

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**MONITORAMENTO DOS EFEITOS DA DOENÇA
PERIODONTAL NA REPRODUÇÃO: AVALIAÇÃO
MICROBIOLÓGICA DA CAVIDADE BUCAL E LÍQUIDO
AMNIÓTICO DE OVELHAS GESTANTES**

Natália Cristina de Souza

Médica Veterinária

2021

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

**MONITORAMENTO DOS EFEITOS DA DOENÇA
PERIODONTAL NA REPRODUÇÃO: AVALIAÇÃO
MICROBIOLÓGICA DA CAVIDADE BUCAL E LÍQUIDO
AMNIÓTICO DE OVELHAS GESTANTES**

Natália Cristina de Souza

Orientador: Prof. Dr. Iveraldo dos Santos Dutra

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária (Medicina Veterinária Preventiva).

2021

S729m	<p>Souza, Natália Cristina</p> <p>Monitoramento dos efeitos da doença periodontal na reprodução: avaliação microbiológica da cavidade bucal e líquido amniótico de ovelhas gestantes / Natália Cristina Souza.</p> <p>-- Jaboticabal, 2021</p> <p>68 p. : tabs., fotos + 1 CD-ROM</p> <p>Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal</p> <p>Orientador: Iveraldo dos Santos Dutra</p> <p>1. Gestação. 2. Líquido amniótico. 3. Ovinos. 4. Periodontite.</p> <p>I. Título.</p>
-------	---

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

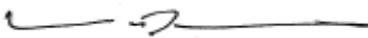
Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

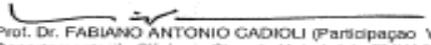
TÍTULO DA TESE: MONITORAMENTO DOS EFEITOS DA DOENÇA PERIODONTAL NA REPRODUÇÃO:
AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DA CAVIDADE BUCAL E LÍQUIDO AMNÍOTICO DE
OVELHAS GESTANTES

AUTORA: NATÁLIA CRISTINA DE SOUZA
ORIENTADOR: IVERALDO DOS SANTOS DUTRA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em MEDICINA
VETERINÁRIA, área: Medicina Veterinária Preventiva pela Comissão Examinadora:


Prof. Dr. IVERALDO DOS SANTOS DUTRA (Participação Virtual)
Departamento de Apoio Produção e Saúde Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de
Araçatuba/Unesp


Pós-Doutoranda JANAINA SOCCOLOVSKI BIAVA (Participação Virtual)
ESALQ/USP / Piracicaba/SP


Prof. Dr. FABIANO ANTONIO GADIOLI (Participação Virtual)
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária-FMVA/UNESP / Araçatuba/SP


Profa. Dra. ANA CAROLINA BORSANELLI (Participação Virtual)
Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Goiás-UFG / Goiânia/GO


Profa. Dra. MARICY APPARÍCIO FERREIRA (Participação Virtual)
DMVPRA-FCAV/UNESP / Jaboticabal/SP

Jaboticabal, 10 de fevereiro de 2021

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Natália Cristina de Souza – nascida em Araçatuba, São Paulo, em 02 de Outubro de 1984. Iniciou e concluiu o curso de graduação em Medicina Veterinária pela FAI- Faculdades Adamantinenses Integradas (2005-2009). Ingressou em 2010 no Programa de Residência Médico Veterinária na área de Fisiopatologia da Reprodução e Obstetrícia Veterinária na Faculdade de Medicina Veterinária FMVA-UNESP, campus de Araçatuba (2010- 2011). Em 2012 iniciou o mestrado pelo Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária, concluindo em 2014. Em 2017 ingressou no curso de doutorado pelo mesmo programa de Pós-Graduação.

“Não é o crítico que importa, nem aquele que aponta como o homem forte tropeça, ou onde o fazedor de ações poderia ter feito melhor. Todo o crédito pertence ao homem que está de fato na arena; cuja face está arruinada pela poeira e pelo suor e pelo sangue, aquele que luta com valentia; aquele que erra e tenta de novo e de novo; aquele que conhece o grande entusiasmo, a grande devoção e se consome em uma causa justa; aquele que ao menos conhece, ao fim, o triunfo de sua realização, e aquele que no pior das hipóteses, se falhar, ao menos falhará tendo ousado muito, de modo que seu lugar não seja nunca junto àquelas almas frias e tímidas que não conhecem nem vitória e nem derrota “

Trecho do discurso “O Homem na Arena”, proferido na Sorbonne em 23 de abril de 1910 por Theodore Roosevelt.

Dedico o presente trabalho à minha filha Maria Eduarda de Souza Faleiros, por me tornar uma pessoa melhor a cada dia, e por me mostrar que apesar dos obstáculos, a vida vale à pena ser vivida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me permitir concluir este projeto, por me fortalecer, e que por mais árdua seja a caminhada, nunca devemos desistir.

Agradeço à Ele todos os dias por ter enviado o maior presente que eu poderia ganhar, minha Duda, minha alma gêmea.

Meus sinceros agradecimentos aos meus pais Gerson Angelo e Sandra Aparecida de Freitas Souza, por todo suporte, carinho e compreensão, amo vocês.

À minha família, em especial minha tia Rosemary de Freitas Santos por cuidar tão bem de minha filha enquanto estava ausente.

Aos meus irmãos Renan Ângelo e Aline Esther Fuzetti pelo carinho, e aos meus sobrinhos João Pedro Fuzetti e Lucca Matheo que junto à minha filha, tornam meus dias mais coloridos.

Gostaria de agradecer a toda minha equipe, que sempre me ajudaram com muito carinho, companheirismo e paciência: Ana Carolina Borsanelli, Thamiris Minari Ramos, Julia Rebecca Saraiva, Juliana Vaccari, serei grata eternamente pela ajuda e convívio destes quatro anos maravilhosos.

Às minhas parceiras de viagem Julia Rebecca Saraiva e Juliana Vaccari, que sempre encararam com muito bom humor nossas idas à Jaboticabal, vocês são muito especiais para mim.

Agradeço ao meu orientador, Professor Doutor Iveraldo dos Santos Dutra, por ter acompanhado e ajudado em meu experimento, e por toda a paciência e educação durante o nosso convívio.

Eterna gratidão Professor Doutor Ellerson Gaetti-Jardim Junior, por toda ajuda e disponibilidade, e por compartilhar seus ensinamentos e seu tempo.

À professora Christiane M. Schweitzer por toda colaboração nas análises de dados desse projeto, muito obrigada pela atenção e dedicação de sempre.

Agradeço imensamente quatro pessoas que foram essenciais para a conclusão deste projeto Bianca Sthephanie Cardoso, Nathiely Permannhani, Izabela

Silva e Flávia Carmona, obrigada pela ajuda no acompanhamento dos partos das ovelhas, principalmente durante as madrugadas.

Agradeço aos funcionários da UNESP-FMVA, Alexandre José Teixeira e Adão Ângelo Custódio, por toda assistência e ajuda e parceria durante estes quatro anos.

E ao funcionário da UNESP-FOA Robson Varlei Ranieri por toda ajuda, por sua simpatia, educação e paciência para me ensinar.

A professora Valéria Marçal Felix de Lima e equipe por permitir meu acesso ao laboratório de Imunologia Celular em plena pandemia, e pela paciência e disponibilidade para me ensinar a técnica de Elisa.

A professora Daniela Bernadete Rozza pela disponibilidade e ajuda na leitura das lâminas.

Agradeço a toda equipe da Esalq-USP Piracicaba SP, obrigada pela acolhida e ajuda, aos Professores Alexandre Vaz Pires, Evandro Ferreira e Janaína Biava, por permitir as coletas de materiais e a minha estadia, foram todos muitos solícitos.

Agradeço ao Unisaesiano e ao coordenador do curso de Medicina Veterinária Rafael Cipriano por toda ajuda na utilização do software na pádrionização das imagens das lâminas de histopatologia.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES)- 001

SUMÁRIO

Certificado da Comissão de Ética no Uso de Animais	ii
RESUMO	iii
Abstract.....	iv
Capítulo 1 – Considerações gerais sobre a doença periodontal associada à gestação	1
1 - Introdução	1
2. Revisão de literatura	3
2.1 Definição de Doença Periodontal	3
2.2 Doença periodontal em outras espécies animais.....	4
2.3 Doença periodontal em ovinos	7
2.4 Doença periodontal e os efeitos adversos na gestação.....	9
3.Referências	13
Capitulo 2 - Monitoramento das lesões periodontais e os efeitos adversos na gestação : aspectos microbiológicos da cavidade bucal e líquido amniótico de ovelhas gestantes ¹	21
INTRODUÇÃO	23
MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
RESULTADOS.....	26
DISCUSSÃO	29
REFERÊNCIAS.....	36
Capítulo 3– Considerações Finais.....	53

Certificado da Comissão de Ética no Uso de Animais

unesp	UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"	
CAMPUS ARAÇATUBA FACULDADE DE ODONTOLOGIA FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA		
CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA - Ethics Committee on the Use of Animals		
CERTIFICADO		
Certificamos que o Projeto de Pesquisa intitulado " Monitoramento dos efeitos da periodontite na reprodução: avaliação microbiológica e de marcadores inflamatórios durante a gestação em pequenos ruminantes ", Processo FOA nº 00296-2018, sob responsabilidade de Iveraldo dos Santos Dutra apresenta um protocolo experimental de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal e sua execução foi aprovada pela CEUA em 08 de Junho de 2018.		
VALIDADE DESTE CERTIFICADO: 10 de Dezembro de 2020.		
DATA DA SUBMISSÃO DO RELATÓRIO FINAL: até 10 de Janeiro de 2021.		
CERTIFICATE		
We certify that the study entitled " Monitoring periodontitis effects on reproduction: microbiological and inflammatory markers evaluation during gestation in small ruminants ", Protocol FOA nº 00296-2018, under the supervision of Iveraldo dos Santos Dutra presents an experimental protocol in accordance with the Ethical Principles of Animal Experimentation and its implementation was approved by CEUA on June 08, 2018.		
VALIDITY OF THIS CERTIFICATE: December 10, 2020.		
DATE OF SUBMISSION OF THE FINAL REPORT: January 10, 2021.		
 Prof. Ass. Dr. Leonardo Perez Faverani Coordenador da CEUA CEUA Coordinator		
CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais Faculdade de Odontologia de Aracatuba Faculdade de Medicina Veterinária de Aracatuba Rua José Bonifácio, 1193 - Vila Mendonça - CEP: 16015-050 - ARAÇATUBA - SP Fone (18) 3636-3234 Email CEUA: ceua@foa.unesp.br		

MONITORAMENTO DOS EFEITOS DA DOENÇA PERIODONTAL NA REPRODUÇÃO: AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DA CAVIDADE BUCAL E LÍQUIDO AMNIÓTICO DE OVELHAS GESTANTES

RESUMO– A periodontite é uma doença inflamatória que atinge os tecidos de sustentação dos dentes mediada pela presença de microrganismos que resultam em destruição progressiva do ligamento periodontal e osso alveolar, culminando em perda dentária. Em humanos, associações entre bactérias patogênicas periodontais e problemas gestacionais como nascimento prematuro, baixo peso ao nascer e abortos estão bem estabelecidas. Apesar da patogênese das periodontites em ruminantes ser semelhante à observada em humanos, pouco se conhece sobre a correlação entre esta enfermidade e agravos gestacionais. O objetivo deste estudo foi verificar o impacto das doenças periodontais na gestação ovina pela análise clínica e microbiológica da cavidade bucal e líquido amniótico e monitorar alterações hematológicas, placentárias e peso após o parto de ovelhas gestantes e seus respectivos cordeiros. Foram selecionadas dez ovelhas gestantes clinicamente saudáveis (OGCS) e dez ovelhas gestantes com periodontite (OGP). Foram avaliadas a cavidade oral, microbiota de biofilme dental, líquido amniótico, hemograma e tecido placentário no momento da expulsão fetal para avaliação de presença de alterações inflamatórias. Verificou-se correlação positiva entre sangramento gengival e supuração ($ic=0,54$), supuração e gengivite marginal ($ic=0,34$) e gengivite marginal e edema ($ic=0,54$). Observou-se menor peso no grupo OGP ($p=0,013$) e seus respectivos cordeiros ($p=0,04$), quando comparados ao grupo de ovelhas saudáveis (OGCS). No perfil microbiológico da cavidade bucal, houve diferença significativa entre a ocorrência de bolsas periodontais e a presença de *Fusobacterium necrophorum* ($p= 0,0328$), *P. asaccharolytica* ($p=0.0392$) e a classe *Mollicutes* ($p= 0,0352$). Houve maior incidência do gênero *Staphylococcus*; ($p=0,9107$) e o domínio *Archaea* ($p=0,7245$) e uma única amostra de *P. asaccharolytica* ($p=0,2685$) no líquido amniótico. O grupo OGP apresentou a maior parte de fêmeas com alterações placentárias (70%) dentre elas presença de macrófagos, neutrófilos e plasmócitos, congestão moderada e áreas multifocais de calcificação. A presença de *Fusobacterium necrophorum* foi estritamente correlacionada aos casos de periodontite, não atingindo os envoltórios fetais.

Palavras-chave: Gestação, líquido amniótico, ovinos, periodontite.

**MONITORING EFFECTS OF PERIODONTAL DISEASE ON REPRODUCTION:
MICROBIOLOGICAL EVALUATION OF THE ORAL CAVITY AND AMNIOTIC
FLUID OF PREGNANT SHEEP**

Abstract- Periodontitis is an inflammatory disease that affects the tissues that support the teeth. The presence of microorganisms results in progressive destruction of the periodontal ligament and alveolar bone, culminating in tooth loss. In humans, associations between periodontal pathogenic bacteria and gestational problems such as premature birth, low birth weight and abortions are well established. Although the pathogenesis of periodontitis in ruminants is similar to that observed in humans, little is known about the correlation between this disease and pregnancy disorders. The aim of this study was to verify the impact of periodontal diseases on ovine pregnancy by clinical and microbiological analysis of the oral cavity and amniotic fluid and to monitor hematological, placental and weight changes after delivery of pregnant ewes and their respective lambs. Ten clinically healthy pregnant ewes (OGCS) and ten pregnant ewes with periodontitis (OGP) were selected. The oral cavity, dental biofilm microbiota, amniotic fluid, blood count and placental tissue at the time of fetal expulsion were evaluated to assess the presence of inflammatory changes. There was a positive correlation between gingival bleeding and suppuration ($ic = 0.54$), suppuration and marginal gingivitis ($ic = 0.34$) and marginal gingivitis and edema ($ic = 0.54$). Less weight was observed in the OGP group ($p = 0.013$) and their respective lambs ($p = 0.04$), when compared to the healthy sheep group (OGCS). In the microbiological profile of the oral cavity, there was a significant difference between the occurrence of periodontal pockets and the presence of *Fusobacterium necrophorum* ($p = 0.0328$), *P. asaccharolytica* ($p = 0.0392$) and the Mollicutes class ($p = 0.0352$). There was a higher incidence of the Staphylococcus genus; ($p = 0.9107$) and the Archaea domain ($p = 0.7245$) and a single sample of *P. asaccharolytica* ($p = 0.2685$) in the amniotic fluid. The OGP group presented the majority of females with placental alterations (70%), among them the presence of macrophages, neutrophils and plasma cells, moderate congestion and multifocal areas of calcification. The presence of *Fusobacterium necrophorum* was strictly correlated to cases of periodontitis, not reaching the fetal wraps.

Keywords: Pregnancy, amniotic fluid, sheep, periodontitis.

Capítulo 1 – Considerações gerais sobre a doença periodontal associada à gestação

1 - Introdução

A periodontite é uma doença infecto-inflamatória crônica de etiologia multifatorial que afeta diretamente o periodonto e está primariamente associada a presença de micro-organismos nos biofilmes sub e supragengivais. O periodonto, estrutura responsável pela sustentação dental, é composto pela gengiva, ligamento periodontal, cemento radicular e osso alveolar. Dentre os vários fatores associados à etiopatogênese das periodontites, pode-se destacar: fatores genéticos; fatores relacionados à comunidade microbiana, bem como, fatores ambientais e imunológicos. Além da resposta individual, o desequilíbrio em relação hospedeiro-microorganismos pode gerar lesões localizadas no tecido marginal, enquanto outras lesões são mais destrutivas envolvendo perda do tecido conjuntivo de inserção e osso alveolar.

Dentre as alterações bucais mais frequentemente observadas, destacam-se a presença de biofilmes pigmentados, gengivites, formação de bolsa periodontal (com ou sem supuração), recessão gengival podendo levar ao afrouxamento e perda dentária, dentre outros processos patológicos. A formação dos biofilmes e a comunicação entre os microorganismos bucais pode ser apontado como elemento chave nas organizações de sucesso, sendo que estas formações são essenciais no desencadeamento das periodontites, porém não suficientes para o aparecimento da doença.

A transição de um periodonto sadio para um doente está diretamente associada à disbiose do biofilme bucal, sendo que este desarranjo pode tanto mediar uma patologia inflamatória local como atingir locais distantes. Estudos recentes em humanos discutem evidências sobre os mecanismos pelos quais os micro-organismos que habitam a cavidade bucal disseminam-se sistemicamente, podendo assim afetar outros sistemas orgânicos.

Estes trabalhos em humanos apontam que as infecções periodontais além de causar lesões e perda dentária podem perturbar o sistema imunológico e a

homeostase dos tecidos locais e sistêmicos promovendo ou acelerando processos patogênicos, aumentando assim os riscos de desenvolverem doenças como arterosclerose, pneumonia por aspiração, câncer e distúrbios na gestação, tais como baixo peso ao nascimento e morte embrionária.

Além dos humanos, a periodontite já foi relatada em diversas espécies animais, tais como cães, bovinos, diferentes animais silvestres de vida livre e de cativeiro e também em ovinos, nos quais era conhecida antigamente como “broken mouth”. Atualmente, há poucos estudos em animais associando a periodontite e seus agravos sistêmicos, uma vez que na medicina veterinária são poucos os profissionais que se atentam à cavidade bucal dos animais.

Considerando os problemas sistêmicos associados entre doenças periodontais e complicações gestacionais já bem estabelecidos na literatura de humanos, como prematuridade, morte embrionária e, principalmente, o baixo peso ao nascer, preocupa-se conhecer mais profundamente os efeitos de tais enfermidades na medicina veterinária, pois afetam diretamente a produtividade nos rebanhos acometidos e acarretam grandes prejuízos econômicos na ovinocultura de corte. Diante da importância das afecções bucais no desempenho e bem-estar dos ovinos, o objetivo geral do presente estudo foi avaliar o efeito de lesões periodontais e as possíveis alterações gestacionais em ovelhas e seus cordeiros.

2. Revisão de literatura

2.1 Definição de Doença Periodontal

Doença periodontal corresponde a um conjunto de enfermidades inflamatórias crônicas que acometem o periodonto e que em sua forma avançada caracteriza-se por perda de ligamento periodontal, destruição de áreas circundantes do dente e de osso alveolar. Em humanos, é a principal causa de perda dentária e é considerada uma das maiores ameaças à saúde bucal (Nazir, 2017).

Dentre as diferentes apresentações de doença periodontal, a periodontite é definida como uma doença inflamatória dos tecidos de sustentação dos dentes causados por microorganismos ou grupos de microorganismos específicos, resultando em destruição progressiva do ligamento periodontal e osso alveolar com formação de bolsa periodontal, recessão gengival ou ambos (Newman et al., 2006; Saini et al., 2009). É uma doença infecciosa complexa resultante da infecção e resposta do hospedeiro ao desafio bacteriano, e a doença é modificada pelos fatores de risco adquirido, ambiental e susceptibilidade genética (Saini et al., 2009).

A placa dentária é considerada um biofilme estrutural e funcionalmente organizado, formando-se de maneira ordenada e possui uma composição microbiana diversificada que, em ambientes saudáveis, permanece relativamente estável ao longo do tempo, denominada homeostase microbiana.

A periodontite não somente é resultante de patógenos individuais, mas sim, de polimicrobianos que perturbam o ambiente do biofilme equilibrado, ou seja, a disbiose da microbiota periodontal é caracterizada por um desequilíbrio na influência das espécies microbianas que sinergizam para moldar uma entidade patogênica, podendo causar doença na cavidade oral ou tecidos extra orais de indivíduos susceptíveis (Hajishengallis, 2015).

A gengivite é considerada uma forma reversível de doença periodontal, caracterizada por inflamação gengival em resposta ao acúmulo de biofilme. Em indivíduos susceptíveis persistentes, a gengivite pode levar à periodontite crônica (Kistler, 2013).

Em contrapartida, Holmstrup et al. (2018) relata que a gengivite e outras lesões orais não são somente causadas por biofilme e/ou placas dentárias, também podem se manifestar em resposta à condições sistêmicas ou de distúrbios na saúde do paciente, podendo as causas serem de origens virais, fúngicas, reações de hipersensibilidade, doenças autoimunes, neoplasias entre outras.

Nesse seguimento outros fatores são desencadeadores de gengivite, como mudanças hormonais, stress, nutrição inadequada, algumas medicações, diabetes mellitus, alterações imunológicas bem como traumas e presença de cárie dentária.

Apesar de estar claro de que a gengivite é precedente da periodontite, é necessário ressaltar que nem sempre a gengivite pode avançar para uma periodontite (Alawad, 2018).

2.2 Doença periodontal em outras espécies animais

A doença periodontal, incluindo a gengivite, a periodontite e os abscessos periodontais, são processos infecciosos bucais que mais comumente afetam os animais adultos (Agostinho, 2017; Arcaute et al., 2020b). Neste contexto, a periodontite na espécie canina é considerada frequente. Atinge mais de 80% dos cães acima de 5 anos, em decorrência de uma infecção da placa dental, em resposta as bactérias predominantemente Gram-negativas, acarretando manifestações clínicas como inflamação gengival, destruição do periodonto e tecido conjuntivo e, conseqüentemente reabsorção do osso alveolar (Kouki et al., 2013).

A periodontite em cães é considerada uma doença da civilização, uma vez que animais submetidos a fatores de domesticação apresentam quadros periodontais mais severos (Harvey, 1998) e tem sido associada a problemas renais, hepáticos e cardíacos (Peddle et al., 2009).

Em animais selvagens livres e em cativeiro, a periodontite também foi considerada como importante causa de mortalidade em diferentes espécies animais, tais como primatas (Ebersole et al., 2010; Gaetti-Jardim JR et al., 2012), ursos (Fournier et al., 2001), lobos, coiotes, onças (Laliberte e Mayrand, 1983) entre outras.

Em bovinos, a periodontite é um processo infeccioso purulento e progressivo associado à presença de biofilme subgengival anaeróbio estrito e facultativo e de incidência em extensas áreas geográficas do Brasil (Borsanelli et al., 2015b). Dietas

compostas por pastagens recém-reformadas ou áreas de nova abertura demonstraram em estudos anteriores como fator importante no desencadeamento da periodontite em ruminantes mantidos em criações extensivas e controladas de manejo (Dutra et al., 1993; Ramos et al., 2019).

Geralmente é considerada uma afecção negligenciada na produção animal, trata-se de um processo infeccioso purulento, crônico e progressivo que causa alterações cumulativas ao longo da vida dos animais. Estas alterações são caracterizadas por formações de bolsas periodontais, recessão gengival, mobilidade e perda de inserção clínica, culminando em perda dentária (Page et al., 1976; Döbereiner et al., 2000; Borsanelli et al., 2016; Borsanelli et al., 2018).

A doença tem grande impacto econômico e sanitário no rebanho brasileiro e apresenta características epidemiológicas peculiares. Inicialmente, foi descrita e associada à formação de pastagens em extensas áreas do Sudeste, Centro-Oeste e Norte do país (Döbereiner et al., 2000), ocorrendo em grande prevalência após a reforma das pastagens ou quando os bovinos em estágio inicial de dentição foram alimentados com forragens cultivadas em áreas endêmicas. (Dutra et al., 1993; Döbereiner et al., 2000).

Baseado em informações de que animais afetados se recuperavam espontaneamente quando transferidos para áreas indenes, Döbereiner et al. (1975) e Dutra et al. (2000) transferiram bovinos de diferentes idades com lesões periodontais da “cara inchada” para fazendas consideradas livres da doença. Nesta circunstância, os bovinos apresentaram cura clínica, com cicatrização das bolsas periodontais, desaparecimento do odor fétido bucal, regressão do abaulamento facial e melhora no estado nutricional.

A constatação de que a recuperação clínica dos animais, após a transferência para área indene, está relacionada com a modificação quantitativa de *Bacteroides* permitiu evidenciar que a doença periodontal é uma enfermidade infecciosa multifatorial com o envolvimento primário dessas bactérias (Dutra et al., 2000). Refletindo sobre possíveis formas de tratamentos e ou prevenção, em estudo recente Ramos et al. (2019) avaliaram a eficácia da virginamicina como controle da doença periodontal em bezerros, e observou-se que este antimicrobiano quando

administrado na dosagem de 340 mg/animal, reduz significativamente a ocorrência de lesões periodontais como gengivite e gengivite necrosante.

O acúmulo e a produção de enzimas, toxinas e outros produtos metabólicos por bactérias anaeróbias Gram-negativas são considerados fatores primários importantes na etiologia de doença periodontal no homem (Loe et al., 1965; Ellinson, 1970; Slots, 1982) e nos animais (Slots e Hausmann, 1979; Lindhe et al., 2010).

Essas bactérias não invadem, de maneira geral, o tecido periodontal, mas elaboram uma série de produtos que podem participar direta ou indiretamente na destruição de tecidos (McDonald et al., 1960; Socransky, 1970, Page e Schroeder, 1976; Slots e Genco, 1984). Segundo Kolembrander et al. (2010). A colonização por várias espécies microbianas formam estruturas complexas que se aderem ao esmalte dentário, sendo denominado biofilme dentário. Esses biofilmes podem ser classificados como subgengivais (quando formados no sulco gengival) e biofilmes supragengivais (quando formado na coroa do dente), e quando em homeostase são muito importantes na manutenção da saúde bucal. Porém, a disbiose desta comunidade microbiana pode atuar como agente iniciador e mantenedor de quadros de doenças periodontais.

Nos animais, o biofilme dental ainda é uma estrutura pouco elucidada. Com o intuito de esclarecer estas estruturas, Saraiva et al. (2019) avaliaram a composição química e estrutural do biofilme supragengival de dentes pigmentados de preto em bovinos com periodontite, nos quais se observou a presença de formações estruturais com áreas irregulares, possivelmente resultantes de depósitos minerais. Observou-se também a presença de cocos e bacilares sugerindo a existência de conteúdo microbiano sobre o cálculo supragengival e elementos minerais como cálcio, fósforo, ferro e magnésio, sendo que a maior presença de ferro e magnésio estão fortemente associados com o surgimento da periodontite.

No quesito microbiológico, as bactérias anaeróbias são sabidamente predominantes na microbiota bucal humana e animal (Goldstein et al., 1984). A bolsa periodontal fornece um nicho ecológico para pelo menos 500 espécies bacterianas (Moore e Moore, 1994; Socransky et al., 1998; Paster et al., 2001).

Em estudos recentes, ao avaliar a presença de espécies de *Prevotella* e *Porphyromonas* na microbiota bovina de animais com e sem periodontite, verificaram

que a ocorrência de *Porphyromonas asaccharolytica*, *Porphyromonas endodontalis*, *Prevotella buccae*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella melaninogenica* e *Prevotella oralis*, estão associadas à periodontite bovina (Borsanelli et al., 2015).

Borsanelli et al. (2018) descreveram o microbioma subgingival de bovinos sadios e com periodontite, onde os gêneros *Gastranaerophilus*, *Planifilus*, *Burkholderia* e *Arcobacter*, obtiveram maior taxa de prevalência, enquanto que os animais com periodontite os gêneros prevaescentes foram: *Proprionivibrio*, *Wolinella*, *Porphyromonas*, *Candidatus*, *Prevotella*, *Firmicutes* (não cultivável), *Bacteróides* e *Treponema*. Com base nesses dados, os autores relatam que apesar dos perfis microbianos diferirem segundo a condição clínica, os animais com periodontite apresentam maior diversidade ecológica em sua composição.

Na periodontite em cabras leiteiras, os microorganismos mais predominantes foram *Fusobacterium nucleatum* (81,8%), *Tannerella forsythia* (63,0%), *Fusobacterium necrophorum* (63,0%), enquanto que nos animais clinicamente sadios os microrganismos mais prevalentes foram *Porphyromonas gingivalis* (18,0%), *Treponema denticola* (13,6%), *Fusobacterium nucleatum* (68,0%), *Tannerella forsythia* (27,0%), *Actinomyces israeli* (27,0%) (Campello et al., 2019).

2.3 Doença periodontal em ovinos

As periodontopatias podem ser consideradas uma importante causa para o abate precoce de ovinos. (Arcaute et al., 2020a).

Ovinos oriundos do Reino Unido, Nova Zelândia e diversos países apresentam uma forma peculiar de periodontite popularmente reconhecida como “broken mouth” que tornou-se um grande problema econômico para os criadores. Estas alterações do periodonto refletem em uma condição dolorosa que afetam ovinos que se alimentam de pastagens irregulares, consequentemente reduzindo a eficiência do pastoreio das ovelhas. Portanto, estas alterações contribuem para o desenvolvimento de desnutrição, perda de peso, problemas de saúde sistêmicos, má qualidade de vida e abate precoce desses animais. (Riggio et al., 2013).

Durante anos, a “broken mouth” provocou sérios problemas em países produtores de ovinos, pois acometia boa parte das fazendas e alguns chegaram a conviver com a doença por muitos anos. Os proprietários relatavam que as fêmeas acometidas pariam cordeiros menores e fracos, e a produtividade do rebanho em

comparação com o rebanho saudável era menor, levando a um abate precoce dos animais que nunca chegavam ao seu potencial de produtividade (Gunn, 1970; Cutress et al., 1972; Aitchison e Spence, 1984; West e Spence, 2000).

Em ovinos, pesquisadores da Nova Zelândia (Cutress e Ludwig, 1969; Cutress et al., 1972; Suckling et al., 1974) e Escócia (Dalgarno e Hill, 1961; Benzie e Cresswell, 1962; Mc Roberts et al., 1965; Gunn, 1970), na tentativa de encontrar o fator desencadeante, tentaram associar a periodontite com desequilíbrio de cálcio e fósforo, baixo teor de selênio ou de vitamina D, alto teor de molibdênio, excesso de estrógeno ou de vitamina. No entanto, não encontraram associação plausível entre eles. A etiologia da “broken-mouth” é desconhecida, contudo sabe-se que bactérias periodontopatogênicas estimulam a resposta imune do hospedeiro e são responsáveis pelo mecanismo de destruição tecidual (West e Spence, 2000).

Estudos indicam que a flora microbiana bucal de ovinos com periodontite é compatível com a encontrada na periodontite humana (Friskén et al., 1989; Ismael et al., 1989; Mccourtie et al., 1990). Com o objetivo de avaliar a participação de espécies de espiroquetas do gênero *Treponema* spp. na etiologia da periodontite ovina, Borsanelli et al. (2015) identificaram presença de *Treponema amylovorum* (78,9%), *T. denticola* (78,6%), *T. maltophilum* (7,1%), *T. medium* (21,4%) e *T. pectinovorum* (64,3%) em amostras de bolsas periodontais.

Em estudo recente, Borsanelli et al. (2017) identificaram através da PCR espécies de *Porphyromonas* e *Prevotella* em bolsas periodontais de ovinos com periodontite. As espécies mais prevalentes foram *Porphyromonas melaninogênica* (85,7%), *P. buccae* (64,3%) e por último *P. gingivalis* (50%) e *P. endodontalis* (50%).

No mesmo ano, Agostinho (2017) relatou a ocorrência de periodontite e desgaste dentários em 129 ovelhas examinadas. Dessas, 58% apresentaram lesão periodontal, incluindo recessão gengival (60/75) em animais com idade superior a 36 meses.

A lesão periodontal é um assunto de grande importância e merece ser estudada, pois se trata de uma doença polissistêmica, ou seja, apesar de muitas das vezes os sintomas passarem despercebidos, sua ocorrência podem trazer vários danos a saúde e conseqüentemente culminando em prejuízos econômicos ao

produtor. Alterações bucais como o desgaste dentário são responsáveis por abate precoce de ovelhas antes de atingir sua maior fertilidade, aumento dos gastos na substituição de novos animais, diminuição do valor comercial e baixa escala de produção, além da inconstância no peso desses animais devido a inapetência, pois essas lesões bucais são condições dolorosas que levam os animais a não se alimentarem adequadamente, desencadeando emagrecimento progressivo e consequentemente prejudicando o ganho de peso ideal ao abate (Mc Gregor, 2011).

2.4 Doença periodontal e os efeitos adversos na gestação

Atualmente, na medicina veterinária são raros os estudos que abordam a interferência da periodontite na gestação. Em contrapartida, na medicina humana existem extensos trabalhos que correlacionam a periodontite e os agravos sistêmicos, inclusive a prematuridade, o baixo peso ao nascimento e o aborto.

Em humanos, segundo Organização Mundial de Saúde (OMS) o termo prematuro é definido quando o nascimento ocorre antes das 37 semanas de gestação, aproximadamente 15 milhões de recém-nascidos nascem prematuros, e mais de 1 milhão de bebês por ano morrem por conta da prematuridade.

A prematuridade, baixo peso ao nascimento e aborto possuem causas multifatoriais em humanos, dentre estas causas evidencia-se a diferença socioeconômica da população, o tabagismo, mulheres com idade avançadas, gestações múltiplas, bem como pré eclampsia. Inúmeras doenças infecciosas podem afetar a gestação, dentre elas a toxoplasmose, além dos riscos das afecções ascendentes por bactérias, levando a infecções intra-uterinas (Hulk et al. , 2011).

Além das causas citadas acima, a saúde bucal é relevante e não deve ser descartada como causa primária de alterações gestacionais, uma vez que as lesões periodontais possuem uma forte influência na gestação relacionando em muitos casos ao mecanismo patogênico que pode levar à prematuridade .

Segundo Haar (2018), a gravidez torna as mulheres suscetíveis à doença periodontal, e as alterações hormonais levam a barreiras epiteliais gengivais enfraquecidas e aumento da inflamação, evidenciado pelo aumento das taxas de gengivite e progressão da periodontite durante a gestação.

Hajishengallis (2015) cita alguns prováveis meios de infecção que podem ocasionar alterações gestacionais, sendo uma das hipóteses que os patógenos

periodontais disseminam-se sistemicamente e atravessam a barreira placentária atingindo assim a circulação fetal e o líquido amniótico. Outro mecanismo importante ocorre pela presença de mediadores inflamatórios produzidos localmente nos tecidos periodontais que caem na circulação sistêmica e estimulam uma resposta de fase aguda. Os mecanismos que associam a periodontite a processos inflamatórios sistêmicos ocorrem devido produção de citocinas locais que podem entrar na circulação sistêmica e induzir uma resposta de fase aguda no fígado. Essa resposta é caracterizada pelo aumento dos níveis de proteína C-reativa (CRP), fibrinogênio e Soro amilóide A e que, por sua vez, contribuem para a aterosclerose ou inflamação intra-uterina. Por fim, o mecanismo recentemente estudado é a ingestão de saliva contendo micro-organismos periodontopatogênicos capazes de causar alterações na microbiota intestinal levando a um aumento da permeabilidade epitelial do intestino e a endotoxemia e causando dessa maneira uma inflamação sistêmica.

Além da hipótese da disseminação de mediadores inflamatórios e da disseminação hematogênica de micro-organismos patogênicos (Han et al., 2004), existe a possibilidade da resposta imune materno-fetal estar envolvida neste mecanismos de infecção. Estudos anteriores analisaram as características fetais e anticorpos maternos direcionados contra patógenos bucais durante a gravidez (Pretorius et al., 2007; Huck et al., 2011).

Dentre os diferentes micro-organismos que adentram a placenta e atingem a circulação fetal e o líquido amniótico, há várias evidências que determinadas complicações gestacionais originam-se principalmente de infecções ascendente da vagina, portanto os microorganismos mais encontrados são os presentes na flora vaginal. Entretanto, bactérias específicas da cavidade bucal já foram encontradas em ambientes extra bucais, o que leva a pensar que estes microorganismos se disseminam de alguma forma atingindo sistemicamente outros órgãos (Sanz et al., 2013; Haar et al., 2018).

Alguns micro-organismos com potencial periodontopatogênico como *Fusobacterium nucleatum*, foram encontradas na placenta e podem causar resultados adversos à gravidez. Esta bactéria foi identificada no biofilme subgengival de uma mulher gestante humana que apresentava gengivite e na placenta de seu respectivo feto natimorto (Hajishengallis, 2015; Han et al., 2010).

Fusobacterium spp. é um bastonete fusiforme, anaeróbio gram-negativo bastante reconhecido na microbiota subgengival e tem sido estudado e associado a várias doenças sistêmicas como doenças bucais, gastrointestinais, patologias reumatológicas e vasculares, além da possível interferência na gestação (Socransky, 1998; Hajishengallis, 2015). Haar (2018) propôs uma nova possibilidade sobre o mecanismo de adesão do *Fusobacterium nucleatum*, facilitando a entrada de outros micro-organismos na circulação.

Han et al., (2004) realizaram um estudo em camundongos prenhes no qual, após inoculação intravenosa de *Fusobacterium nucleatum*, ocorreram partos prematuros, natimortalidade e nascimentos de animais vivos, mas que morreram logo em seguida, sugerindo a ocorrência de disseminação sistêmica do *F. nucleatum*. Neste estudo, confirmou-se a presença de *F. nucleatum* nos vasos sanguíneos e em placentas, com invasão de células endoteliais que revestem os vasos sanguíneos. O microorganismo atravessa o endotélio, multiplica-se em tecidos circundantes e chega no líquido amniótico. Os resultados deste estudo representam a primeira evidência de que *F. nucleatum* pode ser transmitido hematologicamente e reforça a ligação entre a doença periodontal e o nascimento prematuro.

Em humanos, estudos recentes relataram que além do *Fusobacterium nucleatum* outros microorganismos foram detectados no líquido amniótico e placenta de pacientes com periodontite, como *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Parvimonas micra*, *Eikenella corrodens*, *Actinomyces israelii*, *Campylobacter rectus* (Katz et al., 2009; Ercan et al., 2013; Blane et al., 2015).

