

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**AVALIAÇÃO CLÍNICA BUCAL DE BEZERROS COM
DOENÇA PERIODONTAL E SUAS CORRELAÇÕES
BIOQUÍMICAS SÉRICAS E SALIVARES**

Juliana Vaccari

Médica Veterinária

2019

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**AVALIAÇÃO CLÍNICA BUCAL DE BEZERROS COM
DOENÇA PERIODONTAL E SUAS CORRELAÇÕES
BIOQUÍMICAS SÉRICAS E SALIVARES**

Juliana Vaccari

Orientador: Prof. Dr. Iveraldo S. Dutra

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

2019

V114a Vaccari, Juliana
Avaliação clínica bucal de bezerros com doença periodontal e suas correlações bioquímicas séricas e salivares / Juliana Vaccari. -- Jaboticabal, 2019
70 p. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Iveraldo Santos Dutra

1. bezerro. 2. bioquímica. 3. doença periodontal. 4. gengivite.
I. Título.

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

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

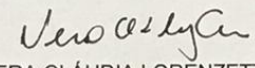
TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: AVALIAÇÃO CLÍNICA BUCAL DE BEZERROS COM DOENÇA PERIODONTAL E SUAS CORRELAÇÕES BIOQUÍMICAS SÉRICAS E SALIVARES

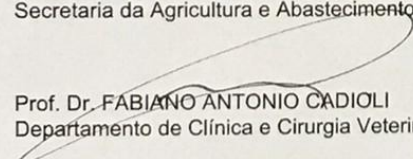
AUTORA: JULIANA VACCARI

ORIENTADOR: IVERALDO DOS SANTOS DUTRA

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


Prof. Dr. IVERALDO DOS SANTOS DUTRA (Videoconferência)
Departamento de Apoio Produção e Saúde Animal / FMVA/UNESP - Araçatuba


Pesquisadora Dra. VERA CLÁUDIA LORENZETTI MAGALHÃES CURCI
Secretaria da Agricultura e Abastecimento, Unidade de Pesquisa e Desenvolvimento / APTA - Araçatuba/SP


Prof. Dr. FABIANO ANTONIO CADIOLI
Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária / FMVA/UNESP - Araçatuba

Jaboticabal, 18 de fevereiro de 2019

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Juliana Vaccari – nascida em Birigui, São Paulo, em 08 de julho de 1993. Ingressou na Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho” (UNESP), pela Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba (FMVA) em 2011 e concluiu o curso pela mesma universidade em 2016. Realizou treinamento técnico nas áreas de Obstetria Veterinária (2011), Assistência técnica e Extensão Rural (2012/2016). Possui Iniciação Científica com projeto intitulado “Caracterização Físicoquímica de Águas Residuárias de Indústria de Abate e Processamento de Tilápias” em 2014 e monitoria nas áreas de Fisiopatologia da Reprodução (2013) e Enfermidades Infeciosas dos Animais domésticos (2015).

Se você pode sonhar,
você pode fazer." Walt
Disney

*Dedico o presente
trabalho à minha família e
noivo, por estarem
presentes em todos os
momentos e sempre
acreditarem em mim.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus pelas oportunidades que me são concedidas diariamente, pela certeza de que não caminho sozinha e pelo aprendizado de que o tempo da espera é fundamental para que grandes metas possam se concretizar.

Agradeço minha mãe Luzia e meu pai Jair por não medirem esforços e serem meus grandes incentivadores, para que conseguisse chegar até aqui.

Aos meus irmãos amados Junior e Carla, pelos conselhos, apoio, carinho e amor em todos os momentos que precisei, agradeço com muito amor.

Gratidão e amor infinito ao meu noivo Fernando, a quem eu quero sempre ao meu lado; pelo carinho e paciência com que sempre ouviu meus anseios e me incentivou a crescer como profissional e como pessoa.

De modo especial a minha tia, madrinha, conselheira e segunda mãe Maria Helena (*in memorian*), minha grande fortaleza e incentivadora de meus estudos.

Ao meu cunhado José Antônio (*in memorian*), que foi mais que um irmão, que com sua alegria contagiante e irreverência, me mostrou que a grande força da vida está no lutar sempre e desistir jamais. A eles que apesar de não estarem mais fisicamente neste mundo, continuam de forma perpétua em meu coração, agradeço com todo amor que possuo.

Palavras me faltam para agradecer a toda ajuda que recebi de minhas companheiras de equipe; meu muito obrigada pelo companheirismo, paciência e disponibilidade de Ana Carolina Borsanelli, Thamiris Naiasha Minari Ramos, Natália Cristina de Souza e Julia Rebecca Saraiva, vocês foram fundamentais para a concretização desse experimento e para meu crescimento profissional e principalmente pessoal.

Agradeço imensamente ao meu orientador, Professor Doutor Iveraldo dos Santos Dutra, por ter acompanhado, assessorado, aconselhado e ajudado em cada etapa do experimento e por toda a paciência com que conduziu o meu aprendizado e crescimento profissional nesse período.

Minha gratidão ao Professor Doutor Antonio Hernandes Chaves Neto, por toda ajuda, disponibilidade, carinho e atenção sincera com que sempre me tratou; minhas palavras não seriam suficientes para expressar toda felicidade que tive por tê-lo como meu colaborador de todas as horas.

Minha gratidão a Professora Doutora Suely Regina Mogami Bomfim, pela colaboração nas análises laboratorias e por toda ajuda e carinho com que sempre me tratou.

Ao Doutor Yuri Tani Utsunomiya meus agradecimentos pelas importantes e essenciais contribuições nas análises estatísticas deste trabalho.

Agradeço aos funcionários da UNESP-FMVA, Alexandre José Teixeira e Adão Ângelo Custódio. Sem vocês seria impossível a concretização deste experimento.

Agradeço a todos os amigos que estiveram presentes, ajudando e apoiando, em cada etapa.

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

SUMÁRIO

Páginas

CERTIFICADO DE COMISSÃO DE ÉTICA DO USO DE ANIMAIS	ii
RESUMO.....	1
ABSTRACT.....	3
CAPÍTULO 1- CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A DOENÇA PERIODONTAL EM BOVINOS E ANÁLISES BIOQUÍMICAS SÉRICAS E SALIVARES.....	5
1. Introdução.....	5
2. Revisão de Literatura.....	7
2.1 Doença periodontal.....	7
2.1.1 Definição.....	7
2.1.2 Gengivite e gengivite necrosante nos bovinos.....	7
2.1.3 Periodontite nos bovinos.....	8
2.2 Análises hematológicas.....	10
2.3 Análises bioquímicas séricas.....	11
2.4 Análises bioquímicas salivares.....	16
2.5 Virginiamicina.....	20
3. Referências.....	22
CAPÍTULO 2- AVALIAÇÃO DOS PERFIS HEMATÓLOGICOS, BIOQUÍMICOS SÉRICOS E SALIVARES DE BOVINOS COM DOENÇA PERIODONTAL.....	28
Abstract.....	28
Resumo.....	29
Introdução.....	30
Material e Métodos.....	31
Resultados.....	34
Discussão.....	36
Conclusão.....	42
Agradecimentos.....	43
Declaração de conflito de interesse.....	43
Referências.....	43
CAPÍTULO 3 – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	59

Certificado da Comissão de Ética no Uso de Animais

unesp



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal

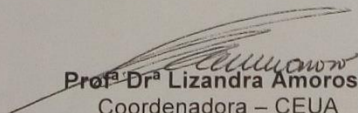


CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado "**Avaliação dos perfis bioquímicos e enzimáticos salivar e sanguíneo em bovinos com desgaste dentário e doença periodontal**", protocolo nº 013967/17, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Iveraldo dos Santos Dutra, 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) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 05 de outubro de 2017.

Vigência do Projeto	06/10/2017 a 06/10/2018
Espécie / Linhagem	Bovinos de raça leiteira ou seus mestiços
Nº de animais	10 Bovinos
Peso / Idade	8 meses
Sexo	Macho
Origem	Propriedade rurais de Araçatuba e região (aquisição)

Jaboticabal, 05 de outubro de 2017.


Prof.ª Dr.ª Lizandra Amoroso
Coordenadora – CEUA

AVALIAÇÃO CLÍNICA BUCAL DE BEZERROS COM DOENÇA PERIODONTAL E SUAS CORRELAÇÕES BIOQUÍMICAS SÉRICAS E SALIVARES

Resumo – As doenças periodontais são associadas ao manejo do solo e à dieta e provocam danos à saúde e ao bem-estar dos bovinos. Da mesma forma afeta o desempenho e a eficiência alimentar em decorrência das dificuldades na mastigação e ruminação. Considerada uma enfermidade multifatorial, na qual as bactérias são necessárias para que ocorra o processo infeccioso, mas não suficientes, elas têm características clínico-patológicas e epidemiológicas particulares. Inicialmente associada à formação de pastagem em extensas áreas das regiões Sudeste, Centro-Oeste e Norte do país, a periodontite pode reincidir após a reforma dos pastos ou alimentação dos animais com forragens recém-cultivadas. Na pecuária extensiva, a doença tende à redução espontânea e gradativa nos sistemas de produção com o decorrer dos anos e na dependência do tipo de solo. Ocorrendo em episódios, ela tem característica sazonal e permanece sob a forma crônica em animais adultos; provocam inflamações dos tecidos de proteção e sustentação dos dentes. Na gengivite e gengivite necrosante, que são precursoras da periodontite, a inflamação está associada à formação do biofilme bacteriano e à resposta imune do hospedeiro. O objetivo geral do presente trabalho foi avaliar clinicamente bezerros com doença periodontal e verificar as correlações bioquímicas séricas e salivares. Dez bezerros desmamados, com idade entre 4 e 6 meses, mantidos em pastejo rotacionado em área reformada foram divididos aleatoriamente em dois grupos (n=5 cada grupo): controle e tratamento. Os animais do grupo tratamento receberam via oral *pour-dressing* 340 mg de virginamicina diariamente, por um período de cinco meses, num total de período experimental de seis meses. O exame clínico periodontal foi realizado semanalmente, enquanto as análises bioquímicas séricas e salivares, além das análises hematológicas, mensalmente. Os parâmetros bioquímicos analisados foram proteína total, albumina, ureia, aspartato amino transferase (AST), fosfatase alcalina (FA), gama glutamil transferase (GGT), cálcio, fósforo e magnésio. No exame clínico houve maior prevalência de gengivite e gengivite necrosante no grupo controle. Os animais do grupo tratamento tiveram aumento do ganho de peso e condição corporal. Ao longo do período experimental os animais do grupo controle apresentaram redução significativa das concentrações séricas de albumina, magnésio e uréia, enquanto oscilações significantes na albumina, AST, FA, GGT, ureia e fósforo foram encontrados também no grupo controle, porém para os parâmetros

salivares. Os animais do grupo controle apresentaram linfocitose e leucocitose e o grupo tratamento apresentou monocitose. A prevalência de gengivite no rebanho demonstrou uma correlação negativa com a concentração de magnésio sérico, e uma correlação positiva com atividade da FA salivar. Não houve correlação significativa entre os parâmetros bioquímicos séricos e salivares entre si. Os resultados evidenciaram que as correlações negativas do parâmetro sérico magnésio com os achados clínicos podem sugerir que este parâmetro pode ser utilizado como um marcador para a gengivite nos bovinos.

Palavras-chave: bezerro, bioquímica, doença periodontal, gengivite.

EVALUATION OF BUCAL CLINIC CALVES WITH PERIODONTAL DISEASE AND ITS SERIOUS AND SALIVARY BIOCHEMICAL CORRELATIONS

Periodontal diseases are associated with soil management and diet and cause damage to the health and well-being of cattle. It also affects performance and food efficiency as a result of difficulties in chewing and rumination. Considered as a multifactorial disease, in which bacteria are necessary for the infectious process to occur, but not enough, they have particular clinical and pathological and epidemiological characteristics. Initially associated with pasture formation in extensive areas of the Southeast, Midwest and Northern regions of the country, periodontitis may recur after pasture reform or feed the animals with freshly grown fodder. In extensive livestock, the disease tends to spontaneous and gradual reduction in production systems over the years and depending on the type of soil. Occurring in episodes, it has a seasonal characteristic and remains chronic in adult animals; inflammation of the protective tissues and support of the teeth. In gingivitis and necrotizing gingivitis, which are precursors of periodontitis, inflammation is associated with the formation of the bacterial biofilm and the immune response of the host. The general objective of the present study was to evaluate clinically calves with periodontal disease and to verify the biochemical correlations between serum and salivary. Ten weaned calves, aged 4 to 6 months, maintained on rotational grazing in a reformed area were randomly divided into two groups (n = 5 each group): control and treatment. The animals in the treatment group were given orally pour-dressing 340 mg of virginiamycin daily for a period of five months for a total of six months experimental period. The periodontal clinical examination was performed weekly, while the serum and salivary biochemical analyzes, in addition to the hematological analyzes, monthly. The biochemical parameters analyzed were total protein, albumin, urea, aspartate amino transferase (AST), alkaline phosphatase (FA), gamma glutamyl transferase (GGT), calcium, phosphorus and magnesium. In the clinical examination there was a higher prevalence of gingivitis and necrotizing gingivitis in the control group. The animals in the treatment group had increased weight gain and body condition. During the experimental period, the animals in the control group showed a significant reduction in the serum concentrations of albumin, magnesium and urea, while significant oscillations in albumin, AST, FA, GGT, urea and phosphorus were also found in the control group, but for salivary parameters. The animals in the control group had lymphocytosis and leukocytosis and the treatment group showed monocytosis. The prevalence of gingivitis in the herd showed a negative correlation with serum magnesium concentration, and a positive correlation with salivary AF activity. There was no significant correlation between

serum and salivary biochemical parameters. The results showed that the negative correlations of the serum magnesium parameter with the clinical findings may suggest that this parameter can be used as a marker for gingivitis in cattle.

Key words: calve, biochemical, periodontal disease, gingivitis.

CAPÍTULO 1 – Considerações gerais sobre a doença periodontal em bovinos e análises bioquímicas séricas e salivares

1.Introdução

A dentição desempenha papel fundamental na manutenção da saúde dos animais, garantindo o aproveitamento dos alimentos e proporcionando ao indivíduo pleno funcionamento do organismo. A perda de dentes ou da sua função pode gerar grandes prejuízos à saúde, como dificuldades na digestão dos alimentos e alterações na oclusão. Devido às características estruturais dos dentes, o acúmulo de biofilme supra e subgingival é um evento natural e sua ocorrência quando em equilíbrio, geralmente não causa danos ao hospedeiro.

Porém quando existe nesta microbiota bucal residente a presença de fator(es) modificador(es), ocorreria a disbiose deste biofilme gengival, culminando com a predominância de bactérias periodontais patogênicas e o desencadeamento de processos inflamatórios associados à doença. A evolução da gengivite para periodontite pode não ocorrer, estando assim vinculada a diversos fatores complexos. No entanto, as gengivites sempre precedem às periodontites; que provocam danos irreversíveis e cumulativos ao hospedeiro.

Já a periodontite é a resposta imuno-inflamatória de um hospedeiro suscetível causada por uma complexa microbiota, que resulta em perda dos ligamentos periodontais, reabsorção óssea e eventual perda da unidade dental. Nos animais, já foi descrita em diversas espécies domésticas e selvagens de vida livre ou cativeiro, sendo responsável por grandes impactos econômicos, de saúde e bem-estar animal.

A ocorrência de doença periodontal (gengivite e periodontite) é registrada desde a década de 1960 em bovinos no Brasil, sendo um problema que limita a produção animal. Inicialmente registrada

em bezerros (cara inchada) na formação de pastos em áreas de cerrado, causando prejuízos econômicos expressivos à pecuária nacional.

Dentre às manifestações clínicas das doenças periodontais pode-se observar gengivite, recessão gengival, formação de bolsa periodontal, sangramento à sondagem, supuração, mobilidade e perda de dentes.

Nesse sentido, o critério para se avaliar a frequência da doença periodontal deve ser o exame clínico intra-bucal. Por esta não ser uma prática rotineira nas propriedades a doença periodontal passou a ser um problema sanitário negligenciado.

O uso da virginiamicina no controle e prevenção da doença periodontal em bovinos é descrito há mais de duas décadas, porém não foram realizadas análises do perfis bioquímicos séricos e salivares, para que se pudesse verificar quais as possíveis alterações e correlações que aqueles animais expressavam naquele momento.

Como importante ferramenta diagnóstica; o plasma sanguíneo reflete a situação metabólica dos tecidos animais, de forma a indicar lesões teciduais e desequilíbrios metabólicos específicos ou de origem nutricional.

A saliva como método para diagnóstico é não-invasiva, de fácil coleta, baixo custo e de disponibilidade imediata; além de ser capaz de fornecer biomarcadores moleculares para prevenção, monitoramento e diagnóstico de várias alterações bucais.

