

UFRRJ
INSTITUTO DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

TESE

Uso do gel de Quitosano Mucoadesivo contendo Doxíciclina associada ou não ao Meloxicam no controle da progressão da gengivite em cães portadores de doença periodontal

Rita de Cássia Silva da Costa

2017



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

USO DO GEL DE QUITOSANO MUCOADESIVO CONTENDO
DOXICICLINA ASSOCIADA OU NÃO AO MELOXICAM NO
CONTROLE DA PROGRESSÃO DA GENGVITE EM CÃES
PORTADORES DE DOENÇA PERIODONTAL

RITA DE CÁSSIA SILVA DA COSTA

Sob a Orientação do Professor
Julio Israel Fernandes

Tese submetida como requisito parcial
para obtenção do grau de **Doutor em**
Ciências do Curso de Pós-Graduação em
Medicina Veterinária, Área de
Concentração em Ciências Clínicas.

Seropédica, 2017

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C837u Costa, Rita de Cássia Silva da , 1963-
 Uso do gel de quitosano mucoadesivo contendo
doxiciclina associada ou não ao meloxicam no controle
da progressão da gengivite em cães portadores de
doença periodontal / Rita de Cássia Silva da Costa. -
2017.
 83 f.

 Orientador: Julio Israel Fernandes.
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro, Programa de Pós Graduação em Medicina
Veterinária/Patologia e Ciências Clínicas, 2017.

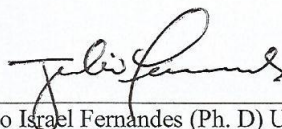
 1. Gengivite. 2. Doença Periodontal. 3. Gel
mucoadesivo. 4. Cavidade Oral. 5. Cão. I. Fernandes,
Julio Israel , 1979-, orient. II Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós Graduação em
Medicina Veterinária/Patologia e Ciências Clínicas
III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

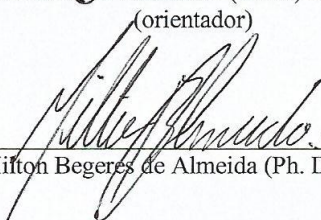
RITA DE CÁSSIA SILVA DA COSTA

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de Concentração em Ciências Clínicas.

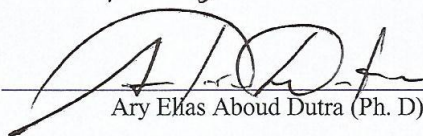
TESE APROVADA EM 17/02/2017



Julio Israel Fernandes (Ph. D) UFRRJ
(orientador)



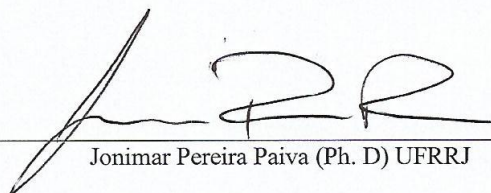
Milton Begeres de Almeida (Ph. D) UFPA



Ary Elias Aboud Dutra (Ph. D) UCB



Yara Peluso Cid (Ph. D) UFRRJ



Jonimar Pereira Paiva (Ph. D) UFRRJ

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho primeiramente à Deus, que me deu forças sobre humanas para não desistir diante dos árduos obstáculos e concluir mais esta jornada acadêmica.

Dedico de maneira especial aos queridos amigos Dr. Felipe Delorme Azevedo, Diretor do Hospital Veterinário da UFRRJ, e à Professora Dra Ana Paula Lopes Marques, exemplos de ética e caráter, pelo incentivo e empenho ao meu ingresso no Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária como doutoranda desta instituição assim como pelo empenho pessoal imprescindíveis ao meu êxito acadêmico.

Agradecimento

Maior que o desafio da conclusão desta Tese é agradecer em resumidas linhas à cada uma das pessoas que fizeram parte desta minha trajetória.

Início os agradecimentos àquele cujo apoio foi fundamental para que eu chegasse até aqui, por àquele que foi o início de tudo... que me fez vislumbrar todo o fascínio e relevância do universo da pesquisa científica. Um exemplo de caráter, ética, sabedoria, humildade e generosidade: Professor Carlos Wilson Gomes Lopes. Professor de graduação e pós graduação (Ciências Veterinárias – CPGCV e Ciência, Tecnologia e Inovação – PPGCTIA) desta instituição. Obrigada por cada palavra de incentivo e pela amizade que tantas vezes foi o combustível para eu não desistir.

Ao Diretor do Hospital Veterinário da UFRRJ, Dr. Felipe Delorme Azevedo, pela ética, competência, sabedoria e amizade e, sobretudo, por ter sido um verdadeiro orientador na minha vida profissional, mas também nos caminhos e escolhas pessoais. Também agradeço com muito carinho ao Vice-Diretor Dr. João Senna Maia pelo apoio integral e por acreditar na minha capacidade profissional, pelo carinho e atenção.

Àquela que efetivamente tornou a possibilidade de ser doutoranda uma realidade, Professora Marilene de Farias Brito de Queiroz. Obrigada por ter me aceito como orientada para que eu pudesse me candidatar ao doutorado. Apesar de não ter podido seguir como minha orientadora até o final do curso, você fez toda a diferença na minha formação. Obrigada pela oportunidade, apoio e amizade que transcenderam os limites do universo acadêmico.

À amiga e Professora Dra Ana Paula Lopes Marques, por ter me acolhido e incentivado desde o nosso mestrado. Obrigada por compartilhar meus sonhos e quase sempre, torná-los possíveis como a conclusão e defesa desta tese. Sem o seu apoio e participação teria sido impossível eu concluir o doutorado. Te amo amiga querida.

À amiga de turma Juliana Abreu, agradeço pelo carinho, amizade e cumplicidade nos mais difíceis e também pelas inúmeras horas de descontração ao longo do curso. Obrigada por tudo amiga querida.

Ao Professor Dr. Júlio Israel Fernandes, pelo empenho em viabilizar a execução deste trabalho como Professor Orientador.

À toda a equipe do Professor Fábio Scott e do Laboratório de Quimioterapia Experimental e Parasitologia Veterinária - UFRRJ, pelo apoio incondicional e amigo no desenvolvimento e conclusão de cada etapa deste trabalho.

RESUMO

COSTA, Rita de Cássia Silva da Costa. **Uso do gel de Quitosano mucoadesivo contendo Doxíciclina associada ou não ao Meloxicam no controle da progressão da gengivite em cães portadores de doença periodontal** 83p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária, Patologia Animal e Ciências Clínicas). Instituto de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

A doença periodontal é a doença oral de maior ocorrência na clínica de animais de companhia, acometendo principalmente animais idosos, dada a sua característica de cronicidade. Dentre os sinais clínicos nos animais acometidos, a gengivite é um dos primeiros a serem observados. O objetivo desse trabalho foi desenvolver e avaliar a eficácia de um gel mucoadesivo contendo doxíciclina associada ou não ao meloxicam no controle da progressão da gengivite em cães induzida pela doença periodontal através de avaliação clínica, histopatológica e microbiológica. Foram utilizados 18 cães da raça Beagle portadores de gengivite secundária à doença periodontal divididos em três grupos experimentais: Grupo I – Animais medicados com formulação placebo; Grupo II – Animais medicados com a formulação gel de quitosano mucoadesivo contendo doxíciclina e grupo III – Animais medicados com a formulação gel de quitosano mucoadesivo contendo a associação de doxíciclina e meloxicam. Os animais foram tratados durante sete dias, a cada doze horas, na margem gengival da maxila direita. Durante a avaliação clínica, apenas os animais tratados com o produto contendo doxíciclina apresentaram melhora ($p < 0,05$). Na avaliação histopatológica, somente os animais tratados com a associação de doxíciclina e meloxicam apresentaram melhora nos escores clínicos, entretanto, sem diferença significativa com os demais grupos. Amostras de fragmento de gengiva livre e swabs da margem e sulco gengivais da maxila superior direita de cada animal foram encaminhados para identificação, quantificação através da contagem de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) e provas de antibiograma com os antibióticos doxíciclina, metronidazol, amoxicilina com ácido clavulânico, enrofloxacina, clindamicina e cefalexina. As bactérias isoladas no Grupo I foram *Staphylococcus* sp (83%), *Staphylococcus aureus* (17%), no Grupo II foram *Escherichia coli* (60%), Bastonetes (30%) e *Staphylococcus* sp (10%), no Grupo III, *Escherichia coli* (33%), *Staphylococcus* sp (20%), *Staphylococcus aureus* (13%), Cocos (6%), Bacilos (7%), Bastonetes (7%), leveduras (7%) e *Pseudomonas* spp. (7%). A bactéria mais comum no grupo I foi a *Staphylococcus aureus* e nos grupos II e III a mais comum foi a *Escherichia coli*. Em todos os grupos as bactérias identificadas foram as mesmas no dia 0 e +8. Dos antibióticos testados em antibiograma os resultados obtidos foram no Grupo I Doxíciclina (13%), Amoxicilina (33%), Cefalexina (27%), Metronidazol (0%), Enrofloxacina (20%) e Clindamicina (7%), no Grupo II Doxíciclina (31%), Amoxicilina (25%), Cefalexina (13%), Metronidazol (25%), Enrofloxacina (0%) e Clindamicina (6%) e no Grupo III Doxíciclina (16%), Amoxicilina (28%), Cefalexina (5%), Metronidazol (17%), Enrofloxacina (17%), Clindamicina (17%). A Amoxicilina foi o antibiótico que apresentou a melhor eficácia no grupo I e III e a Doxíciclina no grupo II. Concluiu-se então que as formulações desenvolvidas não foram eficazes como coadjuvantes no tratamento da gengivite induzida pela doença periodontal.

Palavras-chave: Gengivite, doença periodontal, gel mucoadesivo, cavidade oral

ABSTRACT

COSTA, Rita de Cássia Silva da Costa. **Use of Mucosal Chitosan gel containing Doxycycline associated or not to Meloxicam without control of progression of gingivitis in dogs with periodontal disease.** 83p. Tese (Master Science in Veterinary Medicine, patologia Animal e Ciências Clínicas). Instituto de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

The periodontal disease is the highest occurrence condition in the pet clinic. Its affect mainly older animals because of its characteristic of chronicity. Among the clinical signs, gingivitis is the first to be observed. The main of this study was the use of mucosal Chitosan gel containing Doxycycline associated or not to Meloxicam without control of progression of gingivitis in dogs with periodontal disease. To evaluate the treatment was used clinical and histopathologic rating. Were used 18 Beagle dogs with gingivitis secondary to periodontal condition divided into three experimental groups. Group I – animals treated with placebo. Group II – Animals treated with mucoadhesive chitosan gels containing doxycycline. Group III - Animals treated with mucoadhesive chitosan gels containing doxycycline and meloxicam. The animals were treated for seven days in the gingival margin of the right maxilla every twelve hours. During the clinic evaluation only the group II had improved. During the histopathologic evaluation only the group II had improved at clinical scores however, there is no statistical difference with the other groups. Samples of free gingival fragment and swabs from the margin and gingival sulcus of the upper right maxilla of each animal were sent for identification, quantification through counting of Colony Forming Units (CFU) and antibiotic tests with the antibiotics doxycycline, metronidazole, amoxicillin plus clavulanic acid, enrofloxacin, clindamycin and cephalixin. The bacteria isolated in Group I were *Staphylococcus aureus* (17%) in Group II were *Escherichia coli* (60%), Rods (30%) and *Staphylococcus* sp (10%) in Group III, *Escherichia* spp. *Coli* (33%), *Staphylococcus* sp (20%), *Staphylococcus aureus* (13%), Coccus (6%), *Bacilli* (7%), Rods (7%), Yeasts (7%) and *Pseudomonas* spp. (7%). In all those groups the bacteria identified were the same at day 0 and +8. The antibiotics tested in antibiogram, the results obtained were in Group I Doxycycline (13%), Amoxicillin (33%), Cephalixin (27%), Metronidazole (0%), Enrofloxacin (20%) and Clindamycin (28%), Amoxicillin (31%), Amoxicillin (25%), Cephalixin (13%), Metronidazole (25%), Enrofloxacin (0%) and Clindamycin), Cephalixin (5%), Metronidazole (17%), Enrofloxacin (17%), Clindamycin (17%). It was therefore concluded that the formulations developed were not effective as adjuvants in the treatment of gingivitis induced by periodontal disease.

Key words: Gingivitis, Periodontal disease, mucoadhesive gel, oral cavity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Componentes da anatomia dentária e periodonto do cão.	05
Figura 2: Identificação da dentição permanente do cão segundo o Sistema Triadan modificado.	06
Figura 3: Imagem da gengiva saudável mostrando a margem gengival livre (seta).	11
Figura 4: Processo da mucoadesão: (1) estado de contato, (2) estado de consolidação.	32
Figura 5: Canis individuais de alvenaria do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária, UFRRJ.	38
Figura 6: Margem gengival maxilar direita com mucoadesivo. Fonte: Arquivo Pessoal.	39
Figura 7: Avaliação periodontal do dente 106 com sonda periodontal milimetrada para estadiamento da gengivite.	40
Figura 8: Animal do grupo I, placebo, sem apresentar melhora clínica no tempo 0 (a esquerda) e no tempo +8 (a direita).	51
Figura 9: Melhora clínica de animal do grupo II antes, no tempo 0 (a esquerda) e após, no tempo +8 (a direita), a utilização do muco adesivo a base de doxiciclina.	51
Figura 10: Melhora clínica de animal do grupo III antes, no tempo 0 (a esquerda) e após, no tempo +8 (a direita), a utilização do muco adesivo a base de doxiciclina com meloxicam.	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Principais gêneros de bactérias já isoladas em cavidade oral de cães e suas respectivas referências.	14
Tabela 2: Principais funções da saliva.	15
Tabela 3: Classificação Clínica da gengivite segundo Carranza e Newman (2012).	23
Tabela 4: Classificação histopatológica da gengivite (GARROS et al., 2006).	26
Tabela 5: Fórmulas utilizadas no preparo dos diferentes mucoadesivos utilizados nos cães portadores de gengivite desencadeada por doença periodontal.	42
Tabela 6: Avaliação, em escore, da gengivite clínica nos animais do grupo I, II e III, portadores de gengivite desencadeada por doença periodontal.	44
Tabela 7: Avaliação histopatológica da gengiva livre dos animais do grupo I, II e III, portadores de gengivite desencadeada por doença periodontal.	45
Tabela 8: Resultados da contagem de UFC/mL (unidade formadoras de colônia por mL) da cavidade oral dos animais do grupo I, II e III, portadores de gengivite desencadeada por doença periodontal.	46
Tabela 9: Cultura microbiológica de cavidade oral dos animais do grupo I, II e III, portadores de gengivite desencadeada por doença periodontal.	48
Tabela 10: Resultados do Antibiograma dos animais do grupo I, grupo II e grupo III, portadores de gengivite desencadeada pela doença periodontal.	50

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Efeitos sinérgicos independentes de doxiciclina na doença periodontal em humanos segundo Preshaw (2008).	34
--	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Nota Histórica	3
2.2 Cavidade Oral	3
2.2.1 Dentição do cão	4
2.2.2 Epitélio Oral.....	6
2.2.3 Periodonto.....	7
2.2.4 Osso Alveolar	8
2.2.5 Cimento	9
2.2.6 Ligamento Periodontal.....	9
2.2.7 Gengiva.....	10
2.2.8 Microbiota Oral	12
2.2.9 Saliva	15
2.3 Doença periodontal	16
2.3.1 Gengivite.....	21
2.3.1.1 <i>Caracterização Histopatológica da Gengivite</i>	24
2.3.1.2 <i>Exame Clínico Periodontal</i>	26
2.3.1.3 <i>Tratamento da Gengivite</i>	27
2.3.1.4 <i>Prevenção e Controle em cães</i>	29
2.4 Sistemas Mucoadesivos de Absorção Oral	30
2.5 Quitosana	32
2.6 Doxíciclinas.....	33
2.7 Meloxicam.....	35
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	37
3.1 Local e Animais	37
3.1.1 Critérios de inclusão no estudo.....	37
3.1.2 Elaboração do mucoadesivo	Erro! Indicador não definido.
3.2 Manejo dos animais	39
3.3 Delineamento experimental	39
3.4 Exame da Cavidade Oral	40
3.5 Biopsia e Swab Gengival.....	41

3.6 Análise Histopatológica	41
3.7 Elaboração do Mucoadesivo	42
3.8 Análise microbiológica	42
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
5 CONCLUSÕES.....	52
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53
ANEXOS	63
Anexo 1 - Aprovação em Comitê de Ética	63
Anexo 2 - Artigo publicado na Revista Brasileira de Medicina Veterinária, v. 38,	
Supl.2, p:40-44, novembro 2016	65

1 INTRODUÇÃO

Dentre as afecções orais a mais frequente tanto no homem quanto em cães é a doença periodontal, que além de ser uma afecção crônica e de evolução progressiva também oferece risco à qualidade de vida e longevidade devido à complicações sistêmicas.

A gengivite é o estágio inicial e reversível da doença periodontal sendo uma resposta inflamatória à presença do biofilme dentário. É reversível à partir do controle da formação do biofilme principalmente através da escovação, de execução simples para seres humanos porém, de aplicabilidade controversa em cães. A escovação dentária em cães exige habilidade manual do proprietário e aceitação da manipulação pelo animal sendo uma prática pouco utilizada pelos proprietários de cães. Clinicamente, a gengivite se apresenta como uma linha avermelhada ao longo de toda a sua margem com edema, sangramento à sondagem e dor.

O diagnóstico da doença periodontal é realizado a partir do exame clínico oral e radiografias da cavidade oral, que permitem observar o comprometimento da gengiva, osso alveolar, ligamento periodontal e cemento.

Devido à necessidade de anestesia geral para a execução da terapia periodontal, alguns animais podem não estar aptos ao procedimento por apresentarem doenças concomitantes como cardiopatias, nefropatias ou hepatopatias. Nestes casos, é necessário a estabilização do paciente antes submetê-lo ao tratamento periodontal. Ao longo da estabilização sistêmica, animais que apresentam sinais clínicos avançados de doença periodontal devem ser tratados para que tenham uma melhor qualidade de vida enquanto aguardam o tratamento periodontal. O tratamento considerado de primeira escolha para a doença periodontal não só para humanos como também para cães é a raspagem supra e sub gengival da superfície dentária seguida de polimento coronário acrescida ou não do aplainamento ou alisamento radicular quando necessário.

Devido à fisiopatogenia da doença periodontal, a doxiciclina de liberação local faz parte da terapia periodontal em seres humanos e pode ser encontrada em apresentação líquida (ATRIGEL® ATRIDOX™), que geleifica no interior da bolsa periodontal onde é aplicada liberando doxiciclina a 10% gradativamente. No mercado veterinário também está disponível o Doxirobe®, um gel com doxiciclina a 8,5% (Lab. Zoetis – USA) para aplicação intra bolsa periodontal em cães porém não é comercializada no Brasil. Quanto ao uso de antiinflamatórios, o meloxicam é um anti-inflamatório não esteroideal seletivo para COX-2, apesar de ser utilizado largamente em cães pelas vias oral sistêmica e injetável subcutânea, intramuscular e endovenosa ainda não foi elaborada uma apresentação de uso tópicos.

Considerando que a escovação dentária em cães não apresenta aplicabilidade efetiva no controle da formação do biofilme e o fato de não existir nenhuma formulação mucoadesiva oral de uso veterinário justifica-se a avaliação de formulação mucoadesiva contendo doxiciclina associada ou não ao meloxicam para uso tópico na mucosa oral no controle da progressão da gengivite em cães portadores de doença periodontal proporcionando conforto e bem-estar ao paciente veterinário até que ele esteja sistemicamente apto à realização do tratamento periodontal.

O objetivo do trabalho foi avaliar a eficácia de um gel de Quitosano Mucoadesivo contendo Doxiciclina associada ou não ao Meloxicam no controle da progressão da gengivite em cães portadores de doença periodontal através de acompanhamento clínico, histológico e microbiológico.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Nota Histórica

Desde a antiguidade o estudo das afecções orais em animais desperta o interesse do ser humano. Em “História Animalium”, Aristóteles (384-322 AC) já relatava a ocorrência da afecção periodontal em equinos. Do mesmo modo, Pelagonios (350 AC) compendiou um tratado de medicina equina no qual o capítulo 18 titulava-se “De Dentibus” (“Sobre os dentes”). Portanto, o encanto do ser humano pela odontologia veterinária se assemelha ao interesse pela medicina veterinária desde a antiguidade (KERTESZ,1993).

Em 1977 foi fundada o American Veterinary Dental Society, fazendo com que a Odontologia Veterinária se tornasse uma das especialidades de maior crescimento na década seguinte e em 1988 o Veterinary Dental College foi reconhecido pelo American Veterinary Medical Association (CIFFONI; PACHALY, 2001).

No Brasil a Odontologia Veterinária teve seu início na década de “90”, despertando o interesse de clínicos e estudantes. Em 1994 foi fundado o primeiro centro odontológico veterinário do Brasil e da América Latina, o Odontovet em São Paulo capital. Desde então, inúmeras instituições passaram a oferecer cursos de odontologia veterinária voltados para acadêmicos e graduados. Deste modo, o Conselho Federal de Medicina Veterinária, através da Resolução 625/95, dispôs que a Odontologia Veterinária é uma especialidade restrita ao Médico Veterinário - reforçado pelo disposto na Lei 5517 de 23 de outubro de 1968 da Constituição Federal, sobre as atividades pertinentes ao Médico Veterinário (GIOSO, 2007).

2.2 Cavidade Oral

A cavidade oral apresenta múltiplas funções como o processamento inicial do alimento auxiliado pela secreção das glândulas salivares e ser uma via alternativa para a respiração pelo seu acesso à faringe (DRAK; VOGL; MITCHELL, 2013).

Primeiro seguimento do sistema digestório, a cavidade oral propriamente dita, possui como limite ósseo superior os processos palatinos dos ossos maxilares e suas respectivas lâminas e como limite ósseo inferior as mandíbulas. Os alvéolos dentários encontram-se distribuídos regularmente nos bordos das maxilas e mandíbulas, proporcionando a base e a sustentação para os elementos dentários, músculos da mastigação e da articulação temporomandibular (DYCE; SACK; WENSING, 2010).

