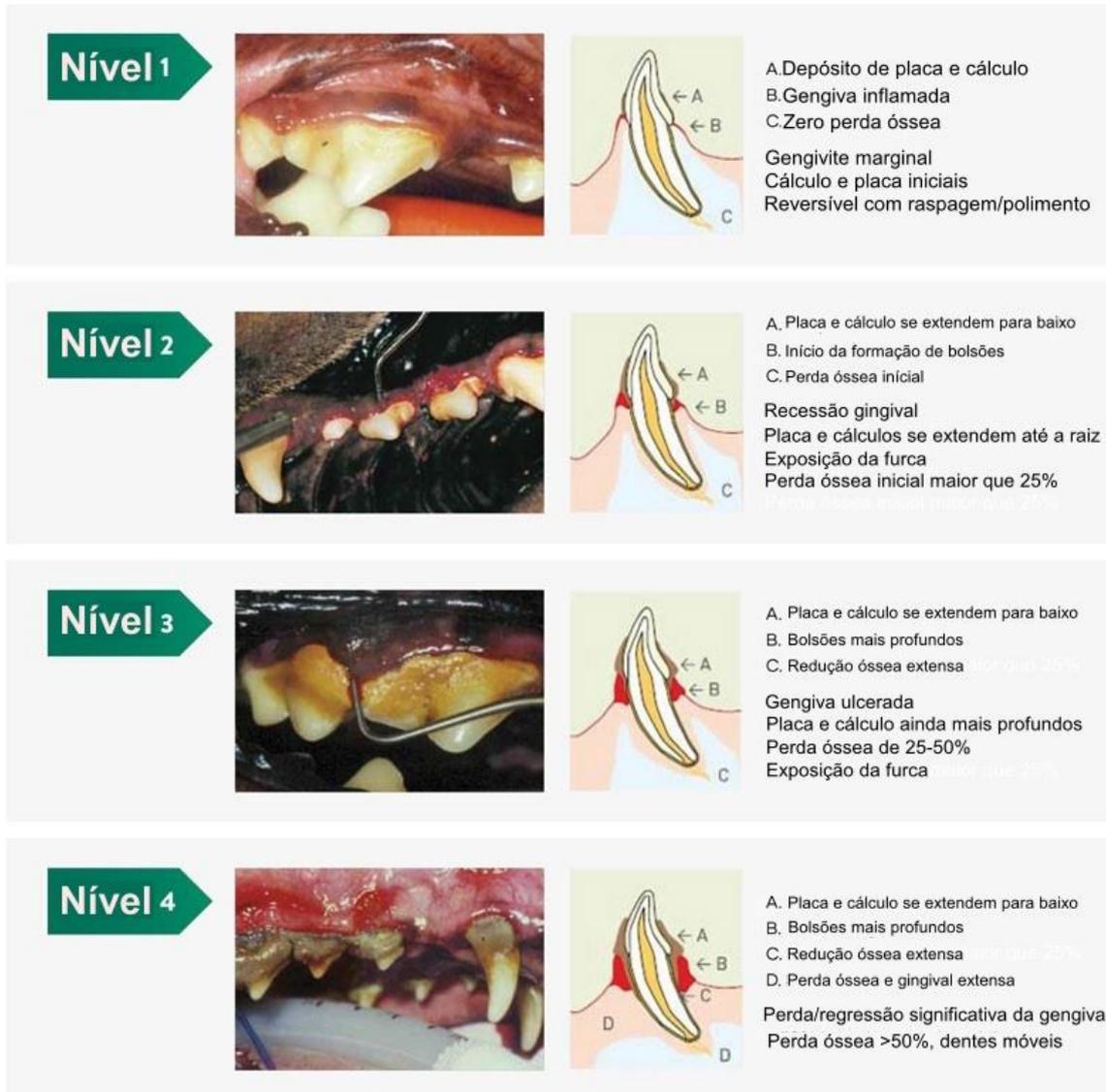
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Saúde oral dos cães

Doenças orais têm grande incidência em cães: em uma pesquisa envolvendo 445 cães nos Estados Unidos foi encontrada uma prevalência de 86,3% de pelo menos algum distúrbio oral nos animais (STELLA; BAUER; CRONEY, 2018). O número de animais acometidos varia de acordo com a população pesquisada e o método utilizado para avaliação da condição oral (KORTEGAARD; ERIKSEN; BAELUM, 2008), porém é consenso entre os pesquisadores o fato de que os distúrbios orais são de grande relevância para a saúde canina (KYLLAR; WITTER, 2005; NIEMIEC, 2008; O'NEILL et al., 2014), sendo mais comuns e intensos em animais de idade mais avançada e, até mesmo, apresentam correlação com doenças cardíacas, hepáticas e renais (CARREIRA; DIAS; AZEVEDO, 2015; DAVIS et al., 2013; GLICKMAN et al., 2011; PAVLICA et al., 2008).

O desenvolvimento das doenças orais se dá com o acúmulo de bactérias nos dentes, que formam a chamada placa dental ou placa bacteriana (Figura 1), um biofilme formado por microrganismos, glicoproteínas salivares e polissacarídeos extracelulares. A placa dental pode, se não removida, passar pelo processo de mineralização, o cálcio presente na saliva é incorporado à placa e forma o cálculo dental, também conhecido como tártaro, que é de difícil remoção e propicia uma superfície áspera que favorece a adesão e multiplicação das bactérias, essas produzem enzimas que desencadeiam a resposta inflamatória do hospedeiro (DAVIS et al., 2013; DEWHIRST et al., 2012; WILLIAMS, 1990).

Figura 1: Níveis de progressão da doença periodontal



Adaptado de: Perchyonok (2018)

A gengivite é a primeira inflamação a ocorrer. Causada pelas bactérias presentes na placa dental, seus sinais clínicos são gengivas avermelhadas e inchadas. Nesse estágio, a doença é reversível. Porém, se não tratada, pode escalar para uma periodontite, a doença inflamatória das estruturas mais profundas do dente (ligamento periodontal e osso alveolar), que pode causar, em casos extremos, a perda do dente, infecção nos ossos da face e maxilar e anorexia, como consequência da dor que o animal sente ao tentar consumir o alimento (CARREIRA; DIAS; AZEVEDO, 2015; NIEMIEC, 2008).

3.2. A microbiota oral canina

Na microbiota oral humana a gengivite é causada, principalmente, pelo aumento de bactérias gram-negativas anaeróbicas, enquanto na boca saudável predominam bactérias gram-positivas (TEUGHELIS et al., 2007). Por alguns anos estendeu-se o conhecimento de microbiota humana para estudos de cães, com a hipótese que ambas as espécies compartilhavam composição semelhante da microbiota oral (HARDHAM et al., 2005).

Após o trabalho de Dewhirst et al. (2012) caracterizar pela primeira vez a composição do microbioma oral canino com técnicas de sequenciamento genético, Davis et al. (2013) investigou diferentes estados do microbioma oral dos cães com técnicas modernas de sequenciamento genético, e relatou que, na verdade, os dois microbiomas, humano e canino, têm populações e abundâncias bacterianas diferentes nas situações de saúde ou doença oral: a gengivite em cães é causada, em grande parte, por bactérias gram-positivas, enquanto em indivíduos saudáveis predominam bactérias gram-negativas aeróbicas. Essa diferença de populações microbianas pode estar relacionada ao pH da saliva canina ser, em média, de 7,7 (OBA et al., 2021), mais alcalino do que da saliva humana, e à diferença das quantidades de açúcares nas respectivas dietas. Essas descobertas confirmam, portanto, que produtos direcionados à microbiota oral canina não devem ser somente reformulações de produtos que têm como alvo a microbiota oral humana e, sim, específicas para as bactérias que compõem as comunidades bacterianas da boca canina (WALLIS et al., 2015). Além disso, mesmo dentro de uma só boca, encontram-se diferentes comunidades de microrganismos com diferentes características impactadas pelas circunstâncias locais do microambiente como tensão de oxigênio, pH e tipo de superfície (WALLIS et al., 2015).

3.3. Metodologias de sequenciamento genético

A crescente busca por conhecimento sobre bactérias implicou não somente num aumento na frequência de pesquisas realizadas mas também na evolução das tecnologias utilizadas nesse campo da ciência. Inicialmente, as bactérias eram pesquisadas por meio de cultivos em placa, porém, este método implica em uma série de limitações devido à dificuldade de reproduzir especificidades do ambiente original que as bactérias habitariam, causando inaccurácias nos resultados

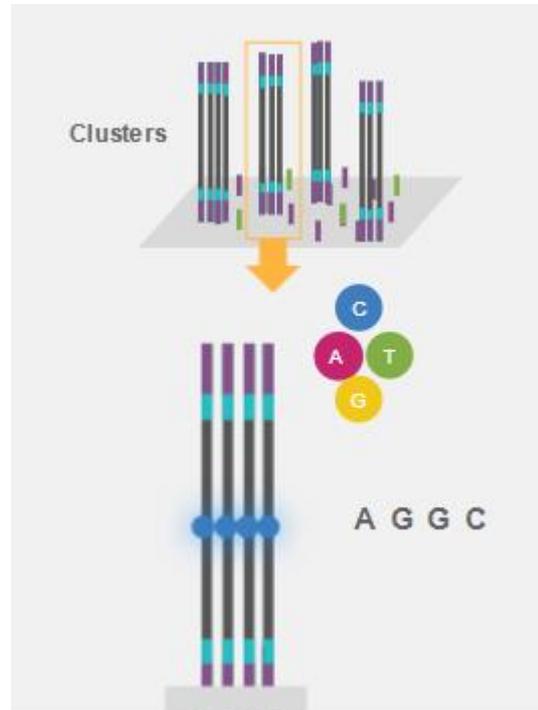
encontrados (BYRNE et al., 2018). Hoje, as tecnologias avançadas de biologia molecular proporcionam resultados mais precisos e com metodologias cada vez mais otimizadas para atenderem às diversas demandas de análises microbiológicas.

Os métodos pioneiros do sequenciamento de DNA foram o método de Sanger (da síntese didesóxi) e o método de Maxam-Gilbert (Chemical UNIT cleavage). O método Maxam-Gilbert (MAXAM; GILBERT, 1980) é baseado em uma modificação química do DNA e subsequente clivagem do DNA em áreas adjacentes aos nucleotídeos modificados. O método de Sanger (SANGER; COULSON, 1975) utiliza nucleotídeos específicos de fim de cadeia (didesoxinucleotídeos), amplificação de seqüências e eletroforese para sequenciamento, uma metodologia que pode demorar dias para determinar apenas 50 nucleotídeos.