As análises séricas e salivares vêm sendo amplamente utilizadas como marcadores de diversas enfermidades em humanos e outras espécies. A caracterização destas alterações bioquímicas séricas e salivares corroborariam com o exame clínico, além de caracterizar estas doenças bucais a nível sistêmico.

Nesse contexto, o presente estudo teve por objetivo avaliar clinicamente a ocorrência da doença periodontal (gengivite e gengivite

necrosante) e verificar suas correlações com os exames bioquímicas séricos e salivares.

2. Revisão de literatura

2.1 Doença periodontal

2.1.1 Definição

As doenças periodontais são respostas imuno-inflamatórias progressivas ou crônicas do tecido gengival e de sustentação do dente, causadas pela disbiose da complexa microbiota bucal, a qual pode atingir o ligamento periodontal e o osso alveolar levando à periodontite e a possível perda da unidade dental (Wayne et al. 2001; Silva, 2015).

Nos humanos e animais as doenças periodontais que recebem destaque são as gengivites, a periodontite crônica, a periodontite agressiva, as doenças periodontais necrosantes, os abscessos periodontais e a periodontite como manifestação de doenças sistêmicas (Papanou e Lindhe, 2010).

2.1.2 Gengivite e gengivite necrosante

A gengivite é caracterizada como a inflamação da gengiva em resposta ao biofilme de maturação subgengival e/ou supragengival, a qual é considerada ainda a forma reversível da doença periodontal (Kistler et al., 2013).

Em episódios de gengivite, o tecido gengival permanece com coloração vermelha intensa, que pode ser focal, difusa ou generalizada, além de poder apresentar aspecto esponjoso ou edemaciado. Na margem gengival pode haver presença de um biofilme calcificado (cálculo) ou não e sangramento espontâneo ou por meio da sondagem leve pode ocorrer o que permite afirmar que realmente se trata de um quadro de gengivite. A categorização da gengivite pode ser ainda em leve, moderada e severa (Loe, 1967; Lang et al., 2009; Fiorellini et al., 2012).

Nos estudos sobre a doença periodontal em bovinos, Döbereiner et al. (1974) e Gould et al. (1987), relataram a gengivite associada à formação de bolsa na doença periodontal observando bovinos adultos.

A gengivite necrosante em humanos é uma enfermidade causada por um complexo de micro-organismos que afeta o tecido de proteção do dente. Quando não tratada, ela pode progredir para periodontite necrosante, acometendo de forma aguda, o ligamento periodontal e o osso alveolar conduzindo para a perda do dente (Listgarten, 1965; Novak, 1999; Herrera et al., 2014).

Caso ocorra juntamente com a estomatite necrosante, o processo passa a ser denominado de doença periodontal necrosante e ocorre em evolução veloz e provoca lesões dolorosas, sendo relacionadas entre si como estágios diferentes de uma mesma doença (Riley et al, 1992).

Os sinais clínicos da enfermidade necrosante são depressão da crista das papilas interdentais, estendendo à margem gengival, sendo recobertas por uma pseudomembrana branco-acinzentada ou amarelada que é composta por leucócitos, eritrócitos e uma massa bacteriana em quase toda a sua totalidade. Além disso, é característico o odor fétido, aumento da salivação, fácil sangramento (principalmente quando retirada a pseudomembrana) e dor local. Em alguns casos, a membrana não está presente, deixando o epitélio avermelhado, brilhante e hemorrágico (Dean e Singleton, 1945; Riley et al., 1992).

2.1.3 Periodontite bovina

A periodontite pode ser decorrente da gengivite, no entanto necessita da interação do biofilme e de algum fator modificador (Loe, 1967; Albandar et al., 2000; Albandar, 2002). É caracterizada por ser a resposta inflamatória de um hospedeiro suscetível, desencadeada por uma complexa microbiota e que resulta na

perda de ligamentos periodontais, perda óssea e possível esfoliação do dente (Loesche, 1993; Schenkein, 2006).

Nas décadas de 1960 e 1970, com a abertura de extensas áreas de vegetação natural para a introdução da pecuária nas regiões Sudeste e Centro-Oeste; uma forma de doença periodontal denominada de “cara inchada” tornou-se nessas áreas uma das mais importantes enfermidades dos bovinos (Dobereiner et al., 2004).

A enfermidade, cuja incidência declina naturalmente após períodos variáveis, reincide em áreas anteriormente endêmicas após a reforma das pastagens ou o emprego das forrageiras cultivadas na alimentação dos animais (Dutra et al., 1993). Inicialmente restrita às pastagens formadas em solo de boa qualidade em áreas de matas virgens, a doença também incidiu nas áreas de cerrado após a introdução das braquiárias, a partir da década de 1970 (Dobereiner et al., 2000).

Dentre as causas nutricionais possivelmente envolvidas na etiologia da “cara inchada”, a que recebeu desde o início a maior ênfase da pesquisa foi uma provável deficiência ou desequilíbrio de minerais na dieta dos animais. No entanto, esta hipótese não foi confirmada, e os experimentos que relataram efeitos benéficos de suplementos minerais desconsideraram particularidades epidemiológicas importantes (Rosa e Dobereiner, 1994).

Nas pesquisas recentes, a doença periodontal apresentou-se em forma de abscessos e bolsas periodontais, se fazendo necessária a realização do exame da cavidade bucal para a confirmação do diagnóstico, porém devido a esta prática não ser rotineira nas propriedades, a enfermidade passou a ser negligenciada ou associada a actinomicose. A progressão das gengivites em periodontites está relacionada a fatores individuais, ambientais e a presença de determinados micro-organismos naturalmente pertencentes a microbiota subgengival e

supragengival (Lang et al. 2010).

É provável que a periodontite bovina tenha um impacto significativo sobre o bem-estar dos animais afetados, já que pode ser uma condição dolorosa crônica, levando à dificuldade de alimentação com a consequente perda de condição corporal, peso e diminuição da produtividade. A dor bucal pode ter apenas efeitos sutis sobre o comportamento do gado, e assim, a enfermidade é facilmente ignorada ou esquecida (Borsanelli et al., 2018).

2.2. Análises hematológicas

O hemograma é realizado para avaliar o estado de saúde geral e como elemento de apoio a um diagnóstico ou de acompanhamento de um tratamento. O hemograma, através da volta progressiva aos parâmetros normais, é também um dos melhores métodos para avaliar o acerto na escolha de uma terapia.

A importância da hematologia como meio semiológico, auxiliando no estabelecimento de diagnósticos, firmar prognósticos e acompanhar os tratamentos das inúmeras enfermidades que atingem os animais domésticos é reconhecida e consagrada mundialmente (Birgel Junior, 2001).

Animais criados sob diferentes condições climáticas e de manejo podem apresentar evidentes variações dos elementos constituintes do hemograma; além disso, fatores etários, sexuais, raciais, nutricionais, infecciosos e parasitários podem influenciar nos índices hematológicos (Russof e Piercy, 1946; Russof et al., 1954; Schalm, 1964).

Hilali et al. (2006) verificaram que a contagem total de leucócitos, linfócitos e monócitos em búfalos aumenta durante processos infecciosos. Zargham Khan et al. (1997) e Jain (1993) relataram que, em búfalos e bovinos respectivamente, o aumento da contagem total de leucócitos constituiu indicador confiável de

doença inflamatória aguda, enquanto o aumento do teor plasmático de fibrinogênio foi mais confiável tanto na fase aguda como crônica da inflamação.

Em estágios iniciais de gengivite, as mudanças clínicas podem passar despercebidas, mas a população leucocitária já pode ser encontrada, assim como células inflamatórias como linfócitos, macrófagos e neutrófilos são possíveis de serem detectadas a nível local (Kinane, 2001; Kinane et al., 2005). O progresso da doença periodontal é caracterizado por um infiltrado inflamatório crônico, onde os linfócitos são predominantes (Berglundh et al., 1993; Katz e Michalek, 1998).

2.3 Análises bioquímicas séricas

A composição bioquímica do plasma sanguíneo reflete a situação metabólica dos tecidos animais, de forma a poder indicar lesões teciduais, transtornos no funcionamento dos órgãos, adaptação do animal diante de desafios nutricionais, desequilíbrios metabólicos específicos ou de origem nutricional (González e Scheffer, 2003).

A interpretação do perfil bioquímico é complexa tanto aplicada a rebanhos quanto a indivíduos, devido a mecanismos que controlam o nível sanguíneo de vários metabólitos e devido, também, a grande variação desses níveis em função de fatores como raça, idade, estresse, dieta, nível de produção leiteira, manejo, clima e estado fisiológico (González e Scheffer, 2003).

Como análises que podem ser realizadas têm-se as proteínas que fornecem a estrutura, catalisam as reações celulares e executam várias outras tarefas (Lehninger et al., 1995). A mensuração do total de proteínas reflete uma combinação entre a albumina e as globulinas (Meyer e Harvey, 2004).

O fígado sintetiza quase todas as proteínas do plasma, com

exceção das imunoglobulinas e gamaglobulinas que são produzidas pelos tecidos linfóides. É o fígado que faz a maior parte do catabolismo dessas proteínas e o restante é executado pelo tubo digestivo e pelos rins (Duncan e Prasse, 2003).

Já a albumina é sintetizada nas células hepáticas e suas principais funções relacionam-se ao transporte de bilirrubina, magnésio e cálcio; além disso, interfere na manutenção da pressão oncótica do plasma e na estabilização dos sistemas coloidais. A hiperalbuminemia ocorre na desidratação e a hipoalbuminemia tem como causas principais as deficiências alimentares, nefropatias, hepatopatias, infecções graves e eclâmpsia (Kaneco, 1997).

A albumina também é uma proteína de fase aguda negativa, conseqüentemente, uma leve hipoproteinemia é freqüentemente encontrada em doenças inflamatórias. A síntese de albumina é também diminuída em resposta a hiperglobulinemia (Hendrix, 2002).

O fígado é a única fonte de produção de albumina no organismo, assim uma hipoalbuminemia poderia ser uma manifestação da incapacidade hepática de sintetizar essa proteína (Nelson e Couto, 2001).

A ureia também é formada no fígado e representa o principal produto do catabolismo das proteínas nas espécies carnívoras e onívoras. A uréia passa através do filtro glomerular e cerca de 25% a 40% dela é reabsorvida ao passar pelos túbulos. Uma taxa de filtração glomerular reduzida aumenta a concentração de ureia no sangue, seu nível também pode estar aumentado pelo aumento do consumo dietético de proteína, colapso catabólico ou hemorragia no interior do trato gastrointestinal (Meyer et al., 1995).

O excesso de proteína na alimentação leva a um aumento na deaminação e aumenta a concentração plasmática de uréia. As concentrações resultantes não são muito altas, apenas cerca de 7 a 10 mmol/L na maioria das espécies. A proteína alimentar de

baixa qualidade pode ter o mesmo efeito, ou seja, os aminoácidos não essenciais serão deaminados na ausência dos aminoácidos essenciais, levando a um discreto aumento das concentrações plasmáticas de uréia. Quando não há energia suficiente na dieta, os estoques corporais de proteína são deaminados de seus esqueletos de carbono (Kerr, 2003).

Em relação as enzimas, o músculo esquelético, o músculo cardíaco e o fígado são os três órgãos com maiores concentrações de aspartato amino transferase (AST) por grama de tecido. A avaliação da atividade de AST no soro de grandes animais é utilizada como indicador de lesão hepática e/ou muscular (Duncan e Prasse, 1982).

Já a gama glutamiltransferase (GGT) é a enzima encontrada na membrana celular, portanto, não está visivelmente elevada na doença hepática aguda como ocorre com as transaminases (Anderson, 1992). Em todas as espécies é encontrada em vários órgãos: rins, pâncreas, fígado, intestino e células musculares (Hendrix, 2002; Duncan e Prasses, 2003).

A atividade sérica de GGT aumenta no soro sanguíneo como resultado de desordens hepatobiliares e na urina, durante o início de toxicidade tubular renal. É geralmente encontrada na superfície externa das células dos ductos biliares. Desordens colestásicas resultam marcadamente no aumento da atividade de GGT no soro sanguíneo em todas as espécies estudadas, possivelmente secundárias a solubilização da membrana das células dos ductos biliares por aumento concentração dos ácidos biliares hepáticos (Hoffmann et al., 1989).

Os túbulos renais têm uma atividade tecidual de GGT relativamente alta. No entanto, lesão tubular aguda resulta numa rápida elevação na atividade de GGT na urina, mas não na circulação (Meyer e Harvey, 2004).

A fosfatase alcalina (FA) é uma enzima de membrana, que

catalisa a hidrólise alcalina de uma grande variedade de substratos e é encontrada primariamente no fígado, túbulos renais, intestino e tecido ósseo. (Meyer e Harvey, 2004).

Em animais jovens pode apresentar-se com atividade elevada devido ao alto metabolismo destes animais em fase de crescimento; distúrbios gastrointestinais podem estar associados à elevação da atividade sérica desta enzima também (Anderson, 1992; Kerr, 2003).

A faixa de valores normais é muito variável, algo em torno de 300UI/L na maioria das espécies. Maiores atividades enzimáticas são encontradas em filhotes com alta atividade osteoblástica e, após o fechamento dos discos epifisiários, são encontradas menores atividades (Kerr, 2003). A FA possui algumas isoenzimas, dentre elas a hepática, a óssea e a placentária (Duncan e Prasses, 2003).

Com relação aos minerais cálcio, fosfato e magnésio suas concentrações no plasma e fluido extracelular são controlados dentro de estreitos limites. Aproximadamente 50% do cálcio ionizado é carregado pela albumina. A albumina tem aproximadamente 12 receptores de cálcio por molécula com 20% normalmente ocupado (Meyer e Harvey, 2004).

Os minerais são todos os elementos inorgânicos encontrados em uma determinada estrutura. Podem ser encontrados na forma de sal ou combinados a outros elementos orgânicos como carbono, hidrogênio, oxigênio e nitrogênio. Estão presentes nas células exercendo inúmeras funções, combinações químicas e concentrações dependentes do elemento e tecido (Underwood e Suttle, 1999; Mcdowell, 1992).

O sistema endócrino envolvendo o cálcio, a vitamina D3, o paratormônio e a calcitonina, responsáveis pela manutenção dos níveis sanguíneos de cálcio, atua de forma bastante eficiente para ajustar-se à quantidade de cálcio disponível no alimento e às

perdas que acontecem, principalmente na gestação e lactação. O firme controle endócrino do cálcio faz com que seus níveis variem muito pouco (17%) comparado como o fósforo (variação de 40%) e o magnésio (variação de 57%). Portanto o nível sanguíneo de cálcio não é um bom indicador do estado nutricional, enquanto os níveis de fósforo (P) e magnésio (Mg) refletem diretamente o estado nutricional com relação a estes minerais (González e Scheffer, 2003).

A disponibilidade de fósforo alimentar diminui com a idade (90% em bezerros, 55% em vacas adultas). Assim os níveis sanguíneos de P são menores em animais mais velhos (González e Scheffer, 2003). Não há um rigoroso controle hormonal do P e por isso, as concentrações na corrente sanguínea e no soro variam livremente. O excesso de P na alimentação provoca maior excreção renal e aumento da concentração do elemento na saliva o que provoca elevação da perda fecal de P (Underwood e Suttle, 1999).

Os níveis de P inorgânico no plasma e soro fornecem uma boa indicação do P total em um animal. As concentrações plasmáticas ou séricas de cálcio são inversamente relacionadas. Com a diminuição da concentração de P aumenta a concentração de cálcio (Hendrix, 2002).

Magnésio (Mg) por sua vez é o quarto cátion mais comum no corpo e o segundo cátion intracelular. É encontrado em todos os tecidos corporais. Mais de 50% do Mg corporal é encontrado nos ossos. O Mg ativa os sistemas enzimáticos e é envolvido em produção e decomposição da acetilcolina (Hendrix, 2002).

Não existe controle homeostático rigoroso do Mg, portanto, sua concentração sanguínea reflete diretamente o nível da dieta. O controle renal de Mg está mais direcionado para prevenir a hipermagnesemia, mediante a excreção do excesso de Mg pela urina. O Mg é absorvido no intestino por um sistema de transporte

ativo que sofre a interferência da relação sódio:potássio e ainda pela quantidade de energia, Ca e de P presentes no alimento.

A hipomagnesemia tem sérias conseqüências para os ruminantes podendo levar até a morte, enquanto que a hipermagnesemia não causa maior transtorno. A hipomagnesemia ou a tetania hipomagnesêmica constitui uma doença da produção, geralmente causada pela baixa ingestão de Mg na dieta. A hipomagnesemia pode causar, além da tetania, hiperexcitabilidade, retenção de placenta, bem como anormalidade da digestão ruminal e diminuição da produção de leite. Também predispõe à apresentação de febre do leite em vacas após o parto, devido a níveis baixos de Mg (<2mg/dl) que reduzem drasticamente a capacidade de mobilização das reservas de Ca dos ossos (González e Scheffer, 2003).