A cavidade oral é revestida externamente pela pele e internamente pela mucosa labial e dividida em vestíbulo da boca e cavidade oral. O vestíbulo é o espaço delimitado anterolateralmente pelos lábios e a mucosa das bochechas e posterolateralmente pelos dentes e seus respectivos tecidos moles. A cavidade oral tem como limite anterior os lábios, a faringe como limite posterior, as bochechas como limites laterais, o palato como limite superior e o assoalho da boca como limite inferior (BATH-BALOG; FEHRENBACH, 2012).

O assoalho da cavidade oral é constituído quase totalmente pela língua, que é uma estrutura muscular móvel e importante por participar da deglutição, apreensão, mastigação, lambedura, higiene, vocalização e se estende dos dentes incisivos à orofaringe. Os músculos mais ativos da cavidade oral são o orbicular da boca, bucinador, retrator e levantador do ângulo da boca, mental e zigomático que são músculos faciais e os músculos da mastigação que são o masseter, temporal, pterigoideo medial e lateral (BAKER, 2012).

O nervo trigêmeo é o responsável pela inervação do periodonto. Quanto a vascularização, a artéria carótida externa é a responsável pela irrigação de toda a cabeça, tendo as artérias temporal superficial e mandibular, facial, auricular caudal, parotídea, faríngea ascendente, laríngea cranial, occipital e auricular caudal como seus principais ramos (BATH-BALOG; FEHRENBACH, 2012).

2.2.1 Dentição do cão

Aproximadamente 20% da área de superfície da cavidade oral são constituídos pelos dentes que além de serem responsáveis pela mastigação, também são importantes à fonação e importante ferramenta de ataque e defesa no cão (HOLMSTROM, 2013; LINDHE. 2010). Segundo Gioso (2007), a anatomia dentária pode ser resumida basicamente em esmalte, dentina, cimento e polpa (Figura 1).

O dente tem sua coroa recoberta externamente pelo esmalte que é duro, inerte e acelular, composto por aproximadamente 96% de matéria inorgânica sob a forma de cristais de apatita e 4% de matéria orgânica e derivado de células mesenquimais (NANCI, 2013).

Abaixo da camada de esmalte está a dentina formada por tecido conjuntivo especializado cujo principal componente orgânico são as fibras colágenas. É permeada em toda a sua espessura por túbulos (túbulos dentinários), e é um tecido com sensibilidade e capacidade de regeneração graças aos odontoblastos que quando estimulados depositam mais dentina (GIOSO, 2007).

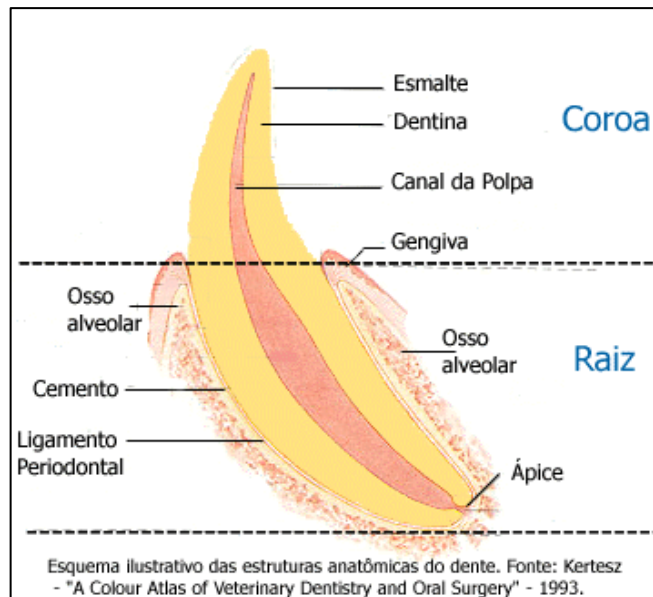


Figura 1 - Componentes da anatomia dentária e periodonto do cão. Fonte: Kertesz, 1993.

Rodeada pela dentina está a câmara pulpar que é preenchida pela polpa, composta por tecido conjuntivo frouxo, que tem como função de formar, nutrir e reparar a dentina e ainda proteger os nervos que dão sensibilidade à dentina (MAJOR; STANLEY, 2012).

Os cães possuem dentição heterodonte cujos elementos apresentam características anatômicas específicas às suas funções mastigatórias diferenciando-se em grupos. Deste modo, o cão apresenta incisivos, caninos, pré-molares e molares distribuídos em duas arcadas espelhadas compostas por mandíbula e maxila. O padrão anatômico por hemi-arcada do cão adulto é de três dentes incisivos, um dente canino, quatro pré-molares, dois molares inferiores e três molares superiores, totalizando 42 dentes (GIOSO, 2007).

Os dentes fixam-se aos ossos alveolares formando uma articulação fibrosa denominada gonfose. Estão dispostos e inseridos nos ossos maxilar e mandibular, circundados pelo periodonto de sustentação compreendido pelo cemento, osso alveolar, ligamento periodontal e pela gengiva (GORREL, 2010).

A identificação pela numeração da dentição é feita através da utilização de três dígitos, conhecido como sistema de Triadan modificado (Figura 2), que individualiza cada elemento dentário. O primeiro dígito designa o quadrante no qual o dente está localizado e os outros dois dígitos designam a localização desses dentes dentro do quadrante, iniciando do incisivo central (NIEMIEC, 2008).

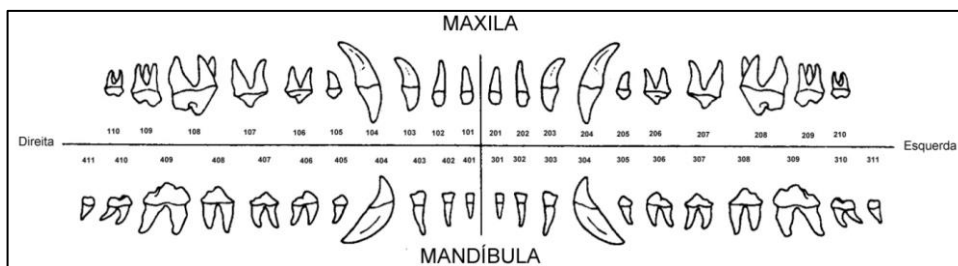


Figura 2: Identificação da dentição permanente do cão segundo o Sistema Triadan modificado. Fonte: Gouveia, 2009.

Na dentição permanente a identificação dos primeiros dígitos para os quadrantes são: 1- maxilar direito; 2- maxilar esquerdo; 3- mandibular esquerdo e 4- mandibular direito; já a dentição decídua é designada com os dígitos 5 para maxilar direito; 6 para maxilar esquerdo; 7 para mandibular esquerdo e 8 para mandibular direito. Quando os dois últimos dígitos são adicionados ao dígito do quadrante, um código único é criado para cada dente. A numeração dentária é realizada de modo consecutivo, tendo início no plano sagital mediano seguindo em direção caudal da arcada (HOLMSTRON, 2013).

2.2.2 Epitélio Oral

Epitélio voltado para a cavidade oral que reveste a gengiva livre e para a superfície dentária que é denominado epitélio sulcular ou do sulco. Corresponde a mucosa mastigatória, que inclui a gengiva e o revestimento do palato duro, a mucosa especializada, que recobre o dorso da língua e a mucosa de revestimento, que recobre o restante da cavidade oral (LINDHE, 2010).

Apresenta-se pavimentoso, estratificado, queratinizado e pode ser dividido em quatro camadas celulares segundo o grau de diferenciação das células produtoras de queratina (compreendem cerca de 90% da população celular total): - camada basal - camada espinhosa - camada granulosa - camada queratinizada. O epitélio oral também apresenta melanócitos, células de Langerhans e células inespecíficas cujas características são diferentes dos outros dois tipos de celulares. Todas apresentam forma estrelada e prolongamentos citoplasmáticos que variam no aspecto e no tamanho. As células de Langerhans são apresentadoras de antígenos, participando do mecanismo de defesa da mucosa oral e também como conexão entre o sistema imune adquirido e o epitélio. Já os melanócitos são células que contêm pigmento (NANCI, 2013).

À medida que a erupção dentária avança, o epitélio da região dento gengival atinge suas características estruturais definitivas. Assim que o esmalte dentário está totalmente formado os ameloblastos (células produtoras de esmalte) produzem uma lâmina basal e sofrem uma redução na altura formando com as demais células do epitélio externo, o epitélio reduzido do esmalte (CARRANZA; NEWMAN, 2012).

A partir da mineralização do esmalte dentário, o epitélio reduzido do esmalte circunda a coroa dentária até a erupção do dente. Durante o término da erupção dentária, todas as células do epitélio reduzido são transformadas em epitélio juncional, epitélio escamoso estratificado, formado por células achatadas derivadas da camada cilíndrica basal, orientadas de forma paralela à superfície dentária, não diferenciado e contínuo com o epitélio oral, que participa da inserção da gengiva ao dente (LINDHE, 2010). O epitélio juncional termina na junção cimento-esmalte e apresenta constante renovação celular contribuindo para o equilíbrio oral assim como o rápido reparo no tecido afetado (NANCI, 2013).

2.2.3 Periodonto

A palavra periodonto vem do termo *periodontium* que significa “em torno do dente”. O periodonto corresponde a uma unidade anatômica composto por tecidos especializados integrados pela gengiva, osso alveolar, cimento e ligamento periodontal formando um complexo de desenvolvimento biológico e funcional. Durante o crescimento e a formação dentária ocorre o desenvolvimento do periodonto. Com a idade pode sofrer alterações além de estar sujeito a alterações morfológicas e funcionais devido a interação com o meio ambiente (WOLF; HASSEL, 2008).

Segundo Lindhe (2010), a inserção do elemento dentário nas maxilas e mandíbulas e a manutenção da integridade da superfície da mucosa mastigatória são as principais funções do periodonto; seus componentes formam uma unidade biológica e funcional, que está morfológicamente associada a modificações funcionais e do meio oral. O desenvolvimento do periodonto tem início na fase embrionária, durante a formação e crescimento dentário.

O periodonto é dividido em periodonto de proteção e de sustentação, ou suporte. O periodonto de proteção é composto pela gengiva e tem a importante função de promover a homeostasia, vedando o meio interno e assim permitindo que o hospedeiro mantenha a saúde periodontal frente às constantes agressões provocadas pela presença da placa bacteriana ou por estímulos físicos. O periodonto de suporte ou sustentação é composto pelo ligamento periodontal, osso alveolar e cimento e tem a função essencial de sustentação dos dentes, bem

como uma função sensorial, formativa, nutricional e de inervação (CARRANZA; NEWMAN, 2012).

A vascularização do periodonto é extremamente alterada durante o progresso da doença periodontal. A vascularização do periodonto deve ser vista como uma unidade responsável pelo suprimento sanguíneo dos tecidos duros e moles da maxila e mandíbula. Alguns desses principais vasos são artéria dentária, que é um ramo da artéria alveolar superior ou inferior, artéria sublingual, artéria mentoniana, artéria facial e artéria intra-septal (LINDHE, 2010).

O tecido conjuntivo periodontal apresenta uma extensa rede de capilares linfáticos, responsável pela filtração de toda a linfa que circula adjacente aos vasos sanguíneos periodontais (NANCI, 2013). A inervação do periodonto é derivada do nervo trigêmeo e apresenta mecanorreceptores para dor, tato e pressão. Proprioceptores que captam informação relativa a movimentos e posições são encontrados no ligamento periodontal assim como componentes do sistema nervoso autônomo que inervam os vasos sanguíneos do periodonto (DRAKE; VOGL; MITCHELL, 2013).

2.2.4 Osso Alveolar

Junto com o cemento radicular e a membrana periodontal, o osso alveolar compõe a inserção dos dentes, e apresenta como função principal distribuir e absorver as forças geradas pela mastigação e outros contatos oclusais (LINDHE, 2010).

O osso alveolar é constituído pelas cristas dos ossos da mandíbula e maxila que sustentam os dentes. As raízes dos dentes estão inseridas em depressões profundas no osso, denominadas cavidades alveolares. O osso alveolar desenvolve-se durante a erupção dentária e sofre atrofia quando os dentes caem. Ele é constituído por quatro camadas. Além das três camadas existentes em todos os ossos (periósteo, osso compacto ou denso e osso esponjoso ou trabecular), existe uma quarta camada chamada lâmina cribiforme, que reveste as cavidades alveolares. Vasos sanguíneos e nervos correm através do osso alveolar e atravessam a lâmina cribiforme. A maior parte desses vasos sanguíneos e nervos se dirigem ao ligamento periodontal (NANCI, 2013).

O osso alveolar é uma estrutura dente-dependente, isto é, desenvolve-se com a erupção dentária e é reabsorvido com a esfoliação do dente. É considerado uma estrutura em constante dinâmica a medida em que responde a estímulos externos e sistêmicos através da reabsorção e remodelação óssea. O osso alveolar se renova constantemente em resposta às demandas

funcionais e, durante esse processo, as trabéculas ósseas são reabsorvidas e remodeladas continuamente, a massa do osso cortical é dissolvida e substituída por novo osso, são formados canais de reabsorção por meio de angiogênese e os canais que possuem um vaso sanguíneo no centro e preenchidos por osso posteriormente. A reabsorção óssea está associada aos osteoclastos (CARRANZA; NEWMAN, 2012).

2.2.5 Cimento

O cimento é um tecido mesenquimal calcificado especializado, contendo fibras colágenas em sua matriz orgânica e reveste a superfície da raiz dentária anatômica. Apresenta-se mais denso do que o osso e menos calcificada que o esmalte ou a dentina (GORREL, 2010). Por não apresentar vascularização nem inervação, não sofre remodelamento nem reabsorção fisiológica. É produzido e depositado continuamente ao longo de toda vida por células conhecidas como cementoblastos. O cimento é composto estruturalmente por aproximadamente 50% de hidroxiapatita cálcica e 50% de colágeno (tipo I), proteoglicanos e glicoproteínas (SAMUELSON, 2007).

Há dois tipos principais de cimento: acelular ou primário e, celular ou secundário. Ambos consistem de uma matriz interfibrilar calcificada e fibrilas colágenas. Têm como função dar suporte ao dente (NANCI, 2013).

As fibras de Sharpey constituem a maior parte do cimento acelular. A maioria dessas fibras está inserida perpendicularmente à superfície radicular e penetra profundamente no cimento, mas outras penetram em diferentes direções. O tamanho, o número e a distribuição das fibras aumentam com a função. Apresenta relevo irregular para a inserção do ligamento periodontal e participa do processo de reparo após danos à superfície radicular (CARRANZA; NEWMAN, 2012).

O cimento celular apresenta áreas em que seus canalículos são contíguos aos túbulos dentinários que com a idade tem a sua permeabilidade diminuída, já em animais muito jovens, o cimento celular assim como o acelular são tão permeáveis que permitem a difusão de corantes tanto da superfície radicular externa quanto da polpa (NANCI, 2013).

2.2.6 Ligamento Periodontal

O ligamento periodontal é constituído por fibras de tecido conjuntivo frouxo, ricamente vascularizado, que circunda o elemento dentário unindo-o ao osso alveolar, pelas fibras periodontais de maneira extremamente firme (GIOSO, 2007; LINDHE, 2010). Essa estrutura diferenciada age como um ligamento suspensor para os dentes e encontra-se em atividade fisiológica permanente (GORREL et al., 2010).

No sentido coronário é contínuo a lâmina própria da gengiva estando separado da mesma pelos feixes de fibras colágenas que unem a crista óssea alveolar à raiz dentária, comunicando-se com os espaços medulares através de canais vasculares no osso alveolar. O espaço correspondente ao ligamento periodontal é diminuído ao redor de dentes não erupcionados ou que não estão em função, ao contrário do observado em dentes em hiperfunção (GORREL et al., 2010).

As forças decorrentes dos movimentos mastigatórios e contatos dentários são absorvidas e distribuídas pelo osso alveolar propriamente dito graças ao ligamento periodontal, que também é responsável pela mobilidade dentária fisiológica (LINDHE, 2010).

2.2.7 Gengiva

Gengiva é definida como a parte da mucosa mastigatória que recobre o processo alveolar e circunda a porção cervical dos dentes. Assume sua forma e textura definitiva concomitante à erupção dentária. Em direção à coroa dentária, apresenta cor rósea terminando na margem gengival livre, que possui um contorno arredondado (NANCI, 2012).

No sentido apical (da raiz do dente), a gengiva é contínua com a mucosa alveolar (mucosa de revestimento) que é frouxa e de cor vermelha mais escura, onde frequentemente está separada através de uma linha limitante chamada de junção muco gengival (LINDHE, 2010). A gengiva é composta principalmente por colágeno (tipo I, III, IV e VI), proteoglicanas, fibronectinas, osteonectinas, tenascinas e elastina (CARRANZA; NEWMAN, 2012).

A margem da gengiva livre é arredondada formando uma pequena invaginação ou sulco entre os dentes e a gengiva. Tem cor rósea, superfície opaca e consistência firme, compreende o tecido gengival das partes vestibular e lingual ou palatina dos dentes, além da gengiva interdental ou papilas interdentárias. Pelas faces vestibular e lingual ou palatina dos dentes, a gengiva livre se estende a partir da margem gengival em direção apical até a ranhura gengival livre, que se acha posicionada em nível correspondente a junção cimento-esmalte. A

gingiva inserida é demarcada apicalmente pela junção muco gengival (Figura 3). Depois de completada a erupção dentária, a margem gengival livre fica localizada na superfície do esmalte cerca de 1,5 a 2mm em humanos e animais (WOLF; HASSEL, 2008).



Figura 3: Imagem da gengiva saudável mostrando a margem gengival livre (seta). Fonte: Arquivo pessoal.

Segundo Lindhe (2010), não há linha muco gengival no palato, uma vez que o palato duro e o processo alveolar são revestidos pelo mesmo tipo de mucosa mastigatória. A gengiva pode ser diferenciada macroscopicamente em gengiva livre que se adapta perfeitamente à superfície do dente e é delimitada da mucosa bucal pela junção muco gengival, exceto no palato. Os tecidos gengivais nos espaços entre os dentes (espaços interproximais) formam a papila interdental.

A gengiva se fixa ao dente por meio de um epitélio que recebe o nome de epitélio juncional. O epitélio hígido em geral, fixa-se ao esmalte e não à dentina ou cimento, dando origem ao sulco gengival. O fundo do sulco gengival se localiza entre o dente e a gengiva e é formado pela região mais coronal deste epitélio (GIOSO, 2007).

Em condições fisiológicas, circundando o istmo de cada dente e com cerca de 2 mm de profundidade em humanos e 4 mm em cães, mas variando entre as várias espécies, o epitélio gengival é um pequeno conjunto de camadas de células finas com cerca de 0,15 mm de espessura. Gengivas saudáveis normais apresentam um infiltrado de células inflamatórias, predominantemente neutrófilos associados ao epitélio juncional e linfócitos no tecido conjuntivo subjacente (LINDHE, 2010).

A gengiva quando clinicamente sadia, enfrenta a ação da microbiota oral através de fatores defensivos como o efeito antimicrobiano dos anticorpos, função fagocitária dos neutrófilos e macrófagos, efeito destrutivo do sistema complemento sobre os microrganismos, a descamação regular das células epiteliais para a cavidade bucal, a barreira epitelial intacta, o fluxo positivo do fluido do sulco gengival que pode remover os microrganismos e seus produtos nocivos agem simultaneamente para reduzir a carga microbiana, prevenindo, assim, uma resposta excessiva dos sistemas de defesa do tecido, o que resultaria na formação de uma lesão (DE FERRARI; MUNOZ, 2006).

O fluido sulcular gengival é um exsudato inflamatório, cuja presença na gengiva clinicamente normal justifica-se pelo fato de microscopicamente apresentar inflamação. Seu volume aumenta à medida que a inflamação evolui e também em condições fisiológicas como mastigação de alimentos duros, escovação e massagem gengival, ovulação, contraceptivos e também na terapia periodontal durante o período de cicatrização (CARRANZA; NEWMAN, 2012).

Este fluido participa na defesa da gengiva através da remoção de colônias de bactérias e seus metabólitos para fora do sulco. A imunoglobulina G é a mais prevalente no fluido sulcular gengival, que também apresenta leucócitos e polimorfonucleares provenientes do tecido conjuntivo subepitelial, passando através do epitélio juncional. Quando associados à imunoglobulina M, inativam ou opsonizam bactérias (NANCI, 2013).

As células polimorfonucleares, junto com peptídeos antimicrobianos secretados, originariamente, do epitélio juncional, sangue e fluido do tecido, representam a primeira linha de defesa no controle da microbiota local. Entre as moléculas presentes estão interleucina (IL) -8, IL-1 α e IL-1 β , fator de necrose tumoral e linfócitos (NANCI et al., 2006). Estes peptídeos são parte do sistema imune inato, um conjunto complexo de respostas que mantêm as bactérias invasoras sob sua ação, mantendo também a microbiologia local normal e a saúde gengival local (MANAKIL, 2012).

2.2.8 Microbiota Oral

De grande importância na odontologia e na medicina humana e veterinária, a microbiota oral além de muito numerosa é extremamente variada. Inúmeras doenças são causadas por membros desta microbiota (NISHIYAMA, 2006).

A maioria dos microrganismos da microbiota oral é comensal e mutualista, contudo, alguns patógenos podem ser oportunistas (PELCZAR JR et al. 2005).

Segundo Samaranayake (2013), a microbiota oral tanto em humanos quanto em animais é composta por uma variada quantidade de microrganismos como bactérias, fungos e protozoários que, de modo geral, vivem em harmonia em uma variedade de habitats, como a superfície dentária, sulco gengival, língua, mucosa jugal, palato e tonsilas.

As bactérias são o grupo predominante na microbiota oral tanto no homem quanto no cão. Cerca de 50-60% das bactérias da microbiota oral de cães são cultiváveis em seres humanos. Grande parte dos microrganismos comumente isolados em locais como intestino e pele não são encontrados na cavidade oral, caracterizando a ecologia única e seletiva da cavidade oral em relação à colonização microbiana (NEVILLE, 2016).