Com a necessidade de leituras com maior taxa de transferência e menor custo, novas tecnologias foram desenvolvidas. As duas principais metodologias da segunda geração de sequenciamento genético são o sequenciamento por hibridização e sequenciamento por síntese. O sequenciamento por hibridização foi desenvolvido nos anos 80, utilizando oligonucleotídeos de DNA de seqüências conhecidas em filtros que foram hibridizados com fragmentos identificados do DNA a ser sequenciado. Ao hibridizar e lavar repetidamente o DNA não-hibridizado, é possível determinar se os fragmentos hibridizados correspondem à seqüência do DNA identificado no filtro (SLATKO; GARDNER; AUSUBEL, 2018).

A principal tecnologia de sequenciamento genético utilizada nos dias atuais é da Illumina®, que utiliza de um método chamado “Sequenciamento por síntese (SBS)”, uma evolução do método de Sanger sem as terminações didesoxi, que consiste em repetidas reações de amplificação de uma molécula de DNA, criando conjuntos de aproximadamente 1000 cópias de cada fragmento ligado a um oligonucleotídeo presente em um suporte de vidro. Cada suporte tem capacidade para milhares de reações paralelas de conjuntos. Durante as reações de síntese, nucleotídeos modificados correspondentes a cada uma das quatro bases, cada qual com um “rótulo” fluorescente diferente, são incorporados e, então, detectados por meio de captura de imagem da fluorescência, a cor e intensidade são utilizadas para indicar as bases. Os conjuntos em vermelho são interpretados como C, em verde são T, com ambos vermelho e verde são A e conjuntos sem rotulação são G (Figura 2). A probabilidade de erro no apontamento das bases é muito baixa, de 0,1% (MENGONI; BACCI; FONDI, 2021; SLATKO; GARDNER; AUSUBEL, 2018).

Figura 2: Nucleotídeos com marcadores fluorescentes adicionados à molécula



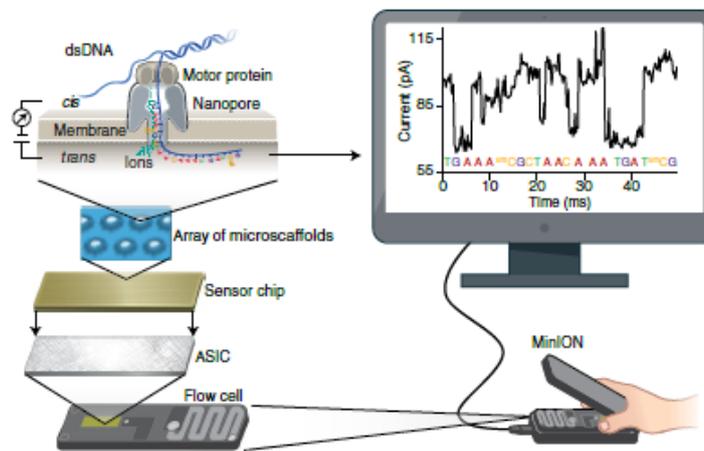
Fonte: Site oficial Illumina. Acesso em: 29/03/2023

O método SBS, porém, tem suas limitações, sendo a principal delas a questão do comprimento das moléculas sequenciadas, que são relativamente curtas e, portanto, causam dificuldade na assimilação de genomas completos, identificação de partes com grande incidência de repetições de base e variações estruturais de grande escala (VAN DIJK et al., 2018). Outra limitação é que o sequenciamento não é feito em tempo real, devido a pausa que ocorre após a assimilação de cada base para a leitura da fluorescência (WANG et al., 2021). A dependência de PCR do método SBS também é uma limitação, pois regiões de grande incidência das bases GC não são amplificadas de forma eficaz. No geral, Illumina® é eficiente para leituras que não exigem o sequenciamento de muitas bases, tendo um limite de assimilação de 2 x 300pb, é um método considerado barato que trouxe a possibilidade de sequenciamento para laboratórios de pequeno porte (VAN DIJK et al., 2018).

Na tentativa de vencer a barreira dos sequenciamentos de fragmentos curtos, a Oxford Nanopore Technologies® (ONT) lançou comercialmente, em 2015, o MinION®, um aparelho portátil, pesando aproximadamente 90g, de sequenciamento que utiliza da tecnologia dos “nanoporos”, poros proteicos integrados a uma

membrana de polímeros que é resistente à eletricidade (DEAMER; AKESON; BRANTON, 2016; VAN DIJK et al., 2018). Em uma solução eletrolítica, uma voltagem constante é aplicada para produzir uma corrente iônica de forma que moléculas de DNA, em fita única, ou de RNA carregadas negativamente são carregadas através do nanoporo, proteínas coadjuvantes controlam a velocidade da passagem da fita e mudanças na corrente iônica são captadas por um sensor e codificadas (Figura 3). Cada base provoca uma mudança diferente na corrente, o que permite que o sequenciamento e apontamento de bases seja feito em tempo real.

Figura 3: Fluxograma do funcionamento do MinION



Fonte: WANG et al., 2021

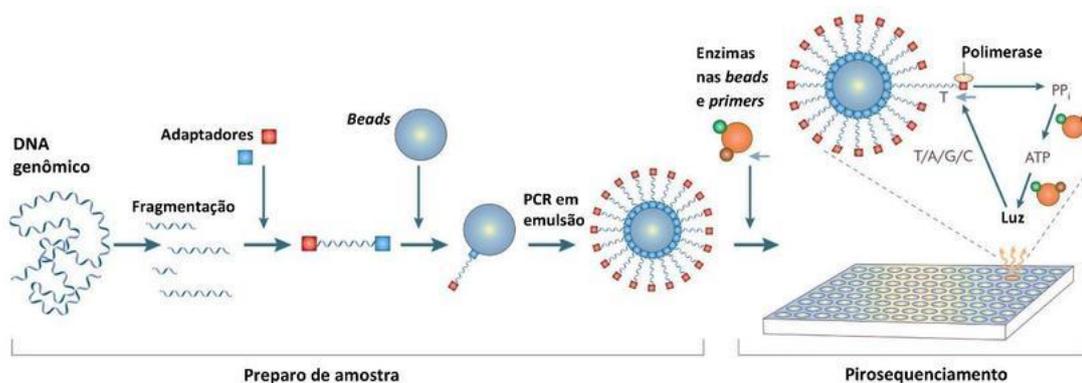
O MinION contém 512 canais, com 4 nanoporos cada. Apenas um nanoporo por canal é mensurado por vez. Uma vez que uma fita passa completamente pelo poro, ele fica disponível para entrada de uma nova molécula para sequenciamento. A acurácia do sequenciamento do MinION é relativamente baixa, com uma taxa de erro de 6-15%, considerada alta quando comparada à taxa de 0,1% do Illumina. O software MinKNOW é utilizado para controlar os aparelhos da ONT. Ele também controla a captação de dados, análise e apontamento das bases em tempo real. A ONT também desenvolveu softwares paralelos para o apontamento de bases, como por exemplo o Guppy, atualmente o mais utilizado por sua alta acurácia e velocidade (WICK; JUDD; HOLT, 2019). Também são utilizados algoritmos para correção do erro, que se dividem em duas categorias: os algoritmos de “autocorreção”, que utiliza os dados do próprio sequenciamento, e os algoritmos de “correção híbrida”,

que utilizam dados de leituras curtas de alta acurácia (FU; WANG; AU, 2019; LIMA et al., 2019).

Com a possibilidade da realização de sequenciamentos longos em um equipamento portátil, o MinION vem sendo utilizado em campo nas mais diversas áreas para diagnóstico de patógenos, monitoramento de epidemias, resposta a tratamentos e até mesmo em pesquisas forenses, com resultados em menos de uma hora. Outra utilidade do MinION é na caracterização de microbioma: as leituras longas permitem classificação acurada até o nível de espécie, limitado somente pela necessidade de altas concentrações de DNA nas amostras (KERKHOF et al., 2017; MCHUGH et al., 2021).

Outra metodologia popular de sequenciamento genético é o método do pirosequenciamento, que tem como base a detecção de pirofosfato, um produto da incorporação de nucleotídeos, para identificar se uma base específica foi incorporada em uma cadeia de DNA. Fragmentos individuais de DNA, de 400 a 700 pares de base, são ligados a adaptadores e amplificados por PCR em uma reação de emulsão de *beads* individuais. As sequências de DNA nos *beads* são complementares às sequências nos adaptadores, permitindo que os fragmentos de DNA se liguem diretamente aos *beads*, idealmente um fragmento por *bead*. A síntese de DNA seguida pela detecção química das reações ocorridas ocorrem em uma câmara onde a liberação de fosfato é mensurada utilizando uma reação que gera luz (Figura 3), a intensidade da luz fornece informação sobre os nucleotídeos na sequência (RONAGHI et al., 1996).

Figura 4: Fluxograma do pirosequenciamento



Fonte: TURCHETTO-ZOLET et al., 2017

4. METODOLOGIA

4.1. Pesquisa Literária

Foi realizada uma revisão sistemática entre os meses de novembro e dezembro de 2022 utilizando os bancos de dados Scopus, Science Direct e Web of Science e foi conduzida de acordo com as diretrizes de declaração de Itens Preferenciais de Relatórios para Revisões Sistemáticas e Meta-Análises (PRISMA) (MOHER et al., 2010). As buscas foram baseadas no título, resumo e palavras-chave. Foram pesquisados artigos científicos publicados em periódicos nos idiomas português, inglês e espanhol, sem restrição do ano de publicação. Os termos utilizados para a busca foram os seguintes: (dog OR dogs OR canine) AND (“oral microbiome” OR “oral microbiota”). Não foram impostas restrições ou filtros em termos de desenho do estudo, origem do estudo e ano de publicação.

4.2. Critérios de Inclusão e Exclusão

Os critérios de inclusão e exclusão dos artigos que foram utilizados na presente revisão da literatura são apresentados na Tabela 1. Para serem incluídos na base foram considerados os artigos publicados em periódicos científicos revisados por pares; publicados em Português, Inglês ou Espanhol; pesquisas realizadas em cães adultos; deveriam conter a análise da microbiota oral de cães.

Os critérios de elegibilidade foram previamente definidos para seleção por título, resumo e texto completo. Na fase de seleção do título, os revisores selecionaram artigos que continham palavras como “cães” e “microbiota ou microbioma oral”. Na fase de seleção por resumos, foram selecionados artigos que apresentavam dados sobre microbiota oral de cães. Na fase de seleção final, foi exigido que os textos completos dos artigos fossem publicados como artigos científicos e contivessem resultados sobre o tema. Nas fases de resumo e texto completo, foram excluídas as publicações que eram cartas ao editor, editoriais, artigos de revisão, resumos de congressos, notas, trabalhos apresentados em congressos, livros, teses e artigos incompletos.

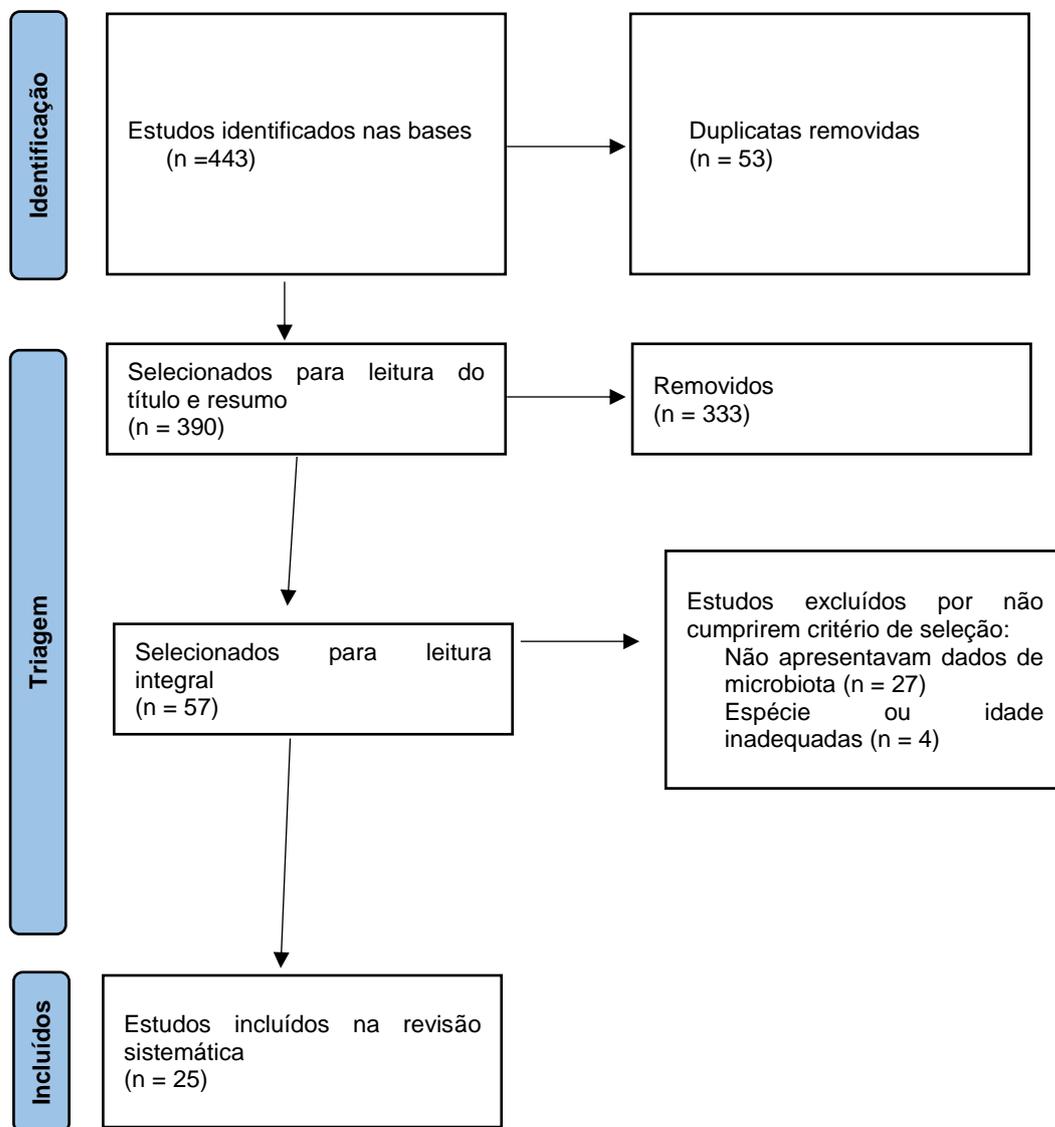
Tabela 1 – Critérios de inclusão e exclusão dos artigos selecionados para a composição a revisão sistemática da literatura de saúde oral e microbioma em cães.

Critério	Inclusão	Exclusão
Linguagem	Artigos publicados em português, inglês e espanhol.	Artigos publicados em outras línguas
Acesso ao estudo	Artigos com acesso ao documento na íntegra	Sem acesso ao documento na íntegra
Publicação	Somente em revista com revisão por pares	Resumos publicados em congressos, teses, relatórios, revisões bibliográficas
Animal	Cães na fase adulta	Outras espécies ou cães em fase de crescimento ou idoso
Resultados	Apresentar a análise da microbiota da cavidade oral	Não apresentar a análise da microbiota oral

Fonte: Elaborada pelo autor.

A busca retornou 443 publicações, com a seguinte origem: 9,93% Scopus; 43,33% Science Direct e 84,65% Web of Science. Depois que 53 duplicatas foram removidas, um subtotal de 390 artigos permaneceu. Um total de 333 artigos foram removidos durante a avaliação do título ou resumo, resultando em um subtotal de 57 artigos, dos quais 32 não atenderam aos critérios de inclusão, 4 relacionados a espécie ou idade e 27 por não apresentarem os dados de microbiota oral. Ao final do processo de triagem, 25 artigos foram selecionados para a revisão sistemática. O resumo do procedimento de busca e triagem é mostrado na Figura 5.

Figura 5: Processo de seleção dos estudos incluídos na revisão sistemática da literatura de saúde oral e microbioma em cães



Elaborado com base em Page, McKenzie, Bossuyt, Boutron, Hoffmann, Mulrow, Shamseer, Tetzlaff, Akl e Brennan (2021).

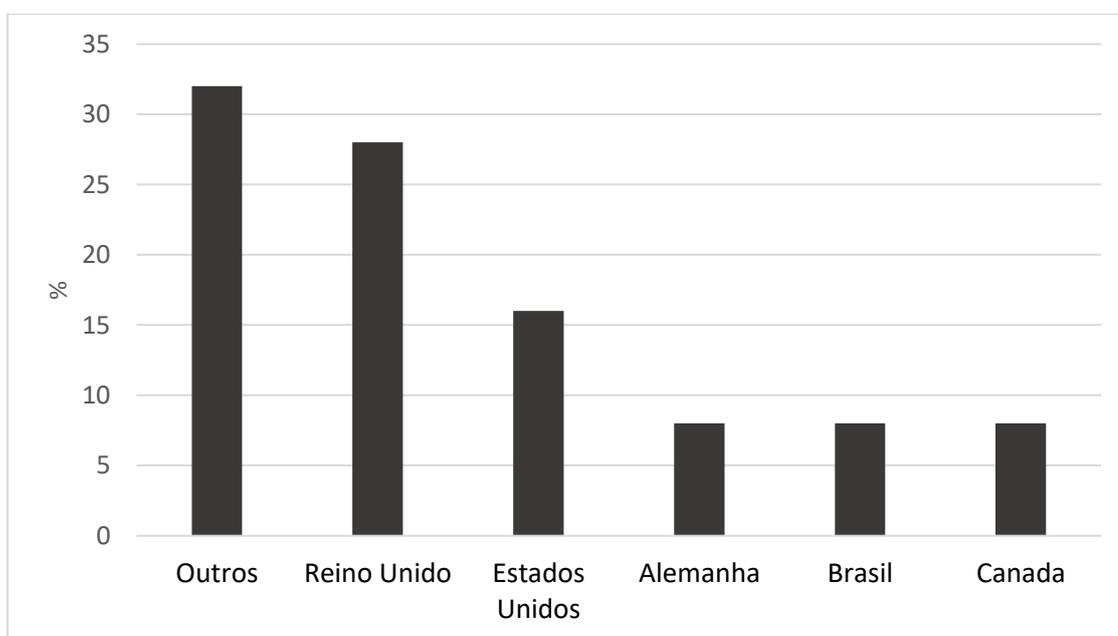
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. Visão geral dos artigos

A identificação e a descrição dos 25 artigos utilizados são mostradas no Quadro 1.

Dos 25 artigos encontrados, 28% (7 artigos) foram desenvolvidos no Reino Unido, 16% (4 artigos) nos Estados Unidos da América, na Alemanha, no Brasil e no Canadá foram publicados 8% (2 artigos) em cada país e na Bélgica, Coréia do Sul, Eslováquia, Japão, México, Portugal e Tailândia apenas 4 % (1 artigo), a soma destes totalizou 32% dos artigos encontrados (Figura 6).

Figura 6: Porcentagem de publicações sobre saúde e microbioma oral de cães por país



O primeiro artigo publicado utilizando a tecnologia empregada para humanos foi no ano de 2008 e teve como objetivo examinar as proporções de 40 espécies bacterianas em amostras de cinco habitats intra-orais em cães beagle usando a tecnologia de hibridização DNA-DNA, uma técnica de biologia molecular que determina o grau de semelhança genética (ROBER et al., 2008). Neste primeiro estudo, os autores observaram que as principais bactérias patogênicas para humanos estavam presente em cães e identificaram destacando que o microbioma presente em superfícies duras foram diferentes daquele presente em tecidos moles, demonstrando a importância de conhecer o microambiente oral de cães.

Quadro 1: Características dos 25 artigos incluídos na revisão sistemática de literatura sobre microbioma oral de cães.

Autor	Ano	Objetivo	Saúde oral	Duração	Grau de periodontite	Coleta	Análise	Conclusão
Beikler et al.	2021	Avaliar eficácia de um transplante de microbiota oral de um cão saudável para outros após a limpeza dos dentes	Saudável	12 semanas	-	Subgengival, supragengival	MiSeq (Illumina)	O transplante resultou em uma alteração transitória na microbiota e que não foi observado na 12 ^o semana
Bell et al.	2020	Testar a hipótese de que um probiótico oral teria impacto sobre a microbiota oral canina	Saudável	7 semanas	-	Swab cavidade oral	MiSeq (Illumina)	Administração do probiótico não teve impacto sobre a abundância a nenhum nível taxonômico
Cunha et al.	2021	Avaliar a influência do biogel de nisina na microbiota oral de cães	Saudável	1 semana	-	Supragengival	MiSeq (Illumina)	O biogel pode promover mudanças no microbioma oral, como diminuição da biodiversidade
Davis et al.	2013	Identificar espécies de bactérias associadas com saúde, gengivite e periodontite leve	Saudável/Gengivite/Periodontite inicial	-	-	Subgengival	Roche genome sequencer	Placa de uma boca saudável é dominada por espécies gram negativas, espécies anaeróbias gram positivas predominam com doença
Dewhirst et al.	2012	Identificar as principais espécies presentes no microbioma oral canino	Saudável	-	-	Supragengival, subgengival	ABI 3100 Genetic Analyser	O microbioma oral canino diverge bruscamente do microbioma oral humano
Dias et al.	2015	Avaliar a ação de pastas com diferentes formulações sobre microbiota e formação de ponte dentinária em cães	Periodontite	-	5	Extração incisivos superiores	Placas de cultivo	As pastas analisadas demonstraram ter potencial antimicrobiano significativo
Flancman et al.	2018	Avaliar o impacto da profilaxia dental sobre a composição microbiana da placa supragengival e microbiota oral	Saudável	5 semanas	-	Supragengival, língua	MiSeq (Illumina)	Profilaxia teve um profundo impacto sobre a microbiota oral e da placa
Holcombe et al.	2014	Identificar as espécies bacterianas nos estágios iniciais da placa <i>in vivo</i> e utilizar isolados <i>in vitro</i> para a colonização inicial do enamel	Gengivite	48 horas	1-4	Supragengival	Roche genome sequencer	As espécies com abundância relativa mais elevada foram <i>Bergeyella zoohelcum</i> , <i>Neisseria shayeganii</i> e <i>Moraxella</i> sp. No teste <i>in vitro</i> três espécies do gênero <i>Neisseria</i> foram identificadas como colonizadoras primárias
Isaiah	2017	Comparar a composição bacteriana da microbiota nasal	Saudável	7 semanas	0	Swab cavidade oral	Roche genome sequencer	Os resultados sugerem diferença significativa entre as comunidades

Autor	Ano	Objetivo	Saúde oral	Duração	Grau de periodontite	Coleta	Análise	Conclusão
		e oral de cães farejadores						bacterianas oral e nasal
Kacirova et al.	2022	Identificar a presença de bactérias relacionados com doença periodontal na placa dental de cães.	Saudável/Periodontite	-	0-1	Supragengival	PCR e Sequenciamento Sanger	<i>Treponema denticola</i> foi identificada apenas em cães com doença periodontal, <i>Porphyromonas gulae</i> é mais presente em cães com doença periodontal, <i>Treponema putidum</i> pode estar envolvida no desenvolvimento da doença periodontal.
McDonald et al.	2016	Sequenciar diretamente os genes de rRNA pequenas subunidades ribossomais e comparar com amplicon PCR do 16S rRNA da mesma amostra	Periodontite	-	-	Supragengival	Roche genome sequencer	Análises baseadas no PCR podem subestimar Proteobacteria e Spirochaetes, isso demonstra a veracidade do sequenciamento direto do rRNA de pequenas subunidades ribossomais.
Oba et al.	2021	Determinar as diferenças na microbiota oral de cães consumindo um petisco mastigável	Saudável	112 dias	0-3	Subgengival, supragengival e saliva	MiSeq (Illumina)	Os mastigáveis reduziram o risco de doença periodontal em cães por via de manipulação da microbiota da placa e da saliva
Oh et al.	2015	Comparar a microbiota oral de cães e seus tutores para identificar patógenos zoonóticos	Saudável	-	-	Subgengival, palato e cavidade oral	Roche genome sequencer	A microbiota oral dos cães e seus donos foram consideravelmente diferentes, similaridades entre as microbiotas não foi correlacionada com residir na mesma casa
Özavci et al.	2019	Investigar a presença de bactérias relacionadas a doença periodontal na placa dental de cães e gatos	Periodontite	-	5	Swabs das placas	PCR	As principais bactérias encontradas foram <i>Porphyromonas gingivalis</i> , <i>Prevotella nigrescens</i> e <i>Porphyromonas gulae</i> . A diversidade da microbiota oral felina é maior que da canina.
Pérez-Serrano et al.	2020	Detectar se bactérias com o gene resistente a antimicrobianos na boca dos cães podem ser consideradas reservatórios que podem ser compartilhados entre cães e humanos	Saudável	-	-	Supragengival	PCR	Placa dental canina pode ser considerada fonte e reservatório de bactérias com o gene resistente a antimicrobianos que podem ser compartilhadas entre humanos e cães vivendo no mesmo lar

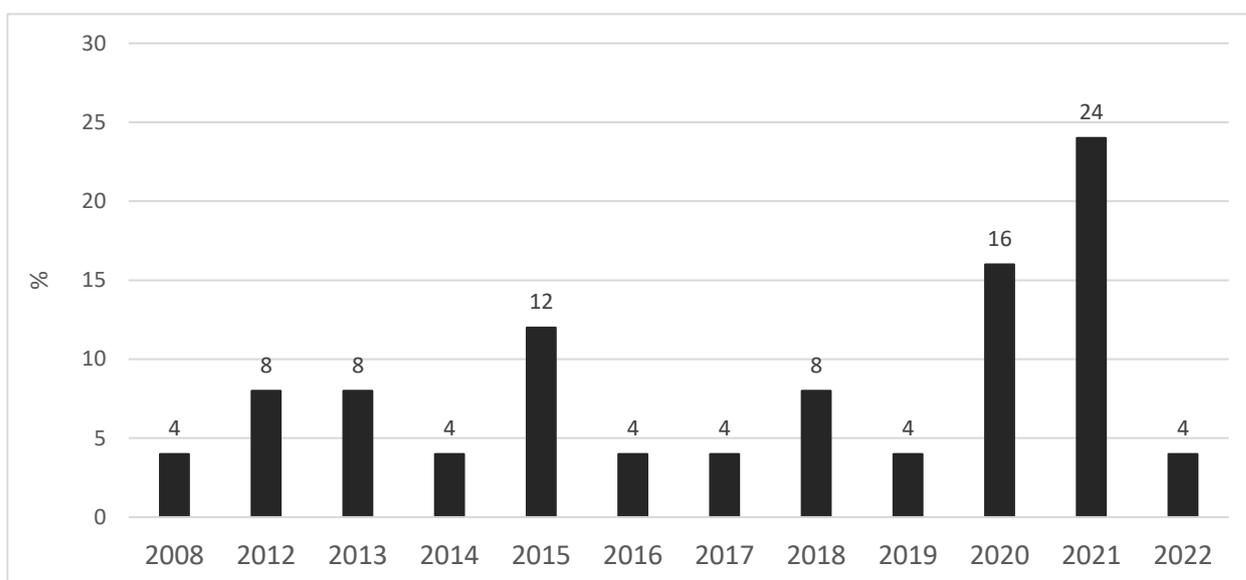
Autor	Ano	Objetivo	Saúde oral	Duração	Grau de periodontite	Coleta	Análise	Conclusão
Pinto et al.	2021	Avaliar o efeito de mastigáveis de osso esponjoso autoclavado e osso compacto sobre a microbiota oral de cães adultos com cálculo pré-existente	Limpeza	13 dias	-	Saliva, subgingival	MiSeq (Illumina)	O osso esponjoso teve impacto profundo sobre a microbiota salivar e do sulco gengival, enquanto o osso compacto não causou mudanças substanciais na microbiota
Radeerom et al.	2018	Descrever a composição bacteriana no cálculo dental de cães e gatos	Periodontite inicial	-	-	Subgingival e cavidade oral	MiSeq (Illumina)	Há diferenças nos microbiomas de cães e gatos, as bactérias presentes no cálculo diferem de bactérias presentes em demais áreas da cavidade oral
Rober et al.	2008	Examinar as proporções de 40 espécies bacterianas em amostras de cinco ambientes orais diferentes	Periodontite moderada	-	3	Supragengival, subgingival	Hibridização DNA-DNA	Cada habitat oral tinha uma estrutura de comunidades bacterianas diferente, as microbiotas colonizando superfícies duras foram diferentes das colonizando superfícies de tecidos macios
Ruparell et al.	2020	Investigar a influência do consumo diário de um mastigável sobre a microbiota da placa oral	Saudável/Periodontite leve	98 dias	0-4	Supragengival e subgingival	MiSeq (Illumina)	Mastigável aumentou a proporção de bactérias associadas a saúde
Ruparell et al.	2021	Investigar se há diferenças na composição microbiana entre amostras retiradas da margem gengival e amostras subgingivais.	Saudável	-	-	Supragengival	MiSeq (Illumina)	As amostras de placa da margem gengival podem representar uma alternativa às amostras de placa subgingival sob a perspectiva microbiana.
Ruparell et al.	2020	Analisar perfis de microbiota de diferentes nichos dentro da cavidade oral e os comparar	Saudável	-	-	Subgingival, supragengival	MiSeq (Illumina)	Os diferentes nichos podem ser divididos em três grupos baseados no perfil bacteriano: superfície de tecidos duros, superfície de tecidos moles e fluido.
Sturgeon et al.	2013	Examinar amostras orais de seis cães para determinar comunidades bacterianas, diversidade e implicações zoonóticas	Saudável	-	-	Raspagem língua e bochecha	Roche genome sequencer	Bactérias potencialmente zoonóticas foram detectadas em todos os cães, a cavidade oral canina contém uma diversidade de comunidades muito maior do que a previamente estimada por métodos de cultura e baseados em clonagem.

Autor	Ano	Objetivo	Saúde oral	Duração	Grau de periodontite	Coleta	Análise	Conclusão
Wallis et al.	2015	Identificar as espécies chaves envolvidas com o desenvolvimento da periodontite ou com a manutenção de um ecossistema oral saudável.	Saudável/Gengivite	-	1-2	Subgingival	Roche genome sequencer	A redução da abundância de espécies associadas à saúde é um indicador mais significativo da progressão à periodontite do que o aparecimento de espécies associadas à doença
Wallis et al.	2021	Investigar a associação entre microbiota oral canina e localização geográfica com cães do Reino Unido, Estados Unidos da América, China e Tailândia.	Gengivite/Periodontite	-	0-4	Subgingival	Roche genome sequencer	Composição entre as diferentes localizações é similar, com diferenças de abundância de algumas espécies. Bactérias associadas com saúde ou doença não tiveram diferença significativa entre as localidades
Yamasaki et al.	2012	Analisar a distribuição de espécies periodontopáticas em amostras de cães e de seus tutores	Não especificado	-	-	Supragingival e bochechas	PCR	Espécies periodontopáticas podem ser transferidas entre a microbiota oral do tutor e do cão

Fonte: Elaborado pelo autor

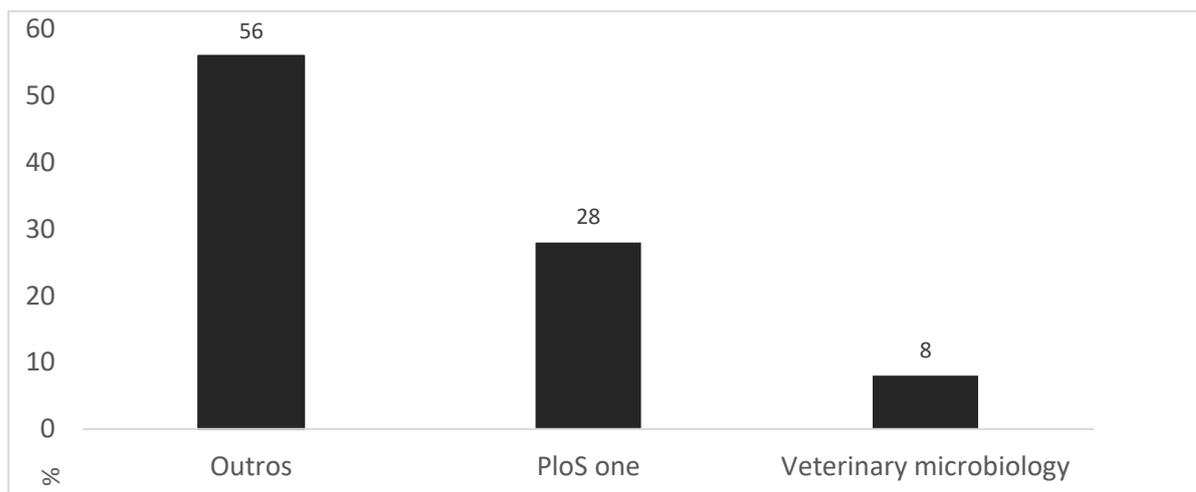
Em relação ao período de publicação, em 2015 foram publicados 12% (3 artigos) e nos anos de 2016, 2017, 2019 e 2022 apenas uma publicação por ano, aumentando nos anos 2018, 2020 e 2021, com respectivamente 8% (2 artigos), 16% (4 artigos), 25% (6 artigos) (Figura 7). O interesse em conhecer os microrganismos que habitam a cavidade oral de cães está relacionado principalmente com a saúde e bem-estar animal. Além disso, o contato oral entre cães e seus donos pode ocorrer. Os cães lambem seus donos para expressar emoções amigáveis. Isso aumenta a possibilidade de transferência de bactérias do microbioma oral de cães para os tutores humanos, como é o caso já relatado de *Pasteurella multocida* e *Tannerella forsythia*, que estão ligadas a infecções humanas locais e sistêmicas (OH et al., 2015).

Figura 7: Porcentagem de publicações por ano sobre saúde oral e microbioma em cães



A revista PloS one publicou a maior parte dos artigos (7 publicações – 28%), seguida da Veterinary Microbiology com 2 artigos (8%) e as demais revistas

Figura 8: Porcentagem de publicações sobre saúde oral e microbioma em cães por revista BMC microbiology, BMC veterinary research, Ciência Rural, Frontiers in Veterinary Science, Journal of Animal Science, Journal of Global Antimicrobial Resistance, Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi, Pathogens, PeerJ, Research in Veterinary Science, Veterinarski Arhiv e Veterinary and Animal science publicaram um artigo cada, que somados resultaram em 56% dos resultados (Figura 8).



5.2. Características gerais dos animais estudados

A média de idade dos animais dos artigos selecionados foi de 4,71 anos, sendo que 5 artigos não relatam a informação da idade dos animais. Em apenas um estudo foram utilizados filhotes, juntamente com animais adultos (Tabela 2). A idade e a raça dos cães pode impactar o microbioma devido às diferenças anatômicas entre os cães, que podem levar à formação de microambientes diferentes dentro da boca, dependendo do espaço que os dentes têm na arcada dentária. Os filhotes, ainda, têm menor proporção de tecido duro quando comparado aos adultos o que pode levar a diferenças nas abundâncias de populações microbianas.

Dez artigos trabalharam com três ou mais raças enquanto outros seis trabalharam com beagles, dois com labrador retriever, dois com animais sem raça definida (SRD), um com labrador retriever e schnauzer miniatura e um somente com schnauzer miniatura. Dois artigos não relataram a raça dos cães utilizados nas pesquisas.

Tabela 2: Características dos animais avaliados nos artigos científicos utilizados na revisão sistemática da literatura

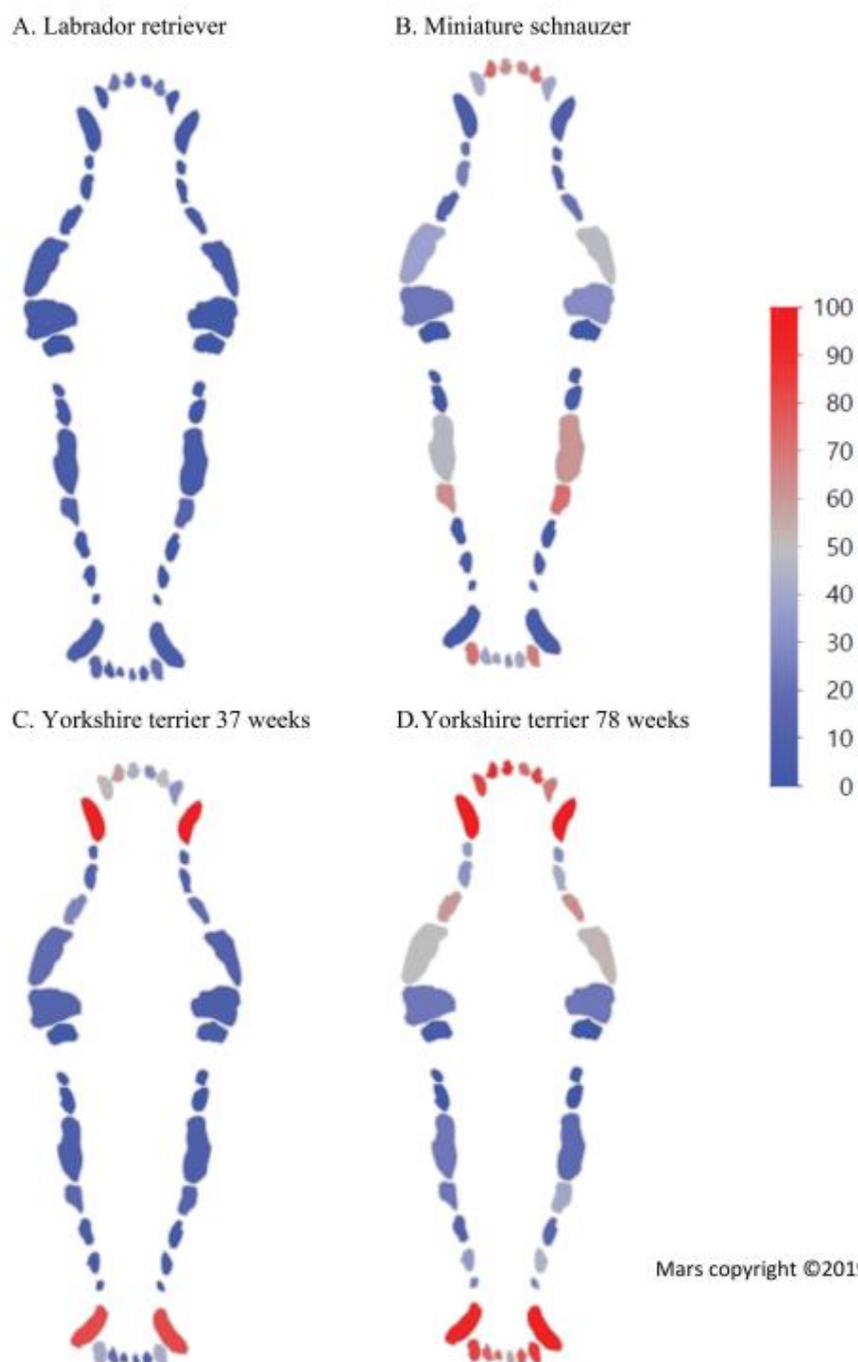
Autor	Ano	Fase da vida (filhote/adulto)	Idade (Anos)	Raça	Número de cães
Beikler et al	2021	Adultos	2 – 6	Beagle	18
Bell et al	2020	Filhotes/adultos	0,8 - 1,6	Diversas	14
Cunha et al	2021	Adultos	2,4 - 3,2	-	2
Davis et al	2013	-	-	Diversas	223
Dewhirst et al	2012	Adultos	3 - 11,4	Diversas	51
Dias et al	2015	Adultos	-	SRD	10

Flancman et al	2018	Adultos	1 – 4	Beagle	30
Holcombe et al	2014	Adultos	4	Labrador retriever	12
Isaiah	2017	Adultos	0,5 – 6	Diversas	81
Kacirova et al	2022	Adultos	1 - 14	Diversas	14
McDonald et al	2016	Adultos	-	Labrador retriever e Schnauzer Miniatura	10
Oba et al	2021	Adultos	1 - 5,3	Beagle	12
Oh et al	2015	Adultos	3 – 5	Diversas	8
Özavci et al	2019	Adultos	-	-	51
Pérez-Serrano et al	2020	Adultos	-	SRD	60
Pinto et al	2021	Adultos	4	Beagle	12
Radeerom et al	2018	Adultos	3 – 16	Diversas	43
Rober et al	2008	Adultos	2 – 3	Beagle	7
Ruparell et al	2021	Adultos	2,7 - 5,6	Diversas	381
Ruparell et al	2020	Adultos	2,6 - 3,4	Beagle	12
Ruparell et al	2020	Adultos	4,3 - 7,1	Labrador retriever	14
Sturgeon et al	2013	Adultos	1,5 – 11	Diversas	6
Wallis et al	2015	Adultos	1,3 - 6,9	Schnauzer miniatura	52
Wallis et al	2021	Adultos	2,6 - 5,8	Diversas	575
Yamasaki et al	2012	Adultos	1 – 13	Diversas	66

Fonte: Elaborado pelo autor

O porte do cão apresenta diferentes impactos na saúde oral. Cães pequenos têm dentes proporcionalmente maiores do que os cães maiores quando comparados ao tamanho da mandíbula, reduzindo a eficiência dos processos naturais que sustentam a saúde bucal, como a mastigação que remove os depósitos de placa por abrasão (GIOSO et al., 2001). Em uma recente revisão, Wallis e Holcomb (2020) descrevem as diferenças na saúde oral de três raças de cães: Labrador retriever, schnauzer miniatura e Yorkshire terrier, destacando que a raça Yorkshire terrier apresentou os maiores problemas com saúde oral com o passar do tempo (Figura 9). Essa diferença entre as raças pode causar diferenças nos resultados de trabalhos quando não há uma determinação ou padronização do escore de periodontite, gengivite e/ou saúde oral.

Figura 9: Esquema da boca do cão representando a extensão da periodontite em três raças de cães.



As cores representam a porcentagem de periodontite por dente, de azul (0%) a vermelho (100%).
Fonte: Wallis e Holcombe, 2020.

5.3. Metodologias de sequenciamento e características do microbioma oral

A metodologia de sequenciamento mais amplamente utilizada foi a metodologia Illumina (10 artigos), seguida pelo sequenciamento Roche (8 artigos). Um artigo utilizou da metodologia de placas de cultivo, um utilizou a Hibridização DNA-DNA e um o “ABI 3100 Genetic analyser”. Três artigos utilizaram PCR e um PCR em união com sequenciamento de Sanger, nestes artigos foram utilizados primers para amplificação das seguintes espécies bacterianas associadas a doença: *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas gulae*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, *Capnocytophaga ochracea*, *Capnocytophaga sputigena*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Campylobacter rectus* e *Eikenella corrodens*.

Dos artigos selecionados (Quadro 1), oito tinham como objetivo identificar e caracterizar bactérias da microbiota oral, quatro tinham objetivo de comparar as bactérias em diferentes estados de saúde, dois artigos tinham como objetivo identificar patógenos presentes na microbiota oral, dois artigos compararam a microbiota de cães e seus tutores, um tinha o objetivo de identificar bactérias resistentes a antimicrobianos, e oito artigos avaliaram o impacto de produtos ou estratégias de profilaxia sobre a microbiota oral (probiótico, bactericida, pasta dental, transplante de microbiota, raspagem, mastigáveis).

Os artigos avaliaram diversos ambientes orais e tipos de amostra: placa sub e supragengival, saliva, swab do palato, swab da cavidade oral, swab da língua, swab da bochecha, dentes extraídos, raspagem da língua e bochecha. Destas, a amostra mais utilizada para caracterização de microbiota foi a placa supragengival (6 artigos), seguida de amostra de supragengival e subgengival (5 artigos), somente subgengival (3 artigos) e swab da cavidade oral (2 artigos). Demais artigos utilizaram combinações diferentes de amostragem, não havendo padronização das coletas entre os artigos estudados, o que pode levar a diferenças nos resultados apresentados.

Nos trabalhos com objetivo de caracterizar as bactérias do microbioma oral canino foi levantado que ele, de fato, diverge do microbioma oral humano, do microbioma oral felino e que as populações variam entre os habitats orais (tecidos moles, tecidos duros e fluido). Dos artigos que pretendiam identificar patógenos, as espécies alvo foram: *Porphyromonas gulae*, *Porphyromonas gingivalis*, *Porphyromonas intermedia*,

Tannarella forsythia, *Treponema denticola*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Campylobacter rectus*, *Capnocytophaga ochracea* e *Capnocytophaga sputigena*.

Ao avaliar o impacto do transplante de microbiota oral (TMO), os autores constataram que o TMO pode ser realizado de forma segura mas tem impacto transitório sobre a microbiota oral, que se restabeleceu após 12 semanas. A resiliência e estabilidade da microbiota oral é demonstrada novamente no teste do impacto de um probiótico sobre a saúde oral, que não demonstrou impactos sobre a microbiota oral em nenhum nível taxonômico. Produtos com propriedades antimicrobianas (pastas e biogel) demonstraram resultados significativos sobre a microbiota, o efeito das pastas foi analisado sobre bactérias patogênicas específicas e com métodos de cultivo em placa, sendo assim não há resultados do impacto desse produto sobre a microbiota oral no geral, se as bactérias associadas a saúde ou a diversidade foram afetadas. Por outro lado, o biogel foi avaliado por meio do sequenciamento genético total do microbioma, em somente dois animais, e apresentou diferenças significativas sobre a diversidade microbiana, que foi reduzida. Esse resultado vai de encontro com outros trabalhos, com o de Pinto et al. (2021) que reportou redução na diversidade microbiana e melhora na saúde oral após ofertar ossos esponjosos como mastigáveis para cães. Flancman et al. (2018) encontrou resultados similares, após a realização de profilaxia dental pelo método da raspagem a diversidade microbiana teve redução significativa e as bactérias associadas à saúde oral apresentaram maior abundância. Outros trabalhos com mastigáveis também encontraram resultados de impacto positivo sobre o microbioma oral.

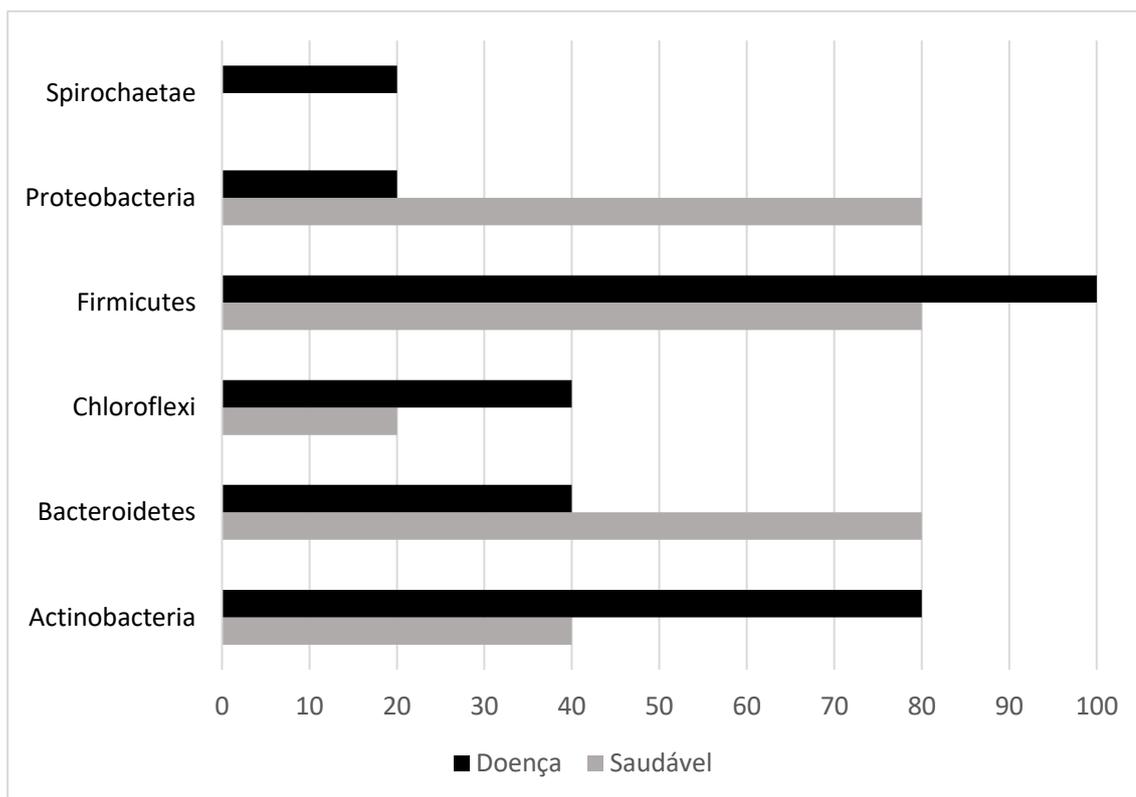
A comparação do microbioma oral entre cães e seus tutores revelou que a composição microbiana é consideravelmente diferente entre as duas espécies, mas há a possibilidade de transferência de espécies bacterianas entre os microbiomas, como *Neisseria shayegani*, *Porphyromonas cangingivalis*, *Tannerella forsythia* e *Streptococcus minor* (OH et al., 2015).

5.4. Comparação entre o microbioma oral saudável e não saudável

Davis (2013), Ruparell (2021), Wallis (2015) e Wallis (2021) apresentam uma comparação do microbioma em diferentes estados de saúde oral. Três dos quatro artigos utilizaram o pirosequenciamento como método de sequenciamento (Roche sequencer) (DAVIS et al., 2013; WALLIS et al., 2015, 2021) e um utilizou a metodologia do sequenciamento por síntese (Illumina) (RUPARELL et al., 2021). Todos os artigos utilizaram a base de dados Silva para comparação das sequências lidas, e dois artigos utilizaram, além desta, a base COMD (Canine Oral Microbiome Database). Somando os animais de todos os 25 estudos selecionados chega-se em 1764 animais, sendo 1231 destes animais participantes dos 4 estudos que apresentam comparação do microbioma oral em diferentes estados de saúde (DAVIS, 2013; RUPARELL, 2021; WALLIS, 2015; WALLIS, 2021).

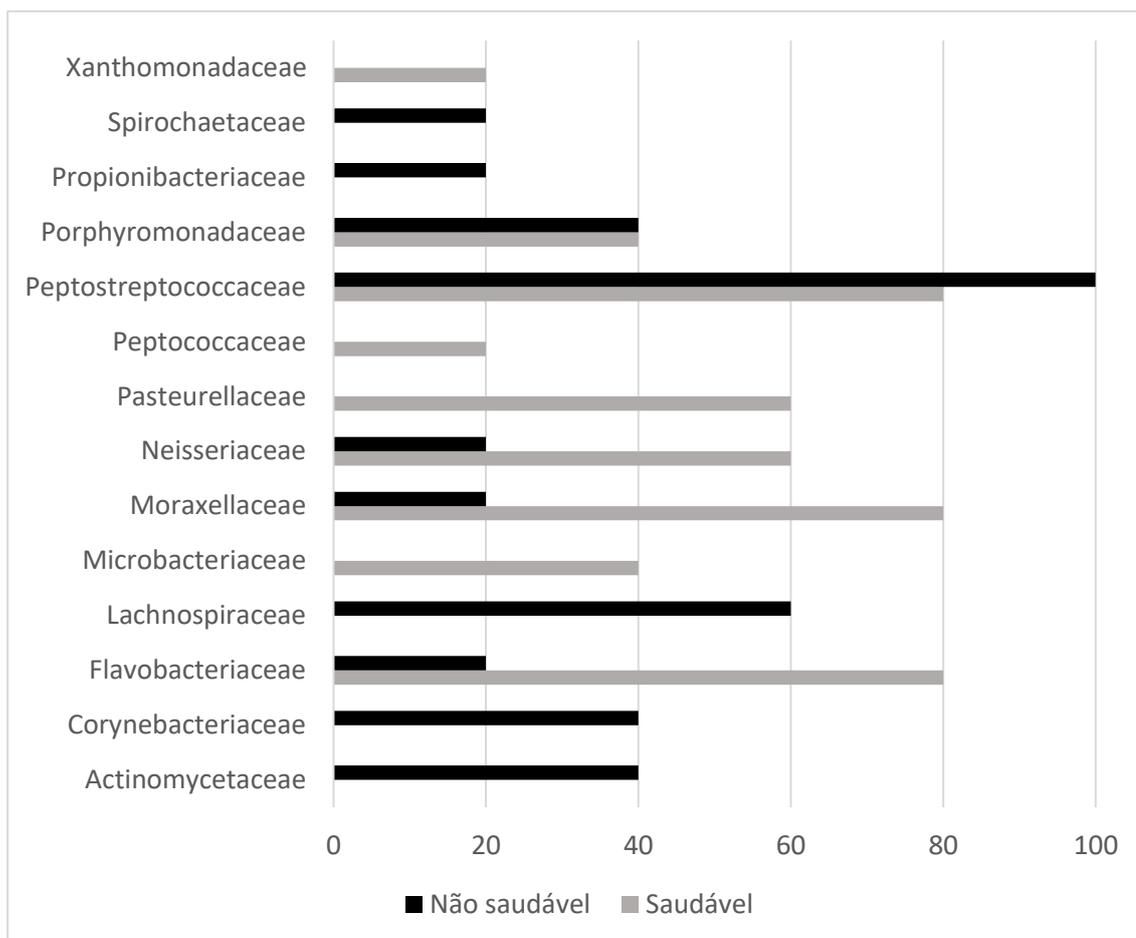
O filo Spirochaetae foi o único associado somente com uma condição oral, a de doença (Figura 10). Os demais filós compreendem tanto espécies associadas com doença quanto com saúde oral, apesar do filo Proteobacteria se mostrar mais expressivamente associado ao microbioma saudável e todos os artigos associarem o filo Firmicutes à doença.

Figura 10: Percentagem de artigos que relacionam Filos com saúde ou doença oral de acordo com revisão sistemática de literatura sobre saúde oral e microbioma em cães.



Já no nível taxonômico de famílias (Figura 11), foram encontradas cinco associadas exclusivamente com doença oral: *Spirochaetaceae*, *Propionibacteriaceae*, *Lachnospiraceae*, *Corynebacteriaceae* e *Actinomycetaceae*. Quatro famílias foram associadas exclusivamente com saúde oral: *Xantomonadaceae*, *Peptococcaceae*, *Pasteurellaceae* e *Microbacteriaceae*. As famílias *Peptostreptococcaceae* e *Porphyromonadaceae* estiveram abundantemente presentes em ambos os estados de saúde oral. Apesar de também associadas com ao microbioma não saudável, as famílias *Neisseria*, *Moraxellaceae* e *Flavobacteriaceae* foram frequentemente associadas ao microbioma saudável.

Figura 11: Percentagens dos artigos que relacionam Famílias com saúde ou doença oral de acordo com revisão sistemática de literatura sobre saúde oral e microbioma em cães em cães



A família *Actinomycetaceae*, associada à saúde oral, inclui os gêneros *Arcanobacterium*, *Mobiluncus*, *Actinobaculum* e *Varibaculum*. A maior parte dos membros desta família são Gram-positivas e anaeróbias facultativas (SCHAAL; YASSIN, 2015).

Corynebacteriaceae, associada à doença oral, é composta pelo gênero *Corynebacterium*, com mais de 80 espécies, e o gênero *Turicella* (BUSSE, 2015).

A família *Flavobacteriaceae* é associada à saúde e Gram-negativa, aeróbia mas pode crescer de forma microaeróbica, 54 gêneros fazem parte desta família (BERNARDET, 2015).

Associada à doença, a família *Lachnospiraceae* abrange somente espécies anaeróbicas dos gêneros *Lachnospira*, *Acetitomaculum*, *Anaerostipes*, *Bryantella*, *Butyrivibrio*, *Catonella*, *Coprococcus*, *Dorea*, *Hespellia*, *Johnsonella*, *Lachnobacterium*, *Moryella*, *Oribacterium*, *Parasporobacterium*, *Pseudobutyrvibrio*,

Roseburia, *Shuttleworthia*, *Sporobacterium*, and *Syntrophococcus* (VOS et al., 2009).

Com espécies Gram-positivas, predominantemente aeróbicas ou anaeróbicas facultativas, a família *Microbacteriaceae* associada à saúde compreende os seguintes gêneros: *Microbacterium*, *Agreia*, *Agrococcus*, *Agromyces*, *Clavibacter*, *Cryobacterium*, *Curtobacterium*, *Frigoribacterium*, *Fronthabitans*, *Gulosibacter*, *Humibacter*, *Labeledella*, *Leifsonia*, *Leucobacter*, *Microcella*, *Microterricola*, *Mycetocola*, *Okibacterium*, *Phycicola*, *Plantibacter*, *Pseudoclavibacter*, *Rathayibacter*, *Rhodoglobus*, *Salinibacterium*, *Subtercola*, *Yonghaparkia*, and *Zimmermannella* (EVTUSHENKO, 2015).

A família *Moraxella* compreende espécies Gram-negativas, aeróbicas e dos gêneros *Moraxella*, *Acinetobacter* e *Psychrobacter* (JUNI; BØVRE, 2015).

Neisseriaceae, associada à saúde, é Gram-negativa e aeróbia. Compreende os gêneros: *Alysiella*, *Andreprevotia*, *Aquaspirillum*, *Aquitalea*, *Bergeriella*, *Chitinibacter*, *Chitinilyticum*, *Chitiniphilus*, *Chromobacterium*, *Conchiformibius*, *Deefgea*, *Eikenella*, *Formivibrio*, *Gulbenkiania*, *Iodobacter*, *Jeongeupia*, *Kingella*, *Laribacter*, *Leeia*, *Microvirgula*, *Morococcus*, *Neisseria*, *Paludibacterium*, *Prolinoborus*, *Pseudogulbenkiania*, *Silvimonas*, *Simonsiella*, *Stenoxybacter*, *Uruburuella*, *Vitreoscilla*, *Vogesella* (TØNJUM, 2015).

Na família *Pasteurellaceae*, associada à saúde, encontram-se espécies Gram-negativas, anaeróbicas facultativas, microaerofílicas ou aeróbicas (CHRISTENSEN et al., 2020).

Todos os membros da família *Peptococcaceae* são exclusivamente anaeróbios, a maioria das espécies são Gram-positivas mas algumas negativas (VOS et al., 2009).

A família *Peptostreptococcaceae*, associada à doença, compreende espécies Gram-positivas anaeróbicas facultativas ou obrigatórias, dos gêneros *Peptostreptococcus*, *Filifactor*, and *Tepidibacter* (VOS et al., 2009).

A família *Porphyromonadaceae* foi associada às duas situações orais, saúde e doença, contém os gêneros *Porphyromonas*, *Barnesiella*, *Dysgonomonas*, *Paludibacter*, *Petrimonas*, *Proteiniphilum* e *Tannerella*. Compreende espécies Gram-

negativas, estritamente anaeróbicas (com exceção do gênero *Dysgonomonas*) (KRIEG, 2015).

Associada à doença, a família *Propionibacteriaceae* compreende os gêneros: *Aestuariimicrobium*; *Brooklawnia*; *Friedmanniella*; *Granulicoccus*; *Luteococcus*; *Micrococcus*; *Micropruina*; *Propionicicella*; *Propionicimonas*; *Propioniferax*; *Propionimicrobium* e *Tessaracoccus* (PATRICK; MCDOWELL, 2015).

A família *Spirochaetaceae*, associada à doença oral, compreende quatro gêneros: *Spirochaeta*, *Cristispira*, *Treponema* e *Borrelia* (NORDHOFF et al., 2008).

A família *Xanthomonadaceae*, associada à saúde, compreende doze gêneros: *Xanthomonas*, *Frateuria*, *Fulvimonas*, *Luteimonas*, *Lysobacter*, *Nevskia*, *Pseudoxanthomonas*, *Rhodanobacter*, *Schineria*, *Stenotrophomonas*, *Thermomonas*, e *Xylella* (SADDLER; BRADBURY, 2015).

Esse levantamento se encaixa no que é relatado por Davis (2013): no ambiente oral saudável predominam as bactérias aeróbias Gram-negativas, enquanto no ambiente oral não-saudável são as bactérias anaeróbias Gram-positivas.

É hipotetizado que as espécies associadas com saúde são espécies que iniciam a colonização da boca, metabolizam carboidrato salivares (como mucina e proteínas ricas em prolina) e são associadas com a formação inicial do biofilme oral (HOLCOMBE et al., 2014). Ainda, Wallis (2015) traz que o início da periodontite provavelmente se deve a uma mudança da comunidade bacteriana num todo, mais do que apenas aumento da abundância de algumas espécies associadas à doença.

6. CONCLUSÕES

Foram selecionados 25 artigos com diferentes metodologias. A metodologia mais utilizada para a caracterização das bactérias do microbioma é do Illumina (SBS). A região onde é realizada a coleta na cavidade oral e o material coletado influenciam no perfil das bactérias, sendo o principal material coletado a placa supragengival. *Peptostreptococcaceae* foi a principal família relacionada a um status não saudável e *Neisseriaceae*, *Flavobacteriaceae*, *Moraxellaceae* e *Pasteurellaceae* foram as principais famílias relacionadas à status saudável. A literatura comparando o microbioma de uma cavidade oral de cães em diferentes condições de saúde ainda é escassa.

7. REFERÊNCIAS

- BEIKLER, T. et al. Oral Microbiota Transplant in Dogs with Naturally Occurring Periodontitis. **Journal of Dental Research**, v. 100, n. 7, p. 764–770, 2021.
- BELL, S. E. et al. An Assessment of the Stability of the Canine Oral Microbiota After Probiotic Administration in Healthy Dogs Over Time. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 7, n. September, p. 1–8, 2020.
- BERNARDET, J. Flavobacteriaceae . **Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria**, p. 1–18, 2015.
- BUSSE, H. Corynebacteriaceae . **Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria**, p. 1–4, 2015.
- BYRNE, S. J. et al. **Taxonomy of Oral Bacteria**. 1. ed. [s.l.] Elsevier Ltd., 2018. v. 45
- CARREIRA, L. M.; DIAS, D.; AZEVEDO, P. Relationship Between Gender, Age, and Weight and the Serum Ionized Calcium Variations in Dog Periodontal Disease Evolution. **Topics in Companion Animal Medicine**, v. 30, n. 2, p. 51–56, 2015.
- CHRISTENSEN, H. et al. Pasteurellaceae . **Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria**, p. 1–26, 2020.
- CUNHA, E. et al. Influence of the dental topical application of a nisin-biogel in the oral microbiome of dogs: A pilot study. **PeerJ**, v. 9, p. 1–15, 2021.
- 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.
- DEAMER, D.; AKESON, M.; BRANTON, D. Three decades of nanopore sequencing. **Nature Biotechnology**, v. 34, n. 5, p. 518–524, 2016.
- DEWHIRST, F. E. et al. The canine oral microbiome. **PLoS ONE**, v. 7, n. 4, p. 1–12, 2012.
- DIAS, F. G. G. et al. Endodontics pastes formulated with copaiba oil: action on oral microbiota and dentin bridge formation in dogs. **Ciência Rural**, v. 45, n. 6, p. 1073–1078, 2015.
- DRANCOURT, M. et al. 16S ribosomal DNA sequence analysis of a large collection of environmental and clinical unidentifiable bacterial isolates. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 38, n. 10, p. 3623–3630, 2000.

- EVTUSHENKO, L. I. Microbacteriaceae . **Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria**, p. 1–14, 2015.
- FLANCMAN, R.; SINGH, A.; SCOTT WEESE, J. Evaluation of the impact of dental prophylaxis on the oral microbiota of dogs. **PLoS ONE**, v. 13, n. 6, p. 1–18, 2018.
- FU, S.; WANG, A.; AU, K. F. A comparative evaluation of hybrid error correction methods for error-prone long reads. **Genome Biology**, v. 20, n. 1, p. 1–17, 2019.
- GIOSO, M. A. et al. Mandible and mandibular first molar tooth measurements in dogs: relationship of radiographic height to body weight. **Journal of Veterinary Dentistry**, v. 18, n. 2, p. 65–68, 2001.
- GLICKMAN, L. T. et al. Association between chronic azotemic kidney disease and the severity of periodontal disease in dogs. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 99, n. 2–4, p. 193–200, 2011.
- HARDHAM, J. et al. Pigmented-anaerobic bacteria associated with canine periodontitis. **Veterinary Microbiology**, v. 106, n. 1–2, p. 119–128, 2005.
- HARVEY, C. E.; SHOFRER, F. S.; LASTER, L. Association of age and body weight with periodontal disease in North American dogs. **Journal of veterinary dentistry**, v. 11, n. 3, p. 94–105, 1994.
- HOLCOMBE, L. J. et al. Early canine plaque biofilms: Characterization of key bacterial interactions involved in initial colonization of enamel. **PLoS ONE**, v. 9, n. 12, p. 1–24, 2014.
- ISAIAH, A. et al. Characterization of the nasal and oral microbiota of detection dogs. **PLoS ONE**, v. 12, n. 9, p. 1–16, 2017.
- JANDA, J. M.; ABBOTT, S. L. 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: Pluses, perils, and pitfalls. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 45, n. 9, p. 2761–2764, 2007.
- JUNI, E.; BØVRE, K. Moraxellaceae . **Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria**, p. 1–11, 2015.
- KAČÍROVÁ, J. et al. Detection of Periodontal Pathogens from Dental Plaques of Dogs with and without Periodontal Disease. **Pathogens**, v. 11, n. 4, 2022.
- KERKHOF, L. J. et al. Profiling bacterial communities by MinION sequencing of ribosomal operons. **Microbiome**, v. 5, n. 1, p. 116, 2017.
- KORTEGAARD, H. E.; ERIKSEN, T.; BAELUM, V. Periodontal disease in research beagle dogs - An epidemiological study: PAPER. **Journal of Small Animal Practice**, v. 49, n. 12, p. 610–616, 2008.

- KRIEG, N. R. Porphyromonadaceae fam. nov. . **Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria**, p. 1–2, 2015.
- KYLLAR, M.; WITTER, K. Prevalence of dental disorders in pet dogs. **Veterinarni Medicina**, v. 50, n. 11, p. 496–505, 2005.
- LIMA, L. et al. Comparative assessment of long-read error correction software applied to Nanopore RNA-sequencing data. **Briefings in Bioinformatics**, v. 21, n. 4, p. 1164–1181, 2019.
- MAXAM, A. M.; GILBERT, W. [57] **Sequencing End-Labeled DNA with Base-Specific Chemical Cleavages**. [s.l: s.n.]. v. 65
- MCDONALD, J. E. et al. Characterising the canine oral microbiome by direct sequencing of reverse-transcribed rRNA molecules. **PLoS ONE**, v. 11, n. 6, p. 1–17, 2016.
- MCHUGH, A. J. et al. Microbiome-based environmental monitoring of a dairy processing facility highlights the challenges associated with low microbial-load samples. **npj Science of Food**, v. 5, n. 1, p. 1–13, 2021.
- MENGONI, A.; BACCI, G.; FONDI, M. **Bacterial Pangenomics**. [s.l: s.n.]. v. 2242
- MIGNARD, S.; FLANDROIS, J. P. 16S rRNA sequencing in routine bacterial identification: A 30-month experiment. **Journal of Microbiological Methods**, v. 67, n. 3, p. 574–581, 2006.
- MOHER, D. et al. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: The PRISMA statement. **International Journal of Surgery**, v. 8, n. 5, p. 336–341, 2010.
- NIEMIEC, B. A. Periodontal Disease. **Topics in Companion Animal Medicine**, v. 23, n. 2, p. 72–80, 2008.
- NIEMIEC, B. A. Veterinary Periodontology. **Veterinary Periodontology**, 2013.
- NORDHOFF, M. et al. Association of *Treponema* spp. with canine periodontitis. **Veterinary Microbiology**, v. 127, n. 3–4, p. 334–342, 2008.
- O'NEILL, D. G. et al. Prevalence of disorders recorded in dogs attending primary-care veterinary practices in England. **PLoS ONE**, v. 9, n. 3, 2014.
- OBA, P. M. et al. Dental chews positively shift the oral microbiota of adult dogs. **Journal of Animal Science**, v. 99, n. 7, p. 1–14, 2021.
- OH, C. et al. Comparison of the oral microbiomes of canines and their owners using next-generation sequencing. **PLoS ONE**, v. 10, n. 7, p. 1–15, 2015.
- ÖZAVCI, V. et al. Molecular detection of feline and canine periodontal pathogens.

Veterinary and Animal Science, v. 8, n. July, 2019.

PACE, N. R. A molecular view of microbial diversity and the biosphere. **Science**, v. 276, n. 5313, p. 734–740, 1997.

PAGE, Matthew J; MCKENZIE, Joanne e; BOSSUYT, Patrick M; BOUTRON, Isabelle; HOFFMANN, Tammy C; MULROW, Cynthia D; SHAMSEER, Larissa; TETZLAFF, Jennifer M; A AKL, Elie; BRENNAN, Sue e. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. **Bmj**, [S.L.], v. 71, n. 372, p. 0-0, 29 mar. 2021. **BMJ**. <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.n71>.

PATEL, J. B. 16S rRNA Gene Sequencing for Bacterial Pathogen Identification in the Clinical Laboratory. **Molecular Diagnosis**, v. 6, n. 4, p. 313–321, 2001.

PATRICK, S.; MCDOWELL, A. Propionibacteriaceae . **Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria**, p. 1–2, 2015.

PAVLICA, Z. et al. Periodontal disease burden and pathological changes in organs of dogs. **Journal of Veterinary Dentistry**, v. 25, n. 2, p. 97–105, 2008.

PERCHYONOK, V. T. Copazan Oral Gel: Functional Biomaterial and Periodontal Disease in Veterinary Medicine from Concept to Application in Vitro. **Journal of Dental and Oral Health**, v. 4, n. 1, p. 1–10, 2018.

PÉREZ-SERRANO, R. M. et al. Dental plaque microbiota of pet owners and their dogs as a shared source and reservoir of antimicrobial resistance genes. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 21, p. 285–290, 2020.

PINTO, C. F. D. et al. Short-term changes in the oral microbiota of dogs after chewing different types of autoclaved bones. **Veterinarski Arhiv**, v. 91, n. 3, p. 277–285, 2021.

RADEEROM, T. et al. Investigation of the calculus microbiome in canines and felines using next-generation sequencing. **Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi**, v. 24, n. 4, p. 589–598, 2018.

RAKESH, A. et al. A clinical study on the incidence of periodontal diseases in dogs and their surgical management. **The Pharma Innovation Journal**, v. 7, n. 4, p. 290–292, 2018.

ROBER, M. et al. Intra-oral microbial profiles of beagle dogs assessed by checkerboard DNA-DNA hybridization using human probes. **Veterinary Microbiology**, v. 127, n. 1–2, p. 79–88, 2008.

RONAGHI, M. et al. Ronaghi 1996. **Analytical Biochemistry**, v. 89, p. 1–6, 1996.

RUPARELL, A. et al. Effect of feeding a daily oral care chew on the composition of

- plaque microbiota in dogs. **Research in Veterinary Science**, v. 132, n. May, p. 133–141, 2020a.
- RUPARELL, A. et al. The canine oral microbiome: Variation in bacterial populations across different niches. **BMC Microbiology**, v. 20, n. 1, p. 1–13, 2020b.
- RUPARELL, A. et al. Comparison of subgingival and gingival margin plaque microbiota from dogs with healthy gingiva and early periodontal disease. **Research in Veterinary Science**, v. 136, n. January, p. 396–407, 2021.
- SADDLER, G. S.; BRADBURY, J. F. Xanthomonadaceae fam. nov. . **Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria**, p. 1–3, 2015.
- SANGER, F.; COULSON, A. R. A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. **Journal of Molecular Biology**, v. 94, n. 3, p. 441–448, 1975.
- SCHAAL, K. P.; YASSIN, A. F. Actinomycetaceae . **Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria**, v. 403, p. 1–11, 2015.
- SLATKO, B. E.; GARDNER, A. F.; AUSUBEL, F. M. Overview of Next-Generation Sequencing Technologies. **Current Protocols in Molecular Biology**, v. 122, n. 1, p. 1–11, 2018.
- STELLA, J. L.; BAUER, A. E.; CRONEY, C. 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. 1–13, 2018.
- STURGEON, A. et al. 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.
- TEUGHEL, W. et al. Guiding periodontal pocket recolonization: A proof of concept. p. 1078–1082, 2007.
- TØNJUM, T. Neisseria. v. 106, n. Zopf 1885, p. 48–56, 2015.
- TRINGE, S. G.; HUGENHOLTZ, P. A renaissance for the pioneering 16S rRNA gene. **Current Opinion in Microbiology**, v. 11, n. 5, p. 442–446, 2008.
- TURCHETTO-ZOLET, A. C. et al. **Polimorfismo de Nucleotídeo único (SNP): metodologias de identificação, análise e aplicações**. [s.l: s.n.].
- VAN DIJK, E. L. et al. The Third Revolution in Sequencing Technology. **Trends in Genetics**, v. 34, n. 9, p. 666–681, 2018.
- VOS, P. DE et al. *Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology*. v. 3, 2009.

- WALLIS, C. et al. A longitudinal assessment of changes in bacterial community composition associated with the development of periodontal disease in dogs. **Veterinary Microbiology**, v. 181, n. 3–4, p. 271–282, 2015.
- WALLIS, C. et al. Subgingival microbiota of dogs with healthy gingiva or early periodontal disease from different geographical locations. **BMC Veterinary Research**, v. 17, n. 1, p. 1–19, 2021.
- WANG, Y. et al. Nanopore sequencing technology, bioinformatics and applications. **Nature Biotechnology**, v. 39, n. 11, p. 1348–1365, 2021.
- WICK, R. R.; JUDD, L. M.; HOLT, K. E. Performance of neural network basecalling tools for Oxford Nanopore sequencing. **Genome Biology**, v. 20, n. 1, p. 1–10, 2019.
- WILLIAMS, R. C. Periodontal Disease. **The New England Journal of medicine**, v. 322, n. 6, p. 373–382, 1990.
- WOO, P. C. Y. et al. Usefulness of the MicroSeq 500 16S ribosomal DNA-based bacterial identification system for identification of clinically significant bacterial isolates with ambiguous biochemical profiles. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, n. 5, p. 1996–2001, 2003.
- YAMASAKI, Y. et al. Distribution of periodontopathic bacterial species in dogs and their owners. **Archives of Oral Biology**, v. 57, n. 9, p. 1183–1188, 2012.