2.4 Análises bioquímicas salivares

A saliva exerce diversas funções de proteção contra a erosão dental. Dentre elas, destacam-se sua habilidade neutralizadora pela diluição de ácidos presentes na boca, seus sistemas de tamponamento que neutralizam ácidos, sua habilidade de manter a supersaturação à presença de cálcio e fosfato, a formação da película salivar que protege a superfície do esmalte contra a desmineralização dentária e a presença de cálcio, fosfato e de fluoretos essenciais nos processos de remineralização (Moss; 1998).

No trato digestório, a saliva tem importante papel na fisiologia esofágica, na digestão e na proteção das células gástricas. Na boca, ela participa efetivamente na mastigação, fala, deglutição, sensibilidade gustativa, lubrificação dos tecidos, proteção das mucosas contra a invasão de diversas substâncias, atividade antibacteriana, antifúngica e antivirótica, maturação pós-

eruptiva e regulação do balanço iônico na remineralização do esmalte, deposição da película adquirida e limitação da difusão de ácidos (Mandel, 1987).

De acordo com Mandel (1990), dentre as diversas possibilidades de uso da saliva como meio para diagnóstico, podemos citar a sua utilização nas medidas de risco de cárie, utilizando a mensuração do fluxo salivar, capacidade tamponante, potencial hidrogeniônico (pH) e para contagem de microorganismos, particularmente o *Streptococcus mutans*.

Porém, os avanços nos métodos de análise já tomam outras proporções de modo a propiciar uma extensão na aplicabilidade de outros métodos de análises salivares ampliando as possibilidades de diagnósticos. Também é importante considerar que uma vantagem de usar saliva como um material para diagnóstico, é que ela pode ser obtida de forma não invasiva e repetida quando necessário.

As proteínas salivares são formadas nas células acinares das glândulas salivares e a concentração tem relação dependente com o fluxo salivar. As proteínas são os elementos mais abundantes e importantes da saliva e são classificadas preponderantemente de acordo com suas características químicas e atividades biológicas (Pinheiro, 2000).

As glândulas salivares maiores secretam a maior parte das proteínas e a parótida contribui com 20 a 30% da secreção de proteínas totais na saliva e com 80% da síntese das enzimas (Castagnola, 2010).

A ureia também reflete os danos sofridos pelas células das glândulas salivares (Cowman, 1983; Belccioloni, 1984). A ureia é clivada pelas bactérias bucais em amônia e dióxido de carbono, resultando em aumento de pH salivar. Suddck, Hyde e Feller (1984), afirmaram que a ureia exerce função importante na fisiologia salivar devido a capacidade de neutralização dos ácidos

produzidos pelo metabolismo das bactérias do biofilme.

A ureia é um componente orgânico normal da saliva, que causa uma rápida elevação no pH do biofilme dental e representa o produto final do catabolismo humano das proteínas. É um indicador da síntese proteica nas células acinares (Mandel, 1980). Estudos demonstram que concentrações elevadas de ureia salivar podem ser indício de doenças sistêmicas (Pajukoski et al, 1997).

A ureia é clivada pelas bactérias bucais em amônia e dióxido de carbono, resultando em aumento do pH bucal, porém a amônia é potencialmente citotóxica para os tecidos gengivais (Slots et al, 1984). Esta substância pode aumentar a permeabilidade do epitélio sulcular a outras substâncias antigênicas e tóxicas, promovendo a formação de cálculo dental além de desempenhar um papel no processo de iniciação da gengivite (Singer et al, 1978).

Uma resposta de um organismo à infecção periodontal inclui a produção de várias famílias enzimáticas que são liberadas do estroma epitelial, células inflamatórias ou bacterianas. As mesmas enzimas intracelulares são cada vez mais liberadas das células danificadas dos tecidos periodontais e saliva. Algumas são particularmente relevantes neste grupo de enzimas como as seguintes: aspartato amino transferase (AST), gamamaglutamil transferase (GGT) fosfatase alcalina (FA). Estas enzimas também podem ser úteis para medir a eficácia de terapia periodontal e testar a atividade da doença periodontal. Com a AST ajudando a monitorar a progressão da doença periodontal.

Quando um tecido periodontal adocece, ou suas células ficam danificadas, devido a edema ou destruição da membrana celular, estas enzimas intracelulares são liberadas em quantidades maiores para o fluido crevicular gengival e a saliva onde sua atividade pode ser medida. Assim, essas enzimas podem ser marcadores bioquímicos da condição funcional dos tecidos periodontais.

O cálcio salivar atua na remineralização do esmalte e ativa determinadas enzimas, contribuindo para a homeostasia bucal e defesa às cáries. Ele é encontrado sob a forma de um íon bivalente na saliva humana na concentração média de 5 a 7 mg/100mL (Craig e Stitzel, 1986).

Já o mineral fósforo é um elemento não metálico e cerca de 85% encontra-se nos ossos e dentes, principalmente na forma de hidroxiapatita, a uma razão de 1:2 em massa, com o cálcio (Oliveira, 2007); é encontrado no plasma está em equilíbrio não só com os fosfatos inorgânicos dos ossos e das células, mas também com um grande número de compostos orgânicos resultantes do metabolismo celular (Tomassi; Kreider, 2002).

Tem muitas funções biológicas na saliva, sendo a mais importante a contribuição para o produto de solubilidade com relação ao fosfato de cálcio visando a manutenção da estrutura dentária. É um importante elemento na capacidade tamponante salivar e participa como nutriente para microbiota oral, essencial no metabolismo da glicólise (Tomassi; Kreider, 2002).

É um ânion importante tanto intra como extracelular. No líquido extracelular e em pH fisiológico, a maior parte do fosfato existe nas formas inorgânicas monovalentes (diidrogenofosfato) e divalentes (hidrogenofosfato), e é estreitamente regulado com o cálcio (Aps e Martens, 2005).

Já o magnésio (Mg) é o quarto íon mais abundante do organismo, sendo, em nível intracelular, o segundo mais prevalente. Atua como cofator em mais de 300 reações metabólicas, como no metabolismo energético e proteico, glicólise e síntese de adenosina trifosfato. Atua, ainda, na estabilidade da membrana neuromuscular e cardiovascular e como regulador fisiológico da função hormonal e imunológica. (Wilborn et al., 2004; Macêdo et al., 2010).

Níveis adequados de magnésio salivar contribuem para a

maturação do esmalte, aumentando a dureza da superfície, diminuindo a permeabilidade e elevando sua resistência à doença cárie. (Lima et al., 2005).

2.5 Virginiamicina em bovinos

A virginiamicina é um aditivo antimicrobiano aprovado para uso em bovinos para melhorar o desempenho (Guo et al., 2010). Já no Brasil o uso da virginiamicina está regulamentado conforme instrução normativa nº 26 estabelecido pelo Ministério da Agricultura pecuária e Abastecimento (MAPA).

É um antibiótico classificado na classe das Estreptograminas, juntamente com a pristinamicina, pois tem dois compostos quimicamente distintos, um hexadepsipeptídeo, denominado virginiamicina M (VM) e uma macrolactona, virginiamicina S (VS), que podem ser utilizados tanto como bactericidas como bacteriostáticos (Cocito, 1979; Spinosa, 2011).

Por muito tempo acreditava-se que a melhoria do desempenho adicional de bovinos que consumiram a virginiamicina ocorria em função do aumento na síntese de ácido propiônico, pois a virginiamicina seleciona bactérias gram negativas, as quais são produtoras deste ácido. Porém as inferências mais recentes sugerem que outros processos acontecem como incremento na síntese de proteína microbiana, o qual é o principal mecanismo de ação deste antibiótico como relatado por Araújo (2016) e que pode justificar os ganhos em peso adicionais.

No ambiente a virginiamicina é rapidamente degradada, já no organismo a absorção é bem limitada pela metabolização ser rápida, sendo mais de 94% excretados nas fezes. (Araújo et al., 2016).

Como suplementação da dieta tem sido uma ferramenta cada vez mais utilizada na produção de bovinos como estratégia para diminuir custos, melhorar a conversão alimentar, o desempenho em peso e/ou beneficiar o metabolismo dos nutrientes

por meio da modulação da fermentação, contribuindo assim para crescimento do animal. (Cocito, 1979).

Os animais com tratamento a pasto possuem uma taxa de ganho em peso não uniforme, não sendo possível até o momento verificar associações a diferentes fontes protéicas e energéticas e/ou mudanças desses substratos ao longo do crescimento do animal e reduzir a idade ao abate, o que justifica a importância de mais pesquisas com tal enfoque (Costa, 2016).

Outro fator que pode contribuir para explicar a eficiência da virginiamicina é o seu potencial de reduzir a deaminação de proteína dos alimentos, reduzindo o teor de amônia ruminal, o que aumenta a passagem e absorção para o intestino delgado e causa economia de nitrogênio para o ruminante (Spears, 1990), porém esta inferência é bastante controversa (Costa, 2016).

3 Referências

Albandar JM (2002) Global risk factors and risk indicators for periodontal diseases. **Periodontology** 29: 177-206.

Albandar JM, Streckfus CF, Adesanya MR, Winn DM (2000) Cigar, pipe, and cigarette smoking as risk factors for periodontal disease and tooth loss. **Journal of Periodontology** 71: 1874-1881.

Anderson VN **Veterinary gastroenterology**. 2. ed., Philadelphia: Lea & Febiger, 1992. 873 p.

Aps JKM, Martens LC (2005) Review: The physiology of saliva and transfer of drugs into saliva. **Forensic Science International. Science direct Elsevier** 150 :119-131.

Araújo DB, Barbosa LFSP et al. (2016) Use of virginiamycin in cattle feeding. In: MILLEN, D. D.; ARRIGONI, M. B.; PACHECO, R. D. L. (Ed.) **Ruminology**, 1 ed. Springer International Publishing Switzerland 7: 189-201.

Beccioloni A, Gianariddi G, Cionini, L et al. (1984) Plasma amylase activity as a biochemical indicator of radiation injury to salivary glands. **Acta Radiologica Oncology** 23: 9-14.

Berglundh, T.; Lindhe, J. (1993) Gingivitis in young and old dogs. *Journal Clinical Periodontology*, v. 20, p. 179-185.

Birgel Júnior EH et al. (2001) Valores de referência do eritrograma de bovinos da raça Jersey criados no Estado de São Paulo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte 53 :164-171.

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

Castagnola M, Picciotti PM, et al. (2010) Potential applications of human saliva as diagnostic fluid. **Acta Otorhinolaryngol Italian** 31: 347-57.

Cocito C (1979) Antibiotics of the virginiamycin family, inhibitors which contain synergistic components. **Microbiological reviews** 43: 145–192.

Cowman RA, Baron SS, Glassman AH, et al. (1983) Changes in protein composition of saliva from radiation-induced xerostomia in patients and its effects on growth of oral streptococci. **Journal Dentistry Research**. 62: 336-40.

Craig CR; Stitzel RE (1986) **Modern Pharmacology**. Issue 1 36 - 118.

Dean HT, Singleton DE (1945) Vincent's infection – A Wartime Disease. **American Journal of Public Health** 35 :433-440.

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

Dobereiner J, Inada T, Tokarnia CH (1974) “Cara inchada”, doença periodontária em bovinos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 9:63-85.

Duncan RJ, Prasse K W (1982) **Patologia clínica veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 217p.

Duncan RJ, Prasse K W (2003) **Clinical pathology**. 4 ed. Athens: Iowa State Press,. 450 p.

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

Dutra IS, Dobereiner J, Cara inchada dos bovinos. In: RIET-CORREA, F. et al. **Doenças de Ruminantes e Equídeos**, 2ªed. Varela: São Paulo, v.1, p. 397-401, 2001.

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

Fiorellini JP, Kim DM, Uzel NG Clinical Features of Gingivitis, In: NEWMAN, M. G.; TAKEI, H. H.; KLOKKEVOLD, P. R.; CARRANZA, F. A. (Ed.) **Carranza's Clinical Periodontology**, 11. ed. Missouri: Elsevier, 2012. cap. 8, p. 76-83.

González FHD, Scheffer JFS (2003) Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. In: SIMPÓSIO DE PATOLOGIA CLÍNICA VETERINÁRIA DA REGIÃO SUL DO BRASIL, 1, 2003, Porto Alegre. **Anais...** Porto alegre: UFRGS, , p.73-89.

Gould PW, Spence J A, Aitchison GU (1987) Incisor tooth loss in cows. **Veterinary Records**, v. 21, n. 8A, p. 191-192.

Hendrix CM (2002) **Laboratory procedures for veterinary technicians**. 4.ed Philadelphia : Mosby, 559 p.

Herrera D, Alonso B, Arriba L, Cruz IS, Serrano C, Sanz M (2014) Acute periodontal lesions. **Periodontology** 2000 65: 149-177.

Hoffmann WE, Kramer J, Main AR, Torres JL (1989) **Clinical enzymology in the clinical chemistry of laboratory animals**. New York: Pergamon Press. 762p.

Jain NC (1993) Essentials of veterinary hematology. Philadelphia: Lea & Febiger,. 417 p

Kaneko JJ (1997) Serum proteins e as dysproteinemias. In: KANEKO, J. J. Clinical biochemistry of domestic animals. 5 ed. San Diego: Academic Press,.ap. 5, p.117-129.

Katz J, Michalek SM. (1998). Effect of immune T cells derived from mucosal or systemic tissue on host responses to Porphyromonas gingivalis. *Oral Microbiol Immunol*; 13(2):73-80.

Kerr GM (2003) **Exames laboratoriais em Medicina Veterinária**. 2.ed. São Paulo: Roca, 436 p

Kistler JO, Booth V, Bradshaw DJ, Wade WG (2013) Bacterial Community Development in Experimental Gingivitis. **Plosone**, v. 8, n. 8.

Lang NP, Schatzle MA, Loe H (2009) Gingivitis as a risk factor in periodontal disease. **Journal Clinical Periodontolog** 36:3–8.

Lehninger AL, Nelson DL, Cox MM (1995) **Princípios de bioquímica**. 2.ed. São Paulo: Savier, 839p.

Listgarten MA (1965) Electron microscopc observation on the bacterial flora of acute necrotizing ulcerative gingivitis. **Journal of Periodontology** 36 :328-339.

Loe H (1967) The Gingival Index, the Plaque Index and the Retention Index Systems. **Journal of Periodontology** 38: 610–616.

Loesche WJ (1993) Bacterial mediator in periodontal diseases. **Clinical Infectious Diseases** 16 :203-210.

Macêdo EMC et al. (2010) Efeitos da deficiência de cobre, zinco e magnésio sobre o sistema imune de crianças com desnutrição grave. **Rev. Paul. Pediatr. São Paulo** .28:3

Meyer DJ, Coles HE, Rich LJ (1995) **Medicina de laboratório veterinária: interpretação e diagnóstico**. São Paulo: Roca,. 308p.

Meyer DJ, Harvey JW (2004)**Veterinary laboratory medicine: interpretation & diagnosis**. 2.ed. Philadelphia: Saunders, 351p.

Nelson, Richard W, Couto C, Guillermo (2001) **Medicina interna de pequenos animais**. 2.ed. Rio de Janeiro. Editora Guanabara Koogan., 1084p.

Novak MJ (1999) Necrotizing ulcerative periodontitis. **Annals of Periodontology** 4: 74-78.

Numabe Y, Hisano A, Kamoi K, Yoshie H, Ito K, Kurihara H. (2004) Analysis of saliva for periodontal diagnosis and monitoring. *Periodontology* 40:115-9.

Papapanou PN, Lindhe J. (2010) Epidemiologia das doenças periodontais. In: LINDHE, J.; LANG, N. P.; KARRING, T. **Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral**, 5ªedição. Guanabara-Koogan: Rio de Janeiro, cap. 7, p. 197-254.

Pinheiro CE (2000) Bioquímica da saliva. *Revista paulista de Odontologia*, v.3, pg.41-50.

Ramos T.N.M., Borsanelli A.C., Saraiva J.R. Vaccari J., Schweitzer C.M., Gaetti-Jardim Jr. E., Dutra I.S. 2019. Efficacy of virginiamycin for the control of periodontal disease in calves. *Pesq. Vet. Bras.* 39(2) .

Riley C, London JP, Burmeister JA (1992) Periodontal health in 200 HIV-positive patients. **Journal of Oral Pathology e Medicine** 21: 124-127.

Rosa IV, Dobereiner J (1994) “Cara inchada” dos bovinos e deficiências minerais. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 14: 43-48.

Russof LL, Piercy PL (1946) Blood studies of Louisiana dairy cows. II. Calcium, inorganic phosphorus hemoglobin value, erythrocyte count, leukocyte and differential leukocyte percentages. **J. Dairy Sci.** 29: 831-838.