De acordo com Wallis et al (2015) pouco se sabe sobre as mudanças na microbiota oral durante a transição do estado de saúde para a gengivite, que é o primeiro estágio da doença periodontal e em um estudo pioneiro, identificou as alterações que ocorrem nas comunidades bacterianas subgengivais na transição da gengivite leve para os estágios iniciais da periodontite em cães coletando amostras individuais de dentes de 52 cães schnauzer em miniatura a cada seis semanas por até 60 semanas. Através deste estudo verificou-se que a evolução da gengivite para a periodontite resulta de uma sucessão microbiana predominantemente caracterizada por uma redução de táxons anteriormente abundantes associados à saúde.

Em revisão sobre as bactérias que compõe o biofilme e que são periodontopatogênicas em cães foi visto que na periodontite 74-95% das bactérias eram anaeróbias sendo 30% *Bacteróides* pigmentados e 40% *Fusobacterium* sp. (HENNET; HARVEY, 1991).

Braga (2005) relatou que as bactérias predominantes no espaço subgengival de cães com doença periodontal são *Porphyromonas* spp., *Bacterioides* spp., *Staphylococcus* spp., bastonetes Gram positivos, *Escherichia coli*, *Actinomyces* spp., *Fusobacterium* spp., cocobacilo Gram negativo com pigmento negro.

A microbiota crônica observada na gengivite apresenta proporções equivalentes de bactérias Gram positivas, Gram negativas, bactérias anaeróbias facultativas e anaeróbias (WOLF; HASSEL, 2008).

Riggio et al (2011) através da identificação molecular das bactérias por cultura microbiológica e por reação em cadeia da polimerase (PCR), observaram que cães com gengivite tiveram predomínio de *Bacterioides heparinolyticus*, *Pasteurella dagmatis*, *Porphyromonas cangingivalis* e os acometidos pela periodontite apresentam *Actinomyces canis* e *Desulfomicrobium orale*.

A tabela 1 mostra um resumo das bactérias isoladas e suas respectivas referências. Syed et al. (1980) relatou em estudo sobre a microbiota predominante no biofilme de cães da raça Beagle, a presença das bactérias *Actinomyces* sp., *Streptococcus* sp., *Bacteroides* sp., *Fusobacterim nucleatum*.

Tabela 1: Principais gêneros de bactérias já isoladas em cavidade oral de cães e suas respectivas referências.

Bactérias isoladas	Referência
<i>Escherichia</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Serratia</i> , <i>Proteu</i> , <i>Aeromona</i> , <i>Haemophilus</i> , <i>Pasteurella</i> , <i>Actinobacillus</i> , <i>Streptobacillus</i> , <i>Eikenella</i> , <i>Simonsiella</i> ., <i>Micrococcus</i> ., <i>Staphylococcus</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Lactobacillus</i> ., <i>Corynebacterium</i> , <i>Brevibacterium</i> , <i>Actinomyces</i>	Baile; Stowe; Schmit (1978)
<i>Actinomyces</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>Fusobacterim</i>	Syed et al. (1980)
<i>Bacteroides</i> , <i>Fusobacterim</i>	Hennet; Harvey (1991)
<i>Porphyromonas</i> , <i>Bacterioides</i> , <i>Staphylococcus</i> , bastonetes Gram positivos, <i>Escherichia</i> , <i>Actinomyces</i> , <i>Fusobacterium</i>	Braga (2005)
<i>Actinobacillus</i> , <i>Actinomyces</i> , <i>Capnocytophaga</i> , <i>Eikenella</i> , <i>Eubacterium</i> , <i>Fusobacterium</i> , <i>Haemophilus</i> , <i>Porphyromonas</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Propionibacterium</i> , <i>Fluegge</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Treponema</i> , <i>Veillonella</i>	Zambori C. et al. (2015)
<i>Actinomyces</i> , <i>Fusobacterium</i> , <i>Actinomyces</i> , <i>Pasteurella</i> , <i>Moraxella</i> , <i>Erysipelotrichaceae</i> , <i>Xenophilus</i> , <i>Capnocytophaga</i> , <i>Neisseria</i> , <i>Pasteurellaceae</i> , <i>Filifactor</i> , <i>Conchiformibius</i> , <i>Peptostreptococcaceae</i> , <i>Porphyromonas</i> , <i>Lachnospiraceae</i> , <i>Conchiformibius</i> , <i>Globicatella</i> , <i>Porphyromonas</i> , <i>Brachymonas</i>	Oh et al. (2015)

Zambori et al. (2015) em seu estudo sobre as interações da microflora patogênica na cavidade oral de cães relatou a ocorrência das bactérias *Actinobacillus Actinomycetemcomitans*, *Actinomyces* sp., *Capnocytophaga* sp. *Eikenella* sp, *Eubacterium*

sp., *Fusobacterium nucleatum*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella* sp., *Propionibacterium acnes*, *Fluegge Selenomonas*.

Polkowska et al. (2014), ao realizarem uma análise microbiológica periodontal qualitativa das bolsas gengivais de cães com periodontite determinaram as correlações entre parâmetros morfológicos e bioquímicos selecionados e a extensão das doenças periodontais e concluíram que com esses parâmetros é possível proporcionar um melhor prognóstico, planejar um tratamento adequado e monitorar cães tratados para peridontopatia.

2.2.9 Saliva

Contendo inúmeros fatores orgânicos (lisozimas, lactoferrina, loperoxidase, lactoperoxidase, aglutininas, mucinas, fibronectina, anticorpos, globulinas) e inorgânico (íons, gases, bicarbonato, sódio, potássio, fosfatos, cálcio, fluoretos, amônio, dióxido de carbono), as secreções salivares tem função protetora, mantendo o estado fisiológico do epitélio mucogengival. Tem influência sobre a placa limpando mecanicamente as superfícies orais através do tamponamento de ácidos produzido por bactérias e controle da atividade bacteriana (FELIZARDO, 2010).

Seu papel na patologia periodontal está relacionado à formação, maturação e metabolismo do biofilme que sofre a influência do fluxo e composição salivares (Tabela 2).

Tabela 2: Principais funções da saliva.

Função	Componente salivar
Lubrificação	Glicoproteínas, mucoides
Proteção física	Glicoproteínas, mucoides
Limpeza	Fluxo físico
Tamponamento	Bicarbonato e fosfato
Integridade dentária	Minerais, película de glicoproteína
Ação antibacteriana	Imunoglobulina A, lisozima, lactoperoxidase

Fonte: Thomas; Hassell, 2008

Segundo Felizardo (2010), os componentes da saliva influenciam diretamente a microbiota que se instala na cavidade oral, como as proteínas antimicrobianas lisozima e lactoferrina, que pertencem a primeira linha de defesa da cavidade oral. Portanto, a remoção

das glândulas salivares aumenta expressivamente a ocorrência de doença periodontal e atrasa a cicatrização de feridas. Do mesmo modo, a xerostomia (diminuição da secreção salivar) pode contribuir para o aumento da gengivite e doença cárie em humanos evidenciando a sua importância nas periodontopartias (GORREL, 2010).

2.3 Doença periodontal

A doença periodontal é uma doença inflamatória crônica e progressiva de caráter infeccioso com o envolvimento de bactérias anaeróbias Gram-negativas do biofilme dentário, constituindo a principal causa desta importante afecção oral. Apresenta duas fases: a gengivite e a periodontite. A gengivite é um processo inflamatório resultante das bactérias localizadas na superfície dentária junto à margem gengival podendo difundir-se por toda gengiva remanescente. É reversível e limita-se apenas a gengiva livre e inserida. Já a periodontite é uma condição imunoinflamatória e envolve as estruturas de suporte dos dentes, provocando perda do ligamento periodontal, osso alveolar e cemento. Ambas as fases apresentam as mesmas características clínicas sendo que na periodontite observa-se a perda do ligamento periodontal, presença de bolsa periodontal e reabsorção do osso alveolar (CARRANZA; NEWMAN, 2012).

As características clínicas incluem presença de biofilme e cálculo dentário, edema, sangramento ao toque, aumento do exsudato gengival, sem de perda de inserção, mudanças histológicas e reversibilidade após a remoção do biofilme e cálculo dentário; a periodontite que afeta todo o periodonto é de caráter irreversível mas muitas vezes controlável (CAFIERO; MATARASSO, 2013).

Segundo Carranza et al. (2012), a doença periodontal caracteriza-se histologicamente por infiltrado inflamatório no tecido gengival, localizado entre os componentes da matriz extracelular e os fibroblastos, aumento da vascularização, degradação do colágeno e alterações epiteliais. O maior componente da degradação das estruturas periodontais é o resultado da ativação da resposta imunoinflamatória local do próprio hospedeiro.

Segundo Ford e Mazzaferro (2007) a prevalência da doença periodontal é alta sendo a doença oral mais comum em cães, acometendo de 80 a 95% dos animais com mais de seis anos de idade. De acordo com estudo retrospectivo de Venturine (2007), 92,5% dos cães examinados em clínica na grande São Paulo apresentavam algum grau de doença periodontal. Riggio et al. (2011), relata a prevalência superior a 80% em cães acima de três anos de idade.

Segundo Harvey(2005) e Niemiec (2008), os sinais clínicos observados em cães portadores de doença periodontal são halitose, cálculo dentário, disfagia, mobilidade dentária, perda de elementos dentários e gengivite.

A importância da doença periodontal é justificada pela bacteremia oriunda da infecção local que pode levar ao comprometimento de outros órgãos e à ocorrência de graves distúrbios secundários, como por exemplo artrite, glomerulonefrite, meningite, endocardite e até mesmo a morte (PACHALY, 2006).

Whyte et al, (2014) em um estudo para avaliar evidências dos efeitos locais e sistêmicos dos estágios iniciais da doença periodontal sobre a saúde em cães, concluíram que a prevenção e a terapia nas primeiras fases de DP podem ter um impacto importante na condição de saúde em cães.

Há vários mecanismos de ação das bactérias que podem levar a efeitos locais e distantes. Durante a mastigação, pela movimentação do alvéolo, e devido à rica vascularização do periodonto, ocorre bacteremia (invasão bacteriana e de seus metabólitos aos vasos sanguíneos e linfáticos). A resposta imunológica sistêmica aos microrganismos promove a produção de imunocomplexos na corrente circulatória. Esses complexos aderem-se à parede interna dos endotélios, aos quais serão acopladas proteínas do sistema complemento, levando à lise endotelial e inflamação local. Sendo tal processo crônico, lesões contínuas em determinados órgãos poderão acarretar insuficiência de sua função, podendo levar o animal a morte (GORREL, 2010).

Esse fenômeno ocorre em particular nos rins (glomerulonefrite), no fígado (hepatite), nas articulações (poliartrite) e no coração (endocardite bacteriana), além de relatos de discopendilite e meningite. A existência de lesões prévias nesses órgãos aumenta a probabilidade de instalação de microrganismos ou do complexo imune (anacorese) (GIOSO, 2007).

De acordo com Barnett (2006), a associação entre doença periodontal e doença sistêmica foi postulada há mais de 100 anos. Desde então, muitos estudos vêm sendo realizados, tanto na área humana quanto na veterinária, demonstrando uma relação significativa entre as doenças. A periodontia médica estabelece, por meio de evidências científicas, a real associação entre a saúde periodontal e saúde sistêmica, determinando um eixo bidirecional no qual a doença periodontal pode influenciar negativamente a saúde geral de um indivíduo assim como as diversas patologias podem afetar tanto o estabelecimento, como a progressão das doenças periodontais (DOUGLASS, 2008).

Assim como em humanos, o biofilme é o principal agente etiológico da doença periodontal. Clinicamente é definido como uma substância amarelo-acinzentada, resiliente, estruturado, firmemente aderido na superfície dentária que resiste à presença do fluxo salivar (CARRANZA; NEWMAN, 2012). Pode ser encontrado nas regiões supra e subgingival tendo como referência a sua localização na superfície dentária em relação à margem gengival.

A nomenclatura supragengival é atribuída aos aglomerados microbianos localizados nas superfícies dentárias, acima da gengiva; é referida como placa marginal quando em contato direto com a margem gengival. A terminologia subgingival corresponde aos anexos bacterianos encontrados totalmente dentro do sulco gengival, entre a superfície dentária e o epitélio bolsa periodontal (ROZA, 2012).

A superfície dentária normalmente é coberta pela película adquirida, composta de glicoproteínas salivares e anticorpos que alteram a carga e energia livre da superfície, aumentando a adesão bacteriana, que é o mecanismo inicial para causar uma infecção. A doença ocorre a partir da deposição continuada do biofilme causando gengivite como resposta inflamatória que se apresenta eritematosa, edemaciada, hiperplásica, com sangramento e leve desconforto com a síntese de citocinas contribuindo para a degradação do tecido conjuntivo (SCHEINKEIN, 2006).

O biofilme se mineraliza para formar o cálculo, que migra para o interior do sulco gengival, provocando inflamação adicional, perda do ligamento periodontal, reabsorção óssea e, por fim a perda do dente (FORD; MAZZAFERRO, 2007).

A disposição estratificada em camadas de morfotipos bacterianos com predomínio de cocos e bastonetes gram positivos é característica do biofilme supragengival. A diferença da microbiota do biofilme subgingival deve-se inicialmente devido ao baixo potencial de oxirredução que caracteriza o ambiente anaeróbico e à disponibilidade de produtos sanguíneos (SAMARANAYAKE, 2012).

As bactérias que colonizam inicialmente a superfície do dente são predominantemente microrganismos facultativos Gram-positivos, estes se aderem à película através de adesinas, que interagem com receptores específicos na película dental. Outros mecanismos determinantes da seletividade na colonização da película são estruturas na superfície de certas bactérias denominadas fímbrias, que funcionam como adesinas e têm propriedades antifagocíticas (FORD; MAZZAFERRO, 2007).

Segundo Lindhe (2010), na sucessão ecológica do biofilme, ocorre uma transição do meio ambiente aeróbio inicialmente caracterizado por espécies Gram-positivas facultativas,

para um meio altamente privado de oxigênio com a predominância de microrganismos Gram-negativos anaeróbios. Na colonização secundária, as diferentes espécies de se aderem às bactérias pré-existentes na placa bacteriana.

Os fatores de virulência da placa bacteriana dependem da presença ou aumento de microrganismos específicos, que produzem substâncias que medeiam à destruição dos tecidos do hospedeiro, podendo ser dividida em biofilme supragengival e subgengival. O biofilme supragengival apresenta um arranjo colunar de espécies bacterianas morfológicamente distintas da superfície dental e o subgengival é frequentemente caracterizada por uma zona de Gram-negativos e/ou espécies móveis localizadas adjacentes ao revestimento epitelial da bolsa, enquanto bastonetes e cocos Gram-positivos parecem formar uma camada de organismos firmemente aderidos sobre o esmalte e superfície radicular (SOWKUP, 2010).

Na fase de adsorção molecular forma-se uma camada composta na sua maioria por íons cálcio (com carga positiva) e sobre esta camada adsorvem macromoléculas hidrofóbicas através de ligações não covalentes fracas (pontes de hidrogênio, força de Van der Waals), formando um filme condicionante com predomínio de glicoproteínas e proteínas ricas em aminoácidos denominado de película adquirida do esmalte que é a base para a formação do cálculo dentário (MANAKIL, 2012).

As adesinas da superfície bacteriana ligam-se especificamente aos componentes da película adquirida, comportando ligações mais estáveis às ligações bacterianas inespecíficas, que ocorrem inicialmente por ligações eletrostáticas e/ou ligações de van der Waals (MANAKIL, 2012).

Segundo Lindhe (2010) a formação da película adquirida ocorre em função de forças físicas entre a superfície dentária e os componentes orgânicos e inorgânicos dos fluídos bucais circundantes. É colonizada predominantemente por cocos Gram-positivos facultativos.

A partir do momento em que a película adquirida altera sua energia livre de superfície e carga, aumenta a eficiência de adesão de bactérias isoladamente e que ocorre de forma variável. As bactérias que apresentam estruturas especializadas à adesão concluem mais rápido esta fase. Multiplicação de cocos e bastonetes Gram-positivos facultativos nessa fase. Neste período inicial de colonização das bactérias nas superfícies dentais, tanto a película adquirida como os microrganismos são facilmente removidos, devido às interações estabelecidas são eletrostáticas (SAMARANAYAKE, 2013). Com o crescimento celular contínuo das bactérias que se aderiram em função da disponibilidades de nutrientes da película aderida, sintetizando novos componentes à matriz extracelular torna a massa

bacteriana cada vez mais exuberante. A microbiota predominante (cocos e bastonetes Gram-positivos facultativos) colabora para a aderência de bactérias Gram-negativas que apresentam capacidade reduzida de aderência direta ao biofilme (CARRANZA; NEWMAN, 2012).

Diante da maior dificuldade de difusão em função do aumento de espessura da matriz do biofilme e, com o rápido consumo pelas camadas superficiais, desenvolve-se um gradiente de oxigênio. Devido ao surgimento de condições de anaerobiose nas camadas mais profundas e mudanças ecológicas, bactérias Gram-negativas anaeróbias estritas colonizam o biofilme aumentando sua patogenicidade (WOLF; HASSEL, 2008).

O fato de as bactérias se apresentarem com uma organização mais complexa ao invés de dispersas em uma suspensão líquida, as tornam mais resistentes a antissépticos e antibióticos. Por essa razão a necessidade de desorganizar fisicamente o biofilme impedindo a sua formação sobre a superfície dentária (HENNET, 2005).

Segundo Lindhe (2010), foi a partir da hipótese da placa não-específica surgiu o interesse pelo uso da antibioticoterapia complementando o tratamento da doença periodontal seja na gengivite ou na periodontite. Um dos antibióticos mais utilizados no tratamento periodontal em seres humanos é a tetraciclina e suas formas semissintéticas, a doxiciclina e a minociclina, e na década de 50 foi reconhecido que o controle do biofilme é essencial para tratar adequadamente a doença periodontal.

As bactérias passaram à serem consideradas agentes causadores não-específicos desta patologia periodontal. Portanto, o acúmulo desses microorganismos a nível subgingival ou gengival produziria irritantes que levariam à inflamação responsável pela destruição do periodonto (LINDHE 2010).

As características da gengivite e da periodontite são determinadas pelas reações inflamatórias e imunológicas ao biofilme dental e à microbiota patogênica que agem protegendo do ataque microbiano e impedindo a disseminação dos microorganismos. Porém, em alguns indivíduos essas reações de defesa do hospedeiro podem ser prejudiciais, podendo danificar as células e estruturas adjacentes ao tecido conjuntivo além da possibilidade de acometimento do osso alveolar. Contraditoriamente a maior parte da lesão tecidual na gengivite e na periodontite é causada pela resposta do hospedeiro ao biofilme (NANCI, 2013).

As reações imunológicas e inflamatórias observadas no periodonto são diferenciadas em relação à outras partes do corpo particularmente pela sua anatomia e também pela permeabilidade do epitélio juncional. Isto posto, a resposta ao biofilme é um processo dinâmico envolvendo células e fluído gengival que preserva a integridade epitelial. Ademais,

esses processos não retratam uma resposta à uma espécie microrganismo em particular, mas a uma população e seus produtos (NANCY, 2013).

Segundo Ohlrich (2009) e mais tarde Carranza e Newman (2012), a resposta imunológica é direcionada aos polissacarídeos e às proteínas da membrana celular e às enzimas e toxinas liberadas no exterior das células, liberando mediadores pró-inflamatórios e citocinas que determinam o aumento da inflamação lesionando ainda mais o periodonto. A lesão inflamatória pode ficar restrita à gengiva por períodos de tempo prolongados, sem qualquer progressão visível, ou evoluir para a destruição periodontal ativa.

O diagnóstico periodontal correto é obtido através da análise criteriosa dos dados obtidos através da avaliação da cavidade oral, exame periodontal, exame radiográfico periodontal (HARPENAU et al., 2016).

2.3.1 Gengivite

A gengiva corresponde a parte da mucosa mastigatória que cobre o processo alveolar e circunda a porção cervical dos dentes, é a primeira linha de defesa contra doenças periodontais. Quando clinicamente saudável, apresenta um estado de equilíbrio entre o hospedeiro e os microrganismos, com a formação de biofilme e cálculo dentário ocorre uma resposta inflamatória mais significativa (CAFIEIRO, MATARASSO, 2013).

De acordo com Kinane et al. (2011), o termo gengivite se refere exclusivamente à inflamação limitada ao periodonto de proteção representado pela gengiva. Trata-se de uma periodontopatia imunoinflamatória crônica.

Os polimorfonucleares são os leucócitos predominantes no sulco gengival e na gengiva saudável ou inflamada e formam a primeira linha de defesa contra os patógenos periodontais. Através de estímulos quimiotáticos, são atraídos da circulação para o periodonto. Histologicamente podem ser visualizados na gengivite e seu número aumenta no sulco gengival com a evolução da doença (NANCI, 2013).

As citocinas são substâncias que participam de reações inflamatórias agudas e crônicas e de processos de reparo inclusive no tecido periodontal. Fazem parte deste grupo as interleucinas, envolvidas particularmente na comunicação entre células dos processos imune e inflamatório, como os fibroblastos e leucócitos. Após estímulos bacterianos os monócitos/macrófagos, fibroblastos e mastócitos presentes no tecido afetado produzem e liberam interleucinas. As quimocinas são citocinas importantes na resposta inflamatória mediada por células pois regulam a migração de leucócitos durante a reação imune e

inflamatória e tem função quimiotática para leucócitos, principalmente para os neutrófilos, linfócitos e macrófagos, recrutando células de defesa para áreas onde elas são necessárias (LINDHE, 2010).

Por serem proteínas de origem celular, solúveis, responsáveis pela regulação do crescimento e diferenciação celular, iniciação e manutenção das respostas imune e inflamatória podem estimular a reabsorção óssea e inibir a formação óssea determinando a destruição do periodonto de sustentação além de auto estimular a sua produção e de também de outras citocinas (DE FERRARI; MUNOZ, 2006).

As citocinas pró-inflamatórias como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e a interleucina-1 são potentes vasodilatadores e produtores de citocinas por várias células, já as citocinas anti-inflamatórias como o fator de necrose tumoral beta (TNF- β), interleucina-4, interleucina-10, interleucina -13, inibem a produção de quimocinas e são capazes de estimular os macrófagos e outras células para produzirem prostaglandinas em grandes quantidades. Inúmeras citocinas são fundamentais nos processos de reparo e estão envolvidas na inflamação crônica (RANG et al., 2007).

Os sinais clínicos da gengivite são tumefação, hiperemia, sangramento ao toque, podendo permanecer estável ou progredir para periodontite. A perda da aderência epitelial gera um aprofundamento do sulco gengival, fisiologicamente de 1 a 4mm no cão, formando uma bolsa periodontal, cujo ambiente anaeróbio favorece a proliferação de bactérias de alta patogenicidade (ALI et al., 2011).

Se não tratada adequadamente e não associada à uma higiene oral regular, a gengivite torna-se crônica podendo evoluir para periodontite, sendo este o início mais frequente da história natural da periodontite em cães assim como em humanos. Contudo, este processo não ocorre em todos os casos, pois a intensidade dos sinais clínicos varia de indivíduo para indivíduo e entre pontos de uma mesma dentição (CARRANZA; NEWMAN, 2012).

Tabela 3. Classificação Clínica da gengivite segundo Carranza e Newman (2012).

GENGIVITE	ALTERAÇÕES CLÍNICAS
Inicial/Grau 1	Aparentemente saudável.

Precoce/Grau 2	Edema, vermelhidão, aumento de fluído – gengivite clinicamente detectável; sangramento à sondagem.
Estabelecida/Grau 3	Edema, vermelhidão, aumento de fluído, hiperplasia (pseudobolsa), sangramento imediato após a sondagem.
Avançada/Grau 4	Edema, vermelhidão, perda de inserção, bolsa periodontal e retração gengival, tecido de granulação; periodontite clinicamente detectável.

É reversível após a remoção do fator etiológico que é o biofilme dentário sendo que o sangramento gengival é manifestado por fenômenos de vascularização, mediados pela resposta imunológica do hospedeiro e o aumento do epitélio do sulco gengival, onde pequenos estímulos levam à ruptura vascular junto à margem gengival (HIGHFIELD, 2009).

Do mesmo modo que em humanos, em cães a gengivite também pode estar associada à doenças sistêmicas ou a fatores locais como a anatomia dentária, restaurações, fraturas radiculares ou fatores que possam predispor à doença gengival induzida pelo biofilme, fatores endócrinos como gestação, má nutrição: deficiência de vitamina A, B₂, complexo B₁₂ e vitamina C; condições sistêmicas como diabetes mellitus, leucemia e outras displasias sanguíneas; medicamentos como fenitoína sódica ou epinutin (anticonvulsivante utilizado no tratamento da epilepsia), ciclosporina (imunossupressor utilizado para evitar a rejeição do hospedeiro ao enxerto tecidual e tratamento da psoríase) e bloqueadores do canal de sódio como a nifedipina (drogas anti-hipertensivas) (ELEY et al.; 2012).

De acordo com Carranza et al. (2012), as gengivites podem ser classificadas clinicamente em diferentes graus: inicial, precoce, estabelecida e avançada (Tabela 4). As alterações clínicas podem parecer sutis nos estágios iniciais da gengivite, entretanto, as alterações histológicas são bastante acentuadas (NEVILLE, 2014).

Frente a um processo inflamatório, como observado nos quadros de gengivite, os mecanismos de defesa inflamatórios e imunológicos juntos, formam a resposta do hospedeiro ao ataque microbiano. As reações do hospedeiro podem ser divididas em inatas (não específicas) e adaptativas (específicas) (ROITT et al., 2013).

As reações inatas incluem a resposta inflamatória e não envolvem mecanismos imunológicos, e as adaptativas tendem a ser mais efetivas, pois as células têm capacidade de

reconhecer, memorizar e aumentar a eficácia da resposta, já que a resposta do hospedeiro é uma resposta imunológica direcionada para os patógenos e seus subprodutos que causam a agressão. Consiste em dois competentes sistemas desenvolvidos pelos linfócitos: o sistema imune mediado por células e sistema imune humoral (ROITT et al., 2013).

Os mecanismos imunes inatos agem sem qualquer contato prévio com o microrganismo causador da doença. Estes mecanismos incluem as barreiras físicas da pele ou superfícies epiteliais da mucosa e os aspectos vascular e celular das 44 respostas inflamatórias. O hospedeiro possui extensas respostas de defesa para evitar a invasão dos microrganismos (NANCI, 2012).

Dependem muito da atividade dos polimorfonucleares e mononucleares (macrófagos) (KANTARCI et al., 2006). As respostas efetivas resultam em um reparo rápido da lesão ou ausência de lesão. Uma resposta ineficaz pode resultar numa lesão crônica, que não sofre reparo ou, se excessivamente distribuída, numa lesão na qual as respostas do hospedeiro são os aspectos mais significativos do processo destrutivo (LINDHE, 2010).

Os componentes das respostas imune e inflamatória interagem de forma dinâmica durante a da doença periodontal; uma vez que o processo inflamatório é iniciado uma contínua cascata de eventos é desencadeada e durante essa série de eventos, o organismo tenta eliminar os agentes invasores com a ativação de várias células com ações pró-inflamatórias (CARRANZA; NEWMAN, 2012).

2.3.1.1 Caracterização Histopatológica da Gengivite

As fases clássicas da inflamação aguda e crônica não são facilmente aplicadas na doença periodontal, as alterações morfofuncionais durante a formação do biofilme têm sido exaustivamente investigadas principalmente em cães da raça Beagle (principal modelo experimental para a periodontia humana). Apesar destes estudos, ainda não é possível distinguir macroscopicamente de maneira segura o tecido gengival normal do estágio inicial da gengivite; frequentemente a gengiva humana normal quando biopsiada apresenta células inflamatórias com predomínio de células T (EBERHARD, 2013).

Segundo Lindhe (2010), a doença periodontal é caracterizada histologicamente por apresentar no tecido gengival adjacente ao biofilme e cálculo dentário, células e infiltrado inflamatório em uma área de 1 a 2mm de largura com uma expressiva perda de fibras colágenas nesta região.

A alteração da permeabilidade e da pressão hidrostática vascular permite a troca de fluídos e células para o tecido conjuntivo que justificam a alteração da cor do tecido gengival. Infiltrados com migração de leucócitos são observados no epitélio juncional que também pode ser afetado por bactérias e seus subprodutos. A predisposição ao sangramento ao toque na gengivite se justifica pela destruição do epitélio juncional associada ao aumento do número de vasos sanguíneos (DENTINO, 2013).

Em humanos o estágio inicial da gengivite, após 2 dias de acúmulo do biofilme, apresenta vasculite subjacente ao epitélio juncional, alteração da porção mais coronária do epitélio juncional (5 a 10% do tecido conjuntivo), proteínas séricas no meio extra vascular, aumento da migração de neutrófilos, macrófagos, linfócitos no sulco gengival e no epitélio juncional, perda do colágeno perivascular e exsudação de fluído crevicular gengival. Já no estágio seguinte, ocorrem as características observadas na lesão inicial se intensifica, observando-se acúmulo de linfócitos e neutrófilos sob epitélio juncional, perda adicional de rede de fibras colágenas, alteração citoplasmática nos fibroblastos (associação com células linfóides), início da proliferação das células basais do epitélio juncional (GARROS et al., 2006).

O estágio de lesão estabelecida apresenta inflamação aguda, infiltrado inflamatório com aumento de 10 a 30% de plasmócitos com predomínio de neutrófilos, anticorpos extravascular, principalmente no epitélio juncional, perda progressiva da estrutura do tecido conjuntivo, migração e proliferação apical do epitélio juncional sem perda óssea, ulcerações no epitélio sulcular e juncional com sangramento que leva ao descolamento da superfície do dente e finalmente na lesão avançada observa-se persistência das características descritas na lesão estabelecida, extensão da lesão para o osso alveolar (perda óssea) e ligamento periodontal, formação de bolsa periodontal, perda contínua do colágeno sob o epitélio da bolsa, com fibrose, períodos de quiescência e exacerbação, lesão não localizada (lateral e apical), predomínio de 70% de plasmócitos e linfócitos, neutrófilos e macrófagos presentes (KATCHBURIAN; ARANE, 2012).

Segundo Manakil (2012), o quadro histopatológico da gengivite caracteriza-se por não estar associado com a migração apical do epitélio juncional, a reabsorção óssea alveolar e a destruição das fibras do ligamento periodontal, mas sim com características inflamatórias dos tecidos moles e alterações imunológicas detectadas pelos testes bioquímicos do fluído gengival crevicular. Garros et al. (2006) propuseram uma classificação histológica para gengivite em cães (Tabela 4).

A gengivite incipiente apresenta histopatologicamente um infiltrado inflamatório leve com leucócitos polimorfonucleares que se acumulam no tecido conjuntivo adjacente ao epitélio sulcular, tornando-se mais intenso à medida que o processo inflamatório evolui apresentando uma mistura de linfócitos, plasmócitos e células inflamatórias agudas. Podem estar presentes áreas de fibrose, hiperemia, edema e hemorragia (NEVILLE, 2014).

Em seres humanos em 24 horas já são evidentes no plexo microvascular uma maior quantidade de sangue que chega à área sendo evidente sob o aspecto histopatológico a dilatação das arteríolas, capilares e vênulas do plexo dento gengival. Ocorre edema nos tecidos à medida que há acúmulo de fluído, iniciando a infiltração celular e se desenvolve então a gengivite clínica (NANCI, 2013).

Tabela 4: Classificação histopatológica da gengivite (GARROS et al., 2006).

GRAU	ASPECTO HISTOPATOLÓGICO
Grau 0	Ausência de infiltrado
Grau 1	Infiltrado discreto e localizado – focal
Grau 2	Infiltrado discreto, difuso
Grau 3	Infiltrado discreto, difuso
Grau 4	Infiltrado intenso

2.3.1.2 Exame Clínico Periodontal

Este exame avalia objetivamente a integridade do periodonto através dos parâmetros clínico-anatômicos dos componentes periodontais como índice de biofilme, gengival, de retenção, nível gengival e índice de retenção, todos registrados em odontograma ou periograma (HARPENAU et al., 2016).

De acordo com Brunetti et al. (2013), o índice de biofilme avalia a presença ou ausência de biofilme placa assim como o status da qualidade de higiene oral através da verificação dos quatro sítios periodontais que correspondem as faces dentárias mesial, distal, vestibular e palatina ou lingual (M-D-V-P/L) sendo que em locais onde não há visibilidade, usa-se a sonda exploradora para detecção do biofilme.

O índice de gengival verifica o sangramento na margem gengival e com isso a presença ou não de gengivite; a sonda milimetrada é posicionada 0,5mm no espaço subgengival, percorrendo-a ao redor de todo o dente também verifica o status da higiene oral, o índice de retenção verifica se há algum fator retentivo de biofilme próximo da margem

gingival que representam as áreas onde a higiene é mais difícil de ser executada e o índice gengival avalia a relação entre a margem gengival e a junção cimento-esmalte, verificando se a gengiva se encontra na posição normal, com recessão ou hiperplasia - usa-se a sonda milimetrada posicionada na margem gengival e mede-se a distância até a junção cimento-esmalte, em seis sítios periodontais que correspondem as faces dentárias mesiovestibular, vestibular, distovestibular, mesiolingual ou mesiopalatina, distolingual ou distopalatina (MV,V,DV,ML,DL,P) - Anota-se na ficha o sinal de + para recessão e de – para hiperplasia (LINDHE, 2010).

Segundo Gorrel (2010), o odontograma é a representação gráfica, detalhada e ilustrativa da cavidade oral com registro das características anatômicas normais e patológicas, protéticas, anomalias, hábitos deletérios e informações referentes a avaliação clínica e tratamento terapias realizadas no paciente, facilitando a identificação de um indivíduo em relação a outro.

2.3.1.3 Tratamento da Gengivite

Segundo Carranza e Newman (2012), o sucesso do tratamento periodontal é devido à grande capacidade de cicatrização dos tecidos periodontais, permitindo a recuperação da gengiva cronicamente inflamada que se apresenta clinicamente idêntica a gengiva que nunca foi exposta ao acúmulo excessivo de placa bacteriana. Sua terapia tem como pedra fundamental a remoção da placa bacteriana e de todos os fatores que favorecem sua formação através do controle mecânico. O controle químico é uma alternativa para os pacientes que tem restrições para executar o controle mecânico.

Gebran et al. (2012) já elucidavam o controle do biofilme como foco da terapia periodontal na gengivite. O controle mecânico do biofilme ainda é o método mais difundido por ser o mais efetivo e acessível. Este método simples corrobora para a prevenção e tratamento diários por se apresentar como uma barreira interposta à essa patologia (no controle do biofilme, por ser mais efetivo, acessível e difundido para controle do biofilme dental, atuando na sua prevenção e tratamento da gengivite. Entende-se por prevenção uma barreira interposta à doença (CARRANZA; NEWMAN, 2012).

O tratamento da gengivite associada ao biofilme em cães é realizado como o tratamento da doença periodontal, ou seja, através da remoção e controle do biofilme,

raspagem da superfície dentária e aplainamento ou alisamento radicular quando necessário seguido de polimento coronário com pasta abrasiva. Em humanos, além da remoção do biofilme, é instituída a orientação de higiene oral através do controle mecânico e químico diário do biofilme já em cães essa prática é dependente da aceitação do cão à manipulação oral assim como da habilidade manual do seu responsável (GIOSO, 2007; MIANI et al., 2012).

Segundo Dias et al. (2010), dos métodos complementares utilizados para o controle diário do biofilme tanto em humanos quanto em cães é a escovação. Considerado o principal método de controle mecânico do biofilme e de maior facilidade de uso, a escovação ocupa um lugar de destaque e, por essa razão, torna-se importante analisar a sua condição além dos métodos de sua utilização, pois determina a eficiência da descontaminação do ambiente bucal na remoção do biofilme.

A escova é considerada um dos instrumentos mais eficazes para remoção mecânica do biofilme dental. Inúmeros métodos são tidos como eficientes e podem ser listados em função do padrão do movimento realizado. Em humanos vários estudos de controle para avaliar a efetividade das técnicas de escovação mais comuns têm sido realizados não demonstrando nenhuma superioridade evidente por qualquer um dos métodos, porém, a técnica mais recomendada aos pacientes humanos é a técnica de Bass (FERREIRA et al, 2011; CARRANZA; NEWMAN, 2012).

O creme dental tem seu uso associado à escovação com o objetivo de facilitar a remoção do biofilme dentário de modo preventivo e terapêutico e facilita a higiene da superfície dentária devido a sua ação abrasiva (LINDHE, 2010). Os tipos de substâncias mais utilizados na sua composição para seres humanos e cães são os abrasivos, detergentes, espessadores, adoçantes, umectantes, flavorizantes e ativos (WOLF; HASSEL, 2008).

Elaborado para alcançar efetividade plena na remoção do biofilme da área Inter proximal dentária, o fio e/ou a fita dental remove o biofilme através de sua superfície de arraste, que quanto maior, melhor sua ação higienizadora (PEDRAZZI et al., 2004). De fácil utilização pelo ser humano, em cães tem sua apresentação sob a forma de cordas para uso sob a forma de brinquedo de tração oral e sem resultados expressivos de uso nessa espécie (GIOSO, 2007).

Os enxagatórios bucais foram desenvolvidos com o objetivo de controle químico do biofilme, como coadjuvante do controle mecânico. De fácil aquisição, apresentam indicação

de uso em várias outras afecções da cavidade oral como estomatites, halitose, xerostomia, mas sem muita aplicabilidade em cães (ROZA, 2012).

O processo através do qual executa-se a remoção do biofilme das superfícies dentárias com o auxílio de aparelho de ultrassom odontológico associado ou não a instrumentos manuais (curetas periodontais), cuja finalização é realizada com o polimento coronário é denominado raspagem gengival. O objetivo deste procedimento é recuperar a saúde gengival através da total remoção do biofilme e cálculo da superfície dentária (WOLF; HASSELL, 2008; CARRANZA; NEWMAN, 2012).

O controle químico do biofilme mais usual em seres humanos e cães é a terapia antimicrobiana, que visa reforçar o tratamento periodontal mecânico e dar suporte às defesas do hospedeiro, inibindo os microrganismos que permanecem viáveis após a terapia periodontal convencional. Porém, para que um fármaco seja efetivo no tratamento das doenças, há a necessidade de níveis terapêuticos adequados no sítio da infecção. Atualmente, apenas alguns antibióticos possuem esta propriedade de se concentrar no fluido gengival e na saliva a partir de sua administração sistêmica (TOMMASI, 2014).

O desafio apresentado pelo biofilme dentário resulta em uma resposta do imunoinflamatória aumentada nos tecidos periodontais caracterizada pela produção excessiva de citocinas inflamatórias. Esses mediadores pró-inflamatórios são responsáveis pela maioria do colapso periodontal levando aos sinais e sintomas da doença (PRESHAW, 2008)

2.3.1.4 Prevenção e Controle em cães

Assim como em humanos, a escovação é o método mais eficaz no controle diário do biofilme, à medida em que a sua ação mecânica interfere na deposição do biofilme contribuindo para a sua remoção física. Estudos realizados em cães comprovam que a escovação diária dos dentes previne o acúmulo de biofilme ou placa bacteriana garantindo a saúde gengival utilizando principalmente a técnica de Bass de escovação dentária (LINDHE, 2010; NIEMEC; 2008).

Segundo Burns e Logan (2007), o empenho do proprietário na prevenção diária do biofilme é fundamental na prevenção e controle da doença periodontal em cães. Tendo em vista que é necessário a habilidade e disponibilidade do proprietário além da aceitação da manipulação oral por parte do animal a eficácia deste importante método de controle do biofilme fica comprometida no cão (NIEMEC, 2008).

Portanto, a terapia das doenças periodontais associadas ou não a fatores sistêmicos e medicamentosos tem como base o tratamento da doença primária acrescida da remoção mecânica do biofilme (ELEY et al., 2012).

2.4 Sistemas Mucoadesivos de Absorção Oral

Um considerável interesse vem sendo observado pela administração de fármacos bucais como via alternativa para a administração sistêmica de fármacos, devido a propriedades que a tornam vantajosa com respeito a outras vias de administração. O fato de evitar o efeito de primeira passagem hepática da via oral, a atividade enzimática ser significativamente menor que em outras vias mucosas, seu fácil acesso possibilitando uma colocação precisa do dispositivo de liberação do fármaco, além de permitir sua retirada quando necessário, permitir a modificação da permeabilidade local do tecido ou, inclusive, a inibição da atividade proteásica e a boa aceitação por parte do paciente ou cliente são as principais vantagens relacionadas a esta via de administração de medicamento (SANGEETHA, 2010).

A Orabase®, foi uma das primeiras formulações bio-adesivas de aplicação na mucosa oral a serem comercializadas. Produzida à partir da pectina e derivados da celulose, é empregada para incorporação de fármacos de uso tópico oral (VILLANOVA et al, 2010).

As formas farmacêuticas semissólidas, ao contrário das formas sólidas e líquidas, são quase sempre de uso dermatológico ou tópico. São geralmente desenvolvidas para exercer ação local, aplicadas na pele ou membranas mucosas. Compreendem formas farmacêuticas clássicas como: pomadas, pastas, creme, géis entre outras. Tais formas apresentam em comum a propriedade de adesão a superfície de aplicação durante um período razoável de tempo antes de serem removidas (FERREIRA et al., 2011).

Para que a muco-adesão ocorra, é necessária uma sucessão de eventos. A natureza do agente mucoadesivo é que vai determinar a eficácia e a intensidade da força muco-adesiva. A primeira fase envolve um contato íntimo entre o sistema mucoadesivo e a camada de muco, resultante de um bom umedecimento da superfície do polímero mucoadesivo e na segunda fase, após o contato estabelecido, ocorre a penetração do polímero mucoadesivo em fendas da superfície da mucosa ou interpenetração das cadeias poliméricas. Posteriormente, estabelecem-se novas ligações químicas entre o muco e o polímero mucoadesivo (TANGRI, 2011; LANDOVÁ et al., 2013). O curto tempo no local de aplicação proporcionado pelas

formulações convencionais, em função do efeito da saliva, limita a absorção dos fármacos pela mucosa oral. Afim de melhorar a biodisponibilidade dos fármacos administrados por via oral, várias tecnologias têm surgido, entre elas o desenvolvimento de sistemas mucoadesivo que proporcionam um contato mais íntimo com a membrana de absorção (MAZZARINO, 2014).

Por ser um epitélio estratificado escamoso, funciona como barreira contra alterações endógenas e substâncias exógenas que atingem a cavidade oral. A maior diferença entre a mucosa da boca e a do trato gastrointestinal é organização do epitélio. Enquanto que no trato gastrointestinal se observa um epitélio simples, composto por uma única camada de células, o epitélio bucal é composto por, aproximadamente, 40 a 50 camadas de células basais mitoticamente ativas (NANCI, 2013).

A drenagem vascular na cavidade oral é realizada principalmente, através das veias lingual, facial e retromandibular, que abrem na veia jugular interna. Esse que é o circuito permite evitar o efeito da primeira passagem hepática, que em alguns casos limita a biodisponibilidade dos fármacos administrados. A mucosa bucal é relativamente permeável, no entanto apresenta igualmente uma função de barreira à permeabilidade, devido à presença de MCG (“Membrane-Coating Granules”), que são pequenas organelas esféricas derivadas do complexo de Golgi, que contribuem para a formação de uma barreira à permeabilidade no epitélio da mucosa bucal, juntamente com a película da mucosa e a camada lipídica que constitui a cavidade oral. As potenciais barreiras a permeabilidade são a mucina, queratina, lipídios intercelulares, espessura, membrana basal, renovação celular, drenagem sanguínea e atividade enzimática (ROY; PRABHAKAR, 2010).

Um dos métodos utilizados para tentar aumentar a absorção através da mucosa bucal consiste na incorporação de promotores de penetração no interior dos sistemas de administração de fármacos, tais como tensoativos, ciclodextrinas, quelantes, polímeros com carga positiva. A absorção de fármaco por esta via evita a exposição ao sistema gastrointestinal e assim como a primeira passagem a nível hepático deste modo, o fármaco atinge rapidamente a corrente sanguínea, sem sofrer metabolizações. O processo de interação entre os materiais mucoadesivo e a membrana mucosa pode ser resumido em duas etapas, o estado de contato e o estado de consolidação. O estado de contato é quando ocorre o estabelecimento de um contato íntimo entre o polímero bio-adesivo e a membrana mucosa (Figura 4). A etapa seguinte é o estado de consolidação que pode ser definido como

fortalecimento da ligação bio-adesiva através da interação físico-química proporcionando uma adesão prolongada (KEEGAN et al.; 2007).

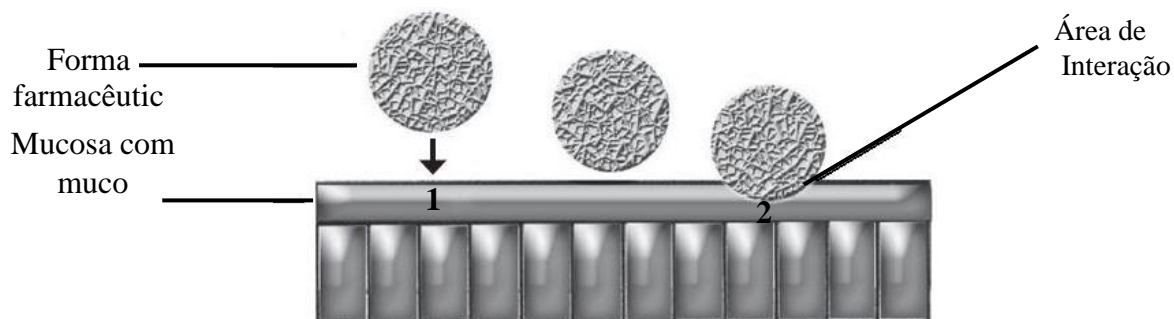


Figura 4: Processo da mucoadesão: (1) estado de contato, (2) estado de consolidação. Fonte: Dias et al., 2007.

2.5 Quitosana

O quitosano é um excipiente com propriedades de mucoadesividade, biodegradabilidade, biocompatibilidade, baixa toxicidade ($LD_{50} = 16 \text{ g/Kg}$) e alta resistência contra mecanismos de remoção fisiológica. Este composto tem se mostrado eficaz como promotor de permeação em sistemas mucoadesivos para aplicação na cavidade oral de fármacos lipofílicos e hidrofílicos (SANDRI et al., 2004).

Apesar de muitos recursos terem sido postos no desenvolvimento da investigação e de processos e aplicações para a quitosana, apenas nas duas últimas décadas estes têm sido direcionados para a sua comercialização assim como dos seus derivados (AZEVEDO et al., 2007).

As principais áreas de aplicação da quitosana são: agricultura (mecanismos defensivos e adubo para plantas), tratamento de águas (floculante para clarificação, remoção de íons metálicos, polímero ecológico e remoção de odores), indústria alimentar (fibras dietéticas, redutor de colesterol, conservante, fungicida e bactericida, revestimento para frutos), cosmética (esfoliante para a pele, tratamento do acne, hidratante capilar, creme dental) e biofarmacêutica (imunológico, antitumoral, hemostático e anticoagulante). No entanto, a sua maior aplicação é na área biomédica: suturas cirúrgicas, implantes dentários, reconstituição óssea, lentes de contato, liberação controlada de medicamentos, encapsulamento de materiais (AZEVEDO et al., 2007).

Segundo Decker et al. (2005), as aplicações da quitosana e seus derivados na área da odontologia, devem-se essencialmente às suas propriedades bioadesivas, viscosas,

permeabilizantes, antimicrobianas e anticariogênicas que promovem a liberação prolongada de medicamentos na cavidade oral mostrando eficácia e potencial no tratamento de doenças periodontais/candidíases orais/mobilidade dentária e na redução da placa dentária. Após a ingestão sofre um mínimo de digestão e a maior parte da quitosana ingerida é excretada pelas fezes.

Embora as afecções orais sejam frequentemente muito sensíveis à terapia local o desafio pertinente às características morfofisiológicas da cavidade oral como por exemplo a saliva e suas diferentes funções, resulta em um curto tempo de retenção de formas de dosagem com uma conseqüente baixa eficácia terapêutica. Para resolver essas limitações a pesquisa hoje se concentra cada vez mais no desenvolvimento de formulações bioadesivas (PADERNI, 2012).

2.6 Doxiciquinas

A atividade anticolagenolítica das tetraciclina foi descoberta em 1985, sendo vistas desde então como agentes moduladores da resposta do hospedeiro em afecções periodontais. Deste modo, os primeiros estudos sobre o uso das tetraciclina na doença periodontal verificaram que as metaloproteinases matriciais foram expressivamente sensíveis à inibição pelas tetraciclina (GIANNOBILE, 2008; PRESHAW, 2008).

A doxiciclina é produzida à partir da cultura mutante de *Streptomyces aureofaciens* (AMATO NETO, 1994). Tornou-se disponível comercialmente em 1962, sendo considerada uma tetraciclina de segunda geração ou de ação lenta por apresentar meia-vida mais prolongada, penetração tecidual mais intensa e maior atividade antimicrobiana (BRUNTON et al., 2010).

De acordo com Giannobile (2008), a tetraciclina mais eficaz na redução da atividade da colagenase no fluido crevicular em casos de doença periodontal crônica foi a doxiciclina assim como a sua eficácia como inibidor de metaloproteinase matricial maior do que qualquer outra tetraciclina ou minociclina. É muito eficaz no bloqueio da atividade da colagenase de neutrófilos em relação aos fibroblastos, sendo uma alternativa na redução dos níveis patológicos de colagenase sem interferir na recuperação do tecido periodontal.

Spasovski et al. (2016) comparou os efeitos terapêuticos da administra por via oral em cápsulas de doxiciclina dose completa (100 mg) por 30 dias e sub dose (20 mg) por 75 dias no tratamento da doença periodontal em seres humanos concluindo que os pacientes cuja

terapia foi auxiliada por uma sub dosagem de doxiciclina demonstrou efeitos terapêuticos positivos sobre a inflamação gengival e sangramento.

As principais atividades do uso da doxiciclina no uso de afecções orais em cães está descrito no Quadro 1.

Quadro 1: Efeitos sinérgicos independentes de doxiciclina na doença periodontal em humanos segundo Preshaw (2008).

EFEITOS DA DOXICICLINA
Inibição direta de metaloproteinases matriciais ativas pela quelação de cátions (dependente das propriedades de ligação do Ca ²⁺ e do Zn ²⁺)
Inibe a ativação oxidativa de metaloproteinases matriciais latentes (independente das propriedades de ligação dos cátions)
Inibição de metaloproteinases matriciais e espécies reativas de oxigênio proteção do inibidor da α 1 proteinase, desse modo reduzindo indiretamente a atividade da proteinase tecidual
Infra regulação da expressão de citocinas inflamatórias (IL-1, IL6 e TNF- α) e prostaglandina E2
Reduz a atividade osteoclástica e a reabsorção óssea
Estimula a produção de colágeno pelos fibroblastos
Quela e inibe a produção de espécies reativas de oxigênio produzidas pelos neutrófilos
Bloqueia as metaloproteinases matriciais dos osteoclastos

Quando administrada por via oral a doxiciclina pode provocar irritação gastrointestinal e perturbação da microbiota intestinal porém, com menos frequência do que outras drogas do mesmo grupo (ARONSON, 2006). Como a doxiciclina não interfere na absorção de alimentos, é possível melhorar a tolerabilidade administrando a droga associada a alimentos. Cerca de 80 a 95% da doxiciclina na circulação está ligada a proteínas plasmáticas, sua meia vida biológica varia de 12 a 24 horas. A doxiciclina é mais solúvel em lípidos do que tetraciclina . É amplamente distribuída nos tecidos e fluídos (BRUNTON et al. 2010).

Segundo estudo de Martindale (2009), em indivíduos com função renal normal cerca de 40 % da dose administrada é excretada lentamente na urina. No entanto, a maior parte do dose de doxiciclina é excretada nas fezes após sua quelação no intestino. Embora tenha sido relatado que a doxiciclina é submetida a inativação parcial no fígado, muitos consideram este relato duvidoso . Atua como bacteriostática, inibe as collagenases que destroem o ligamento

periodontal, diminui o edema e a inflamação e promove a regeneração do epitélio juncional diminuindo as bolsas periodontais.

A doxiciclina é eficaz sobre uma variedade de patógenos respiratórios como *Staphylococcus aureus*, *Hemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae* e *Mycoplasma pneumonia* entre outros (HE et al., 2011).

A dosagem de doxiciclina no cão é variável devido ao fato de ser utilizada no tratamento de diversas afecções. Em um estudo para identificar a subdose de doxiciclina para o tratamento da periodontite em cães da raça beagle, concluiu-se que 2mg/kg por dia foi a subdose mais eficaz. Além disso, esta dosagem também pode ser adequada no tratamento a longo prazo de outras doenças inflamatórias colagenolíticas em cães (KIM et al., 2013).

Segundo Ruiz et al. (2015), a doxiciclina é usada em cães como tratamento de várias infecções bacterianas, micoplasma, clamídia e rickettsial contudo, requer tratamentos longos e várias doses para ser eficaz. Após estudo farmacocinético de quatro formulações de hclato de doxiciclina (20mg/Kg) de administração oral única em 48 cães concluiu que as formulações de longa duração avaliadas no presente estudo poderiam ser administradas a cada 48 e 60 h. Estes resultados sugerem que a utilização de qualquer uma destas formulações pode reduzir a frequência de administração e que a eficácia da doxiciclina é mantida nas mais diversas apresentações.

2.7 Meloxicam

Em 1973, Goldhaber et al. observou que a gengiva inflamada produzia altas quantidades de prostaglandinas e a inibição de sua síntese determinava uma importante diminuição do índice de reabsorção óssea. A partir disso concluiu que a utilização de anti-inflamatórios seria efetiva na redução das prostaglandinas produzidas na doença periodontal e consequentemente haveria a redução da reabsorção óssea principalmente quando associado à outras terapias periodontais.

Bezerra et al. (2000), realizou estudo pioneiro sobre o efeito do meloxicam (inibidor seletivo de COX-2) na reabsorção do osso alveolar na periodontite experimental em ratos wistar comparando com a indometacina - anti-inflamatório não esteroideal convencional. Foram administradas doses diárias de 0,75, 1,5 e 3mg/kg de meloxicam e 0,5, 1 e 2 mg/kg de indometacina, ambos por via subcutânea durante 7 dias. Diante dos resultados, foi observado que os animais tratados com meloxicam e indometacina não apresentaram diferença nos seus resultados, ao contrário do grupo controle que apresentou expressiva reabsorção do osso

alveolar com severo infiltrado de células mononucleares e aumento do número de osteoclastos.

Noble e Balfour (1996) já justificavam o fato de o meloxicam ter sido desenvolvido com propósito terapêutico na osteoartrite e artrite reumatóide devido à sua altíssima atividade sobre a COX-2 sendo por este motivo, um dos mais potentes anti-inflamatórios não esteroidais.

O meloxicam é um AINE derivado do oxicam. Os derivados do oxicam são ácidos enólicos inibidores da enzima ciclooxigenase (COX-1 e COX-2), apresentando atividade anti-inflamatória, analgésica e antipirética. Em geral são inibidores não seletivos das COX, embora o meloxicam, mostre maior seletividade para a isoforma COX-2, sendo comparável ao celecoxibe no sangue humano in vitro, tendo sido aprovado como um inibidor seletivo da COX-2 em alguns países (BRUNTON et al., 2010).

Tem a vantagem de ser um inibidor seletivo da ciclo-oxigenase 2 (Cox-2), com menor efeito na inibição da Cox-1 e absorção em torno de 90% quando administrado pela via oral. Sua farmacocinética varia de acordo com a espécie animal, podendo apresentar meia-vida de 3 a 36 horas. Devido a qualidade de sua ligação às proteínas plasmáticas, sua meia vida é considerada longa se comparada a outros anti-inflamatórios não esteróides (HILLANDANDAN; BRUTON, 2015). Em cães apresenta meia vida de eliminação de ± 20 h, permitindo sua administração em dose única diária (0,2 mg/kg) (BOOTHE, 2001).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro sob o número 8076310815.

3.1 Local e Animais

O experimento foi realizado nas dependências do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária, pertencente ao Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, localizada no Anexo 1 do Instituto de Veterinária, no Município de Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil.

As etapas de desenvolvimento e controle de qualidade da pomada muco adesiva, foram realizadas no setor de farmacometria do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária e as avaliações histopatológicas foram realizadas no laboratório de Patologia Animal da Universidade Federal do Pará.

3.1.1 Critérios de inclusão no estudo

Foram selecionados 18 cães da raça Beagle, portadores de gengivite desencadeada por doença periodontal, classificados em gengivite estabelecida ou avançada, oriundos do canil do referido Laboratório de Quimioterapia Experimental de Parasitologia Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, tendo como critério de seleção animais que não fizeram uso de antibiótico ou anti-inflamatório por um período mínimo de 30 dias antes do início do experimento assim como sem alterações no exame clínico geral.

3.1.2 Elaboração do Mucoadesivo

As formulações (Tabela 5) foram preparadas no setor de Farmacometria do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária utilizando os reagentes quitosana de peso molecular médio (Sigma®, USA), doxiciclina hclato (Fagron®), meloxicam (Fagron®) sendo os demais reagentes da Vetec-Sigma®. Foram preparadas 3 formulações utilizando o mesmo gel base. Para o preparo de 60mL de gel base foi pesado

0,6g de ácido láctico e avolumado com água a 60mL. Ao ácido láctico 1% foi adicionado 1,8g de quitosana e deixado em repouso por 30 minutos para hidratação. Após esse tempo foi homogeneizado, envasado e mantido em geladeira até o uso.

Para o preparo do mucoadesivo adicionou-se uma pequena quantidade de gel base a um recipiente previamente pesado com posterior adição de metilparabeno, ácido etilenodiamino tetra-acético e ácido ascórbico. Em separado foi preparado a solução de metabissulfito em glicerina e adicionada ao gel anterior. Após adição antioxidante foi adicionado doxiciclina (15mg/mL) e meloxicam (2,5mg/mL) para a formulação C, apenas o doxiciclina na formulação B e nenhum dos componentes na formulação A, utilizados nos animais dos grupos III, II e I respectivamente. Após a adição de todos os ingredientes o gel foi avolumado com gel base, envasado em frasco plástico e armazenado em geladeira.

Tabela 5: Fórmulas utilizadas no preparo dos diferentes mucoadesivos utilizados nos cães portadores de gengivite desencadeada por doença periodontal.

Componentes	Formula A	Formula B	Formula C
Metilparabeno	0,15%	0,15%	0,15%
EDTA	0,05%	0,05%	0,05%
Ácido ascórbico	0,1%	0,1%	0,1%
Metabissulfito sol.*	10%	10%	10%
Doxiciclina	----	1,5%	1,5%
Meloxicam	----	----	0,25%
Gel base	q.s.p.	q.s.p.	q.s.p.

*Metabissulfito sol. = solução de metabissulfito em glicerina a 0,1g/mL
q.s.p. = quantidade suficiente para a formulação

3.2 Manejo dos animais

Os cães foram mantidos em canis individuais de alvenaria com 0,60 m de altura, 0,60 m largura e 1,20 m de comprimento (Figura 5).



Figura 5: Canis individuais de alvenaria do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária, UFRRJ.

A alimentação durante todo o período do experimento foi realizada através de comedouros, com 300 gramas de ração seca comercial Must® para cães por animal fornecida uma vez ao dia. A água foi fornecida em bebedouros apropriados à vontade.

Todos os animais foram identificados por meio de microchip implantado no tecido subcutâneo entre as escápulas. Durante o período do estudo, todos os cães foram avaliados clinicamente duas vezes ao dia, antes do fornecimento da ração, pelo mesmo profissional à fim de detectar possíveis alterações desencadeadas pelo muco-adesivo aplicado.

3.3 Delineamento experimental

Os animais foram divididos em três grupos experimentais contendo seis animais cada grupo, sendo assim distribuídos:

Grupo I – Animais medicados com placebo;

Grupo II – Animais medicados com a formulação gel de quitosano mucoadesivo contendo doxiciclina 15mg/ml e;

Grupo III – Animais medicados com a formulação gel de quitosano mucoadesivo contendo a associação de doxiciclina 15mg/ml e meloxicam 2,5mg/mL.

Todos os animais foram tratados a cada 12 horas durante o período de sete dias com seis centímetros lineares do gel, o que corresponde a aproximadamente 4ml, na margem gengival, apenas na maxila direita dos animais (Figura 6).



Figura 6: Margem gengival maxilar direita com mucoadesivo. Fonte: Arquivo Pessoal.

3.4 Exame da Cavidade Oral

O exame foi realizado nos dias 0 e +8, dia inicial e final do tratamento respectivamente, no consultório clínico nas dependências do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária, sob iluminação ambiente.

Foi realizado exame da cavidade oral, registro fotográfico e registro gráfico em odontograma específico para a espécie adaptado da *American Veterinary Dentistry College* (GIOSO, 2007). Os animais foram submetidos ao protocolo anestésico segundo Spinosa (2011), com 5 mg/kg de cetamina (Quetamina Injetável Vetnil®) associado a 0,5 mg/kg de diazepam (Valium®) administrados por via intravenosa.

Um único examinador devidamente treinado realizou o exame de todos os animais usando óculos, máscara, gorro, luva de procedimento, sonda periodontal milimetrada e espelho odontológico plano na execução do referido exame.

O exame clínico da cavidade oral teve ênfase na hemi-arcada superior direita (arcada na qual foi aplicado o muco adesivo) para estadiamento da gengivite. Foi realizada sondagem periodontal circunferencial de quatro pontos segundo Carranza e Newman (2012) nas faces vestibular, palatina, distal e mesial no sulco gengival de cada dente da referida hemi arcada com sonda periodontal milimetrada para registro dos sítios que apresentavam sangramento e

profundidade à sondagem assim como coloração, pigmentação e integridade da mucosa e linha mucogengival, acúmulo de cálculo para avaliação da evolução da gengivite.

As avaliações clínicas dos animais antes e após o tratamento nos diferentes grupos experimentais, registradas e arquivadas através de fotografia digital.



Figura 7: Avaliação periodontal do dente 106 com sonda periodontal milimetrada para estadiamento da gengivite. Fonte: Arquivo Pessoal.

3.5 Biopsia e *Swab* Gengival

Nos dias 0 e +8, dia inicial e final do tratamento respectivamente, foi realizado em todos os animais coleta com swab e transporte de amostra com meio Stuart estéril do bordo gengival seguido de biópsia excisional. Foi coletado um fragmento da gengiva livre vestibular do quarto pré molar superior direito de aproximadamente 0,5 cm lineares com uso de lâmina de bisturi nº 22 pela técnica de gengivectomia segundo Lindhe (2010).

Imediatamente após a coleta, os fragmentos foram acondicionados em frascos previamente identificados, contendo solução de formol a 10% e enviados para avaliação histopatológica no laboratório de Patologia Animal da Universidade Federal do Pará.

3.6 Análise Histopatológica

O material gengival coletado e acondicionado em solução de formol a 10% foi posteriormente incluso em parafina e submetido a cortes transversais de 4 μ , com micrótomo e corado com hematoxilina–eosina para avaliação histopatológica. A análise dos cortes

histológicos foi realizada pelo mesmo patologista sem o conhecimento prévio da identificação dos grupos. O critério de classificação histopatológica da gengivite utilizado foi adaptado de Garros et al. (2006).

3.7 Análise microbiológica

Os swabs com meio de transporte coletados nos dias 0 e +8 foram enviados ao Laboratório de Bacteriologia do Instituto de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro para identificação microbiológica, contagem de unidade formadora de colônia e para as provas de antibiograma com discos de doxiciclina, metronidazol, amoxicilina com ácido clavulâmico, enrofloxacina, clindamicina e cefalexina. O material dos swabs foi semeado em placas Petri com ágar sangue (Probac®, Brasil) e incubadas em estufa a 37 °C por 24 horas para cultura de bactérias aeróbicas.

As colônias crescidas à coloração de Gram foram submetidas ao teste da catalase. As que cresceram no meio MacConkey foram semeadas no Enterokit B (Probac®, Brasil) e incubadas a 37 °C por 24 horas sendo a inoculação realizada no meio Citrato executada com agulha de platina tocada na colônia crescida em meio MacConkey e deslizada no meio, estriando toda a superfície inclinada; no meio EPM (Escola Paulista de Medicina), a agulha foi introduzida até o fundo do tubo e, ao retirá-la, estriou-se a superfície. O meio MILI (Motilidade, Endol e Lisina) foi semeado por picada central até o fundo do tubo. Os tubos foram incubados a 35°C por 24 horas.

Diluições, isolamentos dos agentes microbianos e testes de sensibilidade in vitro a antibióticos foram realizados segundo o CSLI (2015).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Trata-se do primeiro relato da utilização em animais de companhia de uso tópico oral do gel de quitosana acrescido de antibiótico (doxiciclina) e anti-inflamatório (meloxicam). Cid et al. (2012) utilizaram o mesmo princípio da formulação em mucoadesivo contendo o anti-inflamatório celocoxib, entretanto, o intuito estava relacionado à quimioprevenção de neoplasias em cavidade oral em pacientes humanos. Os autores chegaram à conclusão que essa modalidade terapêutica foi capaz de liberar e penetrar na mucosa oral, embora tenham sido realizados apenas testes *in vitro*. No estudo apresentado foi utilizado outro anti-inflamatório, o meloxicam, mais barato, seguro e amplamente utilizado nos animais de companhia porém nunca administrado em uso tópico oral.

O uso de anti-inflamatórios não esteroidais sistêmicos é indicado para o controle do processo inflamatório e ajuda a retardar a progressão da doença (COLMERY, 1983). Contudo, neste trabalho, quando utilizado de forma tópica o meloxicam não apresentou eficácia para evitar a progressão da gengivite.

Akalin et al. (2004) mostraram em seu trabalho que a doxiciclina pode ser utilizada tanto de forma sistêmica quanto local como tratamento adjuvante da doença periodontal, melhorando o prognóstico de pacientes depois de submetidos ao tratamento definitivo. Da mesma forma Zetner e Rothmueller (2001) mostraram que a doxiciclina pode ser utilizada como auxiliar para o tratamento da doença periodontal em cães da raça Beagle, porém os autores utilizaram por seis a doze semanas, com metodologia diferente do empregado no estudo, uma vez que foi implantado no sulco gengival a medicação. Há relatos da utilização da doxiciclina oral através de comprimidos, mas alguns animais manifestaram sinais clínicos compatíveis com gastrite, o que pode levar à interrupção do tratamento. A doxiciclina foi utilizada na dose terapêutica para cães de 15mg/kg de acordo com Papich (2011) embora Kim et al. (2013) tenham concluído que 2mg/kg por dia foi a subdose mais eficaz no tratamento da periodontite em cães.

Todos os animais foram acompanhados e avaliados diariamente durante o período experimental e não foram observados quaisquer efeitos adversos decorrentes do uso das formulações em teste.

Como resultado da avaliação clínica da gengivite (Tabela 6) realizada em todos os animais, por grupo experimental, no dia 0 as médias da classificação da gengivite clínica

foram 1,8; 2,5 e 1,6 e, no dia +8 foram 1,8; 1,5 e 2,0 nos grupos I, II e III respectivamente, observando-se melhora clínica da gengivite apenas o grupo II ($p < 0,05$).

Tabela 6: Avaliação, em escore, da gengivite clínica nos animais do grupo I, II e III, portadores de gengivite desencadeada por doença periodontal.

Grupo I			Grupo II			Grupo III		
Animal	Dia 0	Dia +8	Animal	Dia 0	Dia +8	Animal	Dia 0	Dia +8
227500	2	2	104667	2	1	2810611	2	2
393776	2	2	279594	2	1	419834	2	2
459394	2	2	278555	3	2	44319	1	2
604238	1	1	590494	3	2	257673	2	2
604755	2	2	291310	3	2	416929	2	2
298497	2	2	44210	2	1	421754	1	2
Média	1,8	1,8		2,5^a	1,5^b		1,6	2,0
Valor p	1			0,0108			0,3669	

Nota: Grupo I – placebo; Grupo – II Doxiciclina 15mg/ml; Grupo III – Doxiciclina 15mg/ml e Meloxicam 2,5mg/ml. Teste de Kruskal Wallis seguido de Studnt-Newtman-Keuls.

Letras diferentes indicam diferença estatística (^{a,b}) entre os resultados do dia 0 e o dia +8 no Grupo II

A histopatologia (Tabela 7) do dia 0 revelou médias de 1,0; 2,0 e 1,0 e no dia +8 de 2,2; 2,7 e 0,8 nos grupos I, II e III respectivamente, de acordo com a classificação histopatológica da gengivite (GARROS et al., 2006) evidenciando evolução do processo inflamatório nos grupos I e II e, no grupo III redução do processo, mas em todos sem diferença ($p > 0,05$) significativa.

Tabela 7: Avaliação histopatológica da gengiva livre dos animais do grupo I, II e III, portadores de gengivite desencadeada por doença periodontal.

Grupo I			Grupo II			Grupo III		
Animal	Dia 0	Dia +8	Animal	Dia 0	Dia +8	Animal	Dia 0	Dia +8
227500	0	4	104667	1	3	028106	1	1
393776	1	0	279594	4	2	419834	0	1

459394	0	2	278555	2	*	44319	3	1
604238	2	1	590494	2	4	257673	0	0
604755	1	3	291310	2	4	416929	1	1
298497	2	3	44210	1	3	421754	1	1
Média	1,0	2,2		2,0	2,7		1,0	0,8
Valor <i>p</i>	0,070		0,070			0,070		

Nota: Grupo I – placebo; Grupo – II Doxíciclina 15mg/ml; Grupo III – Doxíciclina 15mg/ml e Meloxicam 2,5mg/ml. Teste de Kruskal Wallis seguido de Studnt-Newtman-Keuls.
(*) material insuficiente.

Mesmo sem diferença significativa na avaliação histopatológica, ocorreu evolução do processo inflamatório nos grupos I e II com redução no grupo III o que contradiz ao observado na avaliação da gengivite tendo o grupo II apresentado melhora clínica. Esta contraposição de resultados observados justifica-se pelo fato das alterações histológicas acontecerem previamente às alterações clínicas, que se apresentam sutis nos estágios iniciais da gengivite estando em concordância com Neville (2014).

Apesar da aparente melhora clínica observada nos animais submetidos ao tratamento com a formulação contendo doxíciclina e na melhora na inflamação dos animais submetidos ao tratamento contendo a associação de doxíciclina e meloxicam, apenas pela avaliação histológica não foi possível identificar melhora nos animais medicados antes e após o tratamento.

Na avaliação microbiológica (Tabela 8), ao se comparar os resultados da UFC/ml do dia 0 com o dia +8, no grupo I, 34% (2) animais apresentaram diminuição e 66% (4) animais apresentaram aumento da quantidade de microrganismos após a aplicação do muco adesivo. No grupo II 50% (3) animais apresentaram diminuição em detrimento dos 50% (3) que apresentaram aumento e no grupo III 66% (4) animais apresentaram diminuição e 34% (2) animais apresentaram aumento, mas em todos os grupos, entre os tempos, sem diferença ($p > 0,05$) significativa.

Tabela 8: Resultados da contagem de UFC/mL (unidade formadoras de colônia por mL) da cavidade oral dos animais do grupo I, II e III, portadores de gengivite desencadeada por doença periodontal.

Grupo I			Grupo II			Grupo III		
Animal	Dia 0	Dia +8	Animal	Dia 0	Dia +8	Animal	Dia 0	Dia +8
227500	35x10 ⁸	29x10 ⁸	104667	13x10 ⁸	11x10 ⁸	028106	80x10 ⁸	69x10 ⁸
393776	6x10 ⁸	8x10 ⁸	279594	300x10 ⁸	214x10 ⁸	419834	424x10 ⁸	105x10 ⁸
459394	242x10 ⁸	255x10 ⁸	278555	36x10 ⁸	220x10 ⁸	44319	79x10 ⁸	82x10 ⁸
604238	208x10 ⁸	193x10 ⁸	590494	150x10 ⁸	230x10 ⁸	257673	40x10 ⁸	16x10 ⁸
604755	356x10 ⁸	359x10 ⁸	291310	76x10 ⁸	520x10 ⁸	416929	86x10 ⁸	54x10 ⁸
298497	28x10 ⁸	22x10 ⁸	44210	28x10 ⁸	22x10 ⁸	421754	1 x 10 ⁸	7 x 10 ⁸
Média (x10 ⁸)	145,83	144,33		100,50	202,83		118,33	55,50
Valor <i>p</i>	0,986		0,270			0,367		

Nota: Grupo I – placebo; Grupo – II Doxiciclina 15mg/ml; Grupo III – Doxiciclina 15mg/ml e Meloxicam 2,5mg/ml. Teste de Kruskal Wallis seguido de Studnt-Newton-Keuls.

Em relação ao grupo experimental I (uso de placebo), a piora das lesões histopatológicas associadas à estagnação do escore clínico pode se justificar ao compreendermos que os sinais clínicos da gengivite surgem à partir do acúmulo de fluídos e consequente dilatação das arteríolas, capilares e vênulas do plexo dento gengival só evidentes sob o aspecto histopatológico, e como Nancy (2013) afirmou que as alterações histopatológicas antecedem as alterações clínicas observadas na gengivite, as alterações clínicas podem parecer sutis porém com alterações histológicas bastante acentuadas, corroborando com o identificado por Neville (2014).

Já no grupo II, com o tratamento à base de doxiciclina, deve-se lembrar de que o sucesso no uso de antibióticos como coadjuvantes no tratamento periodontal engloba o escore da doença periodontal, os microrganismos possivelmente envolvidos e o status sistêmico do paciente. A significativa melhora clínica observada no grupo II associada à piora do quadro histopatológico e manutenção da UFC nos mostra que o fármaco escolhido não foi o mais eficaz na ação sobre a microbiota oral dos animais deste grupo ou que ainda pode estar relacionada a dosagem utilizada. Segundo Nancy (2012), o indivíduo possui extensas respostas de defesa para evitar a invasão dos microrganismos sendo esses mecanismos de

origem imune inata e que agem sem qualquer contato prévio com o microrganismo causador da doença.

Kim et al. (2013) identificaram que a dosagem de doxiciclina no cão é variável devido ao fato de ser utilizada no tratamento de diversas afecções. Contudo, de acordo com os estudos de Giannobiile (2008), a tetraciclina mais eficaz na redução da atividade da colagenase no fluído crevicular em casos de doença periodontal crônica foi a doxiciclina.

Spasovski et al. (2016) em seu estudo no qual comparou os efeitos terapêuticos da doxiciclina administrada por via oral com dose inteira e sub dose no tratamento da doença periodontal em seres humanos concluiu que os pacientes cuja terapia foi auxiliada por uma sub dosagem de doxiciclina demonstrou efeitos terapêuticos positivos sobre a inflamação gengival e sangramento superiores à dose terapêutica.

Observando o grupo III, doxiciclina em associação com meloxicam, dados de Marchionni et al, (2006) apontam que o meloxicam tem sua melhor ação em processos inflamatórios agudos por contemplar a fibrinogênese fato que justifica a piora clínica do grupo III considerando a gengivite um processo inflamatório crônico. A diminuição da UFC nesse grupo se justifica pela possível sensibilidade da microbiota oral dos animais deste grupo à doxiciclina.

Em concordância com Nancy (2013) conforme o anteriormente exposto, as alterações histopatológicas antecedem as alterações clínicas observadas na gengivite e deste modo justifica não a piora do escore clínico em relação à melhora do histopatológico mas sim da melhora do escore histopatológico que antecede a melhora clínica.

Ao se comparar o tempo 0 com o tempo +8, os microrganismos encontrados foram os mesmos. Isolados no Grupo I evidenciou-se *Estafilococos sp* (83%), *Staphylococcus aureus* (17%), no Grupo II foram *Escherichia coli* (60%), Bastonetes (30%) e *Staphylococcus sp* (10%) e no Grupo III, *Escherichia* (33%), *Staphylococcus sp* (20%), *Staphylococcus aureus* (13%), Cocos (6%), Bastonetes (14%), leveduras (7%) e *Pseudomonas spp.* (7%) (Tabela 9).

Tabela 9: Cultura microbiológica de cavidade oral dos animais do grupo I, II e III, portadores de gengivite desencadeada por doença periodontal.

GRUPO I		GRUPO II		GRUPO III	
Animal		Animal		Animal	
227500	<i>Staphylococcus</i>	104667	<i>Escherichia coli</i>	028106	<i>Staphylococcus aureus</i>

	<i>aureus</i>				<i>Escherichia coli</i>
	<i>Staphylococcus</i> spp				
393776	<i>Staphylococcus</i> spp	279594	<i>Escherichia coli</i>	419834	<i>Staphylococcus aureus</i>
			Bastonetes		<i>Escherichia coli</i>
459394	<i>Staphylococcus</i> spp	278555	<i>Staphylococcus</i> spp	044319	Bacilos <i>Escherichia coli</i> Levededura
			<i>Escherichia coli</i>		<i>Staphylococcus</i> spp
			Bastonetes		Bastonetes/ cocos
604238	<i>Staphylococcus</i> spp	590494	<i>Escherichia coli</i>	257673	
			Bastonetes		
604755	<i>Staphylococcus</i> spp	291310	<i>Escherichia coli</i>	416929	<i>Staphylococcus</i> spp
					<i>Escherichia coli</i>
298497	<i>Staphylococcus</i> spp	44210	<i>Escherichia coli</i>	421754	<i>Staphylococcus</i> spp
					<i>Escherichia coli</i>
					<i>Pseudomonas</i> spp

Nota: Grupo I – placebo; Grupo – II Doxiciclina 15mg/ml; Grupo III – Doxiciclina 15mg/ml e Meloxicam 2,5mg/ml.

As bactérias de maior prevalência nos três grupos foram *Escherichia coli* (27,5%), *Staphylococcus* sp. (25%) e *Staphylococcus aureus* (7,5%) divergindo dos resultados de Riggio et al.(2011) que observou em cães com gengivite predomínio de *Bacterioides heparinolyticus*, *Pasteurella dagmatis*, *Porphyromonas cangingivalis* e os acometidos pela periodontite apresentam *Actinomyces canis* e *Desulfomicrobium orale*, diferiu também dos resultados de Oh et al (2015) que observaram em cães com periodontite as bactérias *Actinomyces*, *Fusobacterium*, *Actinomyces*, *Pasteurella*, *Moraxella*, *Erysipelotrichaceae*, *Xenophilus*, *Capnocytophaga*, *Neisseria*, *Pasteurellaceae*, *Filifactor*, *Conchiformibius*, *Peptostreptococcaceae*, *Porphyromonas*, *Lachnospiraceae*, *Conchiformibius*, *Globicatella*, *Porphyromonas*, *Brachymonas*.

Contudo, os microrganismos identificados nesse estudo foram semelhantes aos identificados no estudo de Braga (2005) em que as bactérias predominantes no espaço subgengival de cães com doença periodontal são *Porphyromonas* spp., *Bacterioides* spp., *Staphylococcus* spp., bastonetes Gram positivos, *Escherichia coli*, *Actinomyces* spp., *Fusobacterium* spp., cocobacilo Gram negativo com pigmento negro, entre outras.

Corroborando com Wallis et al (2015) e Niemiec (2008), a microbiota oral é muito variada tanto no estado de saúde quanto na doença periodontal e pode sofrer influência do meio ao se considerar a espécie utilizada neste estudo.

Bactérias são consideradas agentes etiológicos primários da doença periodontal e a progressão desta enfermidade é devido a ação do sistema imunológico do hospedeiro que promove uma destruição tecidual exacerbada (SLOTS; RAMS, 1990, HAFFAJEE; SOCRANSKY, 2000). Polson et al. (1996) demonstraram que o gel muco adesivo contendo doxiciclina apresentou bons resultados evitando a progressão da doença periodontal, resultado semelhante ao obtido neste trabalho.

De acordo com Gaetti-Jardim (2007), em seu estudo para determinar a microbiota subgingival do biofilme de cães com doença periodontal, o gênero mais isolado foi *Staphylococcus* sp., componente da microbiota oral nativa de cães saudáveis não significando obrigatoriamente doença, devido ao seu baixo potencial periodontopatogênico. A recolonização microbiana oral pode ocorrer mesmo que a antibioticoterapia seja eficaz, fato que justifica o aumento da diversidade dos microorganismos observada entre os grupos I, II e III. Sendo que a recolonização por *Escherichia coli* pode sugerir queda de imunidade do animal ou contaminação secundária (GAETTI-JARDIM, 2007).

Os antibióticos testados no antibiograma foram doxiciclina, amoxicilina, cefalexina, metronidazol, enrofloxacino, clindamicina e os seguintes resultados foram observados quanto à eficácia: Grupo I amoxicilina (33%), cefalexina (27%), enrofloxacino (20%) doxiciclina (13%), clindamicina (7%) e metronidazol (0%). No Grupo II doxiciclina (31%), amoxicilina (25%), metronidazol (25%), cefalexina (13%), clindamicina (6%) e enrofloxacino (0%); no Grupo III amoxicilina (28%), metronidazol (17%), enrofloxacino (17%), clindamicina (17%), doxiciclina (16%) e cefalexina (5%), (Tabela 10).

A doxiciclina foi eficaz em apenas 55% dos antibiogramas dos três grupos e em contrapartida, a amoxicilina foi o antibiótico que apresentou o melhor resultado de 78% não havendo diferença ($p > 0,005$) entre os tempos 0 e +8 dentro dos grupos.

Tabela 10: Resultados do Antibiograma dos animais do grupo I, grupo II e grupo III, portadores de gengivite desencadeada pela doença periodontal.

GRUPO I		GRUPO II		GRUPO III	
Animal		Animal		Animal	
227500	Dox/Amox	104667	Dox/Amox Metro	028106	Dox/Amox
	Cefalex/Enro				Enro/Clinda
393776	Dox/Amox	279594	Doxi/Cefalex Metro	419834	Dox/Amox
	Cefalex/Enro				Enro/Clinda

459394	Amoxi/Enro Clinda	278555	Doxi	44319	Doxi
604238	Amox/Cefalex	590494	Amox/Cefalex Metro/Clinda	257673	Amox/Cefalex Enro/Clinda
604755	Amox/Cefalex	291310	Dox/Amox	416929	Amox
298497	Resistente à todos	44210	Dox/Amox	421754	Amox

Nota: Grupo I – placebo; Grupo – II Doxiciclina 15mg/mL; Grupo III – Doxiciclina 15mg/mL e Meloxicam 2,5mg/mL.

O fato de que 78% das bactérias identificadas foram sensíveis à amoxicilina e apenas 55% foram sensíveis à doxiciclina é legitimado desde o estudo de Gordon e Walker (1993) através do qual concluíram que a antibioticoterapia periodontal para ser eficaz deve ter alto poder de penetração fluido gengival.

As tetraciclinas são importantes na redução das injúrias teciduais na doença periodontal, sendo a minociclina e a doxiciclina as mais utilizadas na odontologia. Devido à sua característica lipofílica e sua atividade antimicrobiana, seu uso na odontologia é muito indicado (PEREIRA MAIA et al., 2010).

Segundo Mayer et al. (2015), a prevenção contra bacteremias induzidas por procedimentos odontológicos em pacientes humanos comprometidos sistemicamente e uma das indicações mais frequentes da amoxicilina na odontologia. Associada ao ácido clavulâmico, se integra rapidamente nos tecidos líquidos extravasculares e é particularmente eficaz contra *S. aureus* e anaeróbios produtores de B-lactamase.

Embora diferentes sutis no padrão de antes e após a aplicação do muco adesivo possam ser observadas (Figuras 8, 9 e 10), destaca-se a importância de novos estudos sobre prevenção e controle da gengivite em cães com o objetivo de desenvolvimento de alternativas mais efetivas não só para a manutenção da saúde do periodonto, mas também para melhorar a qualidade de vida do paciente veterinário.



Figura 8: Animal do grupo I, placebo, sem apresentar melhora clínica no tempo 0 (a esquerda) e no tempo +8 (a direita).



Figura 9: Melhora clínica de animal do grupo II antes, no tempo 0 (a esquerda) e após, no tempo +8 (a direita), a utilização do muco adesivo a base de doxiciclina.



Figura 10: Melhora clínica de animal do grupo III antes, no tempo 0 (a esquerda) e após, no tempo +8 (a direita), a utilização do muco adesivo a base de doxiciclina com meloxicam.

5 CONCLUSÕES

As formulações desenvolvidas contendo doxiciclina associada ou não ao meloxicam não foram eficazes como coadjuvantes no tratamento da gengivite induzida pela doença periodontal.

Quando comparadas as avaliações pré e pós-tratamento, observou-se melhora clínica apenas no grupo que recebeu o muco adesivo contendo Doxiciclina na dose de 15mg/kg.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALI, J.; PRAMOD K.; TAHIR, M.A.; ANSARI, S.H. Autoimmune responses in periodontal diseases. **Auto immunity Review**, n.10, p.426-31. 2011.

ANDRADE, D.P.; PALLO, D.; FORTE, L.F.B.P.; RICARDO, L.H. A doxiciclina como adjuvante no tratamento da periodontite. **Internal Journal Dentistry**, Recife, v. 8, n. 4, p: 202-210, 2009.

ANDRADE, S. F. **Manual de Terapêutica Veterinária**. 9 ed. São Paulo: Roca Ed. 2008. 936p.

BAILIE, W. E.; STOWE, E. C.; SCHMITT, A. M. Aerobic Bacterial Flora of Oral and Nasal Fluids of Canines with Reference to Bacteria Associated with Bitest. **Journal of Clinical Microbiology**, p. 223-231, 1978.

BAKER, E.W. **Anatomia da cabeça e pescoço para a odontologia**. 1 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2012. 384 p.

BATH-BALOG, M.; FEHRENBACH, M. **Anatomia, histologia e embriologia dos dentes e estruturas orofaciais**. São Paulo: Editora Manole, 2008. 403p.

BATLOUNI, M. Anti-inflamatórios não esteroides: efeitos cardiovasculares, cérebro vasculares e renais. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, 94, p.556-63, 2010.

BRAGA, C.A.S.B. et al. Isolamento e identificação da microbiota periodontal de cães da

BRUNTON, L.L.; KNOLLMAN, B.C.; CHABNER, B.A. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman e Gilman**. 12 ed. Porto Alegre: ArtMed Editora, 2012. 2112p.

BURNS, K.M.; LOGAN, E.I. Homecare prevention of periodontal disease. **Proceedings of the North American Veterinary Conference** p.31-34. 2007.

CAFIERO, C.; MATARASSO, S. Predictive, preventive, personalized and participatory periodontology: 'the 5Ps age' has already started. **EPMA Journal**, v.4, n.1, p. 16, 2013.

CARRANZA, F.A.; NEWMAN, M.G. **Periodontia clínica**. 11 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.

CHANGIN, O.; KUNKYU, L.; YEOTAEEK, C.; SANG-WON, L.; SEUNG-YONG, P.; HANG-SEON, S. Comparison of the Oral Microbiomes of Canines and Their Owners Using Next-Generation Sequencing **PLoS One**, v.10, n.7, 2015.

CIFFONI, E.M.G.; PACHALY, J.R. Considerações históricas e legais sobre a odontologia veterinária no Brasil. **Arquivo de ciência veterinária e zoologia**, UNIPAR, n.4, v.1, p. 49-54, 2001.

CLSI. 2008. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically**, Tenth Edition, informational supplement. M07–A10. 2015. 15p.

COLMERY, B.H. Profilaxia e cirurgia dental. In: BOJRAB, M.J. **Cirurgia de pequenos animais** 2a. ed. Rio de Janeiro: Roca, p.126-138. 1983.

Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.DAHL, G.; CHARALAMPAKIS, G; ABRAHAMSSON, I.; BENGTSSON, L.; FALSEN,E. Predominant bacterial species in subgingival plaque in dogs. **Journal of Periodontology and Research**, n. 47, p. 354–364, 2012.

DE FERRARI, M.E.G.; MUNOZ, A.C. **Histologia e embriologia bucodental**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 432p.

DENTINO, A. Principles of periodontology. **Periodontology**, v.61, n.1, p. 16-53, 2013.

DIAS, J.A; DIAS, C.A.M.D.; TERRA, F.S.; COSTA, R.D.; COSTA, M.D.; ZANETTI, H.H.V. Avaliação do índice de placa bacteriana e sua relação com a condição física e o acondicionamento das escovas dentais. **Odontologia Clínica e Científica** v.9, n.3. p. 253-255. 2012.

DINGUESLESKI, A.H. Associação de agentes fitoterápicos em dentifrícios. **Revista Gestão e Saúde**, v. 13, p. 11-16, 2015.

DRAKE, R.L.; VOGL, A.W.; MITCHELL, A.W.M., **Gray's anatomia básica**, 1 ed. Rio de Janeiro: Elsevier editor, 2013. 610 p.

DYCE, K.M.; SACK, W.O.; WENSING, C.J.G. **Tratado de Anatomia Veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier editora, 2010. 856p.

EBERHARD, J. Experimental gingivitis induces systemic inflammatory markers in young healthy individuals: a single-subject interventional study. **PLoS One**, v. 08, n. 2, id. 55265, 2013.

ELEY, B. M.; SOORY, M.; MANSON, J. D. **Periodontia**. 6 ed. Rio de Janeiro: Elsevier editor, 2012. 488p.

FELIZARDO, K. R. An evaluation of the expression profiles of salivary proteins lactoferrin and lysozyme and their association with caries experience and activity. **Revista Odonto Ciência**, v. 25, n.4, p. 344-349, 2010.

FERREIRA, E.B.; A.BREU, T.Q.; OLIVEIRA, A.E.F. Modelos assistenciais em saúde bucal no Brasil: revisão de literatura. **Revista de Pesquisa e Saúde**, v.12, n.3 p.37-42. 2011.

FORD, R.B.; MAZZAFERRO, E.M. **Manual de procedimentos veterinários e tratamento emergencial segundo Kirk e Bistner**. 8 ed. São Paulo: Roca, 2007. p.279-365.

FREEMAN, L. M.; ABOOD, S. K.; FASCETTI, A. J.; FLEEMAN, L. M.; MICHEL, K. E.; LAFLAMME, D. P.; BAUER, C.; KEMP, B. L.; VAN DOREN, J. R.; FIGEIRAS, A.; CARVALHO, R.; VEIGA, F.; Sistemas muco adesivos de administração de fármacos na cavidade oral: Mecanismo de muco adesão e polímeros mucoadesivos. In: **Revista Lusófona de Ciências e Tecnologia da Saúde**. 2007.

GAETTI-JARDIM, J.E. Susceptibilidade de bactérias anaeróbias isoladas de infecções periplantares e periodontais ao metronidazol, lincosaminas, macrolídeos e tetraciclina. **Odonto Ciência**, v.22, n.56, p.131-137, 2007.

GARROS, I. C.; CAMPOS, A. C. L.; TÂMBARA, E. M.; TENÓRIO, S. B.; TORRES, O. J. M.; AGULHAM, M. A.; ARAÚJO, A. C. F.; SANTIS-ISOLAN, R. M. O.; ARRUDA, E. C. M. Extrato de *Passiflora edulis* na cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos: estudo morfológico e histológico. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 21 (Suplemento 3), 2006.

GEBRAN, M.P. GEBERT, A.P. Controle químico e mecânico de placa bacteriana. **Tuiuti: Ciência e Cultura**, v. 3, n. 26, p. 45-58, Curitiba, 2012.

GILHOTRA, R. M.; IKRAM, M.; SRIVASTAVA, S.; GULHOTA, N. A clinical perspective on mucoadhesive buccal drug delivery systems. **Journal of Biomedical Research**, v.28, n.2, p. 81-97. 2014.

GIOSO, M.A. **Odontologia veterinária para o clínico de pequenos animais**. 2 ed. São Paulo: Manole p.1-23. 2007.

GORDON, M.J.; WALKER, B.C. Current status of systemic antibiotic usage in destructive periodontal disease. **Journal of Periodontology**, v.64, p.760-771, 1993.

GORREL, C. **Odontologia em pequenos animais**. 1 ed. Rio de Janeiro: Ed. Elsevier, 2010. 239p.

HARPENAU, L.A.; KAO, R.T.; LUNDERGAN, W.P.; SANZ, M. **Periodontia e implantodontia: algoritmos de Hall para a prática clínica** 1ª ed. Ed. Santos,448p. 2016.

HARVEY, C.E. Distúrbios orais, faringeanos e das glândulas salivares. In: HIGHFIELD, Diagnosis and classification of periodontal disease. **Australian Dental Journal**, v.54, suplemento 1, p.11-26. 2005.

HE, Z.X.; WANG, Z.H.; ZHANG, H.H.; PAN, X.; SU, W.R.; LIANG, D. Doxycycline and hydroxypropyl-beta-cyclodextrin complex in poloxamer thermal sensitive hydrogel for ophthalmic delivery. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v.1, p.254–60. 2011.

HENNET, P.R.; HARVEY, C.E. Anaerobes in periodontal disease in the dog: a review. **Journal of Veterinary Dentistry**, v. 8, n. 2, p. 18-21, 1991.

HILLAN-DANDAN, R.; BRUTON, L.L. **Manual de farmacologia e terapêutica Goodman e Gilman**. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2015. 1215 p.

HOLMSTROM, S.E. **Veterinary Dentistry: a team approached**. 2 ed. Rio de Janeiro: Editora Elsevier, 2013. 415p.

JACOMAZZI, A.M.; SILVA, C. O.; LIMA A.F.M. Análise clínica da aplicação do gel de doxiciclina a 10% em sítios que não responderam ao tratamento periodontal. Portal de Revistas Científicas da Saúde – **Periodontia**, v. 16, n. 4, p.28-33, 2006.

JAUHARI, S. A mucoadhesive in situ gel delivery system for paclitaxel, **AAPS Pharmacology Science and Technology**, v.2, n.7, 2006.

KATCHBURIAN, E.; ARANA, V. **Histologia e embriologia oral: texto-atlas-correlações clínicas**. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012. 300p.

KEEGAN, G.; SMART, J.; INFRAM, M.; BARNES, L.; REES, G.; BURNETT, G. An *in vitro* assessment of bioadhesive zinc/carbomer complexes for antimicrobial therapy within the oral cavity. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 340, p. 92 – 96, 2007.

KERTESZ, P. **A colour atlas of veterinary dentistry and oral surgery** London: Editora Mosby. 1993. 312p.

KILLOY, W.J.; POLSON, A.M. Controlled local delivery of antimicrobials in the treatment of periodontitis Dental. **Clinic North America**, v.42, n.2, 1998.

KIM, S.E.; KIM, S.; JEONG, M.; LEE, Y.;DVM; AHN, J. T.; PARK, Y.W.; AHN, J.A.; LEE, E.; RYU, D.Y.; SEO, K. Experimental determination of a subantimicrobial dosage of doxycycline hyclate for treatment of periodontitis in Beagles. **American Journal of Veterinary Research**, v. 74, n. 1, p.130-135, 2013.

KINANE, D.F.; PRESHAW, P.M.; LOOS, B. G. Host-response: understanding the cellular and molecular mechanisms of host-microbial interactions – Consensus of the Seventh European Workshop on Periodontology. **Journal of Clinic Periodontology**, n.38 suppl. 11, p.44–48. 2011.

LANDOVÁ, H.; DEANEK, Z.; GAJDZIOK, J.; VETCHÝ, D.; STEMÍREK, J. Mucoadhesive films as perspective oral dosage form. **Ceska Slov Farm**, v.62, p. 4-11. 2013.

LINDHE, J.; KARRING, T.; LANG, N.P. **Tratado de Periodontia Clínica e Implantodontia Oral**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 5ª edição, 2010. 1048p.

LIPPOLIS, M.; BENITES, N. R.; MELVILLE, P. A. Avaliação da microbiota bacteriana aeróbica isolada da cavidade oral de cães errantes do município de Guarulhos, estado de São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.71, (supl.), p.516-518, 2004.

LOGAN, E.I. Dietary influences on periodontal health in dogs and cats. **Veterinary Clinics Small Animal Practice**, n. 36, 1385-1401. 2006.

MAJOR, M.A.Jr.; STANLEY, J. N. **Wheeler Anatomia Dental, Fisiologia e Oclusão**. 9 ed. Rio de Janeiro: Elsevier Ed., 2012. 360 p.

- MANAKIL, J. **Periodontal Disease** – A clinical guide. Croatia Ed., 2012. 380p.
- MARCHIONNI, A.M.T.; PAGNONCELLI, R.M.; REIS, S.R.A. Influência do meloxicam e dexametasona no processo inflamatório e no reparo tecidual. **Revista Odonto Ciência - Faculdade de Odontologia PUCRS**, v. 21, n. 51, 2006.
- MAYER, M. P. A.; MORETHSON, P.; LONGO, P. **Controle das infecções. In: Farmacologia para clínica odontológica.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. p. 116-137.
- MAZZARINO, L.; BORSALI, R. LEMOS-SENNA, E. Mucoadhesive films containing chitosan-coated nanoparticles: A new strategy for buccal curcumin release. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, n.103, p. 3764-3771. 2014.
- MEIRA, A.L.T. Uso de antimicrobianos locais em periodontia: Uma abordagem crítica. **Periodontia**, v.12, n.1, p.83-89, 2007.
- MIANI, P. K.; NASCIMENTO, C.; SATO, S.; FILHO, A. V.; FONSECA, M. J. V.; PEDRAZZI, V. In vivo evaluation of a metronidazole-containing gel for the adjuvant treatment of chronic periodontitis: preliminary results. **European Journal of Clinic Microbiology Infection**, v. 31, p.1611-1618, 2012.
- NANCI, A. **Ten Cate, histologia oral: desenvolvimento, estrutura e função.** 8 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. 400p.
- NEVILLE, B.W.; DAMM, D.D. **Patologia oral e maxilofacial.** 4 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016. 992p.
- NEWMAN, M.G.; TAKEY, H.; KLOKKEVOLD, P.R.; CARRANZA, F.A. **Periodontia Clínica.** 11 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012. 1328p.
- NIEMIEC, B.A. **Veterinary periodontology.** 1 ed. Wiley-Blackwell Ed. 358p. 2013.
- NISHIYAMA, S. A. B. et al. Detection of putative periodontal pathogens in subgingival specimens of dogs. **Brazilian Journal of Microbiology**, n. 38, p. 23-28, 2006.
- NOBLE S.; BALFOUR, J.A. **Meloxicam: new drug profile.** v. 51, n.3, p. 424- 430. 1996.

NUNES, M.C.P.; CASATI, M.Z.; VILLAPAND, O.K.T.; CIRANO, F.R. Contribuição do estudo do biofilme dentário para o tratamento das doenças periodontais. **Revista do Instituto de Ciência e Saúde**, v. 25, n.1, p. 55- 61. 2007

OHLRICH, E. J.; CULLINAN, M. P.; SEYMOUR, G. J. The immunopathogenesis of periodontal disease. **Australian Dentistry Journal**, v.54, n.1, p.2-10, 2009.

PACHALY, J. R. Odontoestomatologia em animais selvagens. In: CUBAS, Z.S.; SILVA, J.C.R.; CATÃODIAS, Z.S. **Tratado de animais selvagens**. São Paulo: Editora Roca 2006. cap.64.

PADERNI, C.; COMPILATO, D.; GIANNOLA, L.I.; CAMPISI, G. Oral local drug delivery and new perspectives in oral drug formulation. **Oral Medicini**, v.114, n. 3, 2012.

PAPICH, M.G. **Manual Saunders Terapia Veterinária – pequenos e grandes animais**. 3 ed. São Paulo: Rocca, 2011. 936p.

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

PEDRAZZI, V.; SOUSA, V. P.; PIERRE, M. B. R.; CID, Y. P. In Vitro Characterization of Chitosan Gels for Buccal Delivery of Celecoxib: Influence of a Penetration Enhancer. **AAPS PharmSciTech**, v.1, p. 1-11, 2012.

PELCZAR JR., J.M.; KRIEG, N. R.; CHAN, E.C.S. **Microbiologia, conceitos e aplicações**. 2 ed. São Paulo: Pearson, 2005.

PEREIRA MAIA, E. C. et al. Tetraciclina e gliciliclinas: uma visão geral. **Revista Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 3, p. 700-706, 2010.

POLKOWSKA, I.; SOBCZYNSKA, R.A.; GOLYNSKA, M. Analysis of gingival pocket microflora and biochemical blood parameters in dogs suffering from periodontal disease 2014.

raça pastor alemão. **Ciência Rural**, v.35, n.2, p.385-390, 2005.

RIGGIO, M.P.; LENNON, A.; TAYLOR, D.J.; BENNET, D. Molecular identification of bacteria associated with canine periodontal disease. **Veterinary Microbiology**, n.150, p. 394–.2011. 400p.

ROY, S. K.; PRABHAKAR, B. Bioadhesive polymeric platforms for transmucosal drug delivery systems - a Review. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v.9, n.1 p.91-104. 2010.

ROZA, M. **Princípios de odontologia veterinária**. 1 ed., Ed. do Autor, 2012. 182p.

RUIZ, S.M.A.; OLVERA, L.G.; BERNARD, M.J.B.; CHACON, S.C.C.; ESTRADA, D.V. Comparative pharmacokinetics of a new oral long-acting formulation of doxycycline hyclate: A canine clinical trial. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, n. 80, p.9-15, 2015.

SAMARANAYAKE, L. P. **Fundamentos de microbiologia e imunologia na odontologia** Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. 382p.

SAMUELSON, D. A. **Tratado de histologia veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. 527 p.

SANGEETHA, S. Mucosa as a route for systemic drug delivery. **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**, v.1, n. 10, p.178-187. 2010.

SCHENKEIN, H.A. Host responses in maintaining periodontal health and determining periodontal disease. **Periodontology**, v.40,p. 77–93. 2006.

SLOTS, J. **Journal of Periodontology: past, present, perspectives**. n. 62, v.1, p.7-19. 2013.

SLOTS, J. Periodontal therapy in humans: Microbiologica and clinica effects of a single course of periodontal scaling and root planning and adjunctive tetracyclin therapy. **Journal of Periodontology**, v.50, p.495-509, 1979.

SPASOVSKI, S.; BELAZELKOSKA. Z.; ANETA, M.; STOJANOVSKA, A.; NIKOLOVSKA, V.R.; MURATOVSKA, I.; SPASOVA, N.T.; DZIPUNOVA, B.; NIKOLOVSKI, B. Clinical Therapeutic Effects of the Application of Doxycycline in the Treatment of Periodontal Disease. **Journal of Medical Science**, v.4, n.1, p. 152 – 157, 2016.

SPINOSA, H.S. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 5 ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. 848 p.

SYED, S.A.; SVANBERG, M.; SVANBERG, G. The predominant cultivable dental plaque flora of beagle dogs with gingivitis. **Journal of Periodontal Research**, v.15, p.123-136, 1980.

TANGRI, P. Mucoadhesive drug delivery: Mechanism and methods of evaluation. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, n.2, v.1, p.458-467. 2011.

THOMAS, H. F.; HASSELL, M. **Manual de Periodontia: fundamentos, diagnóstico e prevenção**. Porto Alegre: Artmed, 2008. 352p.

TUTT, C. **Small Animal Dentistry: a manual of techniques**. Blackwell Publishing Iowa – EUA. 2006. 288p.

VERSTRAETE, F.J.M. **Oral and maxillofacial surgery in dogs and cats**. 1 ed. Rio de Janeiro: Saunders Ed. 2012. 608p.

VILLANOVA, J.C.O.; ORÉFICE, R.L.; CUNHA, A.S. Aplicações farmacêuticas de polímeros **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, vol. 20, n. 1, p. 51-64, 2010

WALLIS, C.; MARSCHALL, M.; COLYER, A.; O'FLYNN, C.; DEUSCH, O.; HARRIS, S. A longitudinal assessment of changes in bacterial community composition associated with development of periodontal disease in dogs Elsevier. **Veterinary Microbiology**, v.181, Issue 3-4, p.271-282, 2015.

WHYTE, A.; OBON, J.; LEUZA, A.; WHYTE, J.; MONTEAGUDO, L.V. Canine severe maxilla and mandible osteolysis associated with periodontal disease unperceived by proprietors. **Pakistan Veterinary Journal**, v.33, 262–264, 2014.

WILLOUGHBY, K. N. Disease prevalence among dogs and cats in the United States and Australia and proportions of dogs and cats that receive therapeutic diets or dietary supplements. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 229, n. 4, p. 531-534, 2006.

WOLF, H.F.; HASSELL, T.M. **Manual de periodontia – fundamentos, diagnóstico, prevenção e tratamento**. 1 ed. Porto Alegre: Ed. Artmed, 2008. 352p.

ZAMBORIL, C.; CUMPANASOIUL, C.; HUTUL, I.; LIKER M.; GURBAN, C.; TIRZIUL, E. The pathogenic microflora and microbial interactions in oral cavity in dogs scientific papers. **Animal Science and Biotechnologies**, v.47, n. 1, 2014.

ANEXOS

Anexo 1 - Aprovação em Comitê de Ética



UFRRJ
Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro

Comissão de Ética no
Uso de Animais
Instituto de Veterinária



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Avaliação de uma formulação mucoadesiva contendo doxiciclina associada ou não ao meloxicam como coadjuvante ao tratamento da gengivite em cães portadores de doença periodontal", protocolada sob o CEUA nº 8076310815, sob a responsabilidade de **Júlio Israel Fernandes e equipe; Anaís Gabriela Villarreal Laguna; Rita de Cássia Silva da Costa** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (CEUA/UFRRJ) na reunião de 16/10/2015.

We certify that the proposal "Evaluation of a mucoadhesive formulation containing doxycycline with or without meloxicam as an adjunct to treatment of gingivitis in dogs with periodontal disease", utilizing 18 Dogs (males and females), protocol number CEUA 8076310815, under the responsibility of **Júlio Israel Fernandes and team; Anaís Gabriela Villarreal Laguna; Rita de Cássia Silva da Costa** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Veterinary Institute of Rural Federal University of Rio de Janeiro (CEUA/UFRRJ) in the meeting of 10/16/2015.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **10/2015** a **12/2015** Área: **Dm cv**

Origem: **Não aplicável biotério**

Espécie: **Cães** sexo: **Machos e Fêmeas** idade: **02 a 10 anos** N: **18**

Linhagem: **beagle** Peso: **08 a 30 kg**

Resumo: Este projeto será desenvolvido por docentes e discentes nas áreas de Farmácia e Medicina Veterinária no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). O projeto tem como objetivo verificar a eficácia de um novo produto, com finalidade comercial, desenvolvido pelo setor de Farmacometria do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV) no tratamento da gengivite em cães portadores de doença periodontal, doença de maior prevalência nos animais de companhia, muitas vezes negligenciadas pelos clínicos veterinários. De assintomática a complicações sistêmicas o tratamento requer a realização de procedimento anestésico, muitas vezes não podendo ser empregado de imediato, o que limita a atuação do médico veterinário. Assim, foi desenvolvida uma formulação tópica com o intuito de aliviar os sinais clínicos e melhorar a qualidade de vida do paciente até o momento para realização do procedimento cirúrgico. Para a realização do estudo serão utilizados 18 cães da raça beagle, apresentando de forma natural gengivite severa, divididos em três grupos com seis animais cada. O grupo um será tratado com placebo (quitosana), o grupo dois utilizará a formulação contendo doxiciclina mucoadesiva e o grupo três utilizará a associação de doxiciclina com meloxicam na mesma apresentação. Os animais serão examinados diariamente para acompanhamento dos sinais clínicos e eventuais efeitos colaterais. Coletas de fragmentos de mucosa oral para avaliação histopatológica, bem como zaragatoas colocadas nos sulcos gengivais para análises microbiológicas serão realizadas nos dias 0 e +8. Espera-se que as formulações em teste possibilitem melhora clínica laboratorial nos animais tratados.

Local do experimento: O experimento será realizado nas dependências do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV), pertencente ao Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, localizada no Convênio EMBRAPA, Sanidade Animal/UFRRJ, que atualmente possui parcerias público-privadas.

Seropédica, 12 de agosto de 2016



Fabio B. Scott

Prof. Dr. Fabio Barbour Scott
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro

J. P. Paiva

Prof. Dr. Jonimar Pereira Paiva
Vice-Coodenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro

Eficácia de um gel de Quitosano Mucoadesivo contendo Doxiciclina associada ou não ao Meloxicam como coadjuvante ao tratamento da gengivite em cães portadores de doença periodontal*

Rita de Cassia da Costa Silva¹, Diefrey Ribeiro Campos², Patrícia de Oliveira³, Anaís Gabriela Villarreal Laguna⁴, Viviane de Souza Magalhães⁵, Yara Peluso Cid⁶, Milton Begeres de Almeida⁷, Fabio Barbour Scott⁸ e Júlio Israel Fernandes^{9*}

ABSTRACT. Silva R.C.C., Campos D.R., Oliveira P., Laguna A.G.V., Magalhães V.S., Cid Y.P., Almeida M.B., Scott F.B. & Fernandes J.I. [Efficacy of Chitosan gel mucoadhesive containing Doxycycline associated or not to Meloxicam as adjuvant to treatment of gingivitis in dogs with periodontal disease.] Eficácia de um gel de Quitosano Mucoadesivo contendo Doxiciclina associada ou não ao Meloxicam como coadjuvante ao tratamento da gengivite em cães portadores de doença periodontal. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 38(Supl.2):40-44, 2016. Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-000, Brasil. E-mail: vetjulio@yahoo.com.br

Periodontal disease is the highest occurrence condition in the pet clinic, affecting mainly older animals because of its characteristic of chronicity. Among the clinical signs observed in afflicted animals, gingivitis is the first to be observed. The goal of this study was to develop a mucoadhesive gel, containing doxycycline and meloxicam, and evaluate its efficacy as an adjuvant in the treatment of gingivitis induced by periodontal disease, with a clinical and histopathological rating. Eighteen Beagle dogs presenting gingivitis secondary to periodontal disease were divided into three experimental groups. Group I - animals treated with placebo formulation. Group II - Animals treated with a chitosan gel formulation containing doxycycline. Group III - Animals treated with a chitosan gel formulation containing doxycycline and meloxicam. All animals were treated for seven days, every twelve hours, in the gingival margin of the right maxilla. During the clinic evaluation, only the animals treated with the product containing doxycycli-

*Recebido em 12 de setembro de 2016.

Aceito para publicação em 10 de outubro de 2016.

¹ Médica-veterinária, Msc, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (PPGMV), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Instituto de Veterinária (IV), BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-000. E-mail: cassiavetodonto@oi.com.br

² Médico-veterinário, Msc, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias (PPGCV), UFRRJ, IV, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-000. E-mail: diefrey8@hotmail.com

³ Graduanda, Curso de Medicina Veterinária, UFRRJ, IV, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-000. E-mail: patricia.rjvet@yahoo.com.br - bolsista (CNPq/UFRRJ).

⁴ Médica-veterinária, PPGMV, UFRRJ, IV, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-000. E-mail: avillalag14@gmail.com

⁵ Farmacêutica, Dsc, Msc, Departamento de Parasitologia Animal, UFRRJ, IV, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-000. E-mail: vsmagalhaes@gmail.com

⁶ Farmacêutica, Dsc, Msc, Departamento de Ciências Farmacêuticas, UFRRJ, Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde (ICBS), BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-000. E-mail: yaracid@yahoo.com.br

⁷ Médico-veterinário, Dsc Msc, Instituto de Veterinária, Universidade Federal do Pará, Avenida Universitária, s/n, Pirapora, Castanhal, PA 68750-000. E-mail: begeres@yahoo.com.br

⁸ Médico-veterinário, Dsc, Msc, Laboratório de Quimioterapia Experimental e Parasitologia Veterinária (LQEPV), UFRRJ, IV, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-000. E-mail: scott@ufrrj.br

⁹ Médico-veterinário, Dsc, Msc, Laboratório de Quimioterapia Experimental e Parasitologia Veterinária (LQEPV), UFRRJ, IV, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-000. *Autor para correspondência, E-mail: vetjulio@yahoo.com.br

ne had improved. Contrasting, in the histopathologic evaluation, only animals treated with association of doxycycline and meloxicam presented improvements in their clinical score, although no statistic significance was observed between the groups. The developed formulations were not effective as adjuvants in the treatment of gingivitis induced by periodontal disease treatment.

KEY WORDS. Gingivitis, periodontal disease, mucoadhesive gels, buccal cavity.

RESUMO. A doença periodontal é a doença de maior ocorrência na clínica de animais de companhia, acometendo principalmente animais idosos, dada a sua característica de cronicidade. Dentre os sinais clínicos nos animais acometidos, a gengivite é um dos primeiros a serem observados. O objetivo do trabalho foi desenvolver e avaliar a eficácia de um gel mucoadesivo, contendo doxiciclina associada ou não ao meloxicam como adjuvante ao tratamento da gengivite induzida pela doença periodontal através de avaliação clínica e histopatológica. Foram utilizados 18 cães da raça Beagle portadores de gengivite secundária à doença periodontal divididos em três grupos experimentais: Grupo I - Animais medicados com formulação placebo; Grupo II - Animais medicados com a formulação gel de quitosano mucoadesivo contendo doxiciclina e grupo III - Animais medicados com a formulação gel de quitosano mucoadesivo contendo a associação de doxiciclina e meloxicam. Os animais foram tratados durante sete dias, a cada doze horas, na margem gengival da maxila direita. Durante a avaliação clínica, apenas os animais tratados com o produto contendo doxiciclina apresentaram melhora. Já na avaliação histopatológica, somente os animais tratados com a associação de doxiciclina e meloxicam apresentaram melhora nos escores clínicos, entretanto, sem diferença significativa com os demais grupos. As formulações desenvolvidas não foram eficazes como coadjuvantes no tratamento da gengivite induzida pela doença periodontal.

PALAVRAS-CHAVE. Gengivite, doença periodontal, gel mucoadesivo, cavidade oral.

INTRODUÇÃO

A doença periodontal tem por característica sua cronicidade, sendo observada em 80% dos cães acima de três anos. Apesar de alguns animais serem assintomáticos, em estágios avançados costumam apresentar sinais clínicos de dor, alteração no comportamento, halitose, disfagia, mobilidade dentária e retração de gengiva (Riggio et al. 2011).

A gengivite é a primeira manifestação clínica da doença periodontal. É formada uma semana após a instalação da placa bacteriana e é caracterizada

por uma linha avermelhada ao longo da margem gengival (Gorrel 2004). A gengivite pode ser classificada em inicial, precoce, estabelecida e avançada. Quando não tratada pode evoluir para periodontite (Lindhe et al. 2010).

Permanecendo a injúria ao tecido, a doença progride, levando a doença periodontal, que é caracterizada principalmente pelos seguintes sinais clínicos: halitose, presença de cálculos dentários, mobilidade dentária e exposição de furca (Gorrel 2004, Gioso 2007), podendo desenvolver nos animais acometidos complicações locais: periodontite e fistula oronasal; e sistêmicas: insuficiência renal crônica, hepatite, endocardite bacteriana, pneumonia, hiperlipidemia, diabetes mellitus e osteoporose (Moutsopoulos & Madianos 2006, Brook & Niemiec 2008, Braga et al. 2009, Fisher & Taylor 2009).

O diagnóstico da doença periodontal é realizado a partir do exame clínico e de radiografias da cavidade oral. Durante o exame clínico é possível observar a presença de halitose, classificar o grau de gengivite, extensão dos cálculos dentários, detectar mobilidade dentária. O exame radiográfico permite observar o acometimento das estruturas dentárias e lesões adjacentes (Gorrel 2004, Gioso 2007).

O tratamento definitivo consiste em raspagem dos elementos dentários, removendo o biofilme e placa bacteriana das superfícies do dente, o que requerer uso de anestesia geral inalatória. Alguns animais, podem não estar aptos ao procedimento por apresentarem doenças concomitantes como: cardiopatias, nefropatias ou hepatopatias. Nestes casos, é necessário a estabilização do paciente primeiramente antes de o submeter ao procedimento anestésico e terapia definitiva (Ishikawa & Baehni 2004).

Durante esse período de estabilização, animais que apresentem sinais clínicos graves devem ser tratados para melhor qualidade de vida. Uma alternativa terapêutica é a administração de antibióticos sistêmicos que muitas vezes não atingem concentrações terapêuticas e, se utilizados a longo prazo, induzir a resistência bacteriana (Rams & Slots 1996, Ishikawa & Baehni 2004).

O uso de anti-inflamatórios sistêmicos pode ajudar a reduzir os sinais de inflamação como o edema gengival e retirar a dor do animal, ocasionando conforto durante o período de estabilização. Contudo, seu uso constante pode induzir ou agravar animais com doença renal crônica a lesão renal e úlcera gástrica (Batlouni 2010). O meloxicam é um anti-inflamatório não esteroide seletivo para COX-2 que possui causa menor lesão aos rins e ao epitélio gástrico (Bellows 2004).

Os antibióticos locais permitem atingir altas concentrações no local de sua administração, o que não ocorre com os de uso sistêmico. Também não estão relacionados a efeitos adversos, sobretudo no trato gastrointestinal, reduzindo o risco de desenvolvimento de resistência a drogas pelas populações bacterianas existentes (Rams & Slots 1996).

O objetivo deste trabalho foi desenvolver e avaliar um gel mucoadesivo, contendo doxiciclina associada ou não ao meloxicam como adjuvante ao tratamento da gengivite induzida pela doença periodontal.

MATERIAL E MÉTODOS

O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro sob o número 8076310815.

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, localizado no Município de Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil. As avaliações histopatológicas foram realizadas no laboratório de Patologia Animal da Universidade Federal do Pará.

Foram selecionados 18 cães da raça Beagle, portadores de gengivite desencadeados por doença periodontal, classificados em gengivite estabelecida ou avançada.

Os animais foram divididos em três grupos experimentais contendo seis animais por grupo, sendo assim distribuídos: Grupo I - Animais medicados com placebo; Grupo II - Animais medicados com a formulação gel de quitosano mucoadesivo contendo doxiciclina 15mg/ml e grupo III - Animais medicados com a formulação gel de quitosano mucoadesivo contendo a associação de doxiciclina 15mg/ml e meloxicam 2,5mg/mL. As formulações de gel de quitosano mucoadesivo foram desenvolvidas seguindo a metodologia descrita por Cid et al. (2012) e os fármacos doxiciclina e meloxicam foram incorporados à formulação nas concentrações descritas acima. Todos os animais foram tratados a cada 12 horas durante o período de sete dias, com dois centímetros do gel, na margem gengival, apenas na maxila direita dos animais.

Durante todo o período do estudo todos os animais foram examinados clinicamente para observar possíveis alterações desencadeadas pelo tratamento clínico.

Para a realização do exame da cavidade oral e coleta do fragmento de gengiva para biópsia, os animais foram submetidos ao protocolo anestésico com 5 mg/kg de cetamina associado a 0,5 mg/kg de diazepam administrados por via intravenosa.

No dia 0, dia inicial do tratamento, foi realizada a avaliação clínica da cavidade oral. Em seguida, foi coletado um fragmento da gengiva livre, de aproximadamente 0,5 cm, na face rostral do elemento dentário 108. Após a coleta o material foi fixado em formol 10% e enviado para o exame histopatológico. No dia +8, fim do tratamento, os mesmos procedimentos foram realizados, contudo, a nova coleta de fragmento de gengiva livre foi realizada caudal ao mesmo elemento dentário.

A classificação de gengivite clínica adotada no estudo foi a proposta por Lindhe et al. (2010): 0 - Gengiva clinicamente saudável; 1 (gengivite precoce) - Edema, vermelhidão, sangramento tardio à sondagem; 2 (gengivite estabelecida) - Edema, vermelhidão, hiperplasia (pseudo bolsa), sangramento imediato à sondagem; 3 (gengivite avançada) - Edema, vermelhidão, perda de inserção, bolsa periodontal e retração gengival, tecido de granulação e sangramento espontâneo da gengiva.

Já para o acompanhamento do infiltrado inflamatório na avaliação histológica, a classificação utilizada foi adaptada de Garros et al. (2006): 0 - Ausência de infiltrado; 1 - Infiltrado discreto e localizado (focal); 2 - Infiltrado discreto, difuso; 3 - Infiltrado moderado; 4 - Infiltrado intenso.

A análise estatística dos dados foi realizada pelo programa Bioestat versão 5.3 utilizando nível de significância de 5%. A determinação da normalidade dos dados foi realizada pelo teste de Shapiro-Wilks e análise de variância pelo teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Student-Newtman-Keuls.

RESULTADOS

Todos os animais foram acompanhados durante o período experimental e não foram observados quaisquer efeitos adversos decorrentes do uso das formulações em teste.

As avaliações clínicas dos animais antes e após o tratamento nos diferentes grupos experimentais foram realizadas, registradas e arquivadas através de fotografia digital. A avaliação clínica realizada em todos os animais, por grupo experimental, nos dias 0 e + 8, por escore, está descrita na Tabela 1. No dia 0 as médias dos escores nos grupos I, II e III foram 1,8, 2,5 e 1,6 respectivamente. Enquanto no dia +8 os valores médios dos escores foram 1,8, 1,5 e 2,0 nos grupos I, II e III respectivamente. Foi observado que apenas o grupo II apresentou redução nos escores quando comparadas as avaliações pré e pós-tratamento.

No que diz respeito a avaliação histopatológica, as médias dos escores no dia 0 nos grupos I, II e III foram 1,0, 2,0 e 1,0 respectivamente, enquanto

Tabela 1. Resultado das avaliações clínicas em escores dos grupos I, II e III no tratamento da gengivite induzida pela doença periodontal.

	Grupo I			Grupo II			Grupo III		
	Animal	Dia 0	Dia +8	Animal	Dia 0	Dia +8	Animal	Dia 0	Dia +8
227500	2	2		104667	2	1	2810611	2	2
393776	2	2		279594	2	1	419834	2	2
459394	2	2		278555	3	2	44319	1	2
604238	1	1		590494	3	2	257673	2	2
604755	2	2		291310	3	2	416929	2	2
298497	2	2		44210	2	1	421754	1	2
Média	1,8	1,8			2,5a	1,5b		1,6	2,0
Valor p	1			0,0108			0,3669		

Nota: Grupo I- Animais medicados com formulação placebo; Grupo II - Animais medicados com a formulação gel de quitosano

Tabela 2. Resultado das avaliações histológicas em escores dos grupos I, II e III no tratamento da gengivite induzida pela doença periodontal.

	Grupo I			Grupo II			Grupo III		
	Animal	Dia 0	Dia +8	Animal	Dia 0	Dia +8	Animal	Dia 0	Dia +8
227500	0	4		104667	1	3	028106	1	1
393776	1	0		279594	4	2	419834	0	1
459394	0	2		278555	2	*	44319	3	1
604238	2	1		590494	2	4	257673	0	0
604755	1	3		291310	2	4	416929	1	1
298497	2	3		44210	1	3	421754	1	1
Média	1,0	2,2			2,0	2,7		1,0	0,8
Valor p	0,1431			0,2841			0,070		

Nota: Grupo I- Animais medicados com formulação placebo; Grupo II - Animais medicados com a formulação gel de quitosano mucoadesivo contendo doxiciclina 15 mg/ml e grupo III - Animais medicados com a formulação gel de quitosano mucoadesivo contendo a associação de doxiciclina 15 mg/ml e meloxicam 2,5mg/ml. Teste de Kruskal Wallis seguido do teste Student-Newtman-Keuls. Letras diferentes indicam diferença significativa.

no dia +8 foram 2,2, 2,7 e 0,8 respectivamente. Nos grupos I e II ocorreu aumento dos escores na avaliação histopatológica. Enquanto o grupo III houve uma redução nos escores, contudo, não foi observada diferença estatística destes resultados, conforme ilustrado na Tabela 2.

DISCUSSÃO

A gengivite é um dos primeiros sinais clínicos a serem identificados em animais portadores de doença periodontal, doença de caráter crônico. O tratamento definitivo da doença e, por conseguinte, a gengivite consiste em realizar a raspagem dos dentes, removendo a presença de cálculos dentários supra e subgengivais. Para isso, esses pacientes devem sempre ser submetidos à anestesia inalatória.

Diariamente são atendidos animais nas clínicas veterinárias animais portadores de doença periodontal, invariavelmente animais senis, em virtude do caráter crônico da doença. Até a realização de todos os exames pré-operatórios ou, a estabilização clínica do animal, que pode chegar com cardiopatia ou nefropatia concomitante à doença periodontal,

leva-se muito tempo. Diante desse cenário, foi desenvolvido uma nova formulação, um gel mucoadesivo, com o intuito de proporcionar um alívio temporário em um dos principais sinais clínicos da doença periodontal, a gengivite, até que possa ser realizado o procedimento definitivo, ou seja, um tratamento paliativo para a gengivite.

Trata-se do primeiro relato da utilização em animais de companhia do gel de quitosano acrescido de antibiótico (doxiciclina) e anti-inflamatório (meloxicam). Cid et al. (2012) utilizaram uma formulação de quitosano mucoadesivo contendo o anti-inflamatório celecoxib, entretanto, o intuito estava relacionado à quimioprevenção de neoplasias em cavidade oral em pacientes humanos. A formulação foi caracterizada como um sistema de liberação controlada e com potencial para uso terapêutico na quimioprevenção do câncer oral. No estudo apresentado foi utilizado outro anti-inflamatório, o meloxicam, mais barato, seguro e amplamente utilizado nos animais de companhia.

O uso de anti-inflamatórios não esteroidais sistêmicos é indicado para o controle do processo

inflamatório e ajuda a retardar a progressão da doença (Colmery 1983). Contudo, neste trabalho, quando utilizado de forma tópica o meloxicam não apresentou eficácia para evitar a progressão da gengivite.

Bactérias são consideradas agentes etiológico primário da doença periodontal e a progressão desta enfermidade é devido a ação do sistema imunológico do hospedeiro que promove uma destruição tecidual exacerbada (Slots & Rams 1990, Haffajee & Socransky 2000). Polson et al. (1996) demonstraram que o gel muco adesivo contendo doxiciclina apresentou bons resultados evitando a progressão da doença periodontal, resultado semelhante ao obtido neste trabalho.

Akalın et al. (2004) mostraram em seu trabalho que a doxiciclina pode ser utilizada tanto de forma sistêmica quanto local como tratamento adjuvante da doença periodontal, melhorando o prognóstico de pacientes depois de submetidos ao tratamento definitivo. Da mesma forma Zetner & Rothmueller (2001) mostraram que a doxiciclina pode ser utilizada como auxiliar para o tratamento da doença periodontal em cães da raça Beagle, porém os autores utilizaram por seis a doze semanas, com metodologia diferente do empregado no estudo, uma vez que foi implantado no sulco gengival a medicação. Há relatos da utilização da doxiciclina oral através de comprimidos, mas alguns animais manifestaram sinais clínicos compatíveis com gastrite, o que pode levar à interrupção do tratamento.

Apesar da aparente melhora clínica observada nos animais submetidos ao tratamento com a formulação contendo doxiciclina e na melhora na inflamação, dos animais submetidos ao tratamento com a formulação contendo a associação de doxiciclina e meloxicam, observado através de avaliação histológica não foi possível identificar melhora nos animais medicados antes e após o tratamento.

Por ser o primeiro relato da utilização desse protocolo, possíveis explicações para a não eficácia das formulações são apenas hipóteses, tais como: concentração do produto, intervalo entre as aplicações e até mesmo maior tempo de tratamento. Entretanto, o custo do medicamento por longo período seria um fator limitador. A escolha da doxiciclina foi realizada a partir de trabalhos humanos, mas outras opções de antibiótico e até mesmo anti-inflamatório não devem ser descartadas. Novos estudos

devem ser realizados buscando alternativas até o momento do procedimento clínico-cirúrgico.

CONCLUSÃO

As formulações desenvolvidas contendo doxiciclina associada ou não ao meloxicam não foram eficazes como coadjuvantes no tratamento da gengivite induzida pela doença periodontal.

REFERÊNCIAS

- Batlouni M. Anti-inflamatórios não esteroides: efeitos cardiovasculares, cérebro-vasculares e renais. *Arquivo Brasileiro de Cardiologia*, 94:556-63, 2010.
- Braga S., Braga D. & Soares S. Diabetes mellitus e periodontite - um caso de saúde oral. *Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial*, 50:111-117, 2009.
- Brook A. & Niemiec D.V.M. Periodontal disease - topical review. *Topics in Companion Animal Medicine*, 23:72-80, 2008.
- Cid Y.P., Pedrazzi V., Sousa V.P. & Pierre M.B.R. In Vitro Characterization of Chitosan Gels for Buccal Delivery of Celecoxib: Influence of a Penetration Enhancer. *AAPS PharmSciTech*, 1:1-11, 2012.
- Colmery B.H. Profilaxia e cirurgia dental, p.126-138. In: Bojrab M.J. (Ed.), *Cirurgia de pequenos animais*. 2ª ed. Roca, Rio de Janeiro, 1983.
- Fisher M.A. & Taylor G.W. A prediction model for chronic kidney disease includes periodontal disease. *Journal of Periodontology*, 1:16-23, 2009.
- Garros I.D.C., Campos A.C.L., Tâmara E.M., Tenório S.B., Torres O.J.M., Aguilham M.A. & Arruda E.C.D.M. Extrato de *Passiflora edulis* na cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos: estudo morfológico e histológico. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 21:55-65, 2006.
- Gioso M.A. *Odontologia veterinária para o clínico de pequenos animais*. 2ª ed. Manole, São Paulo, 2007. 86p.
- Garrel C. *Veterinary dentistry for the general practitioner*. W.B. Saunders, Philadelphia, 2004. 224p.
- Haffajee A.D. & Socransky S.S. Microbial etiological agents of destructive periodontal disease. *Periodontology*, 5:78-111, 2000.
- Lindhe J., Karring T. & Lang N.P. *Tratado de Periodontia Clínica e Implantodontia Oral*. 5ª ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2010. 1048p.
- Loss B.G., Craandijk J., Hoek F.J., Dillen P.M.W. & Velden U.V.D. Elevation of systemic markers related to cardiovascular diseases in the 38 peripheral blood of periodontitis patients. *Journal of Periodontology*, 71:1528-1534, 2000.
- Moutsopoulos N.M. & Madianos P.N. Low grade inflammation in chronic infectious diseases: paradigm of periodontal infections. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1088:251-264, 2006.
- Nassar C.A., Nassar P.O., Inagaki N.S. & Girelli Jr C. Efeito de Anti-inflamatório no Desenvolvimento da Doença Periodontal Induzida. Avaliação Radiográfica em Ratos. *Revista de Odontologia da UNESP*, 32:125-130, 2003.
- Polson A.M., Southard G.L., Dunn R.L., Yewey G.L., Godowski K.C., Polson A.P. & Laster L. Periodontal pocket treatment in beagle dogs using subgingival doxycycline from a biodegradable system. I. Initial clinical responses. *Journal of Periodontology*, 67:1176-1184, 1996.
- Riggio M.P., Lennon A., Taylor D.J. & Bennet D. Molecular identification of bacteria associated with canine periodontal disease. *Veterinary Microbiology*, 150:394-400, 2011.
- Slots J. & Rams T.E. Antibiotics in periodontal therapy, advantages and disadvantages. *Journal of Clinical Periodontology*, 17:479-493, 1990.
- Zetner K. & Rothmueller G. Treatment of periodontal pockets with doxycycline in beagles. *Veterinary Theriogenology*, 3:441-452, 2001.