Passanezi et al. (2007) sugeriram que tecidos periodontais, tais como: o tecido gengival, os osteoblastos, o ligamento periodontal, bem como os fibroblasto do periósteo, podem ter receptores específicos para os hormônios gestacionais.

O estrógeno está envolvido em algumas alterações no periodonto, tais como, diminuição da queratinização, culminando em aumento do glicogênio no epitélio gengival, e reduzindo os mecanismos de defesa que a barreira epitelial exerce nos tecidos periodontais.

Já a progesterona, principal hormônio envolvido na gestação, tem ação vasodilatadora, aumenta a permeabilidade vascular e torna o tecido gengival

susceptível a injúrias e exsudação. Nesse contexto, a relaxina também é um hormônio que pode alterar o tecido periodontal, sugere-se a possibilidade da relaxina causar despolimerização das fibras colágenas, sendo assim, potencializando o efeito do estrógeno nos tecidos periodontais.

Em resumo, as alterações hormonais podem ocasionar a sérios danos ao tecido gengival, predispondo-o à colonização de bactérias que podem desencadear um processo de gengivite e/ou periodontite durante a gestação (Passanezi et al., 2007).

Além das alterações em tecidos periodontais causadas pelos hormônios gestacionais, esses hormônios também são considerados potenciais estimuladores do crescimento de bastonetes anaeróbios obrigatórios, particularmente o gênero *Prevotella*, que consome estrógeno na ausência de vitamina K, onde esses micro-organismos são frequentemente associados em biofilmes subgengivais de gestantes com periodontite (Fteita et al. 2017, Lin et al. 2018)

Embora a origem da relação entre um processo infeccioso bucal e as mudanças no ambiente fetal ainda não esteja bem compreendida, acredita-se que a infecção periodontal representada por um desafio anaeróbico gram negativo estrito ou facultativo com fatores de virulência altamente patogênicos pode servir como um reservatório crônico para transferência de bactérias ou produtos bacterianos (lipopolissacarídeos) através da disseminação sanguínea para a unidade feto-placentária induzindo a síntese de PGE2 e TNF- α pelas células corioamniônicas, além da possibilidade de que os próprios sítios com infecção periodontal, ao produzirem mediadores inflamatórios, podem atuar como fonte sistêmica potencial de citocinas fetotóxicas que alcançam a placenta através da circulação sanguínea (Passanezi et al., 2007; Hajishengallis, 2015).

Diversas pesquisas associam a periodontite ao aumento dos níveis de mediadores inflamatórios. Estudos indicam que níveis elevados de IL-1b, IL-6, TnF- α , PGE2, fibronectina, α - foetoproteína no líquido amniótico estão associados a prematuridade (Madianos et al., 2013). Murtha et al. (1998) analisaram o soro sanguíneo de 130 gestantes com 22 a 34 semanas com objetivo de mensurar a citocina IL-6 e sua correlação com a prematuridade. Os resultados evidenciaram

aumento dos níveis de IL-6 em gestantes com partos iminentes prematuros, conforme descrito por Medianos et al., (2013).

Com relação ao tipo de amostra coletada, Shobokshi et al. (2002) determinaram as interleucinas das amostras de sangue e líquido amniótico de pacientes. O grupo controle apresentou ruptura prematura de membranas fetais (sem infecção), e o outro grupo onde os pacientes também apresentavam ruptura prematura das membranas fetais associado a quadros de infecção. Ambos os grupos obtiveram aumento dos níveis de citocinas no líquido amniótico e soro sanguíneo, porém o grupo com infecção apresentou níveis mais exacerbados quando comparado ao grupo sem infecção.

A crescente intensificação do sistema de criação de ovinos exige grande atenção para os diferentes fatores que podem limitar a produção animal, dentre eles destacam-se os problemas dentários e enfermidades que podem acometer ovelhas gestantes e seus cordeiros. Trabalhos que avaliaram afecções bucais como periodontite e desgaste dentário (Agostinho, 2017; Campello et al., 2019), bem como a identificação de micro-organismos presentes no biofilme subgingival (Riggio e Benett, 2013; Borsanelli et al., 2016) de pequenos ruminantes com quadros de periodontite, podem ser encontrados na literatura científica. Contudo, não há esclarecimentos sobre a relação entre a ocorrência destas enfermidades em ovelhas gestantes e suas possíveis consequências para produção e bem-estar animal.

3.Referências

Aitchison GU, Spence JA (1984) Dental disease in hill sheep na abattoir survey. **Journal Comparative Pathology** 94: 285 – 300.

Agostinho SD (2017) **Periodontite e desgaste dentário em ovinos**. 78F. Tese (Doutorado em medicina veterinária) – Faculdade de ciências agrárias e veterinárias FCAV- UNESP, Jaboticabal.

Alawad M (2018) Gingivitis: an overall view for undergraduate. **Research Gate** 1-13.

Arcaute MR, Lacasta D, González JM, Ferrer LM, Ortega M, Ruiz H, Ventura JA, Ramos JJ (2020a) Management of risk factors associated with chronic oral lesions in sheep. **Animals** 10 : 1-11.

Arcaute MR, Ferrer LM, Lacasta D, González JM, Heras MD, Borobia M, Ramos JJ (2020b) Prevalence of dental and mandibular disorders in culled sheep in Spain. **Australian Veterinary Journal** 98: 438-441.

Azevedo GPC, Sarmiento CMB, Gonçalves CA, Láu HD (1995) Criação de ovinos – alimentação, mineralização e sanidade. **Embrapa CPATU** ISSN 0103-0590.

Benzie D, Cresswell E (1962) Studies of the dentition of sheep. IV. Radiological studies from investigations into the shedding of permanent incisor teeth by Hill sheep. **Research in Veterinary Science**3: 416-428.

Borsanelli AC, Gaetti-jardim jr E, Schweitzer CM, Döbereiner J, Dutra I,S (2015a) Presence of *Porphyromonas* and *Prevotella* species in the oral microflora of cattle with periodontitis. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 35:829-834.

Borsanelli AC, Gaetti-jardim jr E, Döbereiner J, Dutra IS (2015b) *Treponema denticola* in microflora of bovine periodontitis. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35: 237-240.

Borsanelli AC, Ramos TNR, Gaetti-jardim jr E, Schweitzer CM, Dutra IS (2016) *Treponema* species in the subgingival microflora of ovine periodontitis. **Veterinary Record** 180:150.

Borsanelli AC, Gaetti-jardim jr E, Schweitzer CM, Viora L, Busin V, Riggio MP, Dutra IS (2017) Black-pigmented anaerobic bacteria associated with ovine periodontitis. **Veterinary Microbiology** 203: 271-274.

Borsanelli AC, Lappin DF, Viora L, Bennett D, Dutra IS, Brandt BW, Riggio MP (2018) Microbiomes associated with bovine periodontitis and oral health. *Veterinary Microbiology* 218 1-6.

Campello PL, Borsanelli AC, Agostinho SD, Schweitzer CM, Gaetti-Jardim Jr. E, Döbereiner J, Dutra IS (2019) Occurrence of periodontitis and dental wear in dairy goats. *Small Ruminant Res.* 175: 133-141.

Cutress TW, Suckling GW, Healy WB, Mattingley J, Aitten M (1972) Periodontal disease in sheep. II The composition of sera from sheep with periodontosis. **Journal Peridontology**43:668-676.

Dalgarno AC, Hill RA (1961) Note on the histological appearance of periodontal tissues associated with premature loss of incisor teeth in sheep. **Research in Veterinary Science** 2: 107-111.

Döbereiner J, Chaves JA, Rosa IV, Houser RH (1975) Efeito da transferência de bovinos com “cara inchada” (doença peridentária) para pastos de região indene. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 10:99-103.

Döbereiner J, Dutra IS, Rosa IV, Blobel H (2000) Cara inchada of cattle, an infectious, apparently soil antibiotics-dependant periodontitis in Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 20:47-64.

Dutra IS, Botteon RCM, Döbereiner J (2000) Modificação da microbiota associada às lesões peridentárias da “cara inchada” em bezerros transferidos para área indene. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 20: 71-74.

Dutra IS, Matsumoto T, Döbereiner J (1993) Surtos de periodontite em bezerros (“cara inchada”) associados ao manejo do solo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**.13: 1-4.

Ebersole JL, Steffen MJ, Holt SC, Kesavalu L, Chu L, Cappelli D (2010). Systemic inflammatory responses in progressing periodontitis during pregnancy in a baboon model. **Clin. Exp. Immunol.**162: 550-559.

Ellison SA (1970) Oral bacteria and periodontal disease. **Journal of Dental Research**49:198-202.

Ercan E, Eratalay K, Deren O, Gur D, Ozyuncu O, Altun B, Kanli C, Ozdemir P, Kanli C, Ozdemir P, Akincibay H (2013) Evaluation of periodontal pathogens in amniotic fluid and the role of periodontal disease in pré-term birth and low birth weight. **Acta Odontológica Scandinavica** 71: 553-559.

Fournier D, Mouton C, Lapierre P, Kato T, Okuda K, Menard C (2001) *Porphyromonas gulae* sp. Nov., an anaerobic, gram negative coccobacillus from the gingival sulcus of various animal hosts. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology** 51:1179-1189.

Fteita D, Musrati AA, Könönen E, Ma X, Gürsoy M, Peurla M, Söderling E, Sintim H O, Gürsoy UK (2017) Dipeptidyl peptidase IV and quorum sensing signaling in biofilm-related virulence of *Prevotella aurantiaca*. **Anaerobe** 48: 152-159.

Friskén KW, Laws AJ, Tagg JR, Orr MB (1989) Environmental influences on the progression of clinical and microbiological parameters of sheep periodontal disease. **Research in Veterinary Science** 46: 527-535.

Gaetti-jardim junior E, Monti L M, Ciesielski FIN, Gaetti-jardim, E C, Okamoto A C, Schweitzer C M, Avila-campos M J (2012) Subgingival microbiota from *Cebus apella* (capuchin monkey) with different periodontal conditions. **Anaerobe**18: 263-269.

Goldstein EJC, Citron DM, Finegold SM (1984) Role of anaerobe bacteria in bite-wounds infection. **Reviews of Infectious Diseases**6:177-183.

Gunn RG (1970) A note on the effect of broken mouth on the performance of Scottish blackface hill ewes. **Animal Produce** 12:517-520.

Han YW, Redline RW, Li M, Yin L, Hill GB, Cormick IS (2004) *Fusobacterium nucleatum* induces premature and term stillbirths in pregnant mice: Implication of Oral bacteria in preterm birth. **Infection and Immunity** 72: 2272-2279.

Haar ELV, So J, Gyamfi-Bannerman C, Han YW (2018) *Fusobacterium nucleatum* and adverse pregnancy outcomes: epidemiological and mechanistic evidence. **Anaerobe** 50 : 55-59.

Hajishengallis G (2015) Periodontitis: from microbial immune subversion to systemic inflammation. **Nature Reviews Immunology** 15:30-44.

Han YW, Fardini Y, Chen C, Iacampo KG, Peraino VA, Shamonki JM, Redline RW (2010) Term stillbirth caused by oral *Fusobacterium nucleatum*. **Obstet Gynecol** 115: 442- 445.

Harvey CE (1998) Periodontal diseases in dogs. **Canine Dentistry**28:1111-1128.

Holmstrup P, Plemons J, Meyle J (2018) Non-plaque-induced gingival diseases. **Journal of Clinical Periodontology** 45:S28–S43.

Huck CO, Tenenbaum H, Davideau JL (2011) Relationship between Periodontal Diseases and Preterm Birth: Recent Epidemiological and Biological Data. **Journal of Pregnancy** 2011; 1-8

Ismael MO, Greenman J, Morgan K, Glover MG, Rees AS, Scully, C (1989) Periodontitis in sheep: a model for human periodontal disease. **Journal of Periodontology** 60: 279-2849.

Katz J, Chegini N, Shiverick KT, Lamont RJ (2009) Localization of *P. gingivalis* in preterm delivery placenta. **Journal of Dental Research** 88:575-578.

Kistler JO, Booth V, Bradshaw DJ, Wade WG (2013) Bacterial community development in experimental gingivitis. **Plos One** 8 : 71227.

Kolenbrander PE, Palmer Jr RJ, Periasamy S, Jakubovics NS (2010) Oral multispecies biofilm development and the key role of cell-cell distance. **Nature Reviews Microbiology** 8: 471-480.

Kouki MI, Papadimitriou SA, Kazakos GM, Savas I, Bitchava (2013) D. Periodontal disease as a potential factor for systemic inflammatory response in the dog. **Journal Veterinary Dentistry** 30: 26-29.

Laliberte M, Mayrand D (1983) Characterization of black-pigmented Bacteroides strains isolated from animals. *The Journal of Applied Bacteriology* 55: 247-252, 1983.

Lin W, Jiang W, Hu X, Gao L, Ai D, Pan H, Niu C, Yuan K, Zhou X, Xu C, Huang Z (2018) Ecological shifts of supragingival microbiota in association with pregnancy. **Front. Cell. Infect. Microbiol.** 8 (24): 1-11

Lindhe J, Lang NP, Karring T (5 Eds.) (2010) Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral Guanabara-Koogan: Rio de Janeiro 1973p.

Löe H, Theilade E, Jensen SB (1965) experimental gingivitis in man. **Journal of Periodontology** 36: 177-187.

Madianos PN, Bobetsis YA, Offenbacher S. (2013) Adverse pregnancy outcomes (APOS) and periodontal disease: pathogenic mechanisms. **J. Clin. Periodontol.** 40: 170-180.

Marconi C (2008) Interleucina 1 β e interleucina 6 no líquido amniótico: relação com invasão microbiana da cavidade amniótica em gestantes em trabalho de parto prematuro. 46f. Tese de Mestrado, Medicina Unesp- Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

Marsh PD (2006) Dental plaque as a biofilm and a microbial community implications for health and disease. **BMC Oral health** 6: 1-7.

Mccourtie J, Poxton IR, Brown R, Whittaker CR, Spence JA, Aitchison GU (1990) A longitudinal study of the cultivable subgingival bacteria isolated from sheep during the development of broken mouth periodontitis. **Journal of Medical Microbiology**, 31: 275-283.

Mcdonald JB, Gibbons RJ, Socransky SS (1960) Bacterial mechanisms in periodontal disease. **Oral Microbiology** 85: 467-478.

Mcgregor B A (2011) Incisor development, wear and loss in sheep and their impact on ewe production, longevity and economics: A review. **Small Ruminant Research** 95: 79-87.

Mcroberts MR, Hill R, Dalgarno AC (1965) The effects of diets deficient in phosphorus and vitamin D or calcium on the skeleton and teeth of growing sheep. 1.

The mineral status of the skeleton and clinical appearance of the teeth. **The Journal of Agricultural Science**, 65: 1-14.

Mikkelsen D, Milinovich GJ, Burrell PC, Huynh SC, Pettett LM, Blackall LL, Trott DJ, Bird PS (2008) Phylogenetic analysis of *Porphyromonas* species isolated from the oral cavity of Australian marsupials. **Environmental Microbiology** 10:2425-2432.

Moore WEC e Moore LVH (1994) The Bacteria of periodontal diseases. **Periodontology** 5: 66-77.

Murtha AP, Greig PC, Jimmerson CE, Herbert WNP (1998) Maternal Serum Interleukin-6 concentration as a marker for impending preterm delivery. **Obstetrics & Gynecology** 91:161-164

Nazir MA (2017) Prevalence of periodontal disease, its association with systemic diseases and prevention. **International journal of health sciences** 11: 72–80.

Newman MG, Carranza FA, Takey H, Klokkevold PR (2006) Carranzas clinical periodontology. **Elsevier health sciences** 10: 149-150.

Page RC, Schroeder HE (1976) Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. **Laboratory Investigation** 33: 235-249.

Passanezi E, Brunetti MC, Santana ACP (2007) Interação entre a doença periodontal e a gravidez. **R. Periodontia** 17:, nº2.

Paster BJ, Boches SK, Galvin JL (2001) Bacterial diversity in human subgingival plaque. **Journal of Bacteriology** 183: 3770-3783.

Peddle GD, Drobatz KJ, Harvey CE, Adams A, Sleeper MM (2009) Association of periodontal disease, oral procedures, and other clinical findings with bacterial endocarditis in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association** 234: 100-107.

Pretorius C, Jagatt A, Lamont RF (2007) The relationship between periodontal disease, bacterial vaginosis, and preterm birth. **Journal of Perinatal Medicine** 35:93-99.

Ramos T.N.M., Borsanelli A. C., Saraiva J.R., Vaccari J., Schweitzer C., Gaetti-Jardim JR. Dutra I. (2019). Efficacy of virginiamycin for the control of periodontal disease in calves. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 39:112-122.

Riggio MP, Lennon A, Taylor DJ, Bennet D (2011) Molecular identification of bacteria associated with canine periodontal disease. **Veterinary Microbiology** 150: 394-400.

Riggio MP, Jonsson N, Bennett D (2013) Culture-independent identification of bacteria associated with ovine “broken mouth” periodontitis. **Veterinary Microbiology** 166: 664-669.

Saini R, Marawar PP, Shete S, Saini S (2009) Periodontitis, a true infection. *Journal of Global Infectious Diseases* 1: 149-150.

Sanz M, Kornman K (2013) Periodontitis and adverse pregnancy outcomes: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *Journal of Periodontology* 84:164–169.

Saraiva JR, Ramos MMB, Borsanelli AC, Schweitzer CM, Gaetti-Jardim Júnior E, Höfling JF, Ramos TNM, Dutra IS (2019) Chemical and structural composition of black pigmented supragingival biofilm of bovines with periodontitis. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 39: 933-941.

Shobokshi A e Shaarawy M (2002) Maternal serum and amniotic fluid cytokines in patients with preterm premature rupture of membranes with and without intrauterine infection. **Gynecology & Obstetrics** 79:209-215.

Slots J, Hausmann E (1979) Longitudinal study of experimentally induced periodontal disease in *Macaca arctoides*. Relationship between microflora and alveolar bone loss. **Infection and Immunity** 23: 260-269.

Slots J (1982) Importance of black-pigment *Bacteroides* in human periodontal disease. In: **Host-parasite interaction in periodontal disease** 27-45.

Slots J, Genco RJ (1984) Black-pigmented *Bacteroides* species, *Capnocytophaga* species and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease: virulence factors in colonization, survival and tissue destruction. **Journal of Dental Research** 63: 412-421.

Socransky SS (1970) Relationship of bacteria to the etiology of periodontal disease. **Journal of Dental Research** 49: 203-222.

Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent JRRL (1998) Microbial Complexes in Subgingival Plaque. **Journal of Clinical Periodontology** 25:134-144.

Sório A (Eds) (2017) Diagnóstico da oferta e demanda de ovinos e caprinos para processamento de carne, pele e leite na região central de Tocantins. Tocantins: Triunfal 7-237.

Suckling GW, Cutress TW, Healy WB, Mattingley J (1974) Effects of liming a highly leached soil on periodontal health, serum composition, and bodyweight of sheep. **New Zealand Journal of Agricultural Research** 17: 311-316.

Viana JGA, Silveira VCP (2009) Análise econômica da ovinocultura: estudo de caso na Metade Sul do Rio Grande do Sul, **Brasil.Ciência Rural** 39:1187-1192.