Rusoff LL, Johnston JE, Branton C. (1954) Blood studies of breeding dairy bulls. I. Hematocrit, hemoglobin, plasma calcium, plasma inorganic phosphorus, alkaline phosphatase, values erythrocytes count and leukocyte count. **J. Dairy Sci.** 37: 30-36.

Schalm OW (1964) Hematologia Veterinária. México:, UTEHA, p.145-163.

Schenkein H A (2006) Host responses in maintaining periodontal health and determining periodontal disease. **Periodontology** 2000, 40: 77-93.

Silva NS (2015) **Periodontite em ovinos no estado do Pará: etiologia, aspectos epidemiológicos e clínico- patológicos.** 104 f. Tese de Doutorado em ciência Animal, Universidade Federal do Pará.

Singer D L, Kleinberg I (1978) Ammonia and urea content of human incisor tooth plaque. *Archives of Oral Biology.* v.23, pp.1083-7,

Spinosa HS (2011) Antibióticos bacteriostáticos que interferem na síntese proteica: Macrolídeos, Licosaminas, Pleuromutilinas, Estreptogrmainas, Tetraciclina, Cloranfenicol e Derivados, P. 464 – 473 In: _____ . (Ed.) **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**, 5^o ed. Guanabara Koogan, 823 p.: il.

Suddick RP, Hyde RJ, Feller RP (1984). Saúde bucal, água, eletrólitos salivares. In: Menaker,L; Marhart, RE; Navia JM. Cárie Dentária- bases biológicas. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, v.8, pg. 118-131,

Tomassi G, Kreider RB (2002). Phosphorus – an essential nutrient for human diet. *Imphos Newsletter.* v.16, pp. 1.

Underwood EJ, Suttle, NF (1999) **Mineral nutrition of livestock.** 3.ed. London: CABI publishing. 614p.

Zargham Khan M., Muhammad G., Umar A. 1997. A preliminar comparison of plasma fibrinogen concentrations, leukocyte numbers and erythrocyte sedimentation rate as non-specific indicators of inflammatory conditions in buffalo (*Bubalis bubalis*). *Vet. Res. Commun.* 21: 265-271.

Wayne DB, Trajtenberg CP, Hyman DJ (2001) Tooth and periodontal disease: a review for the primary-care physician. **South Medical Journal** 94: 925-932.

Wilborn CD, et al. (2004) Effects of zinc magnesium aspartate (ZMA) supplementation on training adaptations and markers of anabolism and catabolism. **J. Int. Soc. Sports Nutr.** Woodland Park 1 : 12-20.

CAPÍTULO 2 - Avaliação dos perfis hematológicos, bioquímicos séricos e salivares de bovinos com doença periodontal¹

Juliana Vaccari², Antônio Hernandes Chaves - Neto⁴, Thamiris Naiasha Minari Ramos², Ana Carolina Borsanelli³, Júlia Rebecca Saraiva², Natalia Cristina de Souza², Suely Regina Mogami Bombim⁴, Iveraldo Santos Dutra⁵

Abstract. – Vaccari J., Chaves-Neto A.H., Ramos T. N. M., Borsanelli A. C., Saraiva J. R., Souza N. C., Bomfim S. R. M., Dutra I. S. (**Evaluation of hematological, serum and salivary biochemical profiles of bovines with periodontal disease**). **Avaliação dos perfis hematológicos, bioquímicos séricos e salivares de bovinos com doença periodontal.** *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0): 00-00. Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal. Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Rua Clóvis Pestana 793, Cx. Postal 533, Jardim Dona Amélia, Araçatuba, SP 16050-680, Brasil. E-mail: iveraldo.dutra@unesp.br

Periodontal diseases comprise a wide variety of inflammatory conditions that can lead to tooth loss. Its onset and occurrence occur, at least in part, due to the dysbiosis of the microbiota present in the oral cavity. Virginamycin has been shown to be effective in controlling periodontal disease, but the mechanisms of its action have not yet been characterized. The objective of this study was to evaluate the hematological, serum and salivary biochemical profiles of bovines with periodontal disease. Ten weaned calves, aged 4 to 6 months, maintained on rotational grazing in a reformed area were randomly divided into two groups (n = 5 each group): control and treatment, and during the whole experimental period they remained in the same lot, following the same management. The animals in

¹Recebido em

² Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária, Universidade Estadual Paulista (Unesp), via de acesso Professor Paulo Donato Castellane s/n, Jaboticabal, SP 14884-900, Brasil. E-mail: juliana_vacari@hotmail.com;

³Pós-doutoranda em Medicina Veterinária no Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinária, Unesp, campus Araçatuba, Rua Clóvis Pestana 793, Jardim Dona Amélia, Araçatuba, SP 16050-680. E-mail: carol_borsanelli@yahoo.com.br;

⁴ Programa de Pós-Graduação Multicêntrico em Ciências Fisiológicas, Faculdade de Odontologia (Unesp), Rua José Bonifácio, 1193, Araçatuba, SP 16015-050, Brasil. E-mail: antoniohernandes@foa.unesp.br;

⁵Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinária, Unesp, campus Araçatuba, Rua Clóvis Pestana 793, Jardim Dona Amélia, Araçatuba, SP, 16050-680. *Autor correspondente: iveraldo.dutra@unesp.br

the treatment group received orally pour-dressing 340 mg of virginiamycin daily for a period of six months, and in the last month the animals in the treatment group did not receive virginiamycin. The experimental period was started in January and ended in June. The periodontal clinical examination was performed weekly, while the serum and salivary biochemical analyzes, in addition to the hematological analyzes, monthly. The biochemical parameters analyzed were total protein, albumin, urea, aspartate amino transferase (AST), alkaline phosphatase (FA), gamma glutamyl transferase (GGT), calcium, phosphorus and magnesium. In the clinical examination there was a higher prevalence of gingivitis and necrotizing gingivitis in the control group. During the experimental period, the animals in the control group had a significant reduction in the serum concentrations of albumin, magnesium and urea, while significant oscillations in albumin, AST, FA, GGT, salivary urea and phosphorus were also found in the control group. The animals in the control group presented lymphocytosis and leukocytosis and the treatment group showed monocytosis. The prevalence of gingivitis in the herd showed a negative correlation with serum magnesium concentration, and a positive correlation with salivary AF activity. There were no significant correlations between serum and salivary biochemical parameters. The results confirm the effectiveness of virginiamycin in reducing the prevalence of periodontal disease in the animals of the treatment group and demonstrated that the negative correlations of the serum magnesium parameter and gingivitis may suggest that this parameter can be used as a marker for gingivitis in cattle.

INDEXING TERMS: periodontal disease, gingivitis, biochemistry, saliva, serum, cattle, virginiamycin.

RESUMO. As doenças periodontais compreendem uma extensa variedade de condições inflamatórias que podem levar a perdas dentárias. Seu início e ocorrência ocorrem, pelo menos em parte, pela disbiose da microbiota presente na cavidade bucal. A virginamicina demonstrou ser efetiva no controle da doença periodontal, porém os mecanismos de sua ação ainda não foram caracterizados. O objetivo deste estudo foi avaliar os perfis hematológicos, bioquímicos séricos e salivares de bovinos com doença periodontal. Dez bezerros desmamados, com idade entre 4 e 6 meses, mantidos em pastejo rotacionado em área reformada foram divididos aleatoriamente em dois grupos (n=5 cada grupo): controle e tratamento, e durante todo o período experimental permaneceram no mesmo lote, seguindo o mesmo manejo. Os animais do grupo tratamento receberam via oral *pour-dressing* 340 mg de virginamicina diariamente, por um período de seis meses, e no último mês os animais do grupo tratamento não receberam a virginamicina. O período experimental foi iniciado em janeiro e finalizado em junho. O exame clínico periodontal foi realizado semanalmente, enquanto as análises bioquímicas séricas e salivares, além das análises hematológicas, mensalmente. Os parâmetros bioquímicos analisados

foram proteína total, albumina, ureia, aspartato amino transferase (AST), fosfatase alcalina (FA), gama glutamil transferase (GGT), cálcio, fósforo e magnésio. No exame clínico houve maior prevalência de gengivite e gengivite necrosante no grupo controle. Ao longo do período experimental os animais do grupo controle apresentaram redução significativa das concentrações séricas de albumina, magnésio e ureia, enquanto oscilações significantes na albumina, AST, FA, GGT, ureia e fósforo salivares foram encontrados também em grupo controle. Os animais do grupo controle apresentaram linfocitose e leucocitose e o grupo tratamento apresentou monocitose. A prevalência de gengivite no rebanho demonstrou uma correlação negativa com a concentração de magnésio sérico, e uma correlação positiva com atividade da FA salivar. Não houve correlações significativas entre os parâmetros bioquímicos séricos e salivares. Os resultados confirmam a efetividade da virginiamicina em reduzir a prevalência da doença periodontal nos animais do grupo tratamento e demonstrou que as correlações negativas do parâmetro sérico magnésio e a gengivite, pode sugerir que este parâmetro pode ser utilizado como um marcador para a gengivite nos bovinos.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: doença periodontal, gengivite, bioquímica, saliva, soro, bovinos, virginiamicina.

INTRODUÇÃO

A gengivite é definida como a inflamação da gengiva em resposta ao biofilme de maturação subgengival ou supragengival e é considerada a forma reversível da doença periodontal (Kistler et al. 2013). Para impedir a progressão das gengivites para periodontites, prevenção e tratamento da gengivites tornam-se as formas mais importantes de controle das enfermidades (Lindle et al. 2010).

Os bovinos acometidos com as doenças periodontais tomam –se magros e têm pouco desenvolvimento corporal ao longo do período produtivo. Nos pequenos ruminantes, as afecções dentárias estão entres as principais razões para o abate precoce (West & Spence 2000).

O emprego de antibióticos promotores de crescimento como a virginiamicina revelou ser eficiente quando empregada na recuperação e prevenção de bezerros com doenças periodontais (Tims et al. 1992, Ramos et al. 2019).

Em bovinos os fatores modificadores associados à ocorrência das doenças periodontais são desconhecidos e as suspeitas recaem sobre o

manejo do solo e da dieta (Dutra et al. 1993, Döbereiner et al. 2000). Entretanto, nestes estudos não foram analisados os perfis bioquímicos sérios e salivares e nem foram realizadas correlações com a predisposição, monitoramento e diagnóstico das doenças periodontais e nem como o antibiótico/promotor de crescimento poderia interferir e/ou controlar esses fatores.

Como importante marcadores para diagnóstico de diversas enfermidades, o plasma sanguíneo e a saliva podem indicar e monitorar lesões teciduais, desequilíbrios metabólicos específicos ou de origem nutricional (González & Scheffer 2003).

As enzimas que representam a degradação de células danificadas dos tecidos periodontais como a fosfatase alcalina (FA), gama glutamil transferase (GGT) e a aspartato amino transferase (AST), também podem ser utilizadas para medir a eficácia de determinado tipo de terapia periodontal (Number et al. 2004, Ozmeric 2004).

Os minerais como o cálcio, fósforo e magnésio têm muitas funções biológicas; o cálcio atua a nível salivar na remineralização do esmalte (Jawed et al. 2010) e sua concentração está correlacionada a existência de doença periodontal (Lrifai 2007). O fosfato inorgânico da saliva visa a manutenção da estrutura dentária e participa como nutriente para a microbiota bucal, no metabolismo de glicólise (Aps e Martens, 2005).

Nesse contexto, diante da necessidade de se desenvolver estratégias para o controle das doenças periodontais em animais de produção, o presente estudo teve como objetivo avaliar os perfis hematológicos, bioquímicos séricos e salivares de bovinos com doença periodontal.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais. O presente estudo é parte integrante dos trabalhos experimentais desenvolvidos pela equipe e que tratam do efeito da virginiamicina no controle da doença periodontal (Ramos et al. 2019), acrescidos de um período de observação e avaliações complementares.

Foram avaliados dez bezerros machos, com idade entre quatro e seis meses, da raça Jersey. A divisão dos dois grupos experimentais deu-se por randomização, com cinco animais em cada grupo os quais foram denominados controle e tratamento. Ambos os grupos foram mantidos em lote único sob pastejo rotacionado de gramíneas Massai (*Panicum maximum* cv. *Massai*) e Mombaça (*Panicum maximum* cv. *Mombaça*).

Período experimental. O período experimental foi de seis meses e iniciou-se no mês de janeiro, com finalização no mês de junho. O grupo tratamento durante os meses de janeiro, fevereiro, março, abril e maio recebeu diariamente, 340 mg de virginiamicina via oral por *dressing*, e no mês de junho nenhum animal recebeu virginiamicina.

Avaliação clínica geral e periodontal. A avaliação clínica periodontal foi realizada semanalmente nos dentes incisivos durante todo o período experimental e os registros foram feitos em odontograma individual. Os critérios para o exame clínico das gengivites foi fundamentado por Løe (1967) e compreendeu alteração da coloração gengival, presença ou ausência de edema gengival, sangramento espontâneo ou a sondagem e para a gengivite necrosante, presença de membrana amarela ou branco acinzentada na borda gengival.

Coleta, processamento e armazenamento de amostras de sangue. Foram realizadas cinco coletas mensais de sangue, iniciadas no mês de fevereiro. De cada animal foram coletados 10 ml de sangue total, através da punção da jugular, com auxílio de agulhas BD Vacutainer (25x7)®, sendo nove mL acondicionados em tubos sem anticoagulantes e centrifugadas (10.000 x g por 15 minutos) para a completa dessoragem do sangue e um mililitro foi acondicionado em microtubo do tipo de fundo cônico com ácido etilenodiamico tetracético dissódico à 10% para a análise de hemograma.

Coleta, processamento e armazenamento de amostras de saliva. A saliva foi obtida por meio de coleta direta da cavidade bucal com auxílio de

pipeta de 1.000 microlitros. Foram realizadas seis coletas mensais, iniciadas no mês de janeiro. As amostras após a coleta eram mantidas em isopor com gelo, para evitar degradação enzimática, até serem centrifugadas a $10.000 \times g$ a 4°C por 15 minutos e armazenados a -80°C em tubo do tipo cônico para posterior análise bioquímica. Um mililitro foi utilizado para determinação imediata das análises de pH e capacidade tamponante salivar. As coletas de saliva e sangue foram realizadas no mesmo dia, sendo a amostra de sangue coletada, aproximadamente, 15 minutos antes da amostra de saliva.

Análise do perfil hematológico. A contagem total de hemácias, leucócitos e a determinação da hemoglobina (Hb) foram realizadas em contador de células sanguíneas automatizado veterinário CELM modelo DA-500 e CC-530. O volume globular (VG) foi realizado pelo método de Strumia e a contagem diferencial de leucócitos em esfregaços de sangue corado com corante hematológico comercial, as determinações para volume corpuscular médio (VCM) com base na fórmula $\text{VCM} = (\text{VG} \times 10) / \text{He}$ e para concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) com base na fórmula $\text{CHCM} = (\text{Hb} \times 100) / \text{VG}$ (Jain et al. 1986; Thrall et al. 2015). A determinação do fibrinogênio foi realizada pelo método de precipitação pelo calor (Jain et al. 1986).

Determinações de bioquímica sérica e salivar. As análises bioquímicas foram realizadas através de kits comerciais da Bioclin®, seguindo as recomendações do fabricante. O controle biocontrol N do fabricante foi inserido entre cada bloco de análises quando necessário para elevar a confiabilidade do teste. Os parâmetros bioquímicos de uma alíquota foram analisados imediatamente após o descongelamento a (-80°C) e esta foi descartada após o seu uso.

Análise estatística. As incidências de gengivite e necrosante comportaram-se como dados de contagem com superdispersão ocasionada por excesso de zeros. Desta forma, foi adotado o modelo linear generalizado com resposta Binomial Negativa, tendo em vista que

este modelo é extremamente flexível e especialmente indicado para a análise de dados de contagem com superdispersão (Lee et al. 2012). Após ajuste do modelo, diferenças de média entre grupos e entre momentos foram avaliadas por meio de um teste *post hoc* de Tukey assumindo-se nível de significância de $\alpha = 5\%$. Para a análise intragrupo de diferenças entre momentos, o modelo foi corrigido para a auto correlação de medidas repetidas através da inclusão do efeito fixo de animal. Para as demais variáveis salivares, sorológicas e hematológicas, os dados foram convertidos em postos e analisados utilizando-se ANOVA com teste *post hoc* de Tukey, assumindo-se nível de significância de $\alpha = 5\%$; resultando em uma abordagem semi-paramétrica. A correlação entre os parâmetros gengivite versus parâmetros salivares e sorológicos, assim como a correlação entre os parâmetros salivares versus sorológicos foi a de Pearson devido a linearidade demonstrada pela natureza dos dados, utilizando como nível de significância $p \leq 5\%$. Todas as análises foram realizadas com o auxílio do software R v3.4.4 (R CORE TEAM, 2018). Gráficos foram gerados com o pacote ggplot2.

Comissão de ética em pesquisa. O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética de Uso Animal (FCAV n 013967/2017).

RESULTADOS

Ocorrência de gengivite e gengivite necrosante. Nos meses de março e abril, o grupo controle apresentou mais episódios de gengivite comparado ao grupo tratamento (Figura 1A). Não houve diferença estatística significativa entre os grupos para análises de gengivite necrosante no período avaliado (Figura 1 e Quadro 2).

Hemograma. No eritrograma os valores mensurados para proteína total (Figura 2E) apresentaram diferença significativa nos meses de abril e maio para o grupo tratamento. Para os valores de concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) (Figura 2A), fibrinogênio (Figura 2B), hemoglobina (Hb) (Figura 2C), hemácias (Figura 2D), volume

corpúscular médio (VCM) (Figura 2F) e volume globular (VG) (Figura 2G), não houve diferença significativa entre os grupos. No leucograma para os valores de leucócitos (Figura 3B) e linfócitos (Figura 3C) houve um aumento significativo no grupo controle no mês de março, e para os leucócitos houve aumento nos valores para o grupo tratamento no mês de abril. Os valores mensurados de monócitos (Figura 3D) tiveram aumento significativo no mês de abril no grupo tratamento. As análises de eosinófilos (Figura 3A) e segmentados (Figura 3E) não houve variação entre os grupos (Quadros 3 e 4).

Bioquímica sérica. Para valores de albumina (Figura 4A) houve um aumento significativo no grupo tratamento nos meses de fevereiro, abril e maio. Os valores mensurados de magnésio (Figura 4G) no grupo tratamento aumentaram no mês de abril. Para as análises de ureia (Figura 4I), as alterações foram aumento nos valores do grupo tratamento nos meses de fevereiro e março. Os valores mensurados de AST (Figura 4B), GGT (Figura 4F), cálcio (Figura 4C), fósforo (Figura 4E), FA (Figura 4D) não apresentam diferenças significativas entre os grupos. Para valores de proteína total (Figura 4H) não há diferença estatística entre grupos e momentos- meses. A correlação de Person foi significativa, porém negativa para os valores de magnésio com relação a gengivite (quadros 5 e 1).

Bioquímico salivar. Para os valores de albumina (Figura 5A), houve um aumento significativo no grupo controle no mês de junho. Nos valores mensurados de AST (Figura 5B) houve um aumento significativo no grupo controle em junho com relação grupo tratamento que manteve os mesmos valores. Para os valores de FA (Figura 5D) e GGT (Figura 5F), houve uma repetição no padrão dos dados mensurados, com valor aumentado no grupo controle no mês de janeiro. Os valores dosados para fósforo (Figura 5E) e ureia (Figura 5I) também seguiram o mesmo comportamento no primeiro momento com valores alterados no grupo tratamento, porém os valores de fósforo continuaram variando entre os

meses porém sem alterações nos grupos; já para os valores de ureia houve nova alteração significativa, porém no mês de maio com valores aumentados neste momento no grupo controle vindo a apresentar uma queda significativa somente em junho. Os valores mensurados de cálcio (Figura 5C), magnésio (Figura 5G) e proteína total (Figura 5H) não apresentaram alterações entre os grupos; porém diferiram entre os meses ao longo do tempo. A correlação de Person foi significativamente positiva para os valores de FA com relação a gengivite (Quadros 1 e 6).

No quadro 1 com a correlação de Pearson, pode-se observar que valores de sangue e saliva não se correlacionaram significativamente.

DISCUSSÃO

O presente estudo possibilitou a observação clínica da ocorrência natural de duas formas precursoras das doenças periodontais: a gengivite e a gengivite necrosante e também a análise inédita dos perfis bioquímicos salivares e séricos destes animais nestas condições.

A virginiamicina, administrada em doses sub-terapêuticas, foi utilizada normalmente como promotor de crescimento propiciando assim boa condição corporal e ruminal nos animais (Araújo et al. 2016), de forma semelhante os animais que receberam o antibiótico nesta mesma dose sub-terapêutica no nosso estudo tiveram melhor condição periodontal, física e produtiva.

Este desempenho superior já foi relatado por Tims et al. (1992) e a virginiamicina auxiliou na recuperação de animais com doença periodontal, e controlou a gengivite e gengivite necrosante (Ramos et al. 2019).

Hilali et al. (2006) verificaram que a contagem total de leucócitos, linfócitos e monócitos em búfalos aumenta durante processos infecciosos. Zargham Khan et al. (1997) e Jain (1993) relatam que, em búfalos e bovinos respectivamente, o aumento da contagem total de leucócitos é indicador confiável de doença inflamatória aguda, enquanto o aumento do teor plasmático de fibrinogênio é mais confiável tanto na fase aguda como

crônica da inflamação. Mas com relação aos parâmetros hematológicos do presente estudo somente houve aumento de linfócitos e leucócitos no grupo controle, e os valores de fibrinogênio não se alteraram significativamente entre os grupos.

Nos exames clínicos, os animais não apresentaram diferenças significativas para os episódios de gengivite necrosante. Esta doença periodontal está associada à indivíduos com imunodeficiência (Williams et al. 1990), e em bovinos da raça Holandesa segundo Naghata et al. 1993 é um defeito genético na atividade de aderência dos leucócitos que poderia levar os animais ao maior desenvolvimento de doença periodontal, apresentando infecções recorrentes e persistentes.

Todas essas alterações no hemograma do presente estudo sugerem portanto que o processo inflamatório, poderia ser em decorrência dos episódios de gengivite presentes em dois meses específicos março e abril, porém não houve nenhum tipo de correlação entre os parâmetros hematológicos e a gengivite. Diferentemente dos dados clínicos, o grupo tratamento apresentou monocitose significativa com relação ao grupo controle apesar de menos episódios de gengivite neste período.

Porém os dados clínicos foram relatados apenas para os dentes incisivos devido à dificuldade em acessar os dentes pré molares e molares, decorrente da anatomia da boca dos ruminantes. A contenção química não foi um método de escolha para que não houvesse interferência nos parâmetros analisados. Processos inflamatórios que poderiam estar ocorrendo nos dentes mastigatórios que pudessem indicar uma condição sistêmica não ficaram esclarecidos, o que poderia sugerir que a monocitose do grupo tratamento poderia estar relacionada a algum processo inflamatório dos dentes mastigatórios.

Para as análises bioquímicas séricas os valores do grupo tratamento se mantiveram altos para albumina em vários momentos, apesar de ser considerada uma proteína de fase aguda da inflamação, ela interfere na manutenção da pressão oncótica do plasma e na

estabilização dos sistemas coloidais e é sintetizada nas células hepáticas e suas principais funções relacionam-se ao transporte de bilirrubina, cálcio e magnésio (Kaneco, 1997).

Os valores de magnésio (Mg) também encontravam-se aumentados no grupo tratamento, num dado momento juntamente com a albumina, sugerindo que os valores de albumina portanto poderiam ser compensatórios.

Não existe controle homeostático rigoroso do Mg, portanto, sua concentração sanguínea reflete diretamente o nível da dieta (Hendrix, 2002). No presente estudo os animais se alimentaram de forragem e sal comum e não houve suplementação mineral, porém o magnésio neste processo é absorvido no intestino por um sistema de transporte ativo que sofre a interferência da relação sódio:potássio e ainda pela quantidade de energia, cálcio e de fósforo presentes no alimento, ou seja, neste processo todo estes fatores poderiam ter interferido nas concentrações de magnésio.

A hipomagnesemia tem sérias consequências para os ruminantes podendo levar até a morte, enquanto que a hipermagnesemia não causa maior transtorno. Na correlação de Pearson realizada com o magnésio *versus* a gengivite este apresentou uma correlação negativa frente a gengivite, demonstrando que valores altos de magnésio como os apresentados pelo grupo tratamento realmente poderiam sugerir menos episódios de gengivite, o qual condiz com os dados apresentados neste presente estudo.

Para os valores de ureia os aumentos se concentraram nos meses de fevereiro e março para o grupo tratamento. Meyer et al. (1995) verificaram que uma taxa de filtração glomerular reduzida aumenta a concentração de uréia no sangue, porém neste presente estudo não foram realizadas análises de verificação da taxa de filtração glomerular.

Seu nível pode ser aumentado no sangue também devido ao aumento do consumo dietético de proteína o já que o excesso de proteína na alimentação leva a um aumento na deaminação e aumenta a

concentração plasmática de ureia. Proteína alimentar de baixa qualidade pode ter o mesmo efeito, ou seja, os aminoácidos não essenciais serão deaminados na ausência dos aminoácidos essenciais, levando a um discreto aumento das concentrações plasmáticas de ureia. Quando não há energia suficiente na dieta, os estoques corporais de proteína são deaminados de seus esqueletos de carbono. Em casos de inanição profunda, especialmente quando houver desidratação concomitante pode haver concentrações plasmáticas de ureia altas (Meyer et al., 1995).

Porém no presente estudo não foi mensurada a ingestão de alimento por estes animais, mas o grupo controle por ter mais episódios de gengivite teve os reflexos em ganho de peso diminuídos, frente ao grupo tratamento que pode ter uma maior taxa de ingestão de alimento neste período, favorecendo este excesso de proteína, que pode ter levado ao aumento das concentrações de ureia.

Os demais parâmetros fósforo, cálcio, AST, FA e GGT nas análises sorológicas que poderiam refletir a situação metabólica dos tecidos animais, de forma a indicar lesões teciduais e desequilíbrios metabólicos específicos ou de origem nutricional no presente experimento, não apresentaram diferenças significativas entre os grupos e nem correlações como a gengivite em nenhum momento do período experimental.

Nas análises de saliva do presente estudo houve aumento de AST, GGT e FA no grupo controle diferindo das análises sorológicas, onde os animais apresentaram mais episódios de gengivite porém sem periodontite, o que difere dos estudos feitos em humanos, que demonstram que essas enzimas são indicativas de um processo mais agressivo de destruição óssea e não apenas inflamação (Mc Culloch 1994, Oringer et al. 2001, Person 1990).

Já outros estudos afirmam que as FA, GGT e AST além de ureia e fósforo que são liberadas por células danificadas dos tecidos periodontais para o fluido crevicular gengival e a saliva (González & Scheffer 2003) e como consequência de sua liberação aumentada das células danificadas

dos tecidos moles do periodonto e um reflexo das alterações metabólicas na gengiva inflamada o que poderia coincidir com o estágio inicial da doença periodontal e não de episódios de periodontite. Outros estudos alcançaram resultados semelhantes, embora a maioria deles esteja relacionada ao teste das atividades dessas enzimas no fluido gengival (Kuru et al.1996, Tsalikis et al.2001) e não na saliva total como foi o caso do presente estudo.

GGT e AST, podem ajudar também a monitorar a progressão da doença periodontal. Essas enzimas são úteis para testar a atividade da doença periodontal ou para medir a eficácia da terapia periodontal (Numabe et al., 2004, Ozmeric 2004). Considerando essas informações, as alterações observadas para o grupo tratamento foram menos evidentes do que no grupo controle o que pode sugerir que mais episódios no grupo controle de doença periodontal, especificamente a gengivite ocorreram e foram reflexo destas alterações.

O aumento notável da atividade da FA na fase aguda da doença periodontal já foi relatado em alguns estudos e, em humanos, após a terapia periodontal, a atividade dessas enzimas retornou ao valor encontrado nas pessoas saudáveis (Yan 1995, Nakashima et al. 1994). FA é uma enzima intracelular presente na maioria dos tecidos e órgãos, particularmente nos ossos. Sua atividade aumentada na saliva é provavelmente a consequência de processos destrutivos no osso alveolar em estágios avançados de desenvolvimento da doença periodontal. A correlação positiva entre a atividade de FA e o percentual de perda óssea alveolar também já foi determinada (Kaufman & Lamster 2000).

Porém no presente estudo, diferindo dos dados pela literatura, houve uma correlação positiva de FA somente no grupo controle no mês de janeiro. Neste momento ao exame clínico dos incisivos os mesmos não apresentavam periodontite e nem gengivite de forma significativa, e pela dificuldade de acesso aos molares e o não uso da contenção química, não foi possível afirmar que estes animais não apresentavam nenhum processo inflamatório nos dentes mastigatórios e que na saliva

dos bovinos portanto FA pudesse exercer uma nova função no escopo das doenças periodontais.

A ureia é um componente orgânico da saliva proveniente da secreção salivar (Mandel 1980), fluido crevicular (Golub et al. 1971). Há uma correlação positiva entre as concentrações de ureia plasmática e salivar (Cardoso et al., 2009). A concentração de ureia no fluido crevicular é inversamente relacionada a inflamação gengival (Golub et al., 1971).

O aumento da prevalência de doença periodontal em humanos está diretamente relacionado com as concentrações salivares de ureia, principalmente em indivíduos com doenças renais crônicas (Bhatsange & Patil, 2012). A ausência de correlação entre a uréia salivar e a prevalência de gengivite neste estudo pode ser relacionado ao fato de lidarmos com um rebanho, que aparentemente, não apresentou nenhum problema sistêmico durante o período experimental.

Cálcio, fósforo, magnésio, também são potenciais marcadores bioquímicos salivares para a detecção e progressão da doença periodontal em humanos (Kolte et al. 2012, Fiyaz et al. 2013, Rajesh et al. 2015, Patel et al. 2016). Associados com a má higiene, estes parâmetros juntos favorecem a calcificação mais rápida do biofilme e consequente formação do cálculo dental, um fator predisponente bem conhecido para gengivite e periodontite, no qual mantem-se viáveis micro-organismos associados a doença periodontal (Fiyaz et al. 2013, Rajesh et al. 2015, Patel et al. 2016).

No decorrer deste período experimental não observamos a correlação entre tais parâmetros e a prevalência de gengivite nos bovinos de ambos os grupos. As divergências com outros estudos podem ser fundamentadas nas diferenças dos níveis de progressão das doenças periodontais, tão logo a maioria dos trabalhos analisaram os parâmetros salivares de pacientes com periodontite, enquanto no rebanho estudado prevaleceu a gengivite e não foi constatada a presença de cálculo dental nos dentes avaliados.

A albumina sérica que é a principal proteína sintetizada pelo fígado

e sua concentração é também um marcador prático de estado geral de saúde. A saliva manteve seus valores aumentados no bioquímico do grupo controle em junho, quando os animais já não apresentavam ao exame clínico dos incisivos nenhum episódio de doença periodontal o que difere dos estudos de Ogawa et al. (2006) no qual relataram que a doença periodontal foi um fator significativo associado com concentração sérica de albumina na comunidade de idosos, diferindo deste estudo no qual os animais avaliados eram bezerros jovens.

Outro fator observado por Ogawa et al. (2006) é que os achados sugerem uma relação entre a concentração sérica de albumina e estado de saúde bucal em populações sem distúrbios sistêmicos graves, como foi o caso destes animais do estudo.

Yoshihara et al. (2003) relataram que o número de dentes cariados foi um fator significante associado com albumina sérica mais baixa em uma população idosa. Outro fator a ser considerado foi que nestes estudos a população ou era adulta ou idosa, portanto não podemos afirmar que tais discrepâncias sejam condizentes com os valores mensurados pela idade dos animais dos grupos experimentais que eram bezerros recém desmamados, com dentição decídua.

Para os valores de saliva e soro no presente estudo não houve correlação para nenhum parâmetro neste período analisado. Já Nagler et al. (2002) encontraram correlações entre parâmetros bioquímicos séricos e salivares e concluíram que quando há uma baixa correlação entre uma concentração de parâmetros na saliva total e o sangue e que este parâmetro não é transmitido pelo sangue e é produzido principalmente na cavidade bucal.

CONCLUSÃO

Os valores bioquímicos séricos apresentaram aumento significativos para albumina, ureia e magnésio, este último apresentou correlação negativa com a gengivite; para os parâmetros salivares os aumentos significativos estão em grupos controle para albumina, AST, GGT, ureia e FA, este

parâmetro apresentou correlação positiva com a gengivite e para grupo tratamento em ureia e fósforo, ambos os aumentos apareceram ao longo de todo período experimental. As diferenças entre os grupos sugerem portanto que a virginiamicina influenciou tanto em parâmetros bioquímicos séricos quanto salivares ao longo do período experimental.

Agradecimentos: O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Declaração de conflito de interesse: Os autores declaram não haver conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

- Araújo D. B.; Barbosa L. F. S. P.; Borges C. A. A.; Coulter R.; Boselli E.; Grandini, D. V.; Gorocica M. A.; Gosselé F. 2016. Use of virginiamycin in cattle feeding. In: MILLEN, D. D.; ARRIGONI, M. B.; PACHECO, R. D. L. (Ed.) Ruminology, 1 ed. Springer International Publishing Switzerland, cap. 7, p. 189-201
- Bhatsange A., Patil SR. 2012. Assessment of periodontal health status in patients undergoing renal dialysis: A descriptive, cross-sectional study. J Indian Soc Periodontol. 16(1):37-42.
- Cardoso E.M.L., Arregger A.L., Tumilasci O.R., Elbert A. 2009. Assessment of salivary urea as a less invasive alternative to serum determinations. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 69:330–4.
- Döbereiner J., Dutra I.S., Rosa I.V. 2004. A etiologia da “cara inchada”, uma periodontite epizootica dos bovinos. Pesq. Vet. Bras. 24(1):50–56.
- Döbereiner J., Dutra I.S., Rosa I.V., Blobel H. 2000. Cara inchada of cattle, an infectious, apparently soil antibiotics- dependant periodontitis in Brazil. Pesq. Vet. Bras. 20(2): 47-64.
- Dutra I.S., Matsumoto T., Döbereiner J. 1993. Surtos de periodontite em bezerros (“cara inchada”) associados ao manejo do solo. Pesq. Vet.

- Bras. 13(1/2):1-4.
- Dutra I.S., Döbereiner J. 2001. Cara inchada dos bovinos, p. 397-401 In: Riet-Correa, F. et al. (Eds.) Doenças de Ruminantes e Equídeos. Vol.1. 2º ed. Varela, São Paulo.
- González F.H.D., Scheffer J.F. S. 2003. Perfil sanguíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. Anais do Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil, Porto Alegre, RS, p.73-89. (Resumo)
- Golub L.M., Borden S.M., Kleinberg I. 1971. Urea content of gingival crevicular fluid and its relation to periodontal diseases in humans. J. Periodontol. Res. 6(4):243-51.
- Hendrix C.M. 2002. Laboratory procedures for veterinary technicians. 4.ed Mosby, Philadelphia, p.559.
- Khalili J. 2008. Oral câncer: risk factors, prevention and diagnostic. Exp. Oncol. 30:259–64.
- Jain N. C. 1993. Essentials of veterinary hematology. Philadelphia: Lea & Febiger, 417 f.
- Jain N.N.C. 1986. Hematologic techniques. In: Jain, N. C. (Ed.). Schalm's veterinary hematology. 4 ed. Philadelphia: Lea & Febiger, cap.2, p.20-86.
- Jawed M., Shahid S.M., Qader S.A., Azhar A. 2010. Dental Caries In Diabetes Mellitus: Role Of Salivary Flow Rate And Minerals. J. Diabetes Complications. 25: 183-186.
- Kaneko J.J. 1997. Clinical biochemistry of domestic animals. 5 eds. Academic Press, San Diego, p.117-129.
- Kaufman E., Lamster I.B. 2000. Analysis of saliva for periodontal diagnosis. J. Clin. Periodontol. 27:453-65.
- Kolte A.P., Kolte R.A., Laddha R.K. 2012. Effect of smoking on salivary composition and periodontal status. J. Indian. Soc. Periodontol. 16(3):350-3.

- Lindhe J., Lang N.P., Karring T. 2010. Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral, 5ª ed. Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro, p. 197-254.
- Lrifai Ali. 2007. The Relationship Between Calcium, Magnesium And Inorganic Phosphate Of Human Mixed Saliva And Dental Caries. *Mdj.* 4(2): 157-161.
- Loe, H. 1967. The Gingival Index, the Plaque Index and the Retention Index Systems. *Journal of Periodontology*, v. 38, n. 6, p. 610–616.
- Mandel I.D. 1980. Sialochemistry in diseases and clinical situations affecting salivary glands. *CRC Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 11:321-66.
- McCulloch M.W. 1994. Host enzymes in gingival crevical fluid as diagnostics indicators of periodontitis. *J. Clin. Periodontol.* 21:497-506.
- Meyer D.J., Coles H.E., Rich L.J. 1995. Medicina de laboratório veterinária: interpretação e diagnóstico. 1ªEd. Roca, São Paulo, p. 308.
- Nagler R. M., Hershkovich O., Lischinsky S. Diamond E., Reznich Z. A. 2002. Saliva Analysis in the clinical setting: revisiting an underused diagnostic tool. *J. of Investig. Med.* May; 50 (03) 214-225.
- Nakashima K., Gannopolou C., Andersen E., Roehrich N., Brochut P., Dubrez B. 1996. A longitudinal study of various crevical fluid components as markers of periodontal disease activity. *J. Clin. Periodontol.* 23:832-8.
- Numabe Y., Hisano A., Kamoi K., Yoshie H., Ito K, Kurihara H. 2004. Analysis of saliva for periodontal diagnosis and monitoring. *Periodontology.*40:115-9.
- Ogawa H., Yoshihara A., Amarasena N., Hirotsu T., Miyazaki H. 2006. Association between serum albumin and periodontal disease in community-dwelling elderly. *J. Clin. Periodontol.* 33:312-316.
- Oringer R.J., Howel T.H., Nevins M.L., Reasner D.S., Davis G.H., Sekler J. 2001. Relationship between crevicular aspartate aminotransferase levels and periodontal disease progression. *J. Periodontal Res.*

72:17-24.

- Ozmeric N. 2004. Advances in periodontal disease markers. *Clin. Chim. Acta.* 343:1-16.
- Person G.R, Rouen T.A, Page R.C. 1990. Relationship between gingival crevicular fluid levels of aspartate aminotransferase and active tissue destruction in treated chronic periodontitis patients. *J. Periodontol Res.* 25:81-7.
- Patel R.M., Varma S., Suragimath G., Zope S. 2016. Estimation and Comparison of Salivary Calcium, Phosphorous, Alkaline Phosphatase and pH Levels in Periodontal Health and Disease: A Cross-sectional Biochemical Study. *J. Clin. Diagn. Res.* 10(7): ZC58-61.
- Rajesh K.S., Zareena, Hegde S., Arun Kumar MS. 2015. Assessment of salivary calcium, phosphate, magnesium, pH, and flow rate in healthy subjects, periodontitis, and dental caries. *Contemp. Clin. Dent.* 6(4):461-5.
- Ramos T.N.M., Borsanelli A.C., Saraiva J.R. Vaccari J., Schweitzer C.M., Gaetti-Jardim Jr. E., Dutra I.S. 2019. Efficacy of virginiamycin for the control of periodontal disease in calves. *Pesq. Vet. Bras.* 39(2) (em publicação).
- Thrall M. N., Weiser G., Allison R. W., Campbell T. W. 2014. *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária.* 2ª ed. Rocca, p.688.
- Tsalikis L., Malaka E., Pavlitou E., Konstantinidis A. 2001. Aspartate aminotransferase levels in gingival crevicular fluid before and after periodontal treatment. *J. Int. Acad. Periodontol.* 3:68-74.
- Tims F.M., Dutra I.S., Matsumoto T., Döbereiner J. 1992. Eficiência da virginiamicina na recuperação de bezerros com a doença peridentária “cara inchada”. *Pesq. Vet. Bras.* 12:77-80.
- Yan F., Cao C., Li X. 1995. Alkaline phosphatase level in gingival crevicular fluid of periodontitis before and after periodontal treatment. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi.* 30(4): 255-66.
- Yoshihara A., Hanada N., Miyazaki H. 2003. Association between serum

albumin and root caries in community-dwelling older adults. J. Dent. Res. 82:218- 222.

Zargham Khan M., Muhammad G., Umar A. 1997. A preliminar comparison of plasma fibrinogen concentrations, leukocyte numbers and erythrocyte sedimentation rate as non-specific indicators of inflammatory conditions in buffalo (*Bubalis bubalis*). Vet. Res. Commun. 21: 265-271.

West D.M., Spence J.A. 2000. Diseases of sheep. 3^o Ed Blackwell Science, London, p. 125-131.

Williams C. A.; Winkler J. R.; Grassi M.; Murray P. A. 1990. HIV-associated periodontitis complicated by necrotizing stomatitis. Oral Surgery, Oral Pathology, v. 69, p. 351-355.

Quadro 1. Correlações de Pearson entre as concentrações bioquímicas no soro *versus* a gengivite, saliva *versus* a gengivite e soro *versus* saliva

Parâmetros	Soro X Gengivite		Saliva X Gengivite		Soro X Saliva	
	R	p	r	p	r	P
Proteína total(mg/dL)	-0,25	0,07	0,13	0,29	5,92	-0,04
Albumina(mg/dL)	-0,44	0	0,03	0,76	0,05	0,04
Ureia(mg/dl)	-0,07	0,6	0	0,99	0,74	0,24
AST(U/l)	-0,22	0,12	0	0,96	15,04	0
FA(U/l)	-0,2	0,15	0,32	0,01*	0,53	-0,19
GGT(U/l)	-0,01	0,9	0,08	0,49	0,6	-0,06
Cálcio(mg/dL)	-0,23	0,09	0,03	0,78	0,2	-0,07
Fósforo(mg/dL)	-0,17	0,23	-0,2	0,12	0,38	0,02
Magnésio(mg/dL)	-0,29	0,03 *	0,12	0,35	0,12	-0,14

*= significativa para $p=0,05$

Quadro 2. Média e erro padrão da média de incidência de gengivite regular e necrosante de acordo com o tratamento e mês do ano

Variável	Grupo	Mês					
		Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maior	Junho
Gengivite	Controle	1.60 ±	3.60 ±	2.80 ±	7.00 ±	4.00 ±	0.00 ±
		1.60 ^{Aa}	1.33 ^{Abc}	1.07 ^{Bac}	0.45 ^{Bb}	1.67 ^{Aab}	0.00 ^{Aab}
	Tratamento	0.00 ±	2.00 ±	0.40 ±	0.40 ±	2.00 ±	0.00 ±
		0.00 ^{Aab}	0.89 ^{Aa}	0.40 ^{Ab}	0.24 ^{Ab}	1.55 ^{Aab}	0.00 ^{Aab}
Gengivite necrosante	Controle	1.60 ±	0.20 ±	1.00 ±	0.00 ±	0.00 ±	0.40 ±
		1.60 ^{Aa}	0.20 ^{Aa}	0.77 ^{Aa}	0.00 ^{Aa}	0.00 ^{Aa}	0.40 ^{Aa}
	Tratamento	0.00 ±	0.40 ±	1.00 ±	0.60 ±	1.20 ±	0.00 ±
		0.00 ^{Aa}	0.24 ^{Aa}	0.63 ^{Aa}	0.60 ^{Aa}	1.20 ^{Aa}	0.00 ^{Aa}

^{A,B} Distintas entre linhas indicam para cada mês e variável, diferenças significativas entre os grupos.

^{abc} Distintas entre colunas indicam para cada grupo e variável, letras minúsculas distintas entre colunas indicam diferenças significativas entre os meses

Quadro 3 . Média e erro padrão da média do leucograma de acordo com o tratamento e mês do ano

Variável	Grupo	Mês				
		Fev	Mar	Abr	Mai	Jun
Leucócitos (µL)	Controle	15220.00 ± 1765.90 ^{Ab}	23200.00 ± 9914.64 ^{Bb}	12780.00 ± 913.45 ^{Aab}	12420.00 ± 1867.99 ^{Aab}	10760.00 ± 1284.37 ^{Aa}
Leucócitos(µL)	Tratamento	16880.00 ± 1454.44 ^{Ac}	9674.00 ± 1583.96 ^{Aa}	15220.00 ± 1206.40 ^{Bc}	13400.00 ± 1352.77 ^{Abc}	12380.00 ± 619.19 ^{Aab}
Segmentados(µL)	Controle	2788.00 ± 1027.99 ^{Ab}	2265.40 ± 740.48 ^{Aab}	1360.40 ± 298.66 ^{Aab}	927.20 ± 211.38 ^{Aa}	1239.00 ± 303.71 ^{Aab}
Segmentados(µL)	Tratamento	3066.00 ± 686.55 ^{Ac}	1229.68 ± 233.84 ^{Aab}	1839.80 ± 142.67 ^{Aac}	2048.40 ± 486.61 ^{Abc}	1183.40 ± 160.05 ^{Aa}
Linfócitos(µL)	Controle	11628.80 ± 2137.88 ^{Aab}	19971.40 ± 8815.35 ^{Bb}	10936.00 ± 759.38 ^{Aab}	10623.20 ± 1480.60 ^{Aab}	8853.00 ± 891.16 ^{Aa}
Linfócitos(µL)	Tratamento	12886.60 ± 1492.00 ^{Ab}	7842.92 ± 1170.21 ^{Aa}	12274.40 ± 1253.05 ^{Ab}	10623.60 ± 1031.85 ^{Aab}	10515.80 ± 770.13 ^{Aab}
Eosinófilos(µL)	Controle	159.40 ± 66.92 ^{Aa}	208.60 ± 115.39 ^{Aa}	165.80 ± 69.45 ^{Aa}	272.40 ± 95.41 ^{Aa}	355.00 ± 190.08 ^{Aa}
Eosinófilos(µL)	Tratamento	237.00 ± 167.67 ^{Aa}	159.62 ± 109.32 ^{Aa}	151.40 ± 112.50 ^{Aa}	290.40 ± 140.78 ^{Aa}	273.60 ± 148.73 ^{Aa}
Monócitos(µL)	Controle	643.80 ± 188.29 ^{Aa}	754.60 ± 445.47 ^{Aa}	317.80 ± 50.00 ^{Aa}	597.20 ± 254.25 ^{Aa}	313.00 ± 122.79 ^{Aa}
Monócitos(µL)	Tratamento	690.40 ± 200.83 ^{Aab}	441.78 ± 139.06 ^{Aa}	954.40 ± 121.46 ^{Bbc}	437.60 ± 84.81 ^{Aa}	407.20 ± 126.42 ^{Aa}

^{A,B} Distintas entre linhas indicam para cada mês e variável, diferenças significativas entre os grupos.

^{abc} Distintas entre colunas indicam para cada grupo e variável, letras minúsculas distintas entre colunas indicam diferenças significativas entre os meses

Quadro 4. Média e erro padrão da média do eritrograma de acordo com o tratamento e mês do ano

Variável	Grupo	Mês				
		Fevereiro	Março	Abril	Maior	Junho
Hemácias (x10 ¹² /L)	Controle	6.79 ± 0.17 ^{Abc}	6.92 ± 0.24 ^{Ac}	6.31 ± 0.37 ^{Aab}	5.84 ± 0.47 ^{Aa}	6.55 ± 0.34 ^{Abc}
Hemácias (x10 ¹² /L)	Tratamento	6.74 ± 0.14 ^{Ab}	7.08 ± 0.09 ^{Ac}	6.33 ± 0.22 ^{Aa}	6.51 ± 0.15 ^{Aab}	6.54 ± 0.12 ^{Aab}
HB (g/dL)	Controle	8.84 ± 0.46 ^{Abc}	9.10 ± 0.49 ^{Ac}	8.20 ± 0.45 ^{Aab}	7.64 ± 0.59 ^{Aa}	8.58 ± 0.51 ^{Abc}
HB (g/dL)	Tratamento	8.78 ± 0.21 ^{Ab}	9.32 ± 0.21 ^{Ac}	7.90 ± 0.19 ^{Aa}	8.44 ± 0.31 ^{Ab}	8.68 ± 0.23 ^{Ab}
VG (%)	Controle	28.80 ± 1.46 ^{Abc}	29.60 ± 1.69 ^{Ac}	26.40 ± 1.40 ^{Aab}	24.80 ± 2.13 ^{Aa}	27.40 ± 1.66 ^{Abc}
VG (%)	Tratamento	28.20 ± 0.49 ^{Ab}	30.20 ± 0.80 ^{Ac}	26.00 ± 0.71 ^{Aa}	27.40 ± 0.68 ^{Aab}	27.60 ± 0.75 ^{Ab}
VCM (fL)	Controle	42.36 ± 1.29 ^{Aa}	42.72 ± 1.42 ^{Aa}	41.95 ± 0.63 ^{Aa}	42.45 ± 0.56 ^{Aa}	41.78 ± 0.55 ^{Aa}
VCM (fL)	Tratamento	41.87 ± 0.54 ^{Aa}	42.63 ± 0.83 ^{Aa}	41.13 ± 0.51 ^{Aa}	42.09 ± 0.39 ^{Aa}	42.17 ± 0.56 ^{Aa}
CHCM (%)	Controle	30.69 ± 0.31 ^{Aa}	30.77 ± 0.40 ^{Aab}	31.05 ± 0.28 ^{Aab}	30.89 ± 0.32 ^{Aab}	31.32 ± 0.30 ^{Ab}
CHCM (%)	Tratamento	31.13 ± 0.27 ^{Abc}	30.88 ± 0.29 ^{Aac}	30.40 ± 0.18 ^{Aa}	30.77 ± 0.42 ^{Aab}	31.46 ± 0.31 ^{Ac}
Proteína (g/dL)	Controle	7.20 ± 0.21 ^{Ac}	6.90 ± 0.14 ^{Abc}	6.56 ± 0.20 ^{Ab}	5.94 ± 0.20 ^{Aa}	6.16 ± 0.16 ^{Aa}
Proteína (g/dL)	Tratamento	7.38 ± 0.20 ^{Ac}	7.06 ± 0.13 ^{Abc}	7.10 ± 0.12 ^{Bbc}	6.94 ± 0.15 ^{Bb}	6.34 ± 0.09 ^{Aa}
Fibrinogênio (g/dL)	Controle	0.52 ± 0.10 ^{Aa}	0.50 ± 0.05 ^{Aa}	0.44 ± 0.02 ^{Aa}	0.42 ± 0.02 ^{Aa}	0.46 ± 0.04 ^{Aa}
Fibrinogênio (g/dL)	Tratamento	0.64 ± 0.08 ^{Ab}	0.54 ± 0.07 ^{Aab}	0.50 ± 0.05 ^{Aab}	0.44 ± 0.02 ^{Aa}	0.46 ± 0.04 ^{Aa}

^{A,B} Distintas entre linhas indicam para cada mês e variável, diferenças significativas entre os grupos.

^{abc} Distintas entre colunas indicam para cada grupo e variável, letras minúsculas distintas entre colunas indicam diferenças significativas entre os meses.

Quadro 5. Média e erro padrão da média das análises de soro sanguíneo de acordo com o tratamento e mês do ano

Variável	Grupo	Mês				
		Fevereiro	Março	Abril	Maió	Junho
Cálcio (mg/dL)	Controle	8.04 ± 0.41 ^{Aa}	8.68 ± 0.49 ^{Aab}	10.82 ± 1.42 ^{Abc}	8.14 ± 0.91 ^{Aa}	10.96 ± 0.52 ^{Ac}
Cálcio (mg/dL)	Tratamento	9.70 ± 1.35 ^{Aa}	9.46 ± 0.45 ^{Aa}	12.70 ± 1.46 ^{Aa}	9.56 ± 0.56 ^{Aa}	10.62 ± 0.90 ^{Aa}
Fósforo (mg/dL)	Controle	6.16 ± 0.38 ^{Aa}	5.58 ± 0.50 ^{Aa}	5.58 ± 0.65 ^{Aa}	5.18 ± 0.67 ^{Aa}	5.66 ± 0.32 ^{Aa}
Fósforo (mg/dL)	Tratamento	6.26 ± 0.29 ^{Ab}	6.00 ± 0.30 ^{Aab}	6.06 ± 1.00 ^{Aab}	5.22 ± 0.44 ^{Aa}	5.90 ± 0.35 ^{Aab}
Magnésio (mg/dL)	Controle	2.10 ± 0.15 ^{Aab}	1.98 ± 0.12 ^{Aa}	1.90 ± 0.17 ^{Aa}	2.12 ± 0.24 ^{Aab}	2.38 ± 0.15 ^{Ab}
Magnésio (mg/dL)	Tratamento	2.36 ± 0.08 ^{Abc}	2.00 ± 0.12 ^{Aa}	2.32 ± 0.12 ^{Bab}	2.58 ± 0.23 ^{Abc}	2.76 ± 0.16 ^{Ac}
Proteína (g/dL)	Controle	5.86 ± 0.34 ^{Aa}	5.38 ± 0.55 ^{Aa}	5.76 ± 0.56 ^{Aa}	4.54 ± 0.70 ^{Aa}	5.82 ± 0.34 ^{Aa}
Proteína (g/dL)	Tratamento	5.42 ± 0.62 ^{Aa}	6.00 ± 0.42 ^{Aa}	6.42 ± 0.38 ^{Aa}	5.76 ± 0.20 ^{Aa}	5.74 ± 0.54 ^{Aa}
Albumina (g/dL)	Controle	2.14 ± 0.17 ^{Aa}	2.38 ± 0.08 ^{Aa}	2.00 ± 0.45 ^{Aa}	1.96 ± 0.27 ^{Aa}	2.24 ± 0.17 ^{Aa}
Albumina (g/dL)	Tratamento	2.56 ± 0.07 ^{Bab}	2.58 ± 0.31 ^{Aab}	3.40 ± 0.26 ^{Bc}	2.94 ± 0.30 ^{Bbc}	2.22 ± 0.13 ^{Aa}
Ureia (mg/dL)	Controle	12.20 ± 0.73 ^{Aa}	18.20 ± 1.02 ^{Ab}	28.00 ± 3.48 ^{Ac}	20.80 ± 2.63 ^{Ab}	21.00 ± 1.64 ^{Ab}
Ureia (mg/dL)	Tratamento	21.60 ± 0.87 ^{Ba}	22.20 ± 1.16 ^{Ba}	26.40 ± 2.25 ^{Aa}	22.40 ± 2.14 ^{Aa}	26.80 ± 4.82 ^{Aa}
AST (U/L)	Controle	70.40 ± 11.55 ^{Abc}	81.60 ± 8.38 ^{Ac}	41.40 ± 6.90 ^{Aa}	49.80 ± 9.17 ^{Aab}	68.00 ± 10.36 ^{Abc}
AST (U/L)	Tratamento	66.20 ± 9.09 ^{Aab}	86.20 ± 8.21 ^{Ab}	72.20 ± 11.04 ^{Aab}	59.60 ± 6.53 ^{Aa}	75.00 ± 12.08 ^{Aab}
GGT (U/L)	Controle	37.48 ± 19.96 ^{Ab}	39.02 ± 25.26 ^{Ab}	12.08 ± 1.66 ^{Aab}	8.24 ± 1.41 ^{Aa}	12.84 ± 2.66 ^{Aab}
GGT (U/L)	Tratamento	21.86 ± 7.10 ^{Abc}	14.84 ± 1.30 ^{Ac}	9.16 ± 1.15 ^{Aa}	12.24 ± 1.67 ^{Aac}	11.12 ± 1.18 ^{Aab}
FA (U/L)	Controle	133.60 ± 34.07 ^{Ab}	153.40 ± 42.79 ^{Ab}	117.80 ± 26.19 ^{Aab}	86.00 ± 21.20 ^{Aa}	154.60 ± 28.37 ^{Ab}
FA (U/L)	Tratamento	100.40 ± 14.77 ^{Aa}	107.80 ± 11.19 ^{Aa}	95.60 ± 7.53 ^{Aa}	82.20 ± 17.14 ^{Aa}	93.80 ± 11.26 ^{Aa}

^{A,B} Distintas entre linhas indicam para cada mês e variável, diferenças significativas entre os grupos.

^{abc} Distintas entre colunas indicam para cada grupo e variável, letras minúsculas distintas entre colunas indicam diferenças significativas entre os meses.

Quadro 6. Média e erro padrão da média das análises de saliva de acordo com o tratamento e mês do ano

Variável	Grupo	Mês					
		Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maio	Junho
Cálcio (mg/dL)	Controle	2.03 ± 0.27 ^{Aab}	3.03 ± 0.87 ^{Ab}	1.62 ± 0.16 ^{Aa}	3.61 ± 0.78 ^{Ab}	2.95 ± 0.45 ^{Ab}	3.30 ± 0.67 ^{Ab}
Cálcio (mg/dL)	Tratamento	1.63 ± 0.19 ^{Aa}	5.14 ± 1.51 ^{Ac}	1.97 ± 0.40 ^{Aab}	3.32 ± 0.18 ^{Ac}	3.30 ± 0.47 ^{Ac}	2.72 ± 0.37 ^{Abc}
Fósforo (mg/dL)	Controle	13.50 ± 2.49 ^{Aa}	16.53 ± 0.49 ^{Aab}	20.00 ± 1.54 ^{Ac}	17.80 ± 1.00 ^{Aac}	19.08 ± 1.02 ^{Abc}	18.24 ± 0.40 ^{Abc}
Fósforo (mg/dL)	Tratamento	20.07 ± 1.28 ^{Ba}	17.68 ± 0.66 ^{Aa}	19.32 ± 1.34 ^{Aa}	18.67 ± 0.99 ^{Aa}	18.06 ± 0.83 ^{Aa}	17.87 ± 1.09 ^{Aa}
Magnésio (mg/dL)	Controle	0.44 ± 0.12 ^{Aa}	1.66 ± 0.64 ^{Abc}	0.98 ± 0.25 ^{Aac}	1.91 ± 0.46 ^{Ac}	0.68 ± 0.12 ^{Aab}	1.25 ± 0.38 ^{Abc}
Magnésio (mg/dL)	Tratamento	0.54 ± 0.05 ^{Aa}	2.18 ± 0.84 ^{Ab}	0.86 ± 0.19 ^{Aab}	1.44 ± 0.22 ^{Ab}	0.54 ± 0.06 ^{Aa}	0.69 ± 0.18 ^{Aa}
Proteína (mg/dL)	Controle	26.99 ± 16.81 ^{Aab}	78.19 ± 29.08 ^{Acd}	15.40 ± 7.36 ^{Aa}	80.59 ± 22.32 ^{Ad}	28.02 ± 6.06 ^{Aac}	47.29 ± 18.49 ^{Abcd}
Proteína (mg/dL)	Tratamento	19.94 ± 4.44 ^{Aa}	95.76 ± 35.71 ^{Ab}	21.29 ± 5.61 ^{Aa}	64.44 ± 15.88 ^{Ab}	43.35 ± 18.38 ^{Aab}	17.14 ± 6.21 ^{Aa}
Albumina (mg/dL)	Controle	0.39 ± 0.09 ^{Aa}	0.90 ± 0.29 ^{Acd}	0.44 ± 0.05 ^{Aab}	1.02 ± 0.19 ^{Ad}	0.60 ± 0.06 ^{Abc}	0.64 ± 0.02 ^{Bcd}
Albumina (mg/dL)	Tratamento	0.47 ± 0.05 ^{Aa}	1.10 ± 0.39 ^{Ab}	0.47 ± 0.03 ^{Aa}	0.78 ± 0.17 ^{Ab}	0.67 ± 0.06 ^{Ab}	0.56 ± 0.02 ^{Ab}
Ureia (mg/dL)	Controle	13.97 ± 3.82 ^{Ab}	10.23 ± 1.08 ^{Aa}	15.61 ± 1.12 ^{Ab}	21.36 ± 1.49 ^{Ac}	24.23 ± 1.82 ^{Bc}	16.87 ± 1.95 ^{Ab}
Ureia (mg/dL)	Tratamento	23.51 ± 2.46 ^{Bc}	13.46 ± 2.05 ^{Aa}	13.64 ± 1.76 ^{Aa}	18.85 ± 0.98 ^{Ab}	19.92 ± 0.60 ^{Abc}	12.74 ± 1.18 ^{Aa}
AST (U/L)	Controle	4.19 ± 2.95 ^{Aa}	74.72 ± 50.26 ^{Abc}	10.13 ± 3.80 ^{Aab}	145.28 ± 88.39 ^{Ac}	59.72 ± 32.18 ^{Abc}	144.92 ± 68.45 ^{Bc}
AST (U/L)	Tratamento	39.47 ± 24.75 ^{Aab}	139.33 ± 82.27 ^{Aab}	36.67 ± 21.04 ^{Aab}	154.00 ± 79.81 ^{Ab}	17.81 ± 7.48 ^{Aab}	17.46 ± 8.17 ^{Aa}
GGT (U/L)	Controle	15.30 ± 0.53 ^{Ba}	16.36 ± 1.54 ^{Aa}	14.77 ± 2.72 ^{Aa}	12.66 ± 3.05 ^{Aa}	19.00 ± 3.27 ^{Aa}	16.36 ± 3.27 ^{Aa}
GGT (U/L)	Tratamento	13.72 ± 0.53 ^{Aa}	15.30 ± 1.94 ^{Aab}	13.72 ± 1.54 ^{Aa}	13.19 ± 1.67 ^{Aa}	18.99 ± 0.99 ^{Ab}	13.72 ± 0.99 ^{Aa}
FA (U/L)	Controle	19.85 ± 1.61 ^{Bcd}	20.95 ± 1.41 ^{Ad}	16.54 ± 1.95 ^{Aabc}	18.75 ± 2.03 ^{Abd}	15.44 ± 2.06 ^{Aab}	14.34 ± 2.21 ^{Aa}
FA (U/L)	Tratamento	15.99 ± 0.55 ^{Aab}	18.20 ± 1.87 ^{Ab}	14.89 ± 1.10 ^{Aab}	14.34 ± 1.03 ^{Aab}	17.65 ± 2.40 ^{Aab}	13.24 ± 1.03 ^{Aa}

^{A,B} Distintas entre linhas indicam para cada mês e variável, diferenças significativas entre os grupos.

^{abc} Distintas entre colunas indicam para cada grupo e variável, letras minúsculas distintas entre colunas indicam diferenças significativas entre os meses.

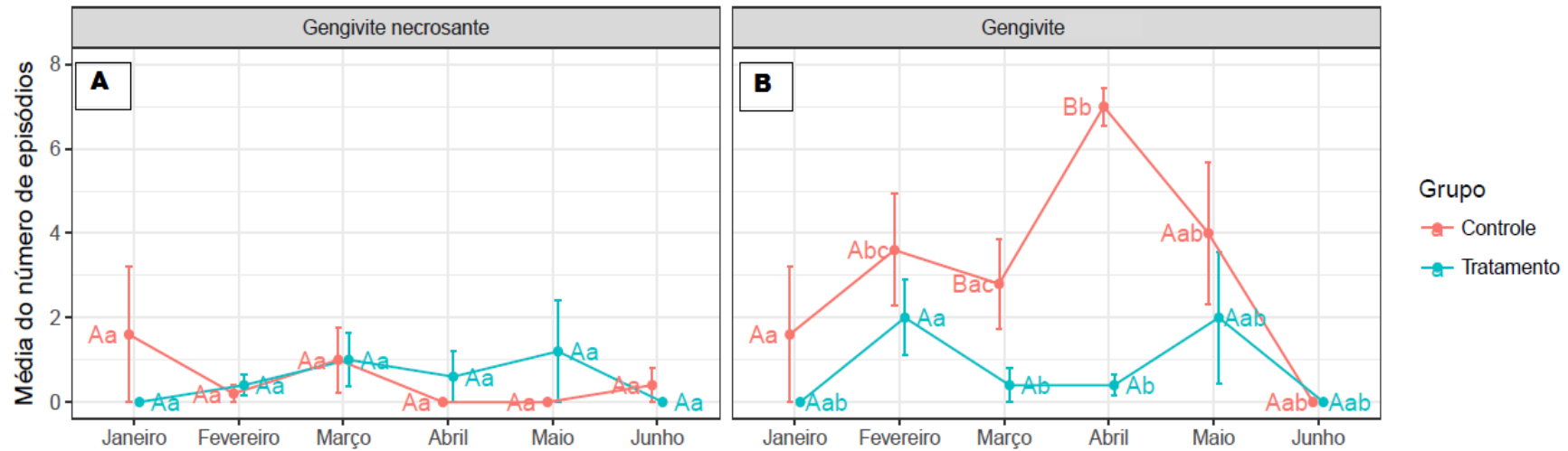


Fig 1 (A, B). Comparação entre os grupos controle e tratamento para média e erro padrão da média (EPM), do número de episódios de gengivite e gengivite necrosante, de bezerras, ao longo do tempo, utilizando modelo binomial negativo, com teste de Tukey considerando $\alpha=5\%$. Letras maiúsculas distintas entre linhas indicam para cada mês e variável, diferenças significativas entre os grupos. Letras minúsculas distintas entre colunas indicam para cada grupo e variável, indicam diferenças significativas entre os meses.

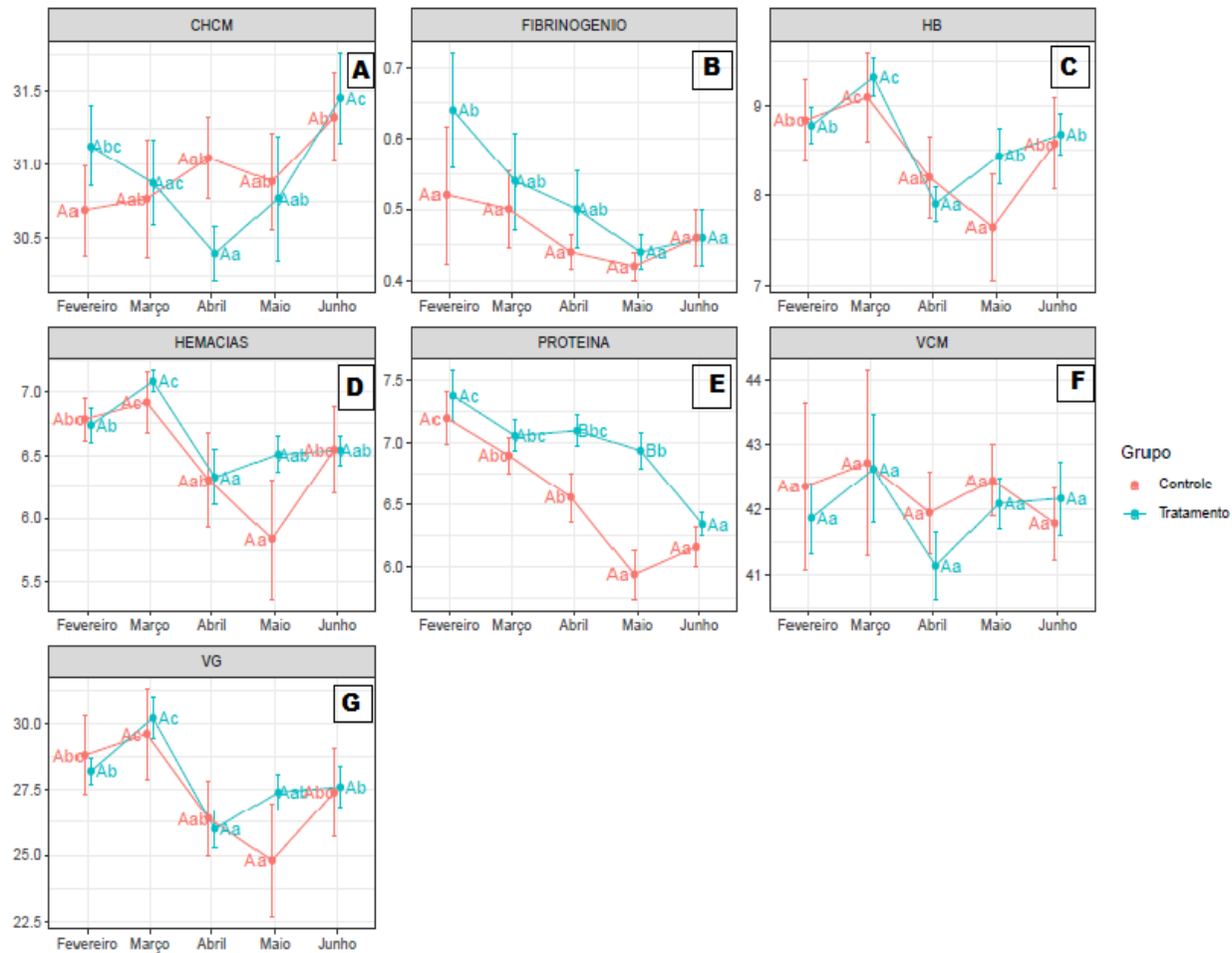


Fig. 2 (A-G). Comparação entre os grupos controle e tratamento de bezerras para os dados de eritrograma com média e erro padrão da média (EPM), utilizando ANOVA com teste de post hoc de Tukey considerando $\alpha=5\%$. Letras maiúsculas distintas entre linhas indicam para cada mês e variável, diferenças significativas entre os grupos. Letras minúsculas distintas entre colunas indicam para cada grupo e variável, indicam diferenças significativas entre os meses.

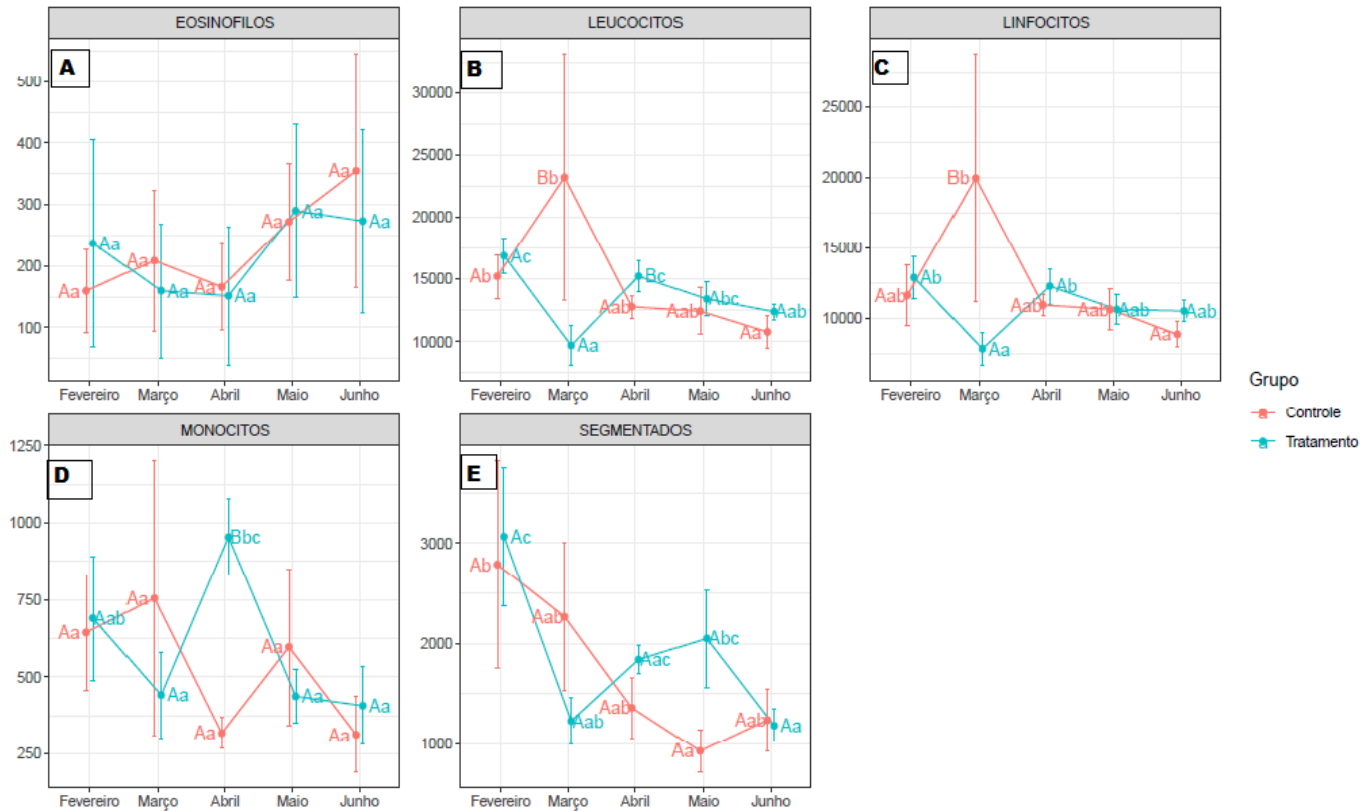


Fig. 3 (A-E). Comparação entre os grupos controle e tratamento de bezerros para os dados de leucograma com média e erro padrão da média (EPM); utilizando ANOVA com teste de post hoc de Tukey considerando $\alpha=5\%$. Letras maiúsculas distintas entre linhas indicam para cada mês e variável, diferenças significativas entre os grupos. Letras minúsculas distintas entre colunas indicam para cada grupo e variável, indicam diferenças significativas entre os meses.

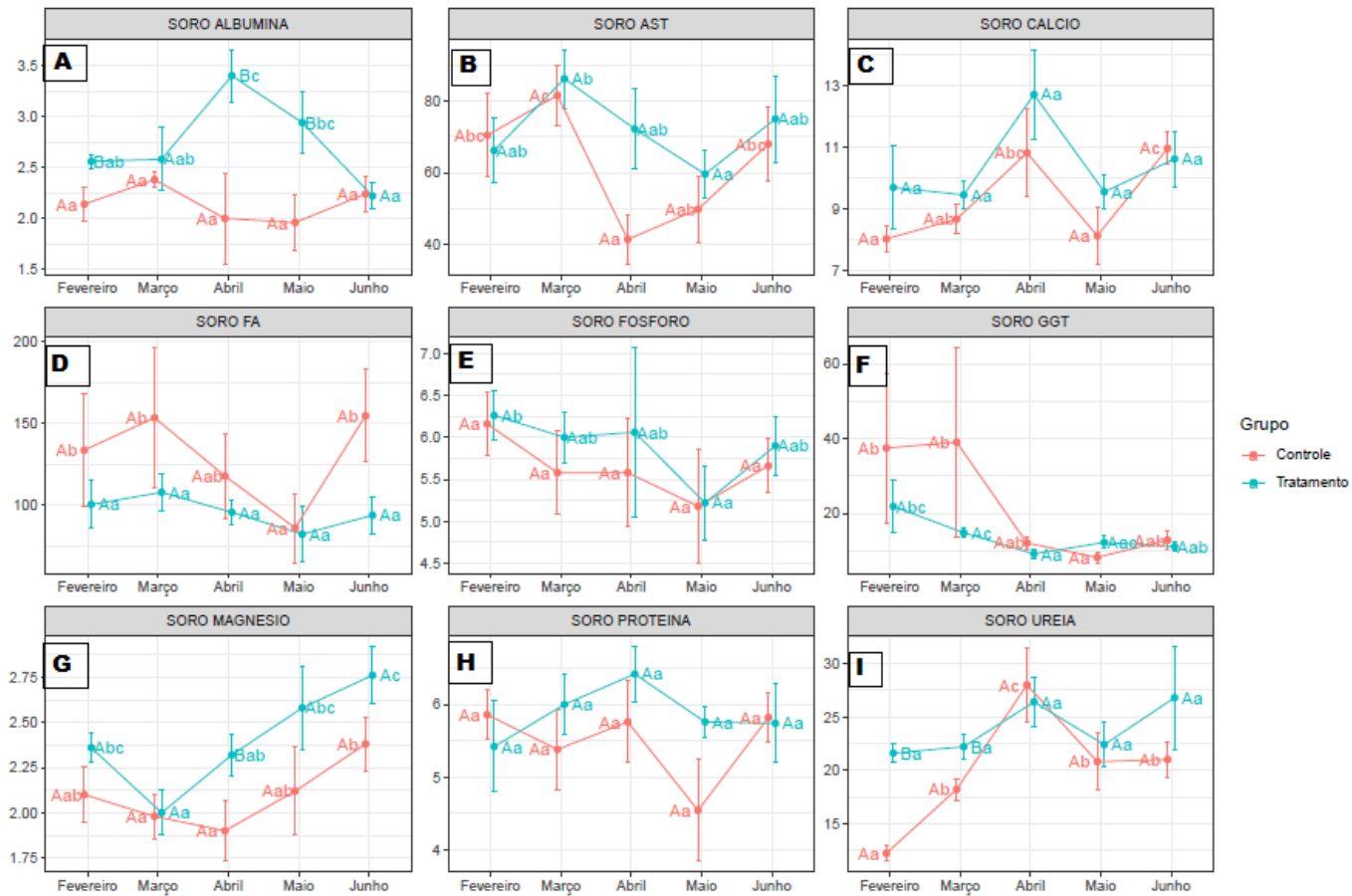


Fig. 4 (A-I). Comparação entre os grupos controle e tratamento de bezerros para os dados de bioquímica sérica com média e erro padrão da média (EPM); utilizando ANOVA com teste de post hoc de Tukey considerando $\alpha=5\%$. Letras maiúsculas distintas entre linhas indicam para cada mês e variável, diferenças significativas entre os grupos. Letras minúsculas distintas entre colunas indicam para cada grupo e variável, indicam diferenças significativas entre os meses.

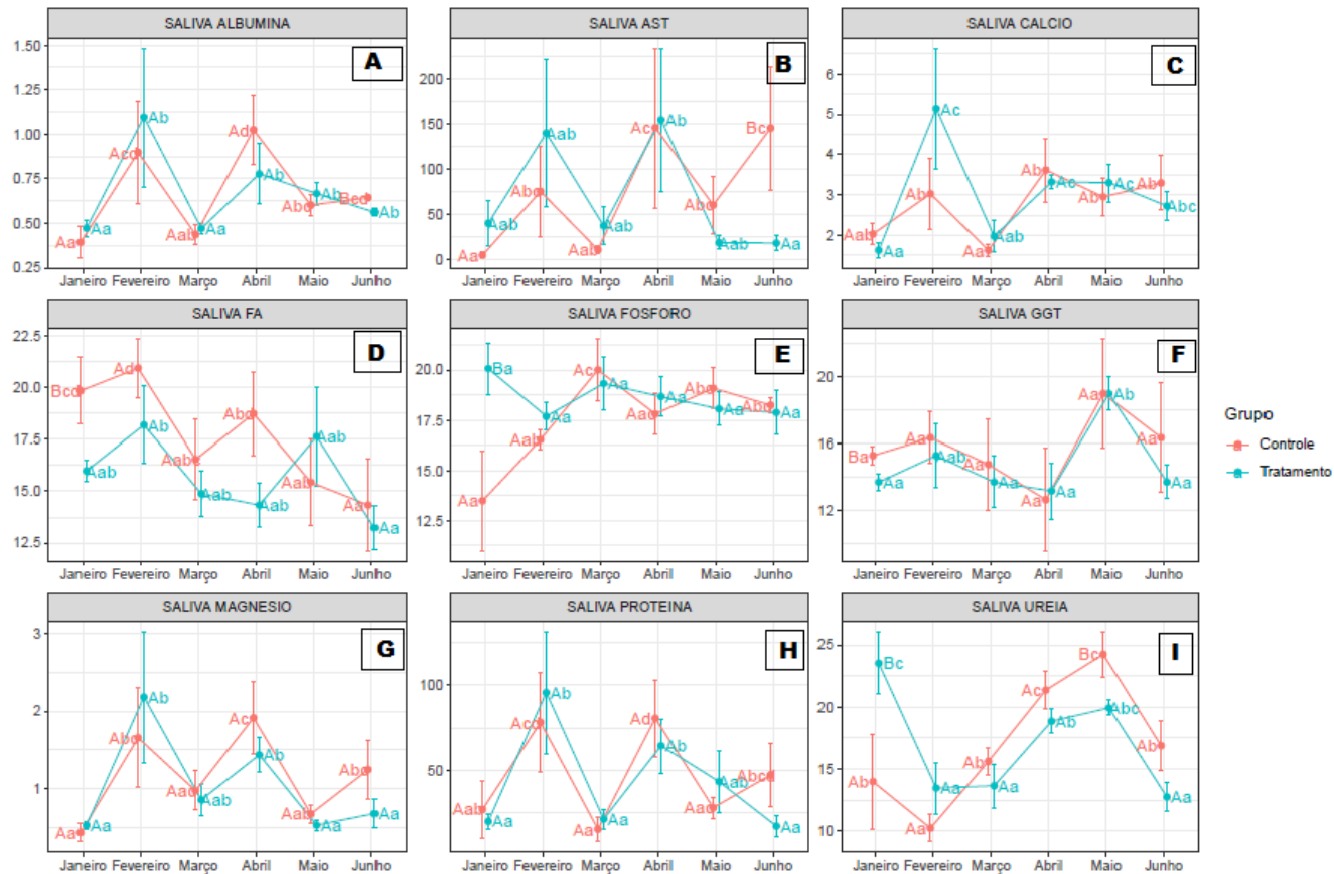


Fig. 5 (A-I). Comparação entre os grupos controle e tratamento de bezerros para os dados de bioquímica salivar com média e erro padrão da média (EPM); utilizando ANOVA com teste de post hoc de Tukey considerando $\alpha=5\%$. Letras maiúsculas distintas entre linhas indicam para cada mês e variável, diferenças significativas entre os grupos. Letras minúsculas distintas entre colunas indicam para cada grupo e variável, indicam diferenças significativas entre os meses.

CAPÍTULO 3 – Considerações finais

O monitoramento clínico da condição periodontal de bezerros mantidos em pastos recém-reformados, em condições experimentais que simularam a da ocorrência natural da doença e a avaliação mensal do perfil hematológico, bioquímico sérico e salivar revelaram dados importantes para os estudos das doenças periodontais em bovinos. Ao mesmo tempo, trouxe uma informação complementar sobre a influência nesses perfis quando os animais receberam virginiamicina na dosagem de 340 mg por dia e ao longo do experimento.

O antibiótico revelou ser eficaz no controle da gengivite e gengivite necrosante, que são as formas precursoras das periodontites, com influências sobre a frequência dos episódios de gengivite em grupo controle maior que em grupo tratado e ganho de peso e condição superior em grupo controle; o que foi objeto de estudo complementar. No entanto, neste estudo complementar não se evidenciou alterações significativas nos perfis avaliados, embora tenham ocorrido oscilações em alguns parâmetros.

A importância econômica e sanitária das doenças periodontais em animais de produção impõe a necessidade do desenvolvimento de medidas para a sua prevenção e controle. Na atualidade, a única alternativa sustentável que se apresenta é a retirada dos animais das áreas de ocorrência; no entanto, essa medida revela um contra-senso, pois geralmente são os melhores pastos ou forragens.

Foi observada a correlação entre os achados clínicos e os parâmetros bioquímicos séricos e salivares. Estes parâmetros associados com os exames clínicos poderão ser úteis como marcadores de predisposição, diagnóstico e monitoramento das doenças periodontais nos bovinos, principalmente o magnésio sérico que demonstrou correlação com episódios de gengivite.