



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE
MESQUITA FILHO”



FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**EFICÁCIA DO PROBIÓTICO DAS ESPÉCIES DOS
GÊNEROS Lactobacillus E Bifobacterium NO CONTROLE DE
PLACA BACTERIANA E GENGIVITE EM CACHORRO- DO-
MATO (*Cerdocyon thous*) DE CATIVEIRO**

SABRINA FRACASCIO

Botucatu-SP
OUTUBRO/2019



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE
MESQUITA FILHO”



FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**EFICÁCIA DO PROBIÓTICO DAS ESPÉCIES DOS
GÊNEROS Lactobacillus E Bifobacterium NO CONTROLE DE
PLACA BACTERIANA E GENGIVITE EM CACHORRO- DO-
MATO(*Cerdocyon thous*) DE CATIVEIRO**

SABRINA FRACASCIO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Animais Selvagens da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Roberto Teixeira.

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Fracascio, Sabrina.

Eficácia do probiótico das espécies dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifobacterium* no controle de placa bacteriana e gengivite em cachorro-do-mato (*Cercopithecus thomasi*) de cativeiro / Sabrina Fracascio. - Botucatu, 2019

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Carlos Roberto Teixeira.

Coorientador: Ramiro das Neves Dias

Capes: 50501070

1. Bactérias anaeróbicas. 2. *Lactobacillus*. 3. Placa dentária. 4. Probióticos.

Palavras-chave: *Bifobacterium*; *Lactobacillus*; cachorro-do-mato; placa bacteriana; probiótico.

Nome do autor: Sabrina Fracasio

TÍTULO: EFICÁCIA DO PROBIÓTICO DAS ESPÉCIES AOS GÊNEROS Lactobacillus E Bifobacterium NO CONTROLE DE PLACA BACTERIANA E GENGIVITE EM CACHORRO- DO-MATO (*Cerdocyon thous*) DE CATIVEIRO

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Carlos Roberto

Orientador

Departamento de Cirurgia Veterinária

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP – Botucatu, SP

Prof. Dr. Bruno Cesar Shimming

Membro titular

Departamento de Anatomia.

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – USP – São Paulo, SP

Prof. Dr. Caio Henrique Paganini Burini

Médico Veterinário/ Autônomo

AGRADECIMENTOS

A Deus Primeiramente, pela saúde, disposição, por iluminar meus pensamentos nos momentos mais difíceis, por me guardar e me abençoar em toda minha vida.

Ao meu marido e companheiro Jonathan por sempre acreditar em mim e me apoiar compreendendo os momentos difíceis e as mudanças de humor, além de me ajudar no desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus Pais que sempre me apoiaram e acreditaram no meu sonho tornando os mesmos em realidade, além de me compreenderem, serem meus amigos, companheiros e me guiarem para seguir o melhor caminho sempre.

Aos meus Avós por sempre orarem por mim, pela preocupação, pelo apoio e carinho.

Aos meus grandes amigos que fizeram esse projeto dar certo Alicia, Gilson e David amigos da pós-graduação e ao, meu co-orientador Ramiro Dias, que tiveram uma paciência enorme para ajudar em cada minuto no projeto e revisar minha dissertação. Ainda agradeço a todos esses anjos em minha vida pela atenção, dedicação e carinho, não tenho palavras para dizer como vocês são importantes nessa fase da minha vida e da minha carreira.

Ao meu orientador Carlinhos, que ao longo desses dois anos dedicou seu tempo para me ajudar e ensinar inúmeras coisas, por todos os conselhos e ajuda que contribuíram para a conclusão desta etapa e por fazerem parte do que sou hoje.

A professora Sheila por contribuir com toda estrutura necessária, tornando esse projeto real e a professora Alessandra por ser uma pessoa incrível

Agradeço a fundação de coordenação e aperfeiçoamento de pessoal nível superior (CAPES) no apoio para desenvolver o presente trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE GRAFICOS	xi
ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	xii
RESUMO	xiii
INTRODUÇÃO	xv
1 Introdução	1
REVISÃO DE LITERATURA	4
2 Revisão de Literatura	5
2.1 Fisiologia e Anatomia Oral	5
2.2 Anatomia Dental	10
2.2.1 Esmalte	11
2.2.2 Dentina	12
2.2.3 Cimento	12
2.2.4 Polpa	13
2.2.5 Ligamento Periodontal	14
2.2.6 Gengiva	14
2.2.7 Osso Alveolar	15
2.2.8 Oclusão Normal	15
2.3 Doença Periodontal	18
2.3.1 Etiologia	18
2.3.2 Cálculo Dentário	21
2.3.3 Patogenia da Doença Periodontal	23
2.3.4 Gengivite	23
2.3.5 Periodontite	23
2.4 Sinais Clínicos	24
2.5 Fases da Doença Periodontal	25
2.6 Tratamento Conservativo	27
2.6.1 Profilaxia	27

2.7 Raspagem Gengival	29
2.8 Polimento	30
2.9 Probiótico e a Saúde Oral	32
OBJETIVOS	40
3 Objetivos	41
MATERIAL E MÉTODOS	42
5 Material e Métodos	43
5.1 Animais	43
5.2 Probiótico	44
5.3. Pré-operatório	44
5.4 Avaliação	44
5.5 Avaliação Periodontal Dia 0	47
5.6 Avaliação por fotografia digital	48
RESULTADOS	54
6 Comparação entre os grupos –todos os dentes	55
6.1 Entre as Porcentagens	55
6.2 Entre as Diferenças das porcentagens	56
6.3 Comparação entre os grupos dentários dentro do mesmo grupo	57
6.3.1 Grupo Positivo	57
6.3.2 Grupo negativo	50
6.4 Comparação entre os grupos em relação ao grupo dentário	61
DISCUSSÃO	64
7 Discussão	65
CONCLUSÃO	68
8 Conclusão	69
REFERÊNCIAS	70
ARTIGO CIENTÍFICO	78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Tempo de erupção dos dentes decíduos e permanentes nos cães e gatos	8
Tabela 2. Microbiota-aeróbica subgengival	19
Tabela 3. Sinais clínicos da doença periodontal	24
Tabela 4. Índice de cálculo e de placa bacteriana modificada de Logan e Boyce (1994)	51

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Face direita da cavidade oral de cachorro-do-mato (<i>Cerdocyon thous</i>).	8
Figura 2. Triadam Modificado de canídeos	10
Figura 3. Esquema Ilustrativo da estrutura anatômica do dente	11
Figura 4. Representação esquemática do dente e os tecidos moles e o osso alveolar	15
Figura 5. Na oclusão normal, os incisivos mandibulares possuem contato com as faces incisais nos cúngulos dos incisivos maxilares	16
Figura 6. As cúspides dos pré-molares superiores, apontam para o espaço interproximal dos pré-molares inferiores, sendo que o primeiro pré-molar inferior (seta azul), está rostral aos dentes adjacentes	17
Figura 7. Oclusão em tesoura do quarto pré-molar superior sob o primeiro molar inferior (A e B)	17
Figura 8. Biofilme dentário	19
Figura 9. Bactérias com predisposição para tecidos inflamados como, pulmão, coração, fígado, rins, articulações e encéfalo	21
Figura 10. Glândulas salivares do cão: 1 - Parótida, 2 – Mandibular, 3 -. Sublingual, 4 – Zigomática	22
Figura 11. Fases da doença periodontal	27
Figura 12. Extratores de cálculos manual e elétrico (A) Ultrassom dentário (B) Cureta de Gracey	28
Figura 13 - Raspagem supragengival, (A) - Posiciona o extrator contra o dente no nível da gengiva, o cabo deve estar paralelo ao dente e então desta forma o extrator é puxado firmemente no sentido da margem gengival para a ponta do dente, assim removendo o cálculo. Figura (B). Com o aparelho de ultrassom a raspagem mecânica tem que ter a ponta do ultrassom posicionado lateralmente,	

desta forma gerando um ângulo de quarenta e cinco graus com o dente e nunca perpendicularmente ao mesmo 29

Figura 14. Raspagem subgengival. **(A)** Cureta de Gracey com ponta arredondada, **(B)** Raspagem subgengival manual; prende o instrumento no cálculo **(C)** puxa o cálculo em sentido da coroa 30

Figura 15. Raspagem subgengival com cureta de Grayce 30

Figura 16. Superfície do dente **(A)** Antes do ultrassom dentário, **(B)**. Após o uso do ultrassom dentário 31

Figura 17. Polimento com taça de borracha **(A)** Taça de borracha dentro do sulco gengival, **(B)** Polimento de todas superfícies dos dentes com taça de borracha e pasta profilática 32

Figura 18. Possível mecanismo de ação das bacteriocinas dos probióticos na cavidade oral. **(A)** Péptidos de colonização – facilita a competição do probiótico com a microbiota residente **(B)** Péptidos de morte - se adere aos agentes patogênicos, realizando a eliminação dele direta **(C)** Péptidos de sinalização de bactérias e componentes do sistema imune (adaptado de Dobson et al., 2012) 33

Figura 19. Diagrama adaptado do mecanismo de ação do probiótico oral segundo: (Stamatova e Meurman, 2009) 34

Figura 20. Bactérias probióticas de *Lactobacillus* visualizado através do microscópio eletrônico 36

Figura 21. Probiótico do gênero *bifobacterium* visualizada de microscópio eletrônico 38

Figura 22. Cavidade oral lado direito **(A)** lado esquerdo **(B)**, das faces vestibulares maxilares e mandibulares de cachorro do mato (indivíduo 3), no dia 0 antes do tratamento periodontal 45

Figura 23. Ficha de atendimento odontológico 46

Figura 24. Remoção de cálculo supra- gengival e sub- gengival com ultrassom dentário na face vestibular esquerda dos dentes maxilares e mandibulares de cachorro do mato (indivíduo 1) 47

Figura 25. Polimento com taça de borracha acoplado em uma caneta de baixa rotação e pasta profilática, aplicada na face vestibular dos dentes maxilares e mandibulares esquerda de cachorro do mato (indivíduo 1) 47

Figura 26. A – Lado direito da cavidade oral do Indivíduo número 3 no antes do tratamento periodontal. Figura B – Lado direito do indivíduo número 3 após tratamento periodontal onde zerou a placa bacteriana para começar o tratamento com probiótico 48

Figura 27. Cavidade oral lado direito (A), cavidade oral lado esquerdo (B), de um cachorro-do-mato, com aplicação de eosina aquosa a 2%, aplicada com auxilio Gaze sobre as faces vestibulares dos dentes maxilares e mandibulares 49

Figura 28. Mesa auxiliar de suporte a câmera fotográfica 50

Figura 29. Áreas coradas com solução de eosina aquosa a 2% nas faces vestibulares dos dentes da maxila e mandibula de um cachorro do mato (*Cerdocyon thous*), indivíduo (número 3), no dia 0 51

Figura 30. Imagem da cavidade oral do lado esquerdo cachorro do mato (*Cerdocyon thous*), indivíduo (número 3) com imagem digital da face vestibular dos dentes da maxila e mandibula, tratada no photoshop online, após a coloração de preto das áreas totais dos dentes avaliados 51