West DM, Spence J A (2000) Diseases of the Oral Cavity. In.: Martin WB, Aiken ID (Eds.). Diseases of sheep. London: Blackwell Science, p. 125-131.

Capítulo 2 - Monitoramento das lesões periodontais e os efeitos adversos na gestação : aspectos microbiológicos da cavidade bucal e líquido amniótico de ovelhas gestantes ¹

Natália C.Souza²,Thamiris N. M. Ramos², Ana Carolina Borsanelli³, Júlia R. Saraiva², Evandro Maia Ferreira⁴, Christiane M. Schweitzer⁵, Elerson Gaetti-Jardim Jr.⁶,Iveraldo S. Dutra⁷

Abstract. – Souza N.C., Ramos T.N.M., Borsanelli A.C., Saraiva J.,Ferreira E.M.,, Schweitzer C.M., Gaetti-Jardim Jr. E.,Dutra I.S. (**Monitoring of periodontal lesions and adverse effects during pregnancy: microbiological aspects of the oral cavity and amniotic fluid of pregnant sheep**) Monitoramento das lesões periodontais e os efeitos adversos na gestação : aspectos microbiológicos da cavidade bucal e líquido amniótico de ovelhas gestantes.*Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Departamento de Produção e Saúde Animal. Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Unesp, Rua Clóvis Pestana 793, Cx. Postal 533, Jardim Dona Amélia, Araçatuba, SP 16050-680, Brasil. E-mail: iveraldo.dutra@unesp.br.

ABSTRACT.- Periodontitis involves the supporting tissues of the teeth, which can cause tooth loss and various damages to animal health. Evidence in humans suggests that oral microorganisms spread systemically, increasing the risk of pregnancy disorders, such as miscarriage, prematurity and low birth weight. The aim of this study was to verify whether periodontopathogenic microorganisms can reach the transplacental unit, culminating in pregnancy problems in pregnant ewes. After analysis of the oral cavity, ten clinically healthy pregnant ewes (OGCS) and ten pregnant ewes with periodontitis (OGP) were selected. Subgingival biofilm was collected for PCR, and amniotic fluid was collected for both PCR and interleukin analysis. Peripheral blood was collected to perform the complete blood count and through the blood serum, analyzes of the interleukins IL-6, IL1- β and TNF- α were performed. Placental fragments were collected to assess the presence of inflammatory changes in optical microscopy. After giving birth, both the sheep and their lambs were weighed. On clinical examination, there was a positive correlation between bleeding and suppuration (ic = 0.54), suppuration and marginal gingivitis (ic = 0.34) and marginal gingivitis and edema (ic = 0.54). Weighing was lower in the OGP group (p = 0.013) and their respective lambs (p = 0.04). In the hematological

¹ Recebido em

Aceito para publicação em

² Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Via de Acesso Professor Paulo Donato Castellane s/n, Jaboticabal, SP 14884-900, Brazil. E-mail: thami.naiasha@gmail.com;

³Postdoctoral in Veterinary Medicine, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Federal de Goiás - UFG, Campus Samambaia, Rodovia Goiânia km 8, Nova Veneza, Goiânia, GO 74690-700, Brasil. E-mail: anaborsanelli@ufg.br

⁴ Professor Doutor , Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” ESALQ/USP, Av. Pádua Dias, 11- Piracicaba –SP 13418-900 Brasil. E-mail: evandro.ferreira@usp.br

⁵ Departamento de Matemática, Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira,Unesp, Alameda Rio de Janeiro 266, Ilha Solteira, SP 15385-000, Brazil. E-mail: chris@mat.feis.unesp.br

⁶ Departamento de Patologia e Propedêutica Clínica, Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Unesp, Rua José Bonifácio 1193, Araçatuba, SP 16015-050, Brasil. E-mail: gaettijardim@gmail.com

⁷ Departamento de Produção e Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, Unesp, Campus de Araçatuba, Rua Clóvis Pestana 793, Jardim Dona Amélia, Araçatuba, SP 16050-680. *Corresponding author: iveraldo,dutra@unesp.br.

analysis, sheep from the OGP group showed a slight increase in CMV ($p = 0.2447$), in the number of segmented ($p = 0.3375$) and eosinophils ($p = 0.3823$), but without statistical difference. As for the microorganisms detected in the oral cavity, there was a significant difference between the occurrence of periodontal pockets and the presence of *Fusobacterium necrophorum* ($p = 0.0328$), *P. asaccharolytica* (0.0392) and the Mollicutes class ($p = 0.0352$). In detecting the microorganisms present in the amniotic fluid, although there was no significant difference, the *Staphylococcus* genus was observed; ($p = 0.9107$) and the Archaea domain ($p = 0.7245$) and a single sample of *P. asaccharolytica* ($p = 0.2685$). In the analysis of interleukins, the cytokine IL-6 of sheep belonging to the OGP group differed significantly, in the prepartum and postpartum period ($p = 0.0039$) and in the postpartum period between the OGCS and OGP groups ($p = 0.0198$). Histological examination showed a higher percentage of placental changes in the OGP group (70%), such as the presence of macrophages, neutrophils and plasma cells and multifocal areas of calcification. The results do not corroborate with the hypothesis of dissemination of oral microorganisms to the placental unit, suggesting that it constitutes a placental isolation in sheep.

INDEXING TERMS: periodontitis, sheep, gestational complications, premature lambs, amniotic fluid

RESUMO.- A periodontite envolve os tecidos de suporte e sustentação dos dentes, que podem ocasionar perda dentária e diversos danos à saúde animal. Evidências em humanos sugerem que microrganismos bucais disseminam-se sistemicamente, aumentando os riscos de distúrbios gestacionais, tais como aborto, prematuridade e baixo peso ao nascimento. O objetivo deste estudo foi verificar se microrganismos periodontopatogênicos conseguem alcançar a unidade transplacentária, culminando em agravos gestacionais em ovelhas gestantes. Após análise da cavidade bucal, foram selecionadas dez ovelhas gestantes clinicamente sadias (OGCS), e dez ovelhas gestantes com periodontite (OGP). Foram coletados biofilme subgengival para realização da PCR, e coletou-se líquido amniótico para realização tanto da PCR quanto análise das interleucinas. Foi coletado sangue periférico para realização do hemograma e através do soro sanguíneo foram realizadas análises das interleucinas IL-6, IL1- β e TNF- α . Coletou-se fragmentos placentários para avaliação de presença de alterações inflamatórias em microscopia óptica. Após o parto, tanto as ovelhas e seus cordeiros foram pesados. Ao exame clínico, houve correlação positiva entre sangramento e supuração ($ic=0,54$), supuração e gengivite marginal ($ic=0,34$) e gengivite marginal e edema ($ic=0,54$). Na pesagem observou-se menor peso no grupo OGP ($p=0,013$) e seus respectivos cordeiros ($p=0,04$). Na análise hematológica, ovelhas do grupo OGP apresentaram um ligeiro aumento no VCM ($p=0,2447$), no número de segmentados ($p=0,3375$) e eosinófilos ($p=0,3823$), porém sem diferença estatística. Quanto aos micro-organismos detectados na cavidade bucal, houve diferença significativa entre a ocorrência de bolsas periodontais e a presença de *Fusobacterium necrophorum* ($p= 0,0328$), *P. asaccharolytica* (0.0392) e a classe Mollicutes ($p= 0,0352$). Na detecção dos micro-organismos presentes no líquido amniótico, apesar de não haver diferença significativa, foram observados o

gênero *Staphylococcus*; ($p=0,9107$) e o domínio *Archaea* ($p=0,7245$) e uma única amostra de *P. asaccharolytica* ($p=0,2685$). Na análise das interleucinas, a citocina IL-6 de ovelhas pertencentes ao grupo OGP diferenciou-se significativamente, no pré-parto e o pós parto ($p=0.0039$) e no pós parto entre os grupos OGCS e OGP($p=0.0198$). Ao exame histológico observou-se maior porcentagem de alterações placentárias no grupo OGP (70%), tais como presença de macrófagos, neutrófilos e plasmócitos e áreas multifocais de calcificação. Os resultados não corroboram com a hipótese de disseminação de micro-organismos bucais para a unidade placentária, sugerindo que a mesma constitua um isolamento placentário em ovinos.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: periodontite, ovinos, complicações gestacionais, cordeiros prematuros, líquido amniótico

INTRODUÇÃO

Estudos sobre agravos sistêmicos secundários aos processos patológicos da cavidade bucal em humanos são amplamente investigados na literatura científica. Em mulheres gestantes, observou-se aumento sérico de estrogênio e progesterona como fatores que exercem efeitos diretos no periodonto, tornando-o suscetível ao desencadeamento e patogênese das periodontites (Passanezi et al. 2007, Zi et al. 2015, Soucy-Giguère et al. 2016). Estudos epidemiológicos mostram forte associação entre lesões bucais e aumento da frequência de fetos prematuros, abortos e baixo peso ao nascimento (Cetin et al. 2013, Hajishengallis 2015, Takii et al. 2018), incluindo possibilidades de desenvolvimento de quadros capazes de comprometer o desenvolvimento fetal e a saúde da mãe (Lima et al. 2016, Soucy-Giguère et al. 2016), como a disseminação bacteriana sistêmica, indução de mediadores inflamatórios (Escobar-Arregoces et al. 2018, Mohr et al. 2019) e invasão microbiana dos tecidos placentários, destacando-se as espécies *Fusobacterium nucleatum* e *Porphyromonas gingivalis* (Hajishengallis 2015, Haar et al. 2018).

Em ovinos, as enfermidades bucais são responsáveis pelo descarte precoce de animais e aumento nos custos com reposição. Contudo, apesar da crescente preocupação com a saúde e o bem-estar dos animais de produção, são raros os estudos abordando o impacto da periodontite e seus agravos sistêmicos. Além disso, as complicações gestacionais como a prematuridade, mortalidade embrionária, e o baixo peso ao nascer, podem implicar na redução da produtividade do rebanho, acarretando em sérios prejuízos econômicos na ovinocultura de corte (Ridler et al. 2015).

Tendo em vista a importância das periodontopatias na saúde sistêmica e sua influência sobre os aspectos econômicos da criação de ovinos, este estudo teve como objetivo avaliar o impacto das condições periodontais de ovelhas gestantes, sobre a microbiota do biofilme bucal e do líquido amniótico e seus possíveis contaminantes; detectar mediadores inflamatórios no soro sanguíneo e líquido amniótico, além de correlacionar o peso dos cordeiros ao nascer com a saúde bucal

da mãe; bem como verificar alterações hematológicas nas mães e no tecido placentário.

MATERIAIS E MÉTODOS

Condições de manejo dos ovinos. Os animais foram mantidos em sistema intensivo de criação de ovinos e caprinose permaneceram em baias de parição durante todo período experimental. Os responsáveis técnicos forneceram informações quanto ao manejo alimentar, sanitário e reprodutivo das gestantes. Os animais eram alimentados duas vezes ao dia, com dieta composta por bagaço de cana de açúcar, farelo de soja, milho, sal e uréia. As ovelhas foram submetidas à técnica de inseminação artificial em tempo fixo (IATF) e o diagnóstico de gestação foi realizado por exame ultrassonográfico aos 35 e 90 dias após data da inseminação.

Avaliação clínica da condição periodontal das ovelhas gestantes. Inicialmente, os animais utilizados no estudo foram selecionados com base nas condições periodontais dos dentes incisivos e mandibulares, observando-se ausência ou presença de recessão gengival, gengivite, gengivite necrosante, sangramento, edema, alteração de cor, mobilidade, perda de inserção conjuntiva, biofilme supragengival pigmentado e supuração. Em seguida, os animais foram classificados como periodontalmente saudáveis ou portadores de periodontite de acordo com a ausência ou presença das alterações observadas. Animais com gengivite mostravam inflamação no periodonto marginal, com edema, vermelhidão e sangramento gengival. Nos animais com periodontite observou-se presença de recessão gengival, perda de inserção conjuntiva e óssea, manifestando-se com bolsas de profundidade clínica iguais ou superiores a 5mm, sem supuração ou com . Os animais clinicamente sadios não apresentaram quaisquer alterações no periodonto de sustentação. Dessa forma, após a avaliação periodontal, as ovelhas gestantes foram divididas em grupo ovelhas gestantes clinicamente sadias (grupo OGCS; n=10) e grupo ovelhas gestantes com periodontite (Grupo OGP; n=10).

Coleta de biofilme subgengival e bolsa periodontal para detecção dos microrganismos alvo. Em ambos os grupos, todas as amostras subgengivais ou de bolsas periodontais foram coletadas com auxílio de cureta estéril e em seguida, os espécimes clínicos foram acondicionados em microtubos contendo 1 mL de água ultrapura esterilizada e armazenados em freezer a -80°C até a extração de DNA. Para os animais clinicamente sadios, coletou-se material do sulco gengival da face labial da pinça direita e pinça esquerda, enquanto que nos animais com periodontite a coleta foi realizada introduzindo-se a cureta em direção à base da bolsa periodontal dos dois dentes com maior comprometimento e evidenciando processo inflamatório mais intenso, utilizando-se como critério de seleção a presença de recessão gengival, bolsa periodontal, sangramento gengival espontâneo ou à sondagem ou ainda a presença de supuração. A coleta foi realizada utilizando-se os mesmos critérios descritos por Gaetti-Jardim Jr et al. (2012).

Coleta de sangue e análise do perfil hematológico. Vinte dias antes do parto, foram obtidos 2,0 mL de sangue da veia jugular através de sistema Vacutainer para a realização de hemograma em contador automático (Nihon Kohden MEK-6500) e confecções de esfregaços sanguíneos corados pelo método panótico rápido (Weiss et al. 2004) e posteriormente analisados em microscopia óptica (1000x).

Análise das Interleucinas IL-6, IL1- β e TNF- α . Foram coletados aproximadamente 10 ml de sangue para obtenção de soro sanguíneo vinte dias antes do parto (pré-parto) e logo após o nascimento (pós-parto). As concentrações das interleucinas IL-6, TNF- α e IL-1 β no sobrenadante foi determinada por ELISA de captura usando o kit Human DuoSet ELISA (R&D Systems, EUA). A técnica foi realizada de acordo com o que foi descrito por Melo et al. (2019).

Acompanhamento do parto e coleta de líquido amniótico. A partir das datas da inseminação artificial e realização do exame ultrassonográfico estimou-se a provável data do parto, e os animais foram monitorados 24 horas para acompanhar todas as fases do parto e por conseguinte realizar a coleta do líquido amniótico. A coleta de líquido amniótico seguiu metodologia descrita por Souza et al. (2020), durante a fase de expulsão do produto, com o animal em estação, no momento da expulsão da bolsa amniótica, caso a placenta estivesse intacta, a coleta era realizada com o auxílio de uma agulha 40x12 acoplada a uma seringa de 20 mL. Entretanto, nos casos de ruptura placentária, o líquido amniótico foi obtido por meio de auxílio de um tubo Falcon diretamente à vulva. As amostras do líquido amniótico obtido foram separadas em alíquotas de 15 mL e congelados em temperatura de -80°C para posterior exame microbiológico. As ovelhas e seus respectivos borregos foram pesados imediatamente após o parto.

Coleta da placenta pós-parto. Foram coletados fragmentos placentários de aproximadamente 10 cm com auxílio de instrumental cirúrgico e posteriormente foram acondicionados em recipiente estéril com solução de formol tamponado a 10%, seguindo de inclusão em parafina e processado para a análise histopatológica (Machado et al. 2012). Após esse procedimento, todas as 20 lâminas foram avaliadas por meio de microscopia óptica, utilizando aumentos de 10 a 40x.

Detecção dos microrganismos alvo por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR). As amostras de biofilme bucal e de líquido amniótico, acondicionadas em água ultrapura, foram submetidas à extração do DNA microbiano total, utilizando-se do “kit” GenElute Mammalian Genomic DNA Miniprepkit (Sigma-Aldrich, Brazil). Foram empregados iniciadores e condições de amplificação específicas para os principais grupos microbianos associados a periodontite: *Fusobacterium nucleatum*, *Fusobacterium necrophorum*, *Porphyromonas asaccharolytica*, *P. endodontalis*, *P. gingivalis*, *Prevotella buccae*, *P. intermedia*, *P. melalinogênica*, *P. nigrescens*, *Tannerella forsythia*, *Treponema amylovorum*, *T. denticola*, classe *Mollicutes*, gênero *Staphylococcus*, família *Enterobacteriaceae*, e domínio *Archaea* foi determinada através da amplificação do DNA por PCR, utilizando-se de iniciadores e condições específicas para cada microrganismo alvo (Ashimoto et al. 1996, Tran et al. 1997, Fouad et al. 2002,

Mayanagi et al. 2004, Nadkarni et al. 2012, Antiabong et al. 2013). As amplificações foram realizadas em volumes de 25 µL contendo 1XPCR/Mg²⁺buffer (Boehringer Mannheim, Indianapolis, IN, USA), 0,2 µL de cada Dntp (Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ, USA), 0,1 µL Taq DNA polimerase (Invitrogen do Brasil, São Paulo, SP, Brasil), 1,0 µL de cada par de primer (Invitrogen) e 10 ng de modelo. Realizou-se a amplificação em termociclador (Gene Amp PCR System 9700, Thermo Fisher, USA), programado para: 1 ciclo de 94°C (5 minutos); de 30 a 36 ciclos de 94°C (1 minuto), temperatura de anelamento de cada iniciador por um tempo que varia de 30 segundos a 2 minutos a 72°C e 1 ciclo de 72°C (5 minutos), para a extensão final da cadeia DNA. Os produtos da amplificação pelo PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1%, corados com brometo de etídio (0,5 mg/mL) e fotografados sobre transiluminador de luz ultravioleta (UV Light Transilluminator- Eastman Kodak Co., NY, USA). Como controle dos procedimentos de detecção utilizaram-se amostras de DNA de cepas padrão dos microrganismos estudados, bem como amostras clínicas positivas para os microrganismos alvo (Gaetti-Jardim Jr et al. 2012). Como controle negativo utilizou-se água ultrapura livre de DNase e RNase (CAS-7732-18-5; Sigma-Aldrich Co, ML)

Análise estatística. As amostras foram submetidas a testes estatísticos pontuais e intervalos de confiança, partindo dos critérios clínicos estabelecidos no início do experimento, de forma que os dados foram tabulados e analisados em planilhas dos “software” Estatística (Stat Soft Ltda), versão 7, e SISVAR 5.0. As comparações dicotômicas foram avaliadas através do teste T de Student, enquanto as variáveis com três ou mais categorias foram submetidas ao teste de Qui-quadrado de Pearson, para análise de proporções. As diferenças na distribuição dos microrganismos, parâmetros clínicos, dados do hemograma e placentários foram analisadas por meio do teste de correlações de Spearman. Os níveis de significância adotados nos testes foram sempre iguais a 5%. Nas análises das interleucinas todas as variáveis estatísticas foram testadas quanto à normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk. Para comparar os valores correspondentes às concentrações de IL-6, IL1-β e TNF-α dentro dos grupos, foi utilizado o teste de Wilcoxon. O teste de Mann-Whitney foi utilizado para comparar os resultados entre os grupos, Os valores foram considerados significativos quando $p < 0,05$.

Comitê de ética. O experimento foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Odontologia FOA –UNESP, campus Araçatuba, SP sob processo 00296-2018.

RESULTADOS

Avaliação clínica da condição periodontal dos grupos OGCS e OGP e associação com as demais variáveis clínicas periodontais e peso corporal: os resultados mostraram associação positiva entre todos os elementos diagnósticos utilizados para separação das ovelhas nos dois grupos experimentais, mostrando correlação positiva entre a ocorrência de sangramento e supuração (ic= 0,54), supuração e gengivite marginal (ic= 0,34), edema e gengivite marginal (ic= 0,54) e entre o peso da mãe no pos-parto e o peso do neonato (ic= 0,49), onde mães

cl clinicamente saudáveis apresentaram maior peso no pós-parto imediato quando comparados ao grupo OGP ($p=0,046$). E os neonatos de ovelhas clinicamente sadias apresentaram maior peso ao nascer do que aqueles oriundos de mães com periodontopatias ($p = 0,011$).

Necrose gengival foi pouco frequente ($n=1$) e essa característica não mostrou correlação com quaisquer outras no periodonto ou como peso da mãe no pós-parto ou do neonato.

Essas correlações se estendem às associações negativas que estas características estabelecem, como observado entre o peso das ovelhas e as características periodontais (peso da mãe pós-parto e gengivite, $ic= -0,47$; peso da mãe pós-parto e sangramento periodontal, $ic= -0,52$; peso da mãe pós-parto e supuração, $ic= -0,41$), o peso do neonato e as características do periodonto das mães (peso do neonato e gengivite materna, $ic= -0,56$; peso do neonato e sangramento periodontal materno, $ic= -0,38$; peso do neonato e edema gengival materno, $ic= -0,57$).

Através do teste de Qui-quadrado verificou-se que a raça das ovelhas gestantes não era relevante para o desenvolvimento da sintomatologia periodontal, para o peso da mãe no pós-parto e o peso no neonato ($p=0,5341$).

Associação do peso dos animais e condição periodontal materna: as correlações entre o peso corporal das mães no pós-parto, a distribuição das lesões periodontais e o peso dos neonatos foi confirmada por meio do teste T-Student. Observou-se entre o peso da mãe no pós parto e do neonato ao nascimento com a condição periodontal materna, sendo inferiores inferiores no grupo OGP ($p= 0,013$) e seus cordeiros ($p= 0,04$), quando comparado aos animais do grupo OGCS e suas crias. Dentre os sinais que mostraram maior correlação com o baixo peso materno destacam-se a presença de perda óssea ($p= 0,0063$), sangramento gengival ($p= 0,025$) e baixo peso dos cordeiros ($p=0,04$).

Perfil hematológico das ovelhas gestantes: Os valores médios do perfil eritrocitário estão registrados na Tabela 1; onde é possível verificar um aumento nos valores médios do volume corpuscular médio (VCM) em ambos os grupos, porém, no grupo com periodontite (OGP) este aumento foi ligeiramente mais pronunciado ($37,96 \pm 1,94$), mas sem significância estatística, quando comparado ao aumento dos níveis hematimétricos das ovelhas sadias ($36,94 \pm 1,84$). Nos resultados do leucograma (Tabela 2), os níveis médios dos diferentes tipos leucocitários mantiveram-se semelhantes entre os dois grupos experimentais. Dentro dos critérios avaliados, observou-se que as ovelhas gestantes com periodontite apresentavam contagens ligeiramente superiores de leucócitos totais, segmentados, eosinófilos, linfócitos, mas estas diferenças não mostraram significância estatística, com amostras bastante homogêneas e baixo desvio padrão. O teste de correlações de Spearman evidenciou que, independentemente do grupo experimental, havia correlação positiva entre o número total de leucócitos e o número de segmentados ($ic= 0,93$) e/ou eosinófilos ($ic=0,62$).

Avaliação das Interleucinas IL-6, IL1- β e TNF- α em níveis séricos no pré e pós parto e do líquido amniótico: Nas análises séricas de IL1- β observou-se que não houve diferença significativa em ambos os grupos e os níveis séricos permaneceram abaixo de 2 pg/mL, tanto no pré parto ($p=0.2966$), quanto no pós-parto ($p=0.7829$) (Fig. 1A). No entanto, a concentração de IL1- β no líquido amniótico apresentou ligeiro aumento no grupo OGCS (3.96 ± 6.02 pg/mL) quando comparado ao grupo OGP (1.59 ± 0.01 pg/mL) (Fig. 1B), onde ambos não diferiram significativamente ($p=0.5588$). As análises séricas de IL-6 apresentaram diferenças significativas entre o grupo de ovelhas gestantes com periodontite (OGP) no pré-parto e o grupo OGP do pós parto ($p=0.0039$) (Fig. 2A). Observou-se também diferença significativa entre o grupo OGCS e o grupo OGP ($p=0.0198$) quanto à análise de IL-6 no líquido amniótico (Fig. 2B). No líquido amniótico não houve diferença significativa entre os grupos ($p=0.8055$) e os níveis pertencentes ao grupo OGCS, permaneceram levemente aumentados (4.04 ± 4.11 pg/mL) quando comparados ao grupo OGP (3.69 ± 3.93). Com relação as análises da citocina TNF- α presente no soro sanguíneo observou-se que apesar de não haver diferença significativa entre os grupos, os níveis séricos do grupo OGP no pré-parto estavam consideravelmente aumentados (11.68 ± 26.3 pg/mL) quando comparados ao grupo OGCS do pré-parto (2.57 ± 4.98) (Fig. 3A), e ambos os grupos do pós parto. A citocina TNF- α apresentou aumento acentuado no líquido amniótico do grupo OGCS (18.07 ± 2.79 pg/mL) (Fig. 3B), e o mesmo ocorreu no grupo OGP (17.26 ± 0.06 pg/mL). Porém, não foram identificadas diferenças significativas entre os grupos.

Microrganismos presentes no biofilme subgingival: por meio do teste de Qui-quadrado de Pearson, observou-se uma associação estatisticamente significativa entre a ocorrência de bolsas periodontais (sítios periodontais com periodontite) e a presença de *Fusobacterium necrophorum* ($p=0,0328$), sendo que a realização de ajuste para obtenção da máxima verossimilhança revelou relação similar entre a distribuição de *P. asaccharolytica* (0.0392) e da classe *Mollicutes* ($p=0,0352$) e a presença de bolsas periodontais. Embora distribuído na maioria dos sítios coletados, a mesma correlação não foi identificada para *F. nucleatum* ($p=0,8979$), gênero *Staphylococcus* ($p=0,2536$) ou o domínio *Archaea* ($p=0,1965$). Do ponto de vista microbiológico, através do teste de correlações de Pearson, observou-se que *P. asaccharolytica* evidenciou correlação negativa ($p<0,05$) com o biofilme maduro, indicando que quando o biofilme era bem evidente nas ovelhas, elas não tinham presença de *Porphyromonas asaccharolytica*. Já a presença de recessão gengival mostrou correlação negativa com o gênero *Staphylococcus sp.* ($p<0,05$) sugerindo que a presença desse microrganismo ocorre mais em sítios que não tem a recessão gengival. Através do teste T, foram observadas diferenças entre as médias comparadas de ambos os grupos em relação à presença de *Fusobacterium necrophorum*, esse resultado é reforçado pelo teste de correlação de Pearson, onde esse patógeno apresentou correlação positiva significativa com a perda de inserção conjuntiva e periodontite, enquanto que *Staphylococcus sp.* mostrou correlação negativa com perda óssea ($p=0,04$). Nos testes para detecção dos microrganismos

alvo não foi observada a presença de *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *P. melalinogênica*, *P. nigrescens*, e *Treponema amylovorum*.

Detecção de microrganismos presentes no líquido amniótico: Em todas as amostras de líquido amniótico observou-se a presença de DNA microbiano, referente ao 16S rRNA, amplificado com o uso de iniciadores universais. Não houve diferença significativa na distribuição dos microrganismos alvo no líquido amniótico entre os dois grupos em estudo. Nas amostras, de ambos os grupos, foram frequentemente observados o gênero *Staphylococcus* (grupo OGCS, 63,3% de ocorrência; grupo OGP, 61,5% de ocorrência; $p=0,9107$) e o domínio *Archaea* (grupo OGCS, 45,5% de ocorrência; grupo OGP, 38,5% de ocorrência; $p=0,7245$). Dos 16 outros microrganismos alvo, apenas *P. asaccharolytica* foi detectado em uma única amostra de líquido amniótico do grupo OGCS (ocorrência de 9,1%; $p=0,2685$)

Análise histológica das placentas: Ao exame microscópico foram vistas poucas alterações indicativas de processo inflamatório, porém é possível observar que dentre vinte animais, oito apresentaram alterações placentárias, sendo cinco ovelhas pertencentes ao grupo OGP (ovelhas gestantes com periodontite) e três ovelhas pertencentes ao grupo OGCS (ovelhas gestantes clinicamente saudáveis), conforme apresentado na Tabela 4. Observou-se a porcentagem de incidência das alterações, uma vez que haviam ocorrência de mais de uma alteração em alguns animais. Os achados histopatológicos foram desde quantidade discreta de macrófagos na lâmina própria; congestão moderada; áreas multifocais de calcificação; autólise; presença discreta de células polimorfonucleares (neutrófilos) na lâmina própria; presença discreta a moderada de neutrófilos e raros neutrófilos ao redor de vasos (Fig.4 e 5). Na comparação entre os grupos (Tabela 4), o grupo OGP mostrou maiores índices de alterações placentárias (0,7%) quando comparados ao grupo sem lesões periodontais (0,3%).

DISCUSSÃO

O presente estudo inédito contribui de maneira significativa para avanços na eficiência da cadeia produtiva de ovinos, uma vez que buscou-se avaliar o impacto das lesões periodontais de ovelhas gestantes na placenta e nos cordeiros neonatos. Os resultados sugerem que na espécie ovina a barreira placentária seja capaz de atuar de forma efetiva prevenindo uma contaminação maior por micro-organismos ligados às infecções periodontais.

A difusão de nutrientes e oxigênio bem como a troca de resíduos fetais na espécie ovina é realizada através de oito membranas plasmáticas da estrutura placentária (Brollo et al. 2010, Prabhudas et al. 2015). Esse conjunto de membranas forma a barreira placentária e a passagem de substâncias através da barreira materno-fetal dependerá de sua espessura e extensão, da concentração da substância ou presença de mecanismo de transmissão ativa (Brollo et al. 2010). Dentre os desafios que a placenta e o líquido amniótico podem sofrer, a invasão de microrganismos é, uma das mais importantes e é associada a partos prematuros e abortos (Blanc et al. 2015, Ye et al. 2020). Esses microrganismos podem ter acesso

às membranas corioamnióticas e ao líquido amniótico por diferentes meios: ascendente vaginal e ou transcervical, hematogênica através da placenta e outros (Han et al. 2004, Marconi et al. 2008).

A ocorrência de microrganismos anaeróbios bucais em tecido placentário ou líquido amniótico vem sendo continuamente confirmada ao longo do tempo (DiGiulio et al. 2010, Bohrer et al. 2012, McCuaig et al. 2018, Ye et al. 2020), destacando-se os bastonetes Gram-negativos anaeróbios, como *P. gingivalis* ou *F. nucleatum* (DiGiulio et al. 2010, McCuaig et al. 2018, Ye et al. 2020), classe Mollicutes (Sweeney et al. 2016, Sweeney et al. 2017), também associados aos quadros infecciosos e inflamatórios periodontais (Ercan et al. 2013, Calixto et al. 2019). Em alguns casos, esses patógenos podem alcançar as membranas placentárias e induzir aborto através de quadro de corioamnionite agudo. Entretanto em humanos existem casos de corioamnionite ligados à infecção por periodontopatógeno que induziu aborto com as membranas placentárias intactas (Bohrer et al. 2012).

A diversidade de microrganismos observados nos quadros de infecção do líquido amniótico é significativa e a cultura e métodos tradicionais de PCR acabam por diminuir a diversidade detectada (DiGiulio et al. 2010). Os resultados do presente estudo evidenciam a presença de DNA microbiano em todas as amostras de líquido amniótico, mas em função da especificidade da amplificação do DNA com o emprego de PCR com iniciadores específicos, a identificação desse conteúdo séptico foi modesta, recaindo apenas sobre o gênero *Staphylococcus* e o domínio *Archaea*, presentes em amostras dos grupos OGP e OGCS.

A presença da classe *Mollicutes* pode estar implicada na patogênese de partos prematuros, abortos e infecções genitais (Sweeney et al. 2016, Sweeney et al. 2021, Pavlidis et al. 2020), induzindo, por meio de receptores TLR-“toll-like receptor”, o significativo aumento da expressão de interleucinas e citocinas proinflamatórias capazes de iniciar a sinalização celular que resultará no relaxamento do colo uterino e contração da musculatura uterina, além de afetar o desenvolvimento do sistema nervoso central e produzir displasia broncopulmonar, afetando o desenvolvimento fetal (Pavlidis et al. 2020). No presente estudo esses micoplasmas não foram detectados no líquido amniótico, mas estiveram presentes no biofilme subgingival principalmente de mães do grupo OGP ($p=0,03527$), onde também se observou maior ocorrência de *P. asaccharolytica* (0,0392) e *Fusobacterium necrophorum* ($p=0,0328$). A presença do gênero *Staphylococcus* no líquido amniótico originário do grupo OGCS e OGP precisa ser melhor avaliada, uma vez que a presença desses cocos vem sendo relatada tanto em quadros gestacionais normais, quanto em quadros de corioamnionite (Walker et al. 2017).

Inicialmente, acreditava-se que a via de interação entre esses patógenos e as estruturas placentárias e uterinas dependia da disseminação hematogênica dos patógenos, uma vez que antígenos desses microrganismos já haviam sido detectados nos tecidos placentários em casos de corioamnionite e a infecção do líquido amniótico é responsável por 25-40% dos casos de aborto natural na espécie humana (Goldenberg et al. 2008), produzindo infecções “metastáticas” à distância (Li et al. 2000). Entretanto, a visão predominante é de que os tecidos periodontais

inflamados, no desenvolvimento da periodontite, acabam por se converter em “focos de infecção” além de grandes fontes e reservatórios de interleucinas pró-inflamatórias e proteínas de fase aguda (Li et al. 2000), as quais podem, independentemente da presença do microrganismo, induzir alterações significativas em órgãos distantes, como o sistema cardiovascular, musculatura lisa, tecido nervoso e tecido conjuntivo (Garcia et al. 2001, Craig et al. 2012, Pelzer et al. 2017).

No presente estudo, optou-se por determinar a ocorrência dos principais microrganismos periodontopatogênicos anaeróbios posto que os mesmos vêm sendo possivelmente implicados na etiologia das doenças periodontais em ruminantes (Borsanelli et al. 2015a, Borsanelli et al. 2015b, Ramos et al. 2017), particularmente em ovinos (Borsanelli et al. 2016, Borsanelli et al. 2017, Silva et al. 2019) e esses microrganismos têm sido detectados em amostras de líquido amniótico obtido de partos prematuros que geraram neonatos de baixo peso (Ercan et al. 2013).

Embora a literatura sobre a relação periodontite, prematuridade e baixo peso do neonato em humanos mostre evidências da presença de *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Fusobacterium nucleatum*, *F. necrophorum*, *Prevotella intermedia* no líquido amniótico, juntamente com outros microrganismos (Doyle et al. 2017, Ye et al. 2020), essa associação não é universal. No presente estudo, esses patógenos não foram detectados no líquido amniótico, e não se conhece adequadamente como as interações interespecíficas entre os membros da microbiota bucal e sua interação anfibiótica com o hospedeiro poderiam modificar esses padrões em outras espécies animais, como os ovinos. No presente estudo, embora a relação entre ocorrência de baixo peso das mães do grupo OGP e peso dos seus cordeiros tenha se mostrado interligado, e a presença de *F. necrophorum*, classe *Mollicutes* e *P. asaccharolytica* tenha se mostrado superior nesse grupo experimental, sua ausência nas amostras de líquido amniótico pode sugerir que os efeitos pró-inflamatórios induzidos pela microbiota podem ocorrer no periodonto e não necessitam de disseminação hematogênica.

Assim, embora a via hematogênica possa ser uma possibilidade de disseminação de microrganismos periodontopatogênicos, os microrganismos encontrados no líquido amniótico das ovelhas de ambos os grupos provavelmente apresentaram disseminação ascendente, pela via vaginal, embora não se possa excluir a possibilidade de que a contaminação observada seja fruto da presença do agente microbiano, no momento do parto, em caso de ruptura da bolsa, e a respectiva passagem do líquido amniótico pela vagina, corroborando com Swartz et al. (2014), que determinou a composição de espécies colonizadoras presente na microbiota vaginal de ovelhas e vacas clinicamente saudáveis, nas quais o domínio *Archaea* foi detectado em 95% das amostras de vacas e ovelhas, principalmente da ordem *Esulfurococcales*, enquanto que *Staphylococcus* spp. demonstrou menor ocorrência.

Estudos recentes vêm utilizando métodos de avaliação dos constituintes placentários a fim de verificar se o útero realmente é considerado uma estrutura estéril, ou se existe a possibilidade do feto humano ser exposto a bactérias antes do nascimento. Stinson et al. 2019 analisaram o mecônio de fetos humanos e relataram

presença de DNA bacteriano em todas amostras com ocorrência de leituras mapeadas para *Staphylococcus* spp., em particular *S. haemolyticus* e *S. epidermidis*, ambos comensais da pele, além de *Streptococcus* spp., como o *S. infantis*, comensal nasal e nasofaríngeo. Apesar de escassos os trabalhos na espécie ovina, essa hipótese deve ser considerada, pois no referente estudo houve contaminação de aproximadamente 40% das amostras por mecônio, indicando maturidade fetal, considerando ainda maior incidência do gênero *Staphylococcus* (grupo OGCS, 63,3% de ocorrência; grupo OGP, 61,5%) no líquido amniótico.

É necessário ressaltar que o peso dos cordeiros ao nascer, bem como as variáveis clínicas periodontais e dados hematológicos não mostraram correlação com a contaminação do líquido amniótico. A inflamação gengival, o edema e a recessão gengival foram sinais evidentes no grupo OGP, como também descrito por Ramos et al. (2019) que avaliou as lesões periodontais em bezerros, onde os sinais apresentados foram, inicialmente, gengivite, mudanças na coloração da mucosa gengival, presença de edema e sangramento. Dessa forma, a perda óssea observada e a recessão foram consideradas leves, o que pode impactar na microbiota periodontal observada e, indiretamente, na contaminação do líquido amniótico. A possibilidade de o grau de comprometimento periodontal tenha um papel mais relevante do que a simples presença ou ausência de periodontite necessita ser avaliada, uma vez que o período gestacional é curto e os efeitos podem ser rapidamente mascarados pelas transformações hormonais e fisiológicas, como sugerido por Caneiro et al. (2020).

Quanto à detecção de microrganismos na cavidade bucal, apesar da maior ocorrência de *Fusobacterium necrophorum* ($p=0,0328$), classe *Mollicutes* ($p=0,0352$) e *P. Asaccharolytica* ($p=0,0392$) nos sítios subgengivais (Tabela 4), pode-se notar que esses microrganismos permaneceram somente na cavidade bucal e não foram detectados no líquido amniótico, ou seja, a significância nos doentes foi maior porque tem muitos microrganismos na boca, entretanto o líquido amniótico não foi afetado. Isso mostra uma provável capacidade de isolamento placentário, formando assim uma barreira que inibe a disseminação desses microrganismos para os tecidos fetais. Essa característica é relevante uma vez que *F. necrophorum* apresenta grande capacidade invasiva e tem sido considerado importante fator na ocorrência de prematuridade e baixo peso em neonatos, além de abortos em humanos (Windt et al. 2018).

Contudo, a despeito da hipótese de eficiente isolamento placentário em ovinos, mesmo na ausência de conteúdo séptico tipicamente periodontal no líquido amniótico, é possível a presença de antígenos desses microrganismos e, principalmente, componentes da resposta inflamatória e imunológica elicítadas por esses componentes, que poderiam atuar na parede uterina ou mesmo no líquido amniótico. Nesse sentido, o aumento dos níveis de mediadores inflamatórios, especialmente TNF- α , IL1 β e IL6, PGE2, fibronectina, α -foetoproteínas no líquido amniótico estão associados à prematuridade, baixo peso ao nascer e abortos, mas estão amplamente ligados aos quadros infecciosos e inflamatórios periodontais (Madianos et al. 2013, Ao et al. 2015, Hajishengalis 2015, Uriza et al. 2018, Liang et al. 2018, Yarkac et al. 2018).

Os valores dos parâmetros sanguíneos das fêmeas ovinas durante a gestação pode ser utilizado para avaliar a saúde do animal, uma vez que, o intuito desse experimento foi verificar se as lesões periodontais podem levar a agravos sistêmicos como alterações gestacionais. O exame hematimétrico pré-parto foi necessário para verificar se as fêmeas já apresentavam alguma alteração hematológica antes do experimento e ou até verificar se existe um aumento das alterações sanguíneas em fêmeas apresentando lesões periodontais.

Quanto ao perfil eritrocitário os valores médios apresentavam-se dentro dos parâmetros de referência em ambos os grupos, ou seja, de um modo geral as fêmeas apresentavam-se saudáveis mesmo quando sabemos que em fêmeas gestantes acontecem mudanças fisiológicas que podem influenciar nos valores hematimétricos, como observados por Azab et al. (1999), que verificaram redução acentuada na contagem de glóbulos vermelhos e hematócrito, sendo que essa diminuição pode ser atribuída pelo efeito da hemodiluição resultante de um aumento no volume plasmático.

Em contrapartida, acredita-se que estas alterações esperadas não ocorreram neste experimento devido a um bom manejo sanitário e nutricional como visto por Bezerra et al. (2013) e Pereira et al. (2015), que relataram que quando as exigências nutricionais das ovelhas gestantes são atendidas, menor será a interferência nos valores hematimétricos, mantendo-os dentro dos parâmetros permitidos para espécie ovina. Quanto ao aumento nos índices médios de VCM, os índices de MCH e MCV aumentaram durante as últimas três semanas de gestação, esses mesmos resultados foram observados por Yaqub et al. (2013). O aumento nos índices de eosinófilos mesmo que em níveis leves provavelmente estão associados à presença de parasitas intestinais (Melnek et al. 2014).

Apesar das lesões periodontais possuírem influência nas alterações hematológicas, como por exemplo, a elevação da contagem total leucocitária (Oliveira et al. 2019), é preciso levar em conta neste estudo as mudanças fisiológicas causadas pela gestação, uma vez que em animais domésticos prenhes há aumento no número de leucócitos totais e neutrófilos na última semana de gestação e durante o parto (Azab et al. 1999, Yaqub et al. 2013).

Em humanos, diversas pesquisas revelam associação entre periodontite e aumento dos níveis de mediadores inflamatórios, tanto em soro sanguíneo quanto no líquido amniótico, e níveis elevados de IL-1b, IL-6, TnF- α , PGE2, fibronectina, α -foetoproteína no líquido amniótico estão associados a prematuridade (Murtha et al. 1998, Shobokshi et al. 2002, Madianos et al., 2013, Hajishengallis 2015). Já em animais, poucas são as pesquisas relacionadas ao monitoramento de níveis de citocinas no líquido amniótico. Moya-Araújo et al. (2009) compararam os níveis de citocinas no líquido amniótico de bezerros oriundos de diferentes técnicas reprodutivas. Os resultados demonstraram aumento das concentrações de Tnf- α e IL-6 em líquido amniótico de bezerros nascidos de produção *in vitro* (PIV) e transferência de embriões (TE).

No presente estudo, apesar da IL-6 apresentar diferença significativa entre os grupos OGP pré-parto e pós-parto, os níveis permaneceram abaixo de 5pg/mL. Contudo, verificou-se maiores níveis de concentrações séricas de TnF- α das

ovelhas no pré-parto (11.68 pg/mL), e também houve um aumento mais evidenciado de IL-6 no líquido amniótico, atingindo 18pg/ml. Embora o aumento das concentrações de TnF- α estar associado à problemas gestacionais, alguns estudos indicam que essa citocina participa do desencadeamento do parto normal em humanos (Moya-Araújo et al. 2009).

Na espécie ovina, podemos observar nesse pertinente estudo que a IL6 e IL-1 β permaneceram em níveis abaixo de 5pg/ml e somente a TnF- α teve um aumento significativo, e pelo fato desse referente estudo não encontrar indícios de prematuridade e aborto, a hipótese de que esta citocina está associada ao desencadeamento fisiológico do parto não deve ser descartada.

Com relação à pesquisas sobre a periodontite em espécies animais, Borsanelli et al. (2018) evidenciaram um aumento nos níveis de mediadores inflamatórios em bovinos que apresentavam periodontite.

Entretanto, pelo fato de não haver relatos na literatura sobre a associação da periodontite e a provável disseminação sérica e do líquido amniótico desses mediadores em ovinos, se faz necessário maiores investigações científicas quanto aos valores de referência que podem se utilizados como indicativos de alterações gestacionais.

A inflamação placentária representa uma importante categoria de processos patológicos que levam à mortalidade fetal e neonatal (Machado et al. 2012). O objetivo da análise placentária neste estudo foi verificar quaisquer alterações placentárias inclusive processos inflamatórios. Dentre os achados histológicos mais relevantes, a incidência de leucócitos e macrófagos na interface materno-fetal (Figura 2), pode estar associada com o início de trabalho de parto (Alves et al. 2009). Contudo, apesar dos neutrófilos serem fisiologicamente presentes no trabalho de parto, o aumento exacerbado no número de leucócitos na placenta podem indicar sinais de infecção placentária denominada placentite ou corioamnionite (Machado et al. 2012). A infecção do líquido amniótico pode estimular a inflamação materno-fetal gerando uma resposta materna perante o processo infeccioso caracterizada pela presença deneutrófilos. Já a resposta fetal pode ser caracterizada pela presença de neutrófilos, células mielóides imaturas e ou eosinófilos no líquido amniótico, sendo que o grau de inflamação nesses sítios pode ser altamente variável (Heerema-Mckenney2018). Embora esta infecção ocorra com mais frequência de forma ascendente (de origem cervical e vaginal), a via hematogena vem sendo cada vez mais investigada. Estudos anteriores relatam presença de microrganismos pertencentes a cavidade bucal em placenta e ou líquido amniótico de pacientes gestantes (Blanc et al. 2015, Barak et al. 2007). Quanto a presença de calcificação placentária(Figura 1), alguns estudos demonstram que este tipo de alteração é composta por células envelhecidas sob a forma de nós. De acordo com Artico et al. (2009) são nós sinciciais associados a necrose dos vilos, depósito de fibrina e a focos de calcificação, tornando-se um quadro de envelhecimento fisiológico placentário. Já Wallingford et al. (2018) relatam que a pesquisa clínica sobre a calcificação placentária é limitada e discordante, pois existem estudos associando os graus de calcificação à complicações gestacionais, baixo peso ao nascimento e sofrimento fetal.

Diferentes estudos associaram lesões periodontais a baixo peso ao nascimento (Cruz et al. 2005, Muwazi et al. 2014, Souza et al. 2015, Teshome et al. 2016, Puertas et al. 2017). Duas vias de ação patogênica associada ao baixo peso ao nascer e a doença periodontal: a primeira considerada uma via indireta onde a inflamação dos tecidos periodontais atuaria como reservatório de bactérias e suas toxinas e se transportaria pela corrente sanguínea até o útero estimulando as células corioamniônicas a produzirem PGE₂ e TNF- α e desencadeando uma contração uterina prematura; a outra hipótese seria que a produção de mediadores inflamatórios atuaria como potencial citotoxina unidade fetal (Offenbacher et al. 1996, Zanatta et al. 2007).

Além dos resultados do peso materno e fetal ser significantes entre os dois grupos, ($p < 0,05$) as características raciais dos animais também pode apresentar relevância, uma vez que a maioria das ovelhas pertencentes ao grupo OGP (ovelhas gestantes com periodontite) pertenciam à raça Santa Inês.

A diferença entre as raças neste estudo demonstrou relevância devido as características individuais (Quadro 1). A raça Santa Inês é nativa do nordeste brasileiro e tem como maior característica adaptação às condições ambientais adversas. Porém com relação aos aspectos produtivos, quando comparadas à raça Dorper, esta apresenta maior velocidade de crescimento, alto rendimento de carcaça, precocidade sexual e alta prolificidade (Silva et al. 2000, Souza et al. 2000, Barros et al. 2005). A nutrição também é um fator relevante desencadeador de crias pesadas e/ou mais leves, porém ambas as raças nesse experimento obtiveram a mesma alimentação e apesar das diferenças entre os pesos, todas estavam em boas condições corporais. O fato de uma ovelha da raça Santa Inês pertencente ao grupo periodontalmente sadio ser a mais pesada, quando comparadas a ovelhas Santa Inês pertencentes ao grupo periodontalmente doentes (Quadro 1), levanta o questionamento de qual a razão dessas ovelhas da mesma raça apresentarem pesos diferentes. Estes achados necessitam de maiores investigações quanto à predisposição racial às doenças periodontais, uma vez que a raça Santa Inês é considerada mais leves e conseqüentemente possui neonatos mais leves quando comparadas à raça Dorper.

Considerando que os animais nascidos antes de 138 dias são classificados prematuros (Radostits et al. 2002, Mobini et al. 2004, Souza et al. 2020), no presente estudo não houve sinais de prematuridade em nenhum dos grupos. Apesar dos neonatos do grupo OGP apresentarem menor peso ao nascer (Quadro 1), todos estiveram dentro do padrão de normalidade (acima de 2 Kg).

CONCLUSÃO

A microbiota da cavidade bucal de ovelhas gestantes com periodontite está associada principalmente à presença de *Fusobacterium necrophorum*, importante microorganismo identificado em pacientes humanas com periodontite e alterações gestacionais. No presente estudo, cordeiros filhos de ovelhas com quadros de periodontite apresentaram menor peso ao nascer, sugerindo que afecções bucais podem interferir no desempenho produtivo de ovinos. A ausência de alterações

hematológicas e as modificações inflamatórias leves ou moderadas nos tecidos placentários associados à baixa ocorrência de contaminação do líquido amniótico e baixas concentrações de mediadores inflamatórios como IL-6 e IL1- β , sugerem que na espécie ovina a barreira placentária seja capaz de atuar de forma efetiva prevenindo uma contaminação maior por micro-organismos ligados às infecções periodontais.

Agradecimentos: À CAPES, pelos auxílios concedidos; Adão Ângelo Custódio, FMVA-UNESP, e Robson Varlei Ranieri, FOA-UNESP, pelo auxílio técnico; Ao Professor Alexandre Vaz Pires do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” ESALQ/USP pela colaboração na coleta dos espécimes clínicos.

Declaração de conflito de interesse. Os autores declaram não ter conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS

- Agostinho S.D. 2017. Periodontite e desgaste dentário em ovinos. Tese de Doutorado, Medicina Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. 78f.
- Alves J.A.G., Câmara L.M.C., Costa F.S., Rocha R.S. Araújo M.N.T., 2009. Os macrófagos na placenta durante o trabalho de parto. *Rev Bras Ginecol Obstet* 31(2): 90-93.
- Antiabong J.F., Boardman W., Smith I., Brown M.H., Ball A.S., Goodman A.E., 2013. “Cycliplexpcr” confirmation os *Fusobacterium necrophorum* isolates from captives wallabies: a rapid and accurated approach. *Anaerobe* 19: 44-49.
- Ao M., Miyauchi M., Furusho H., Inubushi T., Kitagawa M., Nagasaki A., Sakamoto S., Kozai K., Takata T., 2015. Dental Infection of *Porphyromonasgingivalis* induces preterm birth in mice. *Plos One* 10 (8):e 0137249.
- Artico L.G., Madi j. M., Godoy A. E. G., Coelho C. P., Rombaldi R. L., Artico G. R.2009. Alterações histopatológicas em placentas humanas relacionadas às síndromes hipertensivas. *Rev. Bras.Ginecol.* 31 (1): 11-15.
- Ashimoto A., Chen C., Bakker I., Slots J. 1996. Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions. *Oral Microbiol. Immun.* 11:266-173.
- Azab M. E., Abdel-Maksoud H. A. 1999. CChanges in some hematological and biochemical parameters during prepartum and postpartum periods in female Baladi goats. *Small Ruminant Res.* 34: 77-85.
- Blanc V., Valle F.O., Pozo E., Puertas A., León R., Mesa F. 2015. Oral bacteria in placental tissues: increased molecular detection in pregnant periodontitis patients. *Oral Dis.* 21: 905-912.

- Barak S., Oettinger-Barak O., Machtei E. E., Sprecher H., Ohel G. 2007. Evidence of periopathogenic microorganisms in placentas of women with preeclampsia. *J. Periodontol.* 78 (4): 670-676.
- Barros N. N., Vasconcelos V. R., Wander A. E., Araújo M. R. A. 2005. Eficiência bioeconômica de cordeiros F₁ Dorper x Santa Inês para a produção de carne. *Pesq. Agropec. Bras.* 40 (8): 825-831.
- Bezerra L.R., Torreão J.N.C., Marques C.A.T., Machado L.P., Araújo M.J., Veiga A.M.S. 2013. Influência da suplementação concentrada e da categoria animal no hemograma de ovinos da raça Morada Nova. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 65,(6): 1738-1744.
- Bobetsis Y. A., Graziani F., Gürsoy M., Madianos P.N. 2020. Periodontal disease and adverse pregnancy outcomes. *Periodontol.* 2000 83: 154-174.
- Bohrer J. C., Kanemoto L.E., Almeida P.G., Ogasawara K.K. 2012. Acute chorioamnitis at term caused by the oral pathogen *Fusobacterium nucleatum*. *Journal of Medicine a public Health* 71: 280-281.
- Blanc V., O'Valle F., Pozo E., Puertas A., León R., Mesa F. 2015. Oral bacteria in placental tissues: increased molecular detection in pregnant periodontitis patients. *Oral Diseases* 21: 905-912.
- Borsanelli A. C., Gaetti-Jardim Jr. E., Dobereiner J., Dutra I.S., 2015a. *Treponema denticola* in microflora of bovine periodontitis. *Pesq. Vet. Bras.* 35: 237-240.
- Borsanelli A. C., Gaetti-jardimjúnior E., Schweitzer C. M., Döbereiner J., Dutra I. S. 2015 b. Presence of *Porphyromonas* and *Prevotella* species in the oral microflora of cattle with periodontitis. *Pesq. Vet. Bras. (Online)*^{JCR}, 35: 829-834.
- Borsanelli A. C., Ramos T. N. M., Gaetti-Jardim E., Schweitzer C. M., Dutra I.S. 2016. *Treponema* species in the subgingival microflora of ovine periodontitis. *Vet. Rec.* 180 (6): 1-150.
- Borsanelli A.C., Gaetti-Jardim Jr. E., Schweitzer C.M., Viora L., Busin V., Riggio M.P. & Dutra I.S. 2017. Black-pigmented anaerobic bacteria associated with ovine periodontitis. *Vet. Microbiol.* 203:271-274.
- Borsanelli A. C., Lappin D. F., Viora L., King G., Bennet D., Dutra I. S., Riggio M. P. 2018. Evaluation of tissue levels of Toll-like receptors and cytokine mRNAs associated with bovine periodontitis and oral health. *Research in Veterinary Science.* 118: 439-443.
- Brolio M. P., Ambrósio C. E., Franciulli A. R., Morini A. C., Guerra R. R., Miglino M.A. 2010. A barreira placentária e sua função de transferência nutricional. *Rev. Bras. Reprod. Anim.* 34 (4): 222-232.
- Bui F. Q., Almeida-da-Silva C. L. C., Huynh B., Trinh A., Liu J., Woodward J., Asadi H., Ojcius D. M. 2019. Association between periodontal pathogens and systemic disease. *Biomed. J.* 42: 27-35.

- Calixto N.R.V., Alves C.M.C., Abreu L.M.G., Thomaz E. B. A. F., Vidal F.C. B., Filho I.S.G., Lopes F. F. 2019. Detection of periodontal pathogens in mothers of preterm birth and or low weight. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 24(6):76-81.
- Campello P.L., Borsanelli A. C., Agostinho S.D., Schweitzer C.M., Gaetti-Jardim Jr. E., Döbereiner J., Dutra I. S.2019. Occurrence of periodontitis and dental wear in dairy goats. *Small Ruminant Res.* 175: 133-141.
- Carneiro L., Lopez-Carral J.M., Martin-Lau charro P., Linares A., Batalla P., Blanco-Carrion J. 2020. Periodontitis as a preterm birth risk factor in Caucasian women: A Cohort Study. *Oral Health Prev Dent* 18 (1): 77-83.
- Cetin I., Calabrese A. V. S., Ottolenghi L., Abati S. 2013. Pathogenic mechanisms linking periodontal diseases with adverse pregnancy outcomes. *Reprod Sci* 19 (6): 633-641.
- Consalter A., Frazão-Teixeira E., Dubey J. P., Zanella E. L., Silva A. F., Souza G. N., Ferreira A. M. R. 2019. Epidemiological investigation of *Toxoplasma gondii* infections in comercial sheep flock in an endemic area for ocular Toxoplasmosis in southern Brazil. *Acta Parasitológica* doi:10.2478/s11686-019-00081-5.
- Craig R. G., Pernat A. M., Pecoits-Filho R., Levin N. W., Kotanko P.2013. Periodontal diseases and systemic inflammation. *Seminars in Dialysis*— 26 (1) :16–39.
- Cruz S. S., Costa M. C. N., Filho I.S.G., Vianna M. I. P., Santos C.T, 2005. Doença periodontal materna como fator associado ao baixo peso ao nascer. *Rev. SaúdePúbl.* 39 (5): 782-787.
- Doyle R.M., Harris K., Kamiza S., Harjunmaa U., Ashorn U., Nkhoma M., Dewey K.G., Maleta K., Ashorn P., Klein N. 2017. Bacterial communities found in placental tissues are associated with severe chorioamnionitis and adverse birth outcomes. *Plos One* 1-23.
- Di Giulio D.B., Romero R., Kusanovic J.P., Gomez R., Kim C.J., Seok K., Gotsch F., Mazaki-Tovi S., Vaisbuch E., Sanders K., Bik E.M., Chaiworapongsa T., Oyarzun E., Relman D.A.2010. Prevalence and diversity of microbes in the amniotic fluid, the fetal inflammatory response, and pregnancy outcome in women with preterm prelabor rupture of membranes. *Am J Reprod Immunol* 64(1): 38-57.
- Ebersole J. L., Steffen M J., Holt S. C., Kesavalu L., Chu L., Cappelli D. 2010. Systemic inflammatory responses in progressing periodontitis during pregnancy in a baboon model. *Clin. Exp. Immunol.*162: 550-559.
- Ercan E, Eratalay K, Deren O, Gur D, Ozyuncu O, Altun B, Kanli C, Ozdemir P, Kanli C, Ozdemir P, Akincibay H (2013) Evaluation of periodontal pathogens in amniotic fluid and the role of periodontal disease in pré-term birth and low birth weight. *Acta Odontológica Scandinavica* 71: 553-559.
- Escobar-Arregoces F., Latorre-Uriza C., Velosa-Porras J., Roa-Molina N., Ruiz J. S., Arias E., Echeverri J. 2018. Inflammatory response in pregnant women with high

- risk of preterm delivery and its relationship with periodontal disease . a pilot study. *Acta Odontol Latinoam* 31 (1): 53-57.
- Fiorillo L., Cervino G., Laino L., D'amico C., Mauceri R., Tozum T. F., Gaeta M., Cicciu M. 2019. *Porphyromonasgingivalis*, periodontal and systemic implications: a systematic review. *Dent J(Basel)* 7 (114): 1-15.
- Fouad A.F., Barry J., Caimano M., Clawson M., Zhu Q., Carver R., Hazlett K., Radolf J.D. 2002. PCR –baseadidentification of bacteria associated with endodontic infections. *J. Clin. Microbiol* 40: 3223-3231.
- Fteita D., Musrati A. A., Könönen E., Ma X., Gürsoy M., Peurla M., Söderling E., Sintim H. O., Gürsoy U. K. 2017. Dipeptidyl peptidase IV and quorum sensing signaling in biofilm-related virulence of *Prevotellaaurantiaca*. *Anaerobe* 48: 152-159.
- Gaetti-Jardim Jr. E., Monti L.M., Ciesielski F.I.N. Gaetti-Jardim E.C., Okamoto A.C., Schweitzer C.M. & Avila-Campos M.J. 2012. Subgingival microbiota from *Cebus paella* (Capuchin monkey) with diferente periodontal conditions. *Anaerobe* 18:263-269.
- Garcia RI, Henshaw M, Krall EA. 2001. Relationship between periodontal disease and systemic health. *Periodontol* 2000. 25(1):21–36.
- Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, et al.2008. Epidemiology and causes of preterm birth. *Lancet* 371:75–84.
- Haar E. L. V., So J., Gyamfi-Bannerman C., Han Y. W. 2018. *Fusobacterium nucleatum* and adverse pregnancy outcomes: epidemiological and mechanistic evidence. *Anaerobe* 50 : 55-59.
- Hajishengalis G. 2015. Periodontitis: from microbial imune subversion to systemic inflammation. *Nature* 15:30-44.
- Han Y.W., Redline R.W., Li M., Yin L., Hill G.B., Cormick I.S. 2004. *Fusobacterium nucleatum* induces premature and term stillbirths in pregnant mice: Implication of Oral bacteria in preterm birth. *Infection and Immunity* 72 (4): 2272-2279.
- Heerema-Mckenney A. 2018. Defense and infection of the human placenta. *Journal of Pathology, Microbiol. Immunol.* 126: 570-588.
- Kramer J. W. 2006. Normal hematology of cattle, sheep and goats. In: Feldman B F., Zinkl J. G., Jain N. C. *Schalm's veterinary hematology*, p 1075-1084 5 ed Ammes: Blackwell.
- Kumar P. S. 2013. Oral microbiota and systemic disease. *Anaerobe* 24: 90-93.
- Li X., Kolltveit K. M., Tronstad L., Olsen I. 2000. Systemic Diseases caused by oral infection. *Clinical Microbiology Rewiews* 13 (4)547-558.
- Liang S., Ren H., Guo H., Xing W., Liu C., Ji Y., Jiang H., Zhang P., Du M. 2018. Periodontal infection with *Porphyromonasgingivalis* induces preterm birth and lower birth weight in rats. *Mol. Oral Microbial.* 33(4): 312 – 321.

- Lima R. P. E., Cota L.O. M., Silva T. A., Cortelli S. C., Cortelli J. R., Costa F. O. 2016. Periodontitis and type 2 diabetes among women with previous gestational diabetes: epidemiological and immunological aspects in a follow-up of three years. *J. Appl. Oral Sci.* 25(2): 130-139.
- Lin W., Jiang W., Hu X., Gao L., Ai D., Pan H., Niu C., Yuan K., Zhou X., Xu C., Huang Z. 2018. Ecological shifts of supragingival microbiota in association with pregnancy. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 8 (24): 1-11.
- Machado J.R., Rocha L.P., Barrilari S. E. G., Pucci K. R. M., Reis M. A., Corrêa R. R. M. 2012. Influência das intercorrências maternas e fetais nos diferentes graus de corioamnionite. *Rev. Bras.Ginecol. Obstet.* 34 (4): 153-157.
- Madianos P. N., Bobetsis Y.A., Offenbacher S. 2013. Adverse pregnancy outcomes (APOS) and periodontal disease: pathogenic mechanisms. *J. Clin. Periodontol.* 40 (14): 170-180.
- Marconi C.2008. Interleucina 1 β e interleucina 6 no líquido amniótico: relação com invasão microbiana da cavidade amniótica em gestantes em trabalho de parto PREMATURO. Tese de Mestrado, MedicinaUnesp-Universidade Estadual Paulista, Botucatu. 46f.
- Mayanagi G., Sato T., Shimauchi H., Takahashi N.2004. Detection frequency of periodontitis associated bacteria by polymerase chain reaction in subgingival and supragingival plaque of periodontitis and healthy subjects. *Oral Microbiol.Immun.* 19: 379-385.
- McCuaig R., Wong D., Gardiner F.W., Rawlinson W., Dahlstrom J.E., Robson S. 2018. Periodontal pathogens in the placenta and membranes in term and preterm birth. *Placenta* 68: 40-43.
- Melnek F. M. C., Sinhorini W. A., Lopes W. D. Z., Cardozo R. M., Martins R. R., Ferraro G.C. 2014. Relação entre a parasitose por nematódeos e a eosinofilia em ovinos da região de Umuarama – PR. *Rev. Ciên.Vet. Saúde Públ.* 1 (1): 072.
- Melo L. M., Bragato J. P., Venturin G. L., Rebech G. T., Costa S. F., Garcia L. E., Lopes F. L., Eugênio F. R., Santos P. S. P., Lima V. M. F. L. Induction of miR 21 impairs the anti-Leishmania response through inhibition of IL-12 in canine splenic leukocytes. *Plos One* 1-19.
- Minty M., Canceil T., Serino M., Burcelin R., Tercé F., Blasco-Baque V. 2019. Oral microbiota-induced periodontitis: a new risk factor metabolic diseases. *Rev. in Endocr. Metab. Disord.* 20: 449-459.
- Mobini S. et al. 2004. Teriogenologia de ovinos e caprinos. In: Pugh D. G. Clínica de ovinos e caprinos. São Paulo: Roca 145-208.
- Mohr S., Amylidi-Mohr S. K., Stademann P., Sculean A., Persson R., Eick S., Surbek D.V. 2019. Systemic inflammation in pregnant women with periodontitis and preterm prelabor rupture of membranes: a prospective case-control study. *Front. Immunol.* 10: 1-10.

- Moya-Araújo C. F., Prestes N.C., Piagentini M., Araújo G. H. M., Marconi C., Silva M. G. 2009. Comparação da concentração de citocinas no líquido amniótico de bezerros Nelore concebidos por meio de diferentes biotecnologias da reprodução. *ARS Veterinária* 25: 100-103.
- Murtha A. P., Greig P. C., Jimmerson C. E., Herbert W. N. P. 1998. Maternal serum interleukin-6 concentrations as a marker for impending preterm delivery. *Obstetrics & Gynecology* 91: 161-164.
- Muwazi L., Rwenyonyi C. M., Nkamba M., Kutesa A., Kagawa M., Kwizera G., Okullo I. 2014. Periodontal conditions, low birth weight and preterm birth among postpartum mothers in two tertiary health facilities in Uganda. *BMC Oral Health* 28: 14-42.
- Nadkarni M. A., Browne G.V., Chhour K. L., Byun R., Nguyen K. A., Chapple C.C., Jacques N. A., Hunter N. 2012. Pattern of distribution of *Prevotella* species/phylogroups associated with healthy gingiva and periodontal disease. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect.* 31: 2989-2999.
- Offenbacher S, Katz V., Fertik G., Collins J., Boyd D., Maynor G., McKaig R., Beck J. 1996. Periodontal infection as a possible risk factor for preterm low birth weight. *J. Periodontol.* 67 (10): 1103-1113.
- Oliveira B. A., Jr G.F. S. 2019. Avaliação da contagem de células sanguíneas em pacientes portadores de periodontite crônica. *Revista da Jopic* 2 (4).
- Passanezi E., Brunetti M. C., Santana A. C, P. 2007. Interação entre doença periodontal e a gravidez. *Disease Laboratory Investigation*, 2 (17).
- Pavlidis I, Spiller OB, Sammut Demarco G, MacPherson H, Howie S, Norman JE, Stock SJ. 2020. Cervical epithelial damage promotes *Ureaplasma parvum* ascending infection, intrauterine inflammation and preterm birth induction in mice. *Nat Commun.* 11(1):199.
- Pelzer E., Gomez-Arango L.F., Barret H.L., Nitert M.D. 2017. Review: Maternal health and the placental microbiome. *Placenta* 54:30-37.
- Pereira F.B., Bezerra L.R., Marques C.A.T., Araújo M.J., Torreão J.N.C., Machado L.P. 2015. Perfil hematológico de ovelhas Santa Inês suplementadas a pasto no terço final de gestação e no pós-parto. *Cienc. Anim. Bras.* 16 (3): 350-357.
- Prabhudas M., Bonney E., Caron K., Dey S., Erlebacher A., Fazleabas A., Fisher S., Golos T., Matzuk M., McCune J. M., Schulz L., Soares M., Spencer T., Strominger J., Way S. S., Yoshinaga K. 2015. Immune mechanisms at the maternal-fetal interface: perspectives and challenges. *Nature Immunology* 16 (4): 328-334.
- Puertas A., Magan-Fernandez A., Blanc V., Revelles L., O'Valle F., Pozo E., León R., Mesa F. 2017. Association of periodontitis with preterm birth and low birth weight: a comprehensive review. *The J of Maternal-fetal & Neonat Med* 31 (5): 597-602.

- Radostits, O.M. et al. Doenças do recém-nascido. In: _____. Clínica veterinária. Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. Cap.3, p.102-136.
- Ramos T. N. M., Borsanelli A. C., Vaccari J., Saraiva J. R., Souza N. C., Ranieri R. V., Gaetti-jardim júnior E., Dutra, I. S. 2017. Detecção de *Fusobacteriumnucleatum* no sulco gengival de bezerros com e sem lesões periodontais pela reação em cadeia da polimerase. REVISTA CIÊNCIA & TECNOLOGIA: FATEC-JB, 9 :1-6.
- Ramos T.N.M., Borsanelli A. C., Saraiva J.R., Vaccari J., Schweitzer C., Gaetti-Jardim JR. Dutra I. 2019. Efficacy of virginiamycin for the control of periodontal disease in calves. *Pesq. Vet. Bras.* 39 (2):112-122.
- Ridler A.L., Vallee E., Corner R. A., Kenyon P.R., Heuer C. 2015. Factors associated with fetal losses in ewe lambs on a New Zealand sheep farm. *New Zealand Vet Journal* 63:330-334.
- Riggio M. P., Jonsson N., Bennett D. 2013. Culture-independent identification of bacteria associated with ovine “broken mouth” periodontitis. *VetMicrob* 166: 664-669.
- Rivera M. F., Lee J. Y., Aneja M., Goswami V., Liu L., Velsko I.M., Chukkapalli S. S., Bhattacharyya I., Chen H., Lucas A. R., Kesavalu L.N. 2013. Polymicrobial infection with major periodontal pathogens induced periodontal disease and aortic atherosclerosis in hyperlipidemic ApoE^{null} mice. *PlosOne* 8 (2):1-11.
- Saraiva J.R., Ramos M. M. B., Borsanelli A. C., Schweitzer C. M., Gaetti-Jardim Júnior E., Höfling J. F., Ramos T. N. M., Dutra I. S. 2019. Chemical and structural composition of black pigmented supragingival biofilm of bovines with periodontitis. *Pesq. Vet. Bras.* 39 (12): 933-941.
- Scheerlick J. P.Y. 1999. Functional and structural comparison of cytokines in different species. *Veterinary immunology and immunopatology* 72: 39-44.
- Shobokshi A. e Shaarawy M. 2002. Maternal serum and amniotic fluid cytokines in patients with preterm premature rupture of membranes with and without intrauterine infection. *Gynecology & Obstetrics* 79: 209-215.
- Silva, N. S., Borsanelli A. C., Gaetti-jardim júnior E., Schweitzer C. M., Silveira J. A.S., Bomjardim H. A., Dutra I. S. ; Barbosa neto J. D. 2019. Subgingivalbacterial microbiota associatedwithovineperiodontitis. *Pesq. Vet. Bras.(ONLINE)^{JCR}*,. 39: 454-459.
- Silva F.L.R., Araújo A.M. 2000. Características de reprodução e de crescimento de ovinos mestiços Santa Inês no Ceará. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.29, p.1712-1720.
- Soucy-Giguère L., Tétu A., Gauthier S., Morand M., Chandad F., Giguère Y., Bujold E. 2016. Periodontal disease and adverse pregnancy outcomes: a prospective study in a low-risk population. *J. Obstet.Gynaecol.Can.* 38 (4):346-350.

- Souza W.H., Leite P. R. 2000. Ovinos de corte : a raça Dorper. João Pessoa : Emepa-PB, p. 75
- Souza L. M., Cruz S. S., Gomes-Filho I. S., Barreto M. L., Passos-Soares J.S., Trindade S. C., Figueiredo A. C. M. G., Alves C. M. C., Coelho J. M. F., Vianna M. I. P. 2015. Effect of maternal periodontitis and low birth weight –A case control study. *AOdontScand* 74 (1): 73-80.
- Souza N. C., Bovino F., Avilla L. G., Deschk M., Alcindo J. F., Fink M. F. C. B., Mendes L. N. M., Feitosa F. L. F. 2020. Assessment of fetal lung maturity using analysis of amniotic fluid from ewes that gave birth prematurely and at term. *Pesq. Vet. Bras.* 40: 1039-1047.
- Stinson L.F., Boyce M. C., Payne M. S., Keelan J. A. 2019. The not-so-sterile womb: Evidence that the human fetus is exposed to bacteria prior to birth. *Frontiers in Microbiology* 10 (1124): 1-15.
- Stockham S., Stamford J.E., Roberts C. T., Fitzsimmons T. R., Marchant C., Bartold P. M., Zilm P. S. 2015. Abnormal pregnancy outcomes in mice using an induced periodontitis model and the haematogenous migration of *Fusobacterium nucleatum* sub-species to the murine placenta. *Plos One* 10(3): 1-16.
- Swartz J. D., Lachman M., Westveer K., O'Neill T., Geary T., Kott R. W., Berardinelli J.G., Hatfield P.G., Thomson J. M., Roberts A., Yeoman C. 2014. Characterization of the vaginal microbiota of ewes and cows reveals a unique microbiota with low levels of lactobacilli and near-neutral pH. *Frontiers in Veterinary Science* 1 (19):1-10.
- Sweeney EL, Suhas G, Kallapur SG, Gisslen T, Lambers DS, Chougnet CA, Stephenson S, Jobe AH, Knox CL. 2016. Placental infection with *Ureaplasma* species is associated with histologic chorioamnionitis and adverse outcomes in moderately preterm and late-preterm infants. *J Infect Dis.* 213(8):1340–1347.
- Sweeney EL, Dando SJ, Kallapur SG, Knox CL. 2017. The human *Ureaplasma* species as causative agents of chorioamnionitis. *Clin Microbiol Rev.* 30(1):349–379.
- Takii R., Kadowaki T., Tsukuba T., Yamamoto K. 2018. Inhibition of gingipains prevents *Porphyromonas gingivalis* induced preterm birth and fetal death in pregnant mice. *European Journal of Pharmacology.* 824 : 48-56.
- Teshome A., Yitayeh A. 2016. Relationship between periodontal disease and preterm low birth weight: systematic review. *Pan African Medical Journal* 24: 215.
- Tran T., Flynn M.J., Chen C., Slots J. 1997. Absence of *Porphyromonas asaccharolytica* and *Clamidia pneumoniae* in human subgingival plaque. *Oral Microbiol. Immun.* 12 (6): 377-378.
- Uriza C. L., Velosa – Porras J., Roa N. S., Margarita S., Lara Q., Silva J., Ruiz A. J., Arregoces F.M.E. 2018. Periodontal disease, inflammatory cytokines, and PGE 2 in pregnant patients at risk of preterm delivery: a pilot study. *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology.* Doi: 10.1155/2018/7027683.

- Walker R.W., Clemente J. C., Peter I., Loos J. F. 2017. The prenatal gut microbiome are we colonized with bacteria in utero. *Pediatric Obesity* 12: 3-17.
- Wallinford M. C., Benson C., Chavkin N.W., Chin M. T., Frasch M. G. 2018. Placental Vascular Calcification and Cardiovascular Health: It is time to determine how much of maternal and offspring health is written in stone. 9 (1044).
- Weiss D., Tvedten H. 2004. The complete blood count and bone marrow examination: general comments and selective techniques. In: Willard M.D. & Tvedten H. *Small animal clinical diagnosis by laboratory methods*. 4. Ed. St. Louis, Missouri: Saunders, Cap 2 p 14-37.
- Windt D.V.D., Kornegoor R., Walhof R., Overbeek B. P., Paarlberg K. M. 2018. Septicaemia with *Fusobacterium necrophorum* from periodontal disease in pregnancy resulting in immature birth. *ObstetGynecol Cases Ver* 5:116.
- Yaqub L. S., Kawu M. U., Ayo J.O. 2013. Influence of reproductive cycle, sex, age and season on haematologic parameters in domestic animals: A review. *Journal of Cell and Animal Biology* 7(4): 37-43.
- Yarkac F.U., Gokturk O., Demir O. 2018. Effect non-surgical periodontal therapy on the degree of gingival inflammation and stress markers related to pregnancy. *Journal of Applied Oral Science* 26: 1-8.
- Ye C., Katagiri S., Miyasaka N., Kobayashi H., Khemwong T., Nagasawa T., Yzumi Y. 2020. The periodontopathic bacteria in placenta, saliva and subgingival plaque of threatened preterm labor and preterm low birth weight cases: a longitudinal study in Japanese pregnant women. *Clinical Oral Investigations* 4261-4270.
- Zanatta F. B., Machado E., Zanatta G.B., Fiorini T. 2007. Doença periodontal materno e nascimento prematuro e de baixo peso: uma revisão crítica das evidências atuais. *Arquivos Catarinenses de Medicina* 36 (1):96-102.
- Zi M. Y. H., Longo P. L., Silva – Bueno B., Mayer P. A. 2015. Mechanisms involved in the association between periodontitis and complications in pregnancy. *Frontiers in Public Health*. 290 (2) DOI: 10.3389/fpubh.2014.00290.

Tabela 1. Perfil hematológico de ovelhas gestantes clinicamente sadias (OGCS) e com periodontite (OGP)¹.

Variáveis	GrupoOGCS	Grupo OGP	Significância estatística p
He (x10 ⁶ /μL)	8,65 ± 0,84	8,8 ± 0,74	<i>p= 0,693</i>
VG (%)	32 ± 3,56	33,4 ± 3,27	<i>p=0,3719</i>
Hb (g/dL)	10,58 ± 1,03	10,84 ± 0,96	<i>p=0,5651</i>
VCM (fL)	36,943 ± 1,84	37,96 ± 1,94	<i>p=0,2447</i>
CHCM (%)	33,281 ± 1,12	32,491 ± 0,85	<i>p=0,0933</i>
PPT (g/dL)	6,85 ± 0,43	7,03 ± 0,59	<i>p=0,4452</i>

¹Intervalo de referência para ovinos adultos (Kramer, 2006):

Tabela 2. Perfil leucocitário ovelhas gestantes clinicamente sadias (OGCS) e ovelhas gestantes com periodontite (OGP)¹.

Variáveis (μL)	Grupo OGCS	Grupo OGP	Significância estatística <i>p</i>
Leucócitos	10260 \pm 2031,53	11670 \pm 3662,13	<i>p</i> = 0,3010
Segmentados	7334,7 \pm 1382,49	8490,7 \pm 3443,13	<i>p</i> =0,3375
Linfócitos	1795,5 \pm 555,302	2587,8 \pm 2475,79	<i>p</i> =0,3365
Eosinófilos	933,6 \pm 682,997	1234,5 \pm 814,03	<i>p</i> =0,3823
Basófilos	0 \pm 0	0 \pm 0	<i>p</i> =0,0933
Monócitos	196,20 \pm 198,46	175,10 \pm 144,67	<i>p</i> =0,7889

¹Intervalo de referência para ovinos adultos (Kramer, 2006).

Tabela 3. Espécies microbianas detectadas por meio da reação da cadeia da polimerase (PCR) no sulco gengival e na bolsa periodontal dos grupos OGCS e OGP, respectivamente.

Microrganismo	GrupoOGCSn(%)	GrupoOGP n(%)	Significância estatística p
<i>F. necrophorum</i>	0 (0,0)	4 (21,1)	$p= 0,0328^*$
<i>F. nucleatum</i>	11 (55,0)	12 (63,2)	$p= 0,8979$
<i>P. asaccharolytica</i>	0 (0,0)	3 (15,8)	$p= 0,0392^*$
<i>P. endodontalis</i>	0 (0,0)	1 (5,3)	$p= 0,9214$
<i>P. buccae</i>	0 (0,0)	1 (5,3)	$p= 0,9214$
<i>T. forsythia</i>	4 (20)	6 (31,6)	$p= 0,5218$
<i>T. denticola</i>	0 (0,0)	2 (10,5)	$p= 0,1569$
Classe Mollicutes	0 (0,0)	4 (21,1)	$p= 0,0352^*$
Gênero			
<i>Staphylococcus</i>	8 (40,0)	12 (63,2)	$p= 0,2536$
Ordem			
<i>Enterobacterales</i>	3 (15,0)	3 (15,8)	$p= 0,9021$
Domínio Archaea	4 (20,0)	8 (42,1)	$p= 0,1965$

Tabela 4. Principais alterações placentárias identificadas nos grupos OGCS e OGP.

Alterações Placentárias	Grupo OGCS n (%)	Grupo OGP n (%)
Macrófagos na lâmina própria	1 (10)	1 (10)
Congestão vascular moderada	0 (0)	1 (10)
Áreas multifocais de calcificação	0 (0)	2 (20)
Presença de Neutrófilos, plasmócitos e macrófagos	0 (0)	1 (10)
Presença discreta a moderada de neutrófilos	1 (10)	0 (0,)
Neutrófilos perivasculares	1 (10)	0 (0)
Autólise (Artefato)	0 (0)	2 (20)
Total	3 (30,0)	7 (70,0)

Quadro 1. Pesagem das mães e seus respectivos cordeiros imediatamente pós parto.

Grupo OGCS	Raça (Gestante)	Peso Materno pós parto (Kg)	Identificação Cordeiros	Peso Neonato (Kg)
SP 15	½ Dorper	81,1	C1	4,6
3664	½ Dorper	80	C1	4,5
3937	¾ Dorper	92	C1	4,6
3952	½ Dorper	75,9	C1	4,2
3966	Sta Inês	64,7	C1	4,7
4010	½ Dorper	67,3	C1	4,3
4011	½ Dorper	75,2	C1	4,6
4042	½ Dorper	74,3	C1	4,8
4042	½ Dorper	Parto gemelar	C2	3,5
4043	½ Dorper	70	C1	4
4043	½ Dorper	Parto gemelar	C2	4,5
4083	Sta Inês	47,7	C1	4,1
Média ± D	-	72,6 ± 12,4^A	-	4,3 ± 0,38^B
Grupo OGP	Raça (Gestante)	Peso Materno pós parto (Kg)	Identificação Cordeiros	Peso Neonato (Kg)
3685	½ Dorper	77,4	C1	3,3
3685	½ Dorper	Parto Gemelar	C2	4,0
3939	¾ Dorper	85,6	C1	3,8
3939	¾ Dorper	Parto Gemelar	C2	3,9
3953	Sta Inês	53,6	C1	4,5
3993	Sta Inês	61,5	C1	4,7
4028	Sta Inês	51	C2	2,4
4082	7/8 Dorper	55,2	C1	3,5
4084	Sta Inês	61,5	C1	3,7
4084	Sta Inês	Parto Gemelar	C2	4,4
4246	Sta Inês	49,3	C1	2,6
4265	Sta Inês	41,2	C1	4,0
4294	Sta Inês	45,9	C1	3,4
Média ±D	-	58,7 ± 14,8^A	-	3,7 ± 0,68^B

^A Mães clinicamente saudáveis apresentaram maior peso do que aquelas com periodontopatias (p= 0,046).

^B Cordeiros oriundos de ovelhas clinicamente sadias apresentaram maior peso ao nascer do que aqueles oriundos de mães com periodontopatias (p = 0,011).

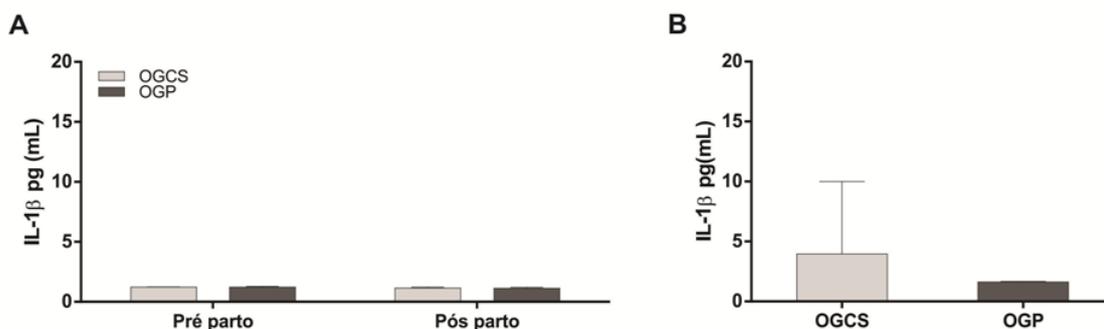


Fig.1. A)Concentrações séricas dos níveis de IL-1 β entre os grupos OGCS e OGP em momento pré-parto e pós-parto . B) Concentrações de IL-1 β no líquido amniótico de ovelhas pertencente ao grupo OGCS e ovelhas gestantes com periodontite (OGP).

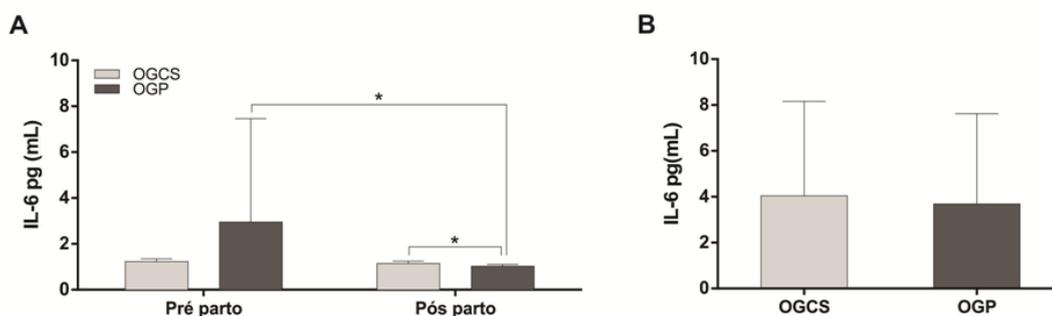


Fig.2. A)Concentrações séricas dos níveis de IL-6 entre os grupos OGCS e OGP em momento pré-parto e pós-parto . B) Concentrações de IL-6 no líquido amniótico de ovelhas pertencente ao grupo OGCS e ovelhas gestantes com periodontite (OGP).

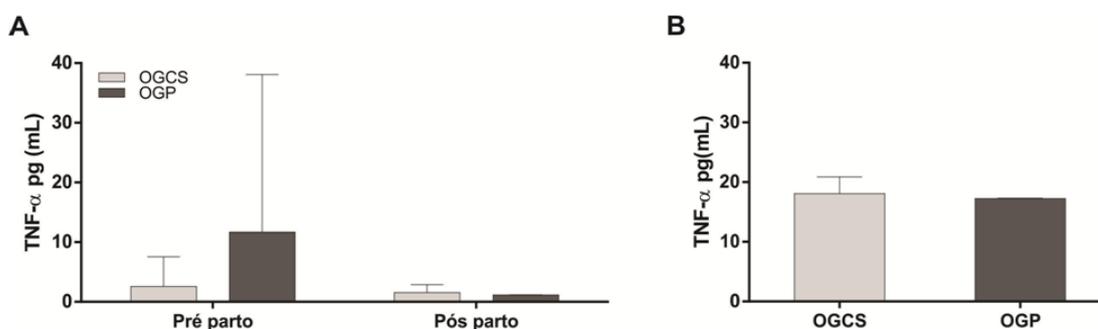


Fig.3. A)Concentrações séricas dos níveis de TNF- α entre os grupos OGCS e OGP em momento pré-parto e pós-parto . B) Concentrações de TNF- α no líquido amniótico de ovelhas pertencente ao grupo OGCS e ovelhas gestantes com periodontite (OGP).



Fig.4. Fotomicroscopia de exame histológico em amostra de placenta de ovelha pertencente ao grupo de ovelhas gestantes com periodontite (OPG), apresentando áreas multifocais de calcificação, num aumento de 400x.

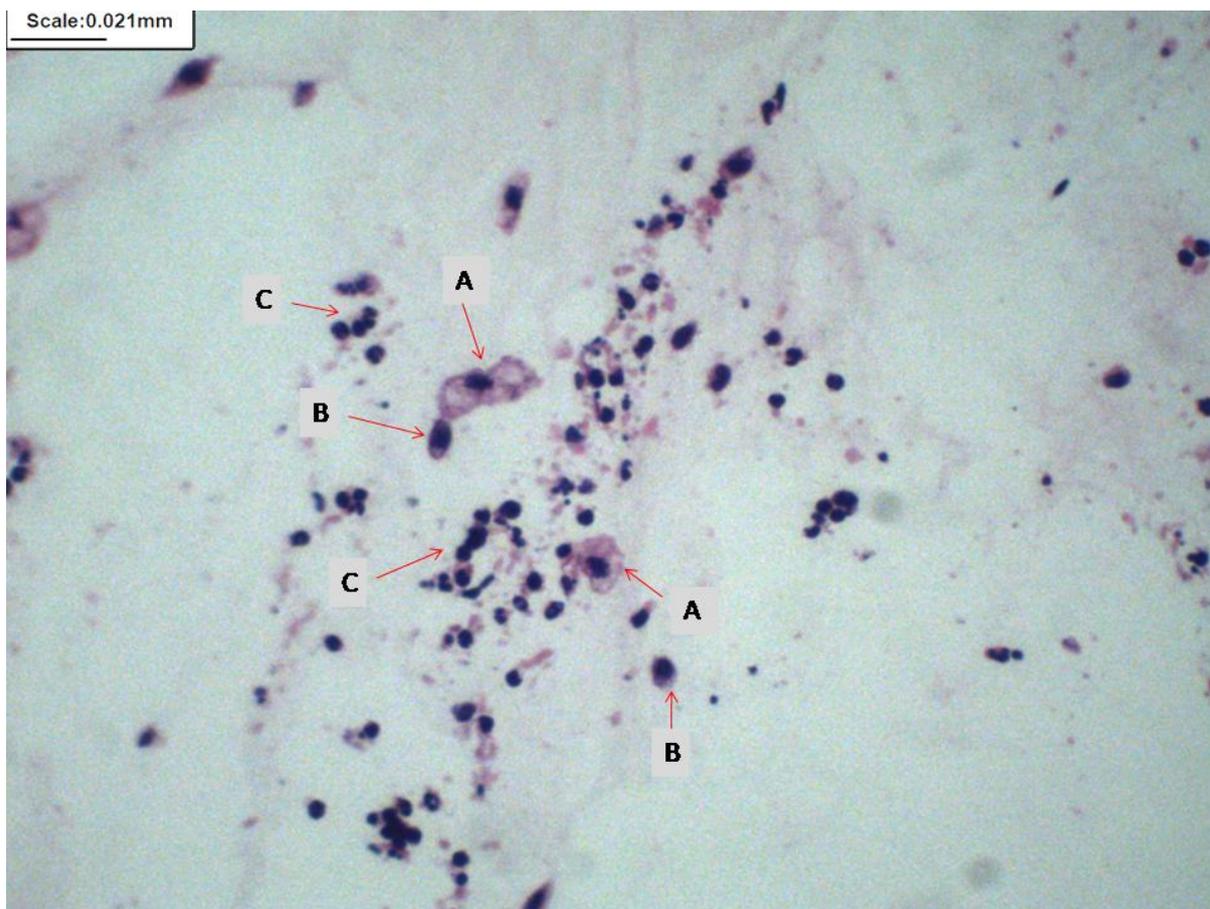


Fig.5. Fotomicroscopia de exame histológico de placenta de ovelha pertencente ao grupo de ovelhas gestantes com periodontite (OGP), onde é possível visualizar, sendo representado pelas setas a presença de: A) Macrófagos; B) Plasmócitos e C) neutrófilos num aumento de 400x.

Capítulo 3– Considerações Finais

O impacto das lesões periodontais sobre as condições sistêmicas de saúde de animais de produção é significativo e frequentemente negligenciado, de forma que o seu diagnóstico raramente constitui objeto de avaliação e estudo, tanto por parte dos médicos veterinários quanto produtores de ovinos. Isso ocorre principalmente devido ao desconhecimento sobre apresentação clínica destas afecções, bem como pela tendência de associar a queda de produção com outras enfermidades comuns a estas espécies, desconsiderando o papel do aparelho estomatognático do animal em sua fisiologia e capacidade produtiva. Nesse contexto um exame detalhado da cavidade bucal é imprescindível para verificar a ocorrência de lesões periodontais nos rebanhos.

Ovinos em diferentes fases reprodutivas são abatidos antes do tempo adequado em função do comprometimento do estado geral de saúde e baixa produtividade. Dentre os principais fatores que corroboram para o abate precoce desses animais destacam-se as doenças infecciosas e parasitárias, entre as quais inclui-se as odontopatias e as periodontopatias, visto que constituem enfermidades com significativo potencial de produzir dor e desconforto, os quais comprometem o consumo alimentar, dificultando o ganho ideal de peso e se comportam como fatores desestabilizantes dos mecanismos inatos e adaptativos de defesa, visto que a nutrição inadequada constitui fator predisponente para o desencadeamento de doenças secundárias.

Apesar do crescente interesse sobre o impacto das lesões periodontais em animais de produção, não há relatos científicos encontrados com relação aos efeitos destas afecções na gestação ovina e sua interferência no desenvolvimento de seus respectivos cordeiros, segundo literatura consultada. O presente estudo observou o impacto das condições periodontais na gestação ovina, uma vez que, em humanos, problemas dentários-periodontais podem acarretar em agravos gestacionais como abortos, prematuridade e, com frequência, baixo peso ao nascer.

Cordeiros nascidos prematuros e ou com baixo peso ao nascimento tendem a ter o desenvolvimento inicial comprometido, gerando animais jovens mais leves, podendo levar a ganho de peso tardio, afetando o desenvolvimento futuro da criação. Com base nesses dados, o presente estudo reforça a necessidade da

avaliação clínica da condição periodontal para detecção de sinais característicos da gengivite e periodontites nas fêmeas que serão empregadas no processo reprodutivo, como forma de reduzir os riscos do nascimento de cordeiros prematuros e de baixo peso, que também tendem a demonstrar maior fragilidade ao nascer e podem elevar os custos financeiros da criação.

A coleta de biofilme subgengival evidenciou presença de importantes microrganismos correlacionados com periodontite. Considerando que uma das possibilidades de infecção placentária e ou contaminação do líquido amniótico seja a disseminação bacteriana sistêmica, foi coletado o líquido amniótico a fim de verificar se bactérias pertencentes à cavidade bucal estariam presentes no líquido amniótico, como já amplamente documentado em humanos.

Porém, durante análise foram detectados microrganismos que podem estar presentes na cavidade bucal mas que não são exclusivamente pertencentes à microbiota da cavidade bucal, podendo ser encontrados em outros sítios anatômicos distantes. Estes resultados sugerem que a contaminação do líquido amniótico ocorreu de forma ascendente (via vaginal) ou mesmo hematogênica, por meio de quadros bacterêmicos transitórios a partir da pele e mucosas.

Quanto ao perfil hematológico, os níveis hematológicos de ambos os grupos permaneceram dentro da normalidade.

Os dados apresentados reforçam que, apesar da diferença racial, cordeiros oriundos de ovelhas com periodontite apresentavam menor peso ao nascer quando comparados aos cordeiros de ovelhas gestantes periodontalmente saudáveis. As ovelhas periodontalmente saudáveis, independentemente da raça, apresentaram maior peso corporal em relação àquelas com periodontopatias.

A análise histopatológica teve como intuito identificar quaisquer alterações inflamatórias que indicassem placentite ou corioamnionite, contudo, poucas alterações foram observadas. Entretanto, presença de alterações placentárias foram observadas no grupo de ovelhas gestantes com periodontite.

O presente estudo, em função do caráter inédito, baseou-se em relatos científicos direcionados para a espécie humana. Entretanto, é importante considerar as diferenças entre os aspectos placentários de ambas espécies. Os resultados sugerem que na espécie ovina a barreira placentária seja capaz de atuar de forma

efetiva prevenindo uma contaminação maior por micro-organismos ligados às infecções periodontais.