Figura 31. Imagem das áreas vestibulares da maxila e mandíbula acometidas por cálculo dentário no dia 0 do cachorro do mato (*Cerdocyon thous*), indivíduo (número 3), imagem digital tratada no photoshop online 51

Figura 32. Áreas coradas com solução de eosina aquosa a 2% nas faces vestibulares dos dentes da maxila e mandibula de um cachorro do mato (*Cerdocyon thous*), indivíduo (número 3), após 60 dias do tratamento periodontal e o uso do probiótico 52

Figura 33. Imagem das áreas vestibulares da maxila e mandíbula acometidas por cálculo dentário após 60 dias do tratamento periodontal e do uso do probiótico no cachorro do mato (*Cerdocyon thous*), indivíduo (número 3), imagem digital tratada no photoshop online 52

Lista de Gráficos

Gráfico 1- Porcentagem de placa bacteriana entre o grupo positivo e negativo no dia 0	55
Gráfico 2 - Porcentagem de placa bacteriana entre o grupo positivo e negativo após 60 dias.	56
Gráfico 3 – Porcentagem da placa bacteriana formada em 60 dias	57
Gráfico 4 - Comparação entre os dentes da maxila do grupo positivo	58
Gráfico 5- Comparação entre os dentes da mandíbula do grupo positivo	59
Gráfico 6 - Comparação entre os dentes da maxila do grupo negativo.	60
Gráfico 7 - Comparação entre os dentes da mandíbula do grupo negativo.	61
Gráfico 8 - Comparação entre os dentes da maxila do grupo positivo e negativo.	62
Gráfico 9 - Comparação entre os dentes da mandibula do grupo positivo e negativo	63

ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

%	Porcentagem
X	Veze
AVDC	American Veterinary Dental College
C	Cálculo
CEMPAS	Centro de Medicina e Pesquisa em Animais Selvagens
Cm	Centímetro
Hz	Hertz
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
IgA	Imunoglobulina
IV	Intravenoso
Kg	Kilograma
ml	Mililitros
Mg	Miligramas
Mm	Milímetro
PB	Placa Bacteriana
pH	Potencial Hidrogeniônico
RAR	Raspagem e Alisamento Radicular
Rpm	Rotação por Minuto
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UNESP	Universidade Estadual de São Paulo
USP	Universidade de São Paulo

FRACASIO, S. **EFICÁCIA DO PROBIÓTICO DAS ESPÉCIES DOS GÊNEROS Lactobacillus E Bifobacterium NO CONTROLE DE PLACA BACTERIANA E GENGIVITE EM CACHORRO- DO- MATO (*Cerdocyon thous*) DE CATIVEIRO**. Botucatu. 2019. p.100 Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP).

RESUMO

A doença periodontal ocorre pelo acúmulo de placa bacteriana sobre os dentes e estruturas adjacentes e esta é uma das principais afecções que acomete o cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) em cativeiro. Na odontologia veterinária, o probiótico é uma alternativa para animais selvagens de cativeiro, pois ele diminui o risco do tratamento cirúrgico, resistência a cepas bacterianas e efeitos colaterais da doença periodontal.

O objetivo deste estudo foi avaliar a ação dos probióticos das espécies *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus brevis* e *Bifidobacterium bifidum*. Foram avaliados 132 dentes de 6 cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*), provenientes do Centro de Medicina e Pesquisa em Animais Selvagens (CEMPAS) da UNESP, com doença periodontal grau I e II. Os animais foram separados aleatoriamente após 60 dias de tratamento periodontal entre o grupo positivo e grupo negativo (sem aditivo de probiótico na comida). A medição da área bacteriana e do cálculo dentário ocorreu através da análise das imagens digitais que foram comparadas entre o grupo positivo e o grupo negativo após 60 dias do tratamento periodontal. Os probióticos dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os grupos de estudo, mas foi possível observar forte tendência de aderência e atuação do probiótico no terceiro incisivo, canino e quarto pré-molar superior. Vale a pena ressaltar que esse estudo é o primeiro relato de caso desta natureza no qual utiliza de probiótico para prevenção da doença periodontal em animais.

Palavras-chaves: Canídeos selvagens, probiótico, odontologia veterinária, cachorro-do-mato.

FRACASIO, S **Effectiveness of lactobacillus and bifobacterium probiotic in controlling plaque and gingivitis in captive crab-eating fox**. Botucatu. 2019. p.100 .Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP).

ABSTRACT

Periodontal disease occurs by the accumulation of plaque on the teeth and adjacent structures and this is one of the main conditions that affect the captive crab-eating fox (*Cerdocyon thous*). In veterinary dentistry, the probiotic is an alternative for captive wildlife, as it decreases the risk of surgical treatment, resistance to bacterial strains and side effects of periodontal disease.

The aim of this study was to evaluate the action of probiotics of *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus brevis* and *Bifidobacterium bifidum* species. A total of 132 teeth of six crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) from the UNESP Center for Medicine and Wildlife Research (CEMPAS) with grade I and II periodontal disease were evaluated. The animals were randomly separated after 60 days of periodontal treatment between the positive and negative group (no probiotic additive in the food). Measurement of bacterial area and dental calculus occurred through the analysis of digital images that were compared between the positive and negative groups after 60 days of periodontal treatment. The probiotics of the genera *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* showed no statistically significant difference between the study groups, but it was possible to observe a strong tendency of adherence and performance of the probiotic in the third incisor, canine and fourth premolar. It is noteworthy that this study is the first case report of this nature in which it uses probiotics to prevent periodontal disease in animals.

Keywords: Wild canids, probiotic, veterinary dentistry, crab-eating fox.

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

O cachorro-do-mato pertence a ordem *Carnivora* que são altamente diversificados, com peso variável e dietas que podem incluir insetos, frutas e até grandes herbívoros (BERTA, 1982; MAC DONALD e SILLERO-ZUBIRI, 2004). Com o aumento do crescimento das áreas agrícolas e das áreas urbanas, ocorreram mudanças na qualidade do ambiente dos canídeos selvagens, tais como a localização dos alimentos e água. Desta forma, esses animais procuram outros lugares para sobrevivência, onde necessitam atravessar malhas rodoviárias e correm o risco de serem atropelados, principalmente os animais jovens que estão à procura de um novo território (SILVA et al., 2000).

Segundo o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), o cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) é classificado como vulnerável à extinção (CUBAS et al., 2007). O conhecimento da anatomia, fisiologia, comportamento, habitat e nutrição dos animais em cativeiros auxiliam nos melhores diagnósticos e aumentam inteiramente a longevidade e bem-estar desses animais (PACHALY e GIOSO, 2001). Dentre as afecções encontradas nos canídeos de cativeiro, a cavidade oral merece destaque, pois a alimentação oferecida contém níveis adequados de nutrientes, mas não há uma diversidade de texturas necessárias para manter a saúde dos dentes e gengivas (JUNIOR, 2007). Em estudo de sínclinos de *Procyon cancrivorus*, realizado por Bianchini et. al. (2007), a afecção mais prevalente na cavidade oral é a doença periodontal com 85,39 %, tendo a maior incidência em animais procedentes de cativeiros, devido a alterações da dieta e hábitos alimentares que foram responsáveis por grande parte dessas lesões.

A doença periodontal é uma infecção multifatorial, tendo como o fator etiológico primário a placa bacteriana, que gera uma resposta inflamatória no periodonto de proteção e, posteriormente, no periodonto de sustentação (GORREL, 2010; WIGGS e LOBPRISE, 1997). A placa dentária é definida como um material viscoso e amarelado, que se forma sobre o esmalte do dente, constituído por bactérias. (WIGGS e LOBPRISE, 1997). As bactérias comumente encontradas na doença periodontal são as bactérias anaeróbias facultativas sem

motilidade, principalmente os *Streptococcus sanguis* e *Actinomyces viscosus* (GIOSO, 2007). O tempo da placa bacteriana para se instalar sob a superfície dentária demora cerca de 24 a 48 horas e só nesta forma organizada que causa lesão periodontal. O sulco gengival torna-se o ambiente ideal para a proliferação de bactérias anaeróbias e gram-negativas (EMILY e PENMAN, 1994), tais como as *Porphyromonas spp*, *Prevotella spp*, *Peptostreptococcus spp* e *Fusobacterium spp* (HARVEY e EMILY, 1993). A doença periodontal quando não controlada inicialmente, acaba aumentando a resposta e agressão aos tecidos onde a resposta imunológica e inflamatória resultam em destruição do periodonto, ocasionando assim perda funcional e dentária (GIOSO, 2007).

A periodontite é uma manifestação tardia da doença periodontal (HARVEY, 1998), na qual a placa bacteriana se insere no sulco gengival e desencadeia uma resposta imunológica na cavidade oral do animal que ocasiona a retração gengival (GIOSO, 2007). A retração gengival gera perda óssea, que provoca uma instabilidade e mobilidade dentária e, durante a mastigação, faz com que o dente seja empurrado contra o osso restante, concebendo a esfoliação do mesmo (HARVEY, 1998).

O termo probiótico designa-se a microrganismos vivos que, administrados em quantidades adequadas, promovem benefícios à saúde do hospedeiro (MEURMAN, 2007). O uso do probiótico na doença periodontal tem como objetivo promover o balanço ecológico mediante a exclusão competitiva de bactérias patogênicas, que exercem sua ação de múltiplos mecanismos como a fagocitose, inibição do crescimento bacteriano, modulação local da resposta imune, além de diminuir a resposta inflamatória e estimular a produção de imunoglobulinas (IgA) (FOUREAUX, 2012; MEURMAN, 2007). O biofilme derivado do mecanismo dos probióticos na cavidade oral preenchem os espaços onde acumulam bactérias patogênicas, diminuindo a gengivite, halitose e bactérias carcinogênicas, que acarretam a doença periodontal (ÇAGLAR et al., 2005; COMELLI et al., 2002, GRUDIANOV et al., 2002; KANG et al., 2006). O probiótico na doença periodontal tem a função de gerar e harmonizar o equilíbrio da microbiota oral. As bactérias benéficas utilizadas nos probióticos orais, são classificadas como bactérias ácido-láticas do gênero *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. Elas trazem efeitos benéficos nos dentes, reduzindo a desmineralização do esmalte dentário e impedindo o crescimento da microbiota

prejudicial, pois essas bactérias irão modular a imunidade da cavidade oral (FOUREAUX, 2012). As bactérias benéficas do gênero *Lactobacillus* geram uma ação antagonista inibindo os agentes patogênicos periodontais como *Aggregatibacter*, *Actinomyces comitans*, *Prevotella intermedia* e *Porphyromonas gingivalis*, fazendo com que a produção de ácido láctico diminua o pH da cavidade oral liberando peróxido de hidrogênio gerando manutenção e equilíbrio da microbiota oral (KARPINSKI e SZKARADKEWICZ, 2013). O probiótico do gênero *Bifidobacterium* tem um efeito sinérgico com a contagem salivar e redução significativa de *S. mutans* na cavidade oral. Essa redução ocorre devido à inibição da aderência bacteriana e pelo efeito bactericida, com a atividade seletiva contra *Streptococcus mutans* (JINDAL et al., 2012 e MARSH, 2006).

O presente estudo visa colaborar com um método alternativo de prevenir a formação da placa bacterina e gengivite com auxílio de microrganismo vivos, que quando ministrados em quantidades adequadas são benéficos a saúde.

REVISÃO DE LITERATURA

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 FISIOLOGIA E ANATOMIA ORAL

A odontologia veterinária atualmente é essencial para saúde de qualquer espécie de animal, tendo em vista diversos casos clínicos que debilitam os pacientes devido à não higiene das estruturas orais como dentes, periodonto e língua, que são importantes para o processamento de qualquer alimento ingerido (PACHALY e GIOSO, 2001).

Animais mantidos em cativeiros como zoológicos e aquários têm grande índice de morbidade e mortalidade relacionadas às afecções orais (GLAT et al., 2008), pois a detecção das afecções orais nestes animais são tardias, devido a dificuldade de manipulação da cavidade oral para exame oral e necessário que que os animais estejam anestesiados (GIOSO, 2007).

O aumento do crescimento das áreas agrícolas e urbanas promovem mudanças na qualidade do ambiente dos canídeos selvagens, que precisam procurar outros lugares para sobrevivência. Infelizmente o atropelamento desses animais é constante, tornando-se assim uma ameaça para a espécie, principalmente para os animais jovens que estão à procura de um novo território (SILVA et al., 2000). Existem diversas ameaças aos animais de vida livre e para melhorar as chances de sobrevivência e terem uma vida longa, os animais que já sofreram alguma ameaça são colocados em cativeiros, com a finalidade de promover uma nutrição adequada, de forma que possa promover a longevidade e sanidade (DEEM, 2007).

Segundo o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) o cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) é classificado como vulnerável à extinção (CUBAS et al., 2007).

O cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) pertence a ordem Carnivora da família Canidae, com corpo de 60 cm de comprimento e cauda de 30 cm. O peso desses animais quando adultos podem variar de 3,7 a 11,1 kg, apresentam pelagem cinza ao castanho, com pelo preto da nuca até a ponta da cauda. Essa espécie predomina geograficamente em todo o Brasil, Bolívia, Venezuela,

Colômbia aparece nos biomas, o cerrado, a caatinga, pantanal, mata atlântica e, bordas das matas e áreas habitadas pelo homem. São animais que apresentam mais hábitos noturnos e solitários, mas quando vistos em dupla é possível que estejam na época de reprodução (REIS *et al.*, 2006).

A dieta do *C. Thous* é onívora, mas varia sazonalmente por ser um animal generalista e oportunista, já que se alimenta de frutas, insetos, crustáceos, pequenos vertebrados, peixe e até mesmo de carniça (GOMES, 2006; SANTIAGO e OLIVEIRA 2001). A alimentação dessa espécie em cativeiro contém níveis adequados de nutrientes, mas não há uma diversidade de texturas necessárias para manter a saúde dos dentes e gengivas (JUNIOR, 2007).

Os carnívoros têm morfologia dentária adaptada para dominar a presa e consumí-la, possuindo amplitude vertical e ampla abertura da boca, o suficiente para apanhar a presa e aplicando forças oclusais intensas, as quais são permitidas pela articulação temporomandibular (ELBROCH, 2006; WIGGS e LOBPRISE, 1997;). Segundo Van Valkenlargb (1989), os carnívoros durante a evolução desenvolveram uma dentição versátil e adaptada para cortar carne, quebrar e despedaçar ossos e moer ou triturar insetos e frutas. Normalmente, os ossos encontrados na dieta são quebrados por dentes com formato cônicos, a carne que tem consistência macia é fragmentada por um dente cortante (semelhante a uma lâmina) e as frutas e forragem são trituradas por dentes pontiagudos.

A morfologia craniana e dentária dos canídeos selvagens é semelhante a dos canídeos domésticos (ELBROC, 2006), e os dentes dos animais selvagens têm várias funções diferentes em relação aos animais domésticos, tais como predação, intimidação do oponente, transporte de filhotes e limpeza corpórea (GIOSO, 2007). Contudo, a principal função dos dentes é promover o início da alimentação que junto com a ação dos fluidos salivares, inicia o processo de digestão do trato gastrointestinal (HARVEY, 1985).

Os canídeos são classificados quanto à dentição como difiodontes, os quais apresentam duas erupções distintas: uma decídua ou primária e outra permanente ou secundária. Esses dentes são do tipo heterodonte, ou seja, existem diferentes tipos de dentes presentes na dentição KOWALESKY, 2005; WIGGS e LOBPRISE, 1997). São braquiodonte pois possuem relação coroa-raiz é semelhante quanto ao tamanho, com coroa de reserva e apresenta

movimentações lateral e de extrusão, isso ocorre devido á presença do ligamento periodontal (MILES e GRIGSON, 2003). Os dentes secodontes possuem cúspides cortantes e são dispostos de maneira similar a uma tesoura. Dentes que apresentam cúspides achatadas, que não são afiadas na face de oclusão, são denominados de bunodontes. Esses dentes permitem a ação de esmagamento e trituração dos alimentos. Composto pelo primeiro e segundo molares superiores e segundo e terceiro molares inferiores dos canídeos (WIGGS e BLOOM, 2003). Os incisivos são usados para roer, coçar e cortar, os caninos para segurar, rasar e perfurar, dentes pré-molares para cortar e segurar e os molares para triturar (HOLMSTROM, 1998)

A maxila e a mandíbula dos carnívoros são desiguais, eles apresentam a região do molar da mandíbula mais cranial correspondente ao seu dente antagonista, desta forma, pode denominar-se como uma oclusão anisognatia (KOWALESKY, 2005). Os dentes dos canídeos são alojados nos alvéolos dentários (tecodonte) por meio de articulação alveolodentária, tipo gonfose, caracterizada pela interposição de tecido conjuntivo fibroso denso, chamado de ligamento periodontal (WIGGS e LOBPRISE, 1997)

O dente quarto pré-molar superior no cachorro possui cúspides (margens) cortantes e robustas como se fossem metacones, que exercem função de tesouras quando ocluem com os dentes quarto pré-molares inferiores (GIOSO, 2007; PACHALY, 1997; WIGGS e LOBPRISE, 1997). A estrutura dentária está relacionada com a dieta da espécie, desta forma, carnívoros generalistas (ex: ursos) têm o dente do quarto pré-molar superior (dente do carniceiro) moderados e os molares mais adaptados para a trituração dos alimentos. Já carnívoros caçadores têm o quarto pré-molar superior (dente do carniceiro) mais cortante e a função de trituração diminuída (FOREEST, 1986; PACHALY, 1997).

Os canídeos possuem 28 dentes decíduos, sendo 2x (3/3 incisivos, 1/1 caninos, 3/2 pré-molares). A erupção dentária tipo vertical, o dente decíduo sofre uma rizólise e esfoliação, subsequentemente ocorre a substituição pelo dente permanente, que entra em oclusão (WIGGS e BLOOM, 2003)

A dentição permanente apresenta 42 dentes, sendo 2x (3/3 incisivos, 1/1 caninos, 4/4 pré-molares, 2/3 molares). O período das trocas está ilustrado na tabela 1 (GIOSO, 2007).

	Dentes Decíduos (Semanas)	Dentes Permanentes (Meses)
Canídeos		
Incisivos	3-5	3-5
Caninos (Cúspide)	3-6	3.5-6
Pré-Molares	4-10	3.5-6
Molares		3.5-7

Tabela 1- Tempo de erupção dos dentes decíduos e permanentes nos cães e gatos.

Fonte: WIGGS e LOBPRISE (1997).

Os dentes dos canídeos selvagens têm os incisivos em oclusão de tesoura, sendo que os superiores se sobrepõem aos inferiores. Já os caninos inferiores são equidistantes ao terceiro incisivo e canino superior, os pré-molares tem intercuspidação, pois o primeiro pré-molar inferior é rostral ao superior e o quarto pré-molar superior tem oclusão de tesoura em relação ao primeiro molar inferior (figura 1) (LOPEZ, 2008)

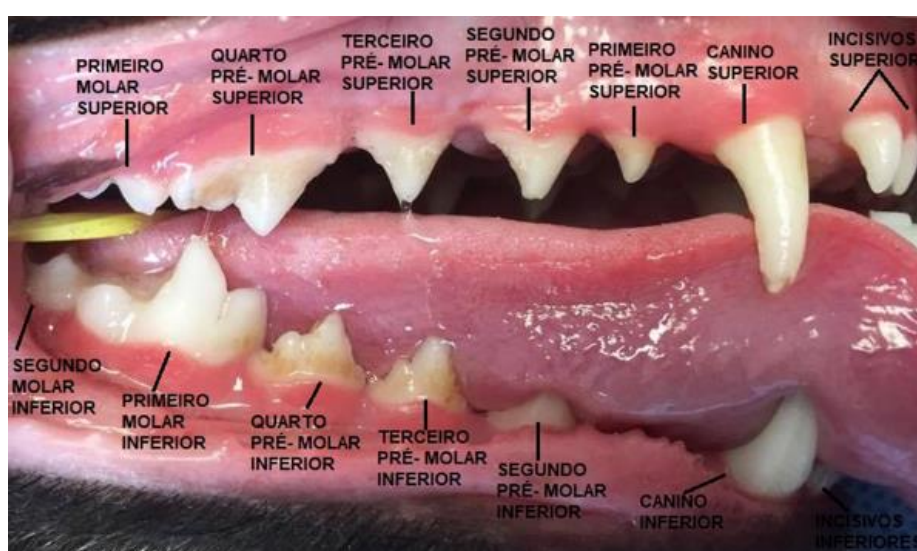


Figura 1 – Face direita da cavidade oral de cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*).

Fonte: Arquivo pessoal, 2017.

Para poder realizar o registro e armazenamento dentários é necessário ter um sistema de código ou numeração para os dentes. Cada elemento dentário possui um número na odontologia veterinária no qual utiliza-se o sistema de triadan, este sistema divide a cavidade oral em quatro quadrantes – 1) Superior direito 2) Superior esquerdo, 3) Inferior esquerdo e 4) Inferior direito. A contagem numeral inicia sempre no dente incisivo e finaliza no último molar de cada quadrante (WIGGS e LOBPRISE, 1997). O método de triadam modificado, utiliza 3 números para poder identificar cada dente. O primeiro número significa o quadrante primário, ou seja, a série dos 100 é utilizado para o dente do arco maxilar direito, 200 para maxilar esquerdo, 300 para mandíbula esquerda e 400 para mandíbula direita. No caso de dentes decíduos 500 é utilizado para o dente do arco maxilar direito, 600 para maxilar esquerdo, 700 para mandíbula esquerda e 800 para mandíbula direita. O segundo e terceiro dígito, especifica o dente em si; exemplo, o incisivo central é o 01, posteriormente o segundo incisivo é 02, os caninos terminam em 04 e os primeiros pré-molares 05 e os molares terminam em 09. Por exemplo, o quarto pré-molar superior esquerdo é o 208 (BELLOWS,1999)

Algumas anormalidades da dentição e lesões orais são desencadeadas pela dieta fornecida aos animais em cativeiro que por mais que tenham todos os nutrientes adequados, ainda são diferentes das dietas dos animais de vida livre. A importância de ter uma dieta balanceada e planejada auxilia na utilização de todos os órgãos digestivos, principalmente no mecanismo de autolimpeza da cavidade oral (PACHALY, 1997). A seguir, a figura 2 demonstra o registro odontológico dos canídeos.

Legenda

Bolsa periodontal (BP) em mm
 Retração gengival (RG) em mm
 Exposição de furca (EF) grau I, II, III
 Hiperplasia gengival (HG)
 Mobilidade dental (MD) grau I, II, III
 Gengivite (G) grau I, II, III
 Placa (P) grau I, II, III
 Cálculo (C) grau I, II, III
 Ausência de dente (E)
 Fratura dental (FD)
 Exposição de polpa (EP)
 Dente supra-numerário (SN)

Giro-versão (GV)
 Apinhamento dental (AD)
 Desgaste (D)
 Escurecimento dental (ED)
 Erosão de esmalte (EE)
 Hipoplasia de esmalte (HE)
 Lesão de reabsorção (LR)
 Cárie (Ca)
 Dente não erupcionado (NE)
 Persistência de decíduo (PD)
 Lesão de palato (LP)
 Dente extraído (X)

Dente	M2	M1	P4	P3	P2	P1	C	I3	I2	I1	I1	I2	I3	C	P1	P2	P3	P4	M1	M2
Triadam	110	109	108	107	106	105	104	103	102	101	201	202	203	204	205	206	207	208	209	210
Mobilidade																				
Retração																				
Bolsa																				
Furca																				
Hiperplasia																				
Cálculo																				
Placa																				
Gengivite																				

Direito

Esquerdo

Dente	M3	M2	M1	P4	P3	P2	P1	C	I3	I2	I1	I1	I2	I3	C	P1	P2	P3	P4	M1	M2	M3
Triadam	411	410	409	408	407	406	405	404	403	402	401	301	302	303	304	305	306	307	308	309	310	311
Mobilidade																						
Retração																						
Bolsa																						
Furca																						
Hiperplasia																						
Cálculo																						
Placa																						
Gengivite																						

Figura 2- Triadam Modificado de canídeos.

Fonte: Laboratório de odontologia comparada/USP, 2014.

As enfermidades orais podem debilitar o animal, por isso médicos veterinários que trabalham com animais selvagens devem examinar a cavidade oral sempre que o animal for anestesiado (FECCHIO et al., 2008). Avaliando-se os tecidos duros (dente e osso), verificando a presença de fratura dentária, cálculo, cárie, desmineralizações, falta do elemento dentário e mobilidade dentária. Deve-se também avaliar os tecidos moles como lábio, língua, gengiva, palato e faringe á procura de úlceras, sangramento, inchaço e coloração (FECCHIO et al., 2009).

2.2 Anatomia Dental

Os dentes são órgãos que apresentam estrutura calcificada, mineralizada, com diversas funções como corte, retenção, colher, perfurar, dilacerar, esmagar, moer e triturar os alimentos (PIERI et al., 2011; WIGGS e LOBPRISE, 1997). No reino animal, os dentes também possuem a função de servir como armas de ataque e defesa, além de reduzir mecanicamente os alimentos de tamanho (NANCY, 2013; PIERI et al., 2011; WIGGS e LOBPRISE, 1997). Os dentes são fixados nos alvéolos dos ossos incisivos, do osso maxilar e mandibular (SANTOS et al., 2012). O dente é formado basicamente por 4 tecidos, sendo três duros: esmalte, dentina e cemento (esses tecidos duros geralmente estão sujeitos às

alterações metabólicas tóxicas e infecciosas) e um mole que é a polpa (SANTOS et al., 2012; WIGGS e LOBPRISE, 1997).

O dente é dividido em coroa, colo e raiz. Acima da margem da linha da gengiva é possível visualizar a coroa, que consiste em dentina e é recoberta por esmalte (GORREL, 2010; MITCHEL, 2004; WIGGS e LOBPRISE, 1997). A porção abaixo da gengiva é chamada de raiz, na qual consiste em cimento, dentina e polpa. Os dentes nos mamíferos são presos ao osso alveolar através dos tecidos conjuntivos de suporte, os quais têm a função de unir o dente ao osso, promovendo um sistema de amortecimento. Os dentes apresentam estruturas responsáveis pela proteção e sustentação, denominada periodonto, o qual é composto pela gengiva, ligamento periodontal, cimento e osso alveolar (Figura 3). (GIOSO, 2007; GORREL, 2010; NANCY, 2013; SANTOS et al., 2012).

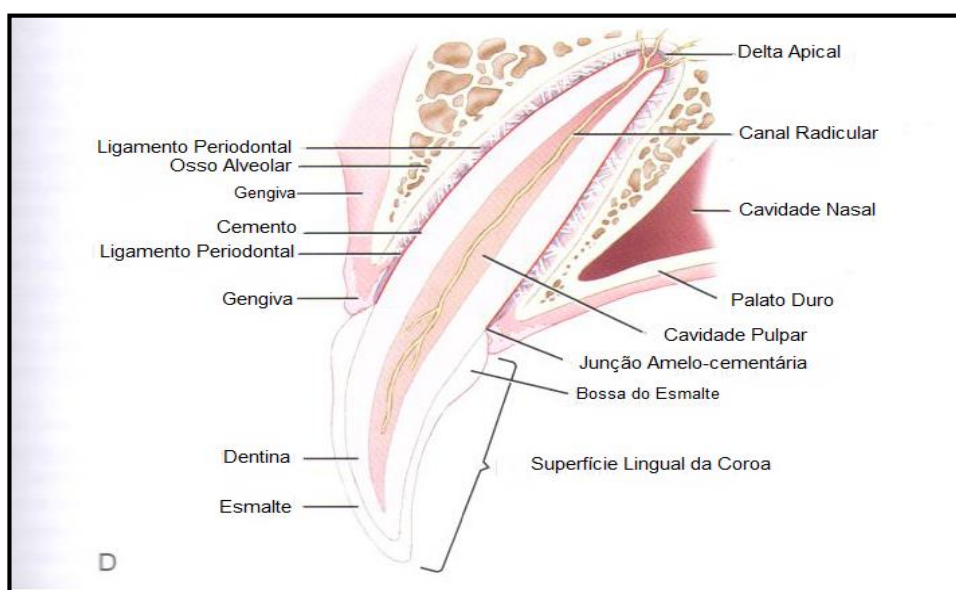


Figura 3 - Esquema Ilustrativo da estrutura anatômica do dente.

Fonte: Evans e Lahunta (2013).

2.2.1 Esmalte

O esmalte é o tecido mais mineralizado do corpo, composto aproximadamente 98% de hidroxiapatita inorgânica, que é uma substância altamente calcificada (HARVEY e NIEVES, 1991), sem aporte nervoso ou

sanguíneo, além de incapacidade regenerativa ou reparadora (GORREL, 2010). As células responsáveis pela formação do esmalte são os ameloblastos, os quais cobrem toda a superfície do esmalte (NANCY, 2013). A espessura do esmalte nos cães é de 0,5 mm e no gato de 0,2 mm (PILLEY e GORREL, 2004; ROZA, 2004). A composição estrutural permite que o esmalte resista a grandes forças mastigatórias e continuas a agressões causadas por ácidos provenientes dos alimentos e das bactérias (NANCY, 2013).

2.2.2 Dentina

A dentina é a segunda estrutura mais rígida do organismo, composta por 70% de hidroxiapatita, 20% do tecido orgânico como colágeno e mucopolissacarídeos, e 10% de água (ROZA, 2004; WIGGS e LOBPRISE, 1997). A maior parte do dente é formada por dentina em animais adultos. Essa estrutura é avascular, elástica, com tonalidade branco-amarelada, que envolve a cavidade pulpar (NANCY, 2013; ROZA, 2004).

Os odontoblastos são as células responsáveis pela formação de dentina e possuem corpos celulares alinhados ao longo da sua superfície interna, formando os limites periféricos entre a polpa e da dentina. O principal componente orgânico da dentina são os colágenos fibrilares, que têm sua infiltração por túbulos densamente agrupados que atravessam toda sua espessura. Existe cerca de 50.000 túbulos de dentina por milímetro quadrado, que contém fibras de dentina, as quais se estendem para o nervo da polpa (HARVEY e NIEVES, 1991; NANCY, 2013).

A dentina pode ser classificada em primária, secundária e terciária. A primária é formada antes da erupção dos dentes e a secundária é formada após o fechamento do ápice e sua deposição é continua durante a vida do animal. A dentina terciária, ou reparadora, é produzida pela unidade pulpo-dentária em resposta a uma irritação crônica (ROZA, 2004; WIGGS e LOBPRISE, 1997). A função da dentina é permitir a redistribuição da tensão mastigatória, proteger a polpa e fornecer resposta protetora a dor (WIGGS e LOBPRISE, 1997).

2.2.3 Cimento

O cemento é formado por um tecido conjuntivo mineralizado, parecido com o tecido ósseo, avascular e com apatita no seu componente mineral (GORREL, 2010). Há predominância de colágeno na sua matriz orgânica, mas o cemento é menos calcificado que o esmalte e a dentina. O cemento cobre as raízes dos dentes e se encontram firmemente preso à dentina radicular (NANCY, 2013).

Existem dois tipos de cemento: o acelular e o celular. O cemento que é preso à dentina radicular e cobre a porção superior da raiz é desprovido de células, denominado de acelular ou primário. Já a porção inferior da raiz é coberta pelo cemento celular ou secundário, dessa forma, o cementoblastos se tornam aprisionados em lacunas, as células que ficam presas são denominadas de cementócitos (NANCY, 2013). Os cementoblastos e cementócitos são nutridos a partir do ligamento periodontal e o cemento que está na superfície tem cementoblastos que depositam cemento em torno do ligamento periodontal, que promove a adesão dos dentes por fibras entrelaçadas, denominadas fibras de Sharpey. A principal função do cemento é de ancorar os dos dentes ao osso alveolar (ROZA, 2004). Segundo Gorrel (2010), há deposição lenta e contínua de cemento ao longo da vida, além de ter capacidade de reparação de superfícies radiculares e manutenção dos espaços e ligamentos periodontais.

2.2.4 Polpa

A polpa é formada por tecido conjuntivo frouxo, fibroblastos, leucócitos, histiócitos, odontoblastos e células indiferenciadas de reserva, vasos sanguíneos e linfáticos, substâncias intercelulares e nervos (NANCY, 2013). A câmara pulpar quando localizada na porção da coroa, é denominada de câmara pulpar e quando está na porção na raiz é chamada de canal radicular (GIOSO 2007). Essa estrutura ainda é composta por fibroblastos, leucócitos, histiócitos, odontoblasto e células indiferenciadas de reserva, vasos sanguíneos e linfáticos, substâncias intercelulares e nervos (ROZA, 2004). A conexão da polpa com o tecido periodontal ocorre pelo ápice dental, que ao completar seu fechamento, forma o delta apical. Um conjunto de ramificações do ápice deixa o dente por pequenos orifícios denominados de foraminas, o fechamento ou a formação do delta apical ocorre em média entre os 9 meses no primeiro molar inferior e 11

meses no canino superior. Pode-se dizer que a polpa tem uma unidade embriológica com a dentina, que é denominada de unidade dentina-polpa, complexo dentina-polpa ou mais conhecida como endodonto. As principais funções da polpa são de formadora, nutritiva, sensorial e defesa (WIGGS e LOBPRISE, 1997).

2.2.5 Ligamento Periodontal

O ligamento periodontal é composto por fibras de tecido conjuntivo fibroso e feixe de colágeno, denominados de Fibras de Sharpey (TUTT, 2006). A sua formação ocorre durante o desenvolvimento da coroa e raiz e o mesênquima do saco dental começa a formar o ligamento periodontal e o alvéolo dos dentes. Posteriormente formam as fibras de colágeno que abrangem o espaço entre o cimento do dente e o osso alveolar. Frequentemente, esse tecido apresenta resistência à elasticidade e é resistente a rotação e outras forças aplicadas ao dente mantendo o interior do alvéolo (GIOSO, 2007).

2.2.6 Gengiva

A gengiva é formada por tecido epitelial queratinizado, sendo dividida em gengiva livre e aderida (figura 4). O espaço gerado entre a gengiva e o dente é denominado sulco gengival, e fixa-se ao dente a partir do epitélio juncional no esmalte (GIOSO, 2007). A gengiva livre libera células mediadoras de inflamação, imunoglobulinas e antimicrobianos, que realiza a proteção do epitélio juncional e dos tecidos profundos (ROZA, 2004). A gengiva aderida é firmemente fixada ao perióstio subjacente (mucoperióstio) (TUTT, 2006).

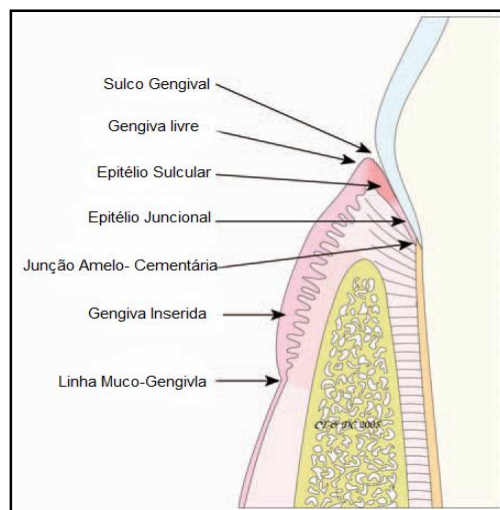


Figura 4- Representação esquemática do dente e os tecidos moles e o osso alveolar.

Fonte: Tutt (2006).

2.2.7 Osso Alveolar

O osso alveolar consiste numa projeção da mandíbula e da maxila, responsável por albergar as raízes dentárias. Fisiologicamente esse osso está em constante remodelação, com ativa ação dos osteoclastos e osteoblastos, ora realizando reabsorção, ora fazendo osteogênese, respectivamente. Radiograficamente, o osso alveolar tem um aumento de densidade, que é observado no espaço periodontal, citado como a lâmina dura (EMILY e PENMAN, 1994; NIEMIEC, 2010).

2.2.8 Oclusão Normal

As linhas de oclusão nos cães mesocefálicos são sigmoides, tanto para o arco superior como para o arco inferior (GIOSO, 2007). A oclusão é interpretada pelo contato entre os dentes do arco maxilar com os dentes do arco mandibular (WIGGS e LOBPRISE, 1997). Na oclusão normal, os incisivos inferiores contactam os cíngulos dos incisivos superiores, ficando levemente caudal aos superiores (mordida em tesoura) (figura 5).

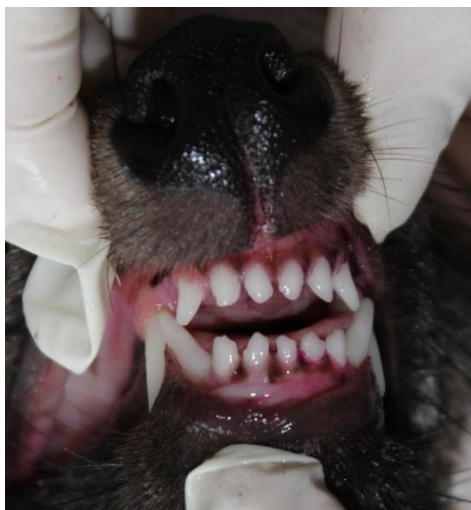


Figura 5 – Na oclusão normal do cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*), os incisivos mandibulares possuem contato com as faces incisais nos cingulos dos incisivos maxilares.

Fonte - Arquivo pessoal, 2017.

Os caninos inferiores alojam-se entre os caninos e os incisivos laterais superiores, em oclusão central, sem contato entre os dentes. As cúspides principais do primeiro, segundo e terceiro pré-molares superiores apontam para o espaço interproximal do primeiro, segundo, terceiro e quarto pré-molar mandibular; sendo que o primeiro pré-molar inferior se encontra rostral ao primeiro pré-molar (figura 6). O quarto pré-molar mandibular localiza-se rostral ao seu correspondente maxilar.



Figura 6– As cúspides dos pré-molares superiores do cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*), apontam para o espaço interproximal dos pré-molares inferiores, sendo que o primeiro pré-molar inferior (seta azul), está rostral aos dentes adjacentes

Fonte - Arquivo pessoal, 2017

O primeiro molar inferior encontra-se encoberto pelo quarto pré-molar superior quando a boca está fechada e esses dentes ocluem em tesoura um com o outro (figura 7). Os molares superiores e o segundo e terceiro molares mantêm contato entre suas faces oclusais (GIOSO, 2007).

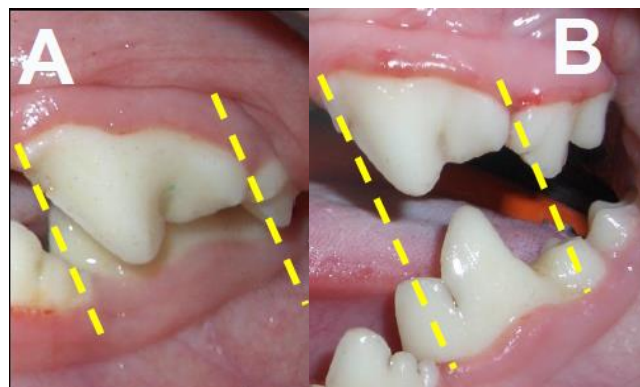


Figura 7- Oclusão em tesoura do quarto pré-molar superior sob o primeiro molar inferior (A e B).

Fonte – Abdalla, 2012

2.3. Doença Periodontal

2.3.1 Etiologia

A doença periodontal é descrita como uma infecção multifatorial, tendo como o fator etiológico primário a placa bacteriana, que gera uma resposta inflamatória no periodonto de proteção e, posteriormente, no periodonto de sustentação (GORREL, 2010; WIGGS e LOBPRISE, 1997).

Na fase inicial, a película altera a carga e a energia livre das superfícies dentárias. Geralmente as bactérias que residem na microbiota da cavidade oral produzem polissacarídeos extracelulares, que permitem a adesão de outras bactérias (CLARKE et al., 2011; GORREL, 2004).

A placa dentária é definida como um material viscoso e amarelado, que se forma sobre o esmalte do dente, constituído por bactérias. Esse acúmulo é chamado de induto mole ou biofilme dentário (WIGGS e LOBPRISE, 1997). As bactérias comumente encontrada na doença periodontal são as bactérias anaeróbias facultativas sem motilidade, principalmente os *Streptococcus sanguis* e *Actinomyces viscosus* (GIOSO, 2007).

As bactérias da placa bacteriana têm uma colonização e crescimento de microrganismos sobre a superfície dos dentes e tecidos moles. Trata-se de uma comunidade de microrganismos organizados num biofilme dentário, embebidos numa matriz orgânica constituída por uma película aderida, células descamadas, leucócitos, bactérias, glicoproteínas da saliva, substrato alimentar e minerais como o cálcio, o fósforo e o magnésio. A placa encontra-se por toda a cavidade oral, principalmente no sulco gengival, onde a limpeza natural é realizada pela saliva, língua e abrasão dos alimentos. (WIGGS E LOBPRISE, 1997).

A placa dentária apresenta uma organização com comportamento diferente, quando comparada com a cultura de bactérias normais. A distribuição das bactérias no biofilme é organizada em colônias, que estão envolvidas por uma matriz extracelular na qual circulam nutrientes, metabolitos, enzimas e oxigênio (Figura 8). Este fato, explica a necessidade de desorganizar fisicamente

a placa com a escovação dentária, a fim de evitar a sua organização e, consequente, acúmulo sobre os dentes (HENNET, 2002).

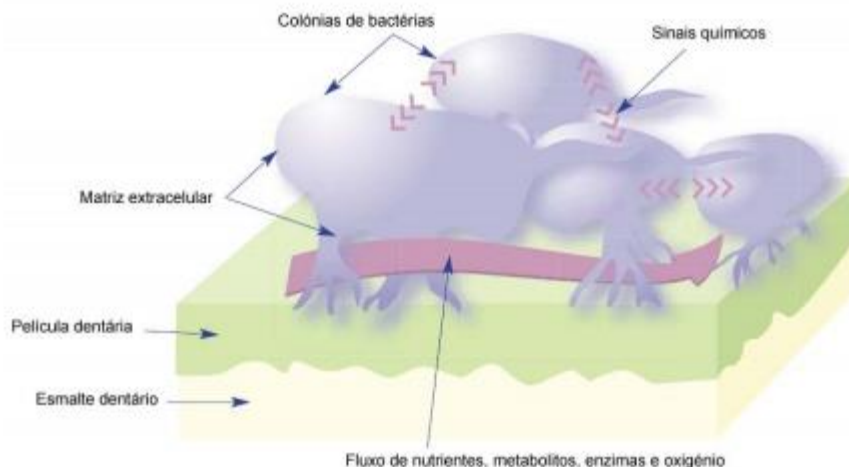


Figura 8 - Biofilme dentário

Fonte: (adaptado de Hennet, 2002)

A placa dentária se adere na superfície do dente logo após a erupção do mesmo e imediatamente após a limpeza dentária. Essa placa se forma durante o sono e quando não há ingestão de alimentos (WIGGS e LOBPRISE, 1997). O tempo da placa bacteriana se instalar sob a superfície dentária demora cerca de 24 a 48 horas e só nesta forma organizada que causa lesão periodontal. Ao longo de uma semana da sua formação a gengivite é evidente, possível de ser detectada no exame clínico, mas a deposição da placa nesse estágio é difícil ser observada a olho nú (GIOSO, 2007).

Com o acúmulo contínuo de placa bacteriana, a região do sulco gengival se torna o ambiente ideal para a proliferação de bactérias anaeróbias e gram-negativas que, por um metabolismo, produzem vários agentes agressivos ao periodonto. A primeira estrutura a ser lesionada é a gengiva, que reage apresentando inflamação, dando origem ao quadro de doença periodontal leve (EMILY e PENMAN, 1994).

As alterações que geram destruição do periodonto é causada pelas bactérias gram-negativas (GIOSO, 2007), que consiste essencialmente por *Porphyromonas spp*, *Prevotella spp*, *Peptostreptococcus spp* e *Fusobacterium spp* (HARVEY e EMILY, 1993). Algumas espécies bacterianas específicas

subgengival como *Porphyromonas gulae*, a *P. salivosa* e a *P. denticanis*, ocorrem com maior intensidade no início da progressão da periodontite (BRAGA et al., 2005).

Conforme ocorre a inflamação do periodonto e os metabólitos tornam-se parte do fluido gengival, geram microrganismo específico como as espiroquetas, as quais apresentam virulência, podendo contribuir para agravamento da doença periodontal (HARVEY, 1998).

	Saudável (%)	Gengivite (%)	Periodontite (%)
Anaeróbias	25 - 48	70	74 - 95
Cocci gram-positivos	3	7	5 - 12
Bacterióides não pigmentados	26	?	19
Bacterióides pigmentados (<i>Porphyromonas gingivalis</i>)	6	15	20 - 34
Fusobacterium	7	25	10 - 40
Outros bacilos gram-positivos	5	10	6 - 25
Bactérias microaerófilas	17 - 30	?	7 - 15
Espiroquetas	+	++	+++

Tabela 2 - Microbiota-aeróbica subgengiva

Fonte- BRAGA et al., 2005

Cães que apresentam sítios saudáveis na cavidade oral apresentam 25% de bactérias anaeróbicas facultativas e aeróbicas. Cães com periodontite apresentam cerca de 95% de bactérias anaeróbias estritas (GIOSO, 2007; HARVEY e EMILY, 1993; WIGGS e LOBPRISE, 1997)

Nos cães ainda não se tem estabelecido as principais bactérias envolvidas na formação e composição da placa dental inicial, porém alguns estudos descrevem como as principais bactérias do gênero *Streptococcus*, *Actinomyces* e *Lactobacillus* como as principais (HARVEY e EMILY, 1993, KATSURA et al., 2001)

A doença periodontal quando não controlada inicialmente, acaba aumentando a resposta e agressão aos tecidos e não tem regeneração. Esta é conhecida como incurável devido à resposta imunológica e inflamatória individual que resulta em destruição do periodonto, ocasionando assim perda funcional e dentária (GIOSO, 2007). Além das complicações sistêmicas, devido à bacteremia, há um relacionamento estreito com a microbiota local, que interage

direta e indiretamente no estabelecimento dos processos mórbidos com graves complicações, atuando em variados focos de infecções (DEBOWES et al., 1996).

Os animais que apresentam uma doença periodontal sofrem o processo de bacteremia (WIGGS e LOBPRISE, 1997). Esse processo tem presença de antígenos bacterianos, que ocorre durante o processo de mastigação. As bactérias patogênicas que estão instaladas nas bolsas periodontais próximo ao delta apical se agitam e atingem o feixe vascular (elemento que nutre o dente) e se comunicam com o sistema circulatório (GIOSO, 2007). Esse processo de bacteremia atinge seu pico em 20 minutos após o começo do tratamento periodontal. Em alguns procedimentos orais ocorre o fenômeno da anacorese, pois as bactérias patogênicas da cavidade oral atingem a corrente circulatória e se instalam nos tecidos lesionados, pois essas bactérias tem predisposição ao tropismo por tecidos inflamados, figura 9 (RAMOS, 2010).



Figura 9- Bactérias com predisposição para tecidos inflamados, como pulmão, coração, fígado, rins, articulações e encéfalo.

Fonte- ODONTOVET (<https://odontovet.com/>)

2.3.2 Cálculo dentário

Os sais minerais podem causar efeitos exacerbados pela placa bacteriana, no quais o carbono de cálcio e o fosfato de cálcio, que são provenientes da saliva formam o cálculo dentário ou “tártaro” (chamado incorretamente). Estes podem ser encontrados supragengival ou subgengival (HARVEY e EMILY, 1993; HARVEY, 1998).

O pH da saliva de um carnívoro é em média sete e meio a nove, o que facilita a deposição de bactérias em placas (BELLOWS, 1999; EMILY e PENMAN, 1994). Quando o pH da cavidade oral aumenta, favorece a calcificação do cálculo dentário, que se adere de forma persistente às superfícies dentárias (CLARKE et al., 2011). O pH da cavidade oral quando aumentado (alcalino), favorece a calcificação do cálculo dentário, que se adere de forma persistente as superfícies dentárias. O acúmulo de cálculo dentário, ocorre em maior quantidade nos cães na região do quarto pré-molar superior e do primeiro molar inferior, devido à proximidade dos ductos das glândulas salivares parótida e zigomática (figura 10) (HENNET e HARVEY, 1992)

Figura 10 - Glândulas salivares do cão: 1 - Parótida, 2 – Mandibular, 3 - Sublingual, 4 – Zigomática.

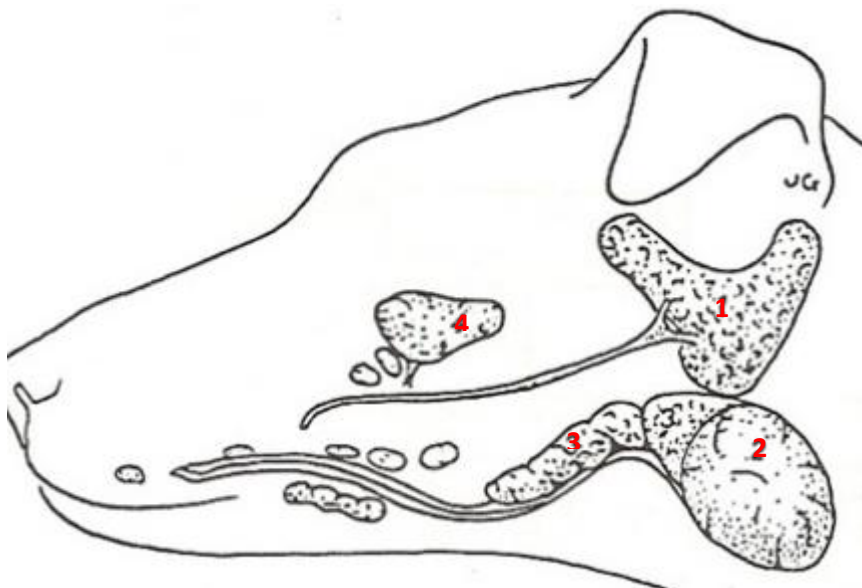


Figura 10 - Glândulas salivares do cão: 1 - Parótida, 2 – Mandibular, 3 - Sublingual, 4 – Zigomática

Fonte: Martins, 2018

<http://bemestaranimalvet.blogspot.com/2018/03/mucocele.html>

O cálculo dentário ocorre devido aos efeitos patogênicos da placa, exacerbados pela precipitação de sais minerais provenientes da saliva. Estes formam um material duro com superfície externa rugosa, que facilita o acúmulo de placa bacteriana (CLARKE et al., 2011; GIOSO, 2007).

2.3.3 Patogenia da doença periodontal

A doença periodontal envolve alguns mecanismos patogênicos que influenciam direta e indiretamente no processo inflamatório (GORREL, 2014). A placa bacteriana em contato com a margem da gengiva desenvolve resposta inflamatória, chamada de gengivite, que resulta no edema gengival e potencializa o aumento do sulco periodontal, gerando a desaderência do epitélio juncional (CLARKE et al., 2011, DUPONT,1997). Em seguida, ocorre retração o gengival com migração apical do epitélio juncional, formando uma bolsa superior a 4 mm com destruição óssea, exposição da furca e mobilidade dentária (WIGGS e LOBPRISE, 1997).

2.3.4 Gengivite

A gengivite é considerada reversível com a remoção da placa bacteriana. Caso a placa bacteriana não seja removida, o quadro clínico evolui para doença periodontal moderada, sendo caracterizada pela inflamação do periodonto (GIOSO, 2007). O cenário da gengivite evolui pelo aumento de produção de prostaglandinas, estimulando os osteoclastos regionais e ativando enzimas como proteases e collagenases (WIGGS e LOBPRISE,1997). A partir deste momento a reação inflamatória se torna um fator catalisador da destruição da estrutura periodontal (GIOSO, 2007).

2.3.5 Periodontite

A periodontite é uma manifestação tardia da doença periodontal, que é considerada “ verdadeira doença”, pois é irreversível a gengivite (HARVEY, 1998). Neste caso, ocorre a destruição da parte coronal do ligamento periodontal, gerando uma migração apical do epitélio juncional, formando uma bolsa periodontal patológica (HARVEY e EMILY, 1993)

A placa bacteriana no sulco gengival desencadeia uma resposta imunológica na cavidade oral do animal, onde irá resultar no aumento da produção de prostaglandinas, que geram permeabilidade capilar, estimulando os

osteoclastos presentes naquela região a conceber a reabsorção óssea, além de ativar as enzimas protease e collagenase que destroem as fibras de colágeno do ligamento periodontal, ocasionando a retração gengival (GIOSO, 2007)

A retração gengival tem perda óssea, que provoca uma instabilidade e mobilidade dentária e, durante a mastigação, faz com que o dente seja empurrado contra o osso restante, concebendo a esfoliação do mesmo (HARVEY, 1985), dentes Uni-radiculares como os incisivos, 1º pré-molar superior e inferior são os primeiros a serem eliminados (HARVEY, 1998)

2.4 Sinais Clínicos

A doença periodontal é diagnosticada pelos sinais clínicos como a halitose intensa, salivação espessa, sangramento oral, mobilidade dentária, cálculo dentário e gengivite (WIGGS e LOBPRISE, 1997).

Sinais clínicos e sintomas associados à doença periodontal
Edema e inflamação da gengiva (gengivite)
Deposição de placa e cálculo dentário
Acumulação de detritos à volta do dente
Exsudado purulento
Halitose
Ulceração
Sangramento fácil das gengivas
Perda do contorno gengival
Alteração da conformação das papilas gengivais
Perda de osso em torno do dente
Retração gengival
Formação de bolsas periodontais em torno do dente
Mobilidade dentária
Migração dentária ou novas áreas de diastema
Extrusão do dente
Esfoliação do dente

Tabela 3- Sinais clínicos da doença periodontal.

Fonte- Wiggs e Lobprise, 1997

2.5 Fases da Doença Periodontal

A doença periodontal é dividida em 4 estágios como pode-se observar na figura 11 (WIGGS e LOBPRISE, 1997). No estágio I, ocorre a inflamação na margem da gengiva aderida. No estágio II, ocorre uma periodontite leve, onde toda a gengiva aderida se encontra inflamada, podendo haver dor e halitose. No estágio III, ocorre periodontite moderada, que pode acarretar sangramento e grande quantidade de cálculo dentário. No estágio IV, ocorre uma infecção bacteriana crônica com destruição da gengiva, dente e ossos, podendo haver quadro de bacteremia com possível evolução para sepse (BELLOWS, 1999; EMILY; PENMAN, 1994; WIGGS e LOBPRISE, 1997).

Em casos de dentes multi-radulares, que apresentam reabsorção do osso alveolar com exposição das raízes, conhecida como furca, dependendo do grau da furca, o tratamento a ser realizado deve ser exodontia ou cirurgia periodontal (HARVEY e EMILY, 1993; WIGGS e LOBPRISE, 1997). Segundo o Veterinary Dental Nomenclature, desenvolvida pelo American Veterinary Dental College (AVDC, 2019), existe 3 graus de classificação de exposição de furca.

- Grau 1 – Sonda periodontal penetra na região da furca entre a região multirradicular do dente, com profundidade inferior à metade da dentância da face contralateral do dente, em qualquer direção que ela seja colocada.
- Grau 2 – Sonda periodontal penetra mais que a metade da profundidade entre a região multirradicular dos dentes, mas não atravessa para a outra face.
- Grau 3 - Sonda periodontal penetra e atravessa toda a região da furca e transpassa para o outro lado da face do dente.

Para avaliar o comprimento do suporte periodontal do dente, é recomendado averiguar a mobilidade dentária e classificá-la em graus (AVDC, 2019).

- Grau 0 - Mobilidade dentária até 0,2 mm
- Grau 1 – Mobilidade aumentada de 0,2 a 0,5 mm em qualquer direção, exceto axial.
- Grau 2- Mobilidade aumentada de 0,5 a 1 mm em qualquer direção, exceto axial.
- Grau 3 - Mobilidade aumentada acima de 1 mm em qualquer direção, qualquer movimentação axial.

A doença periodontal classificada pelo AVDC (2019) é baseada no estágio da gravidade da enfermidade para cada elemento dentário, pois o paciente pode apresentar diversos tipos de estágio da doença periodontal. Sendo assim, podemos compreender que a doença periodontal tem os seguintes estágios.

- Normal (0) - Clinicamente normal
- Estágio 1 – Gengivite (não apresenta perda de inserção periodontal)
- Estágio 2- Periodontite inicial – Tem perda de menos de 25% de inserção periodontal, exposição de furca grau 1
- Estágio 3- Periodontite moderada – Apresenta perda de 25 a 50 % da inserção periodontal, exposição de furca grau 2
- Estágio 4 - Periodontite Grave ou avançada - tem perda de mais de 50% da inserção periodontal, exposição de furca grau 3.

A inserção periodontal é avaliada pela sondagem periodontal e imagem radiográfica, que auxiliam a verificação da distância da margem alveolar a junção amelo-cementária, em relação a raiz (AVDC, 2019).

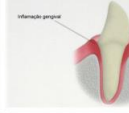
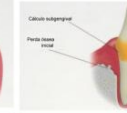
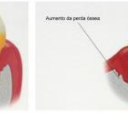
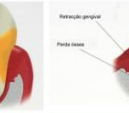
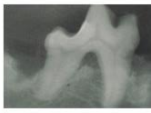
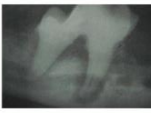
	Gengiva saudável	Gengivite	Periodontite leve	Periodontite moderada	Periodontite grave
Aspecto macroscópico	Gengiva rosada ou pigmentada segundo a coloração do animal. O tecido gengival apresenta-se firme e resistente com contorno bem definido	Gengiva apresenta inflamação, eritema e pode apresentar sangramento	Gengiva semelhante àquela que apresenta gengivite. Começa a notar-se a deposição de cálculo dentário e a retração ou hiperplasia gengival	Aumenta a inflamação e a deposição de cálculo dentário com exposição de furca evidente nos dentes multirradiculares	Inflamação grave da gengiva com retração gengival. Culmina com a exfoliação dos dentes
Perda óssea	0 %	0 %	< 25 %	30 - 50 %	> 50 %
Deposição de cálculo dentário					
Sulco gengival	< 1-2 mm	< 1-2 mm	pode medir até 5 mm	pode medir até 7 mm	pode ultrapassar os 7 mm
Aspecto radiográfico					
Prognóstico	----	Reversível	Irreversível	Irreversível	Irreversível

Figura 11 - Fases da doença periodontal

Fonte- Adaptado Antirobe®-Pfizer; Harvey & Emily, 1993.

2.6 Tratamento conservativo

O tratamento da doença periodontal é principalmente a remoção dos cálculos e da placa bacteriana pela profilaxia, dentária que ocorre pela raspagem, aplainamento e polimento das superfícies duras, restauração da profundidade gengival, o mais próximo do normal, acompanhamento e programa preventivo (GIOSO, 2007).

2.6.1 Profilaxia

A remoção do cálculo supragengival inicia-se com a profilaxia por instrumentos odontológicos manuais ou mecânicos (HARVEY e EMILY, 1993). Os extratores manuais utilizados na remoção do cálculo dentário, devem ser colocados paralelamente à raiz do dente, com a lâmina junto com a margem gengival e deve-se realizar movimentos firmes em direção contrária da gengiva, com a finalidade de protegê-la (NIEIMIEC, 2008).

Para melhorar a curetagem e a remoção do cálculo dentário supragengival, utilizam-se os aparelhos de ultrassom dentário. Os aparelhos de ultrassons dentários utilizados na medicina veterinária vibram em velocidade 20000 até 45000 Hz, (figura 12). Eles conseguem remover toda placa e cálculo

dentário, além de restos de alimentos, gerando uma vantagem de acelerar o processo da profilaxia e diminuindo o tempo da anestesia (NIEMIEC, 2008; HOLMSTROM, 2005). O ultrassom dentário deve ser posicionado levemente contra o dente e mantêm-se em constante movimentação, percorrendo todo o dente (HARVEY e EMILY, 1993). Quando se utiliza ultrassom dentário é necessário respeitar algumas regras, tais como: a ponta do instrumento deve ser posicionada 45° com o dente, sempre irrigar esse dente com água fria; não permanecer mais de 15 segundos seguidos em cada dente, pois esse instrumento pode causar demasiado desgaste da superfície do dente, ou sobreaquecimento do dente com lesão e necrose da polpa, figura 13 (NIEMIEC, 2008; HARVEY e EMILY, 1993; HOLMSTROM, 2005; PENNAN e HARVEY, 1992).

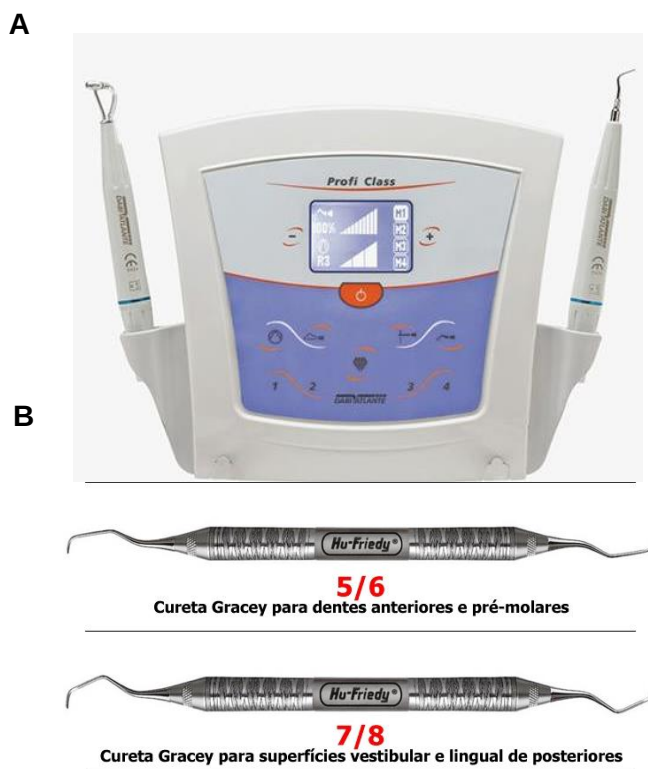


Figura 12 – Extratores de cálculos manual e elétrico (A) Ultrassom dentário (B) Cureta de Gracey

Fonte: https://www.dabiatlante.com.br/site/ptbr/produtos_show.php?id=21



Figura 13 - Raspagem supragengival, **(A)** - Posiciona o extrator contra o dente no nível da gengiva, o cabo deve estar paralelo ao dente e então desta forma o extrator é puxado firmemente no sentido da margem gengival para a ponta do dente, assim removendo o cálculo. **(B)** com o aparelho de ultrassom, a raspagem mecânica tem que ter a ponta do ultrassom posicionado lateralmente, desta forma gerando um ângulo de quarenta e cinco graus com o dente e nunca perpendicularmente ao mesmo

Fonte- (adaptado de Niemiec, 2008b; Harvey e Emily, 1993)

2.7 Raspagem subgengival

O cálculo subgengival é mais difícil de remover, pois ele é duro e se localiza nas superfícies irregulares do dente e tem acesso limitando a movimentação do instrumento odontológico (NIEMIEC, 2008; HARVEY e EMILY, 1993). A cureta de Gracey é a mais eficaz para tratamento periodontal, quando compara ao uso do aparelho subgengival, pois ela é menos agressiva e lesiona menos a gengiva por ter a ponta arredondada (figura 14). (NIEMIEC, 2008b ; PENMAN e HARVEY, 1992). A vantagem de usar o aparelho de ultrassom dentário é a rapidez (HOLMSTROM, 2005). Devido a caneta de ultrassom causar sobreaquecimento, tanto no dente quanto no tecido envolvido, essa área subgengival deve ser manuseada com muita irrigação e com muita rapidez, senão deve ser manuseada com instrumentos manuais que irão lesionar menos o tecido (figura 15) (NIEMIEC, 2008b).

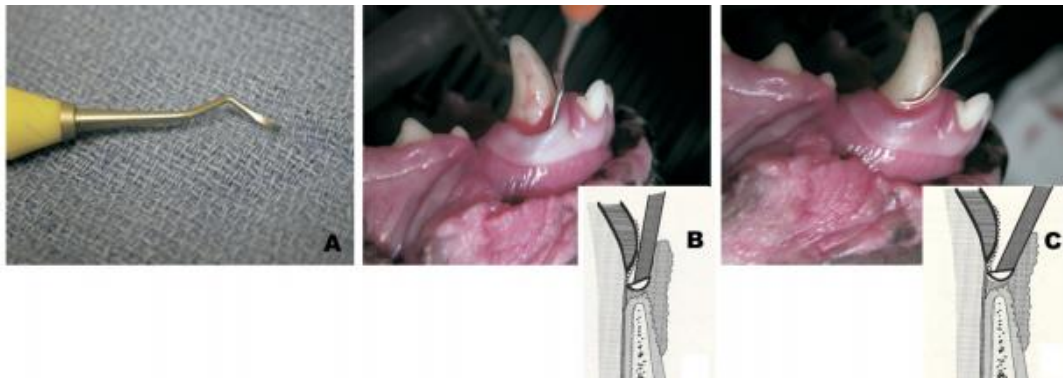


Figura 14- Raspagem subgengival. (A) Cureta de Gracey com ponta arredondada, (B) Raspagem subgengival manual; prende o instrumento no cálculo (C) puxa o cálculo em sentido da coroa

Fonte- Niemiec, 2008b; Harvey e Emily, 1993

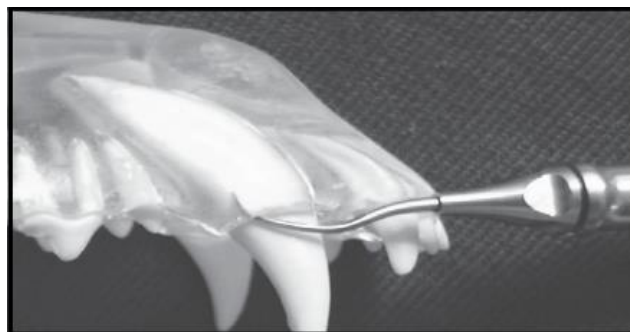


Figura 15 –Raspagem subgengival com cureta de Grayce

Fonte – Gioso, 2007

2.8 Polimento

O polimento realizado após a remoção do cálculo é do aplainamento radicular, pois durante o tratamento periodontal criam-se irregularidades na superfície do dente, que favorecem a retenção da placa bacteriana (figura 16) (NIEMIEC, 2008b; GORREL, 2004).

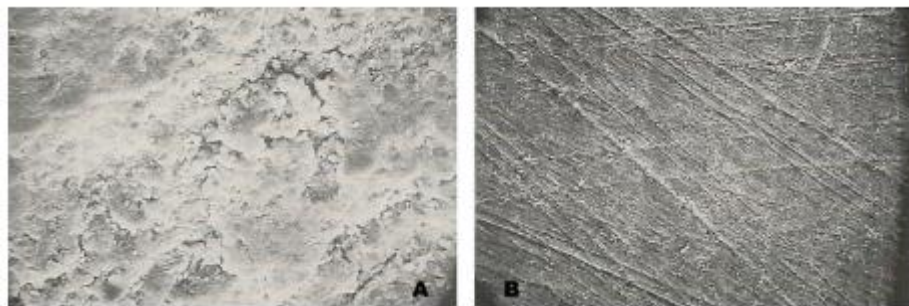


Figura 16- Superfície do dente (A) Antes do ultrassom dentário), (B). Após o uso do ultrassom dentário.

Fonte - (adaptado de Harvey & Emily, 1993)

No procedimento do polimento, utiliza-se uma pasta associada ou não com base de flúor. A aplicação de flúor sobre a superfície dentária diminui a sensibilidade na dentina exposta. Desta forma, diminui a dor do animal e a atividade bacteriana também é minimizada (NIEMIEC, 2008).

No polimento, emprega-se uma taça de borracha (figura 17), a taça de borracha é acoplada em uma caneta de baixa rotação (2000 a 4000 rpm), acoplada ao aparelho odontológico (HOLMSTROM, 2005). Essa taça de borracha é completada com pasta profilática e é firmemente passada por todas as todas as superfícies dos dentes. A taça de borracha é a melhor opção pois ela consegue adentrar dentro do sulco gengival cobrindo todas imperfeições do esmalte do dente. Contudo, a taça de borracha também pode causar sobreaquecimento e necrose do dente se permanecer mais de 15 segundos no mesmo dente ou pouca quantidade de pasta profilática (NIEMIEC, 2008; PENMAN e HARVEY, 1992). Após o polimento, deve-se irrigar e lavar toda a cavidade oral com a finalidade de eliminar o resto da pasta profilática e por fim borrifar clorexidina a 0,12% (NIEMIEC, 2008; HARVEY e EMILY, 1993; PENMAN e HARVEY, 1992).

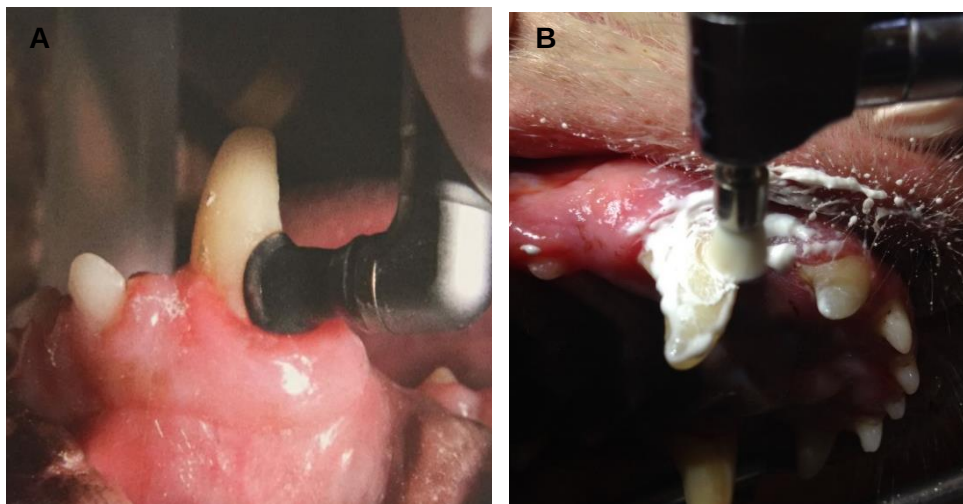


Figura 17 – Polimento com Taça de Borracha (A) Taça de borracha dentro do sulco gengival, (B) Polimento de todas superfícies do dente com taça de borracha e pasta profilática.

Fonte - Holmstrom, 2005; Arquivo pessoal, 2018

2.9. Probiótico e a saúde oral.

O termo probiótico designa-se microrganismos vivos que quando administrados em quantidades adequadas, promovem benefícios à saúde do hospedeiro (MEURMAN, 2007). O uso do probiótico na doença periodontal tem como objetivo promover o balanço ecológico mediante a exclusão competitiva de bactérias patogênicas, que exercem sua ação de múltiplos mecanismos como a fagocitose, inibição do crescimento bacteriano, modulação local da resposta imune e inibição competitiva, além de diminuir a resposta inflamatória e estimular a produção de imunoglobulinas (IgA) (FOUREAUX, 2012; MEURMAN, 2007).

A ação do probiótico na cavidade oral é se aderir e colonizar na superfície dentária, delineando um mecanismo de ação no qual irá competir por sítios de adesão, por nutrientes e irá produzir compostos antimicrobianos, que aumentam a resposta imunológica da cavidade oral do hospedeiro impossibilitando a produção de citocinas pró-inflamatórias, reduzindo a inflamação e destruição dos tecidos, que proporcionam a sustentação do dente. Vale a pena ressaltar que o uso do probiótico na cavidade oral auxilia contra a halitose (causada pela produção de compostos sulfurosos voláteis), pois o microrganismo do probiótico irá gerar o equilíbrio produzindo bacteriocinas, que reduzem o número de bactérias produtoras de compostos voláteis (VISHNU, 2012).

As bacteriocinas pertencem ao grupo de péptidos antimicrobianos, que competem contra os agentes patogênicos, impedindo o crescimento, facilitando a introdução de probióticos na microbiota e agindo de três formas diferentes, figura 18.

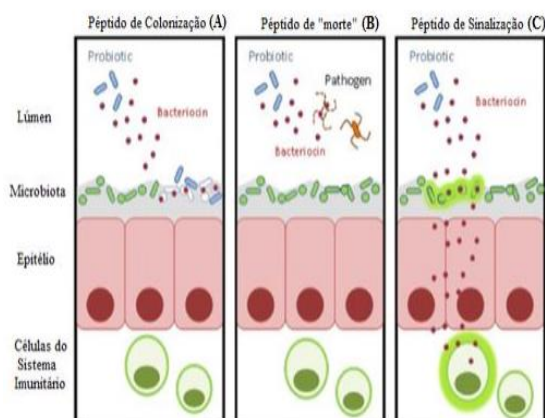


Figura 18 - Possível mecanismo de ação das bacteriocinas dos probióticos na cavidade oral. (A) Péptidos de colonização – facilitam a competição do probiótico com a microbiota residente (B) Péptidos de morte - se aderem aos agentes patogênicos, realizando a eliminação direta deles (C) Péptidos de sinalização de bactérias e componentes do sistema imune (adaptado de Dobson et al., 2012).

Fonte: (adaptado de Dobson et al., 2012).

Um produto a base de probiótico deve apresentar entre 10^8 e 10^9 unidades formadoras de colônias (UFC) e seu uso deve ser diário. Segundo ERKKILÄ et al., (2001), derivados de produtos lácteos fermentados são a matriz perfeita como veículo para probióticos. No entanto, hoje já é possível observar diversas formas de matrizes sem ser láctea e fermentada. (POSSEMIERS et al., 2010; RIVIERA-ESPINOZA; GALARDO-NAVARRO, 2010).

A microbiota da cavidade oral apresenta um ecossistema complexo, devido a presença de nutrientes, restos alimentares e secreções no qual concebe um habitat propício para bactérias do gênero *Streptococcus*, *Neisseria*, *Actinomyces*, *Viellonella* e *Lactobacillus*, leveduras e bactérias anaeróbicas *Pophyomonas*, *Prevotella* e *Fusobacterium*, que irão causar a gengivite (HAUKIOJA, 2010; SUKKARWALLET et al., 2013).

As alterações das propriedades favoráveis no desenvolvimento dos microorganismos e agentes patogênicos perturbam o ambiente local da cavidade oral, concebendo uma vantagem competitiva gerando infecção oral

(STAMATOYA e MEURMAN, 2009). A utilização de probióticos nessa área demonstrou com maestria a sua eficácia na prevenção e tratamento de afecções orais, pois o probiótico proporciona o crescimento da microbiota nociva, modulando a resposta imune de toda a mucosa da cavidade oral (VIEIRA et al., 2013)

Nos últimos anos, os probióticos foram introduzidos nas pesquisas odontológicas após anos de sucesso no manejo das desordens gastrointestinais (MEURMAN, 2007). Segundo Borges (2003), os mecanismos de ação dos probióticos são, figura 19:

- 1) Exclusão competitiva, algumas bactérias benéficas competem pela adesão de receptores, impedindo a fixação de outras espécies.
- 2) Antagonista direto - Tem capacidade de inibir o crescimento de bactérias patogênicas devido à produção de substâncias bactericidas como as bacteriocinas, ácidos orgânicos e peróxido de hidrogênio.
- 3) Estímulo do sistema imune - Eles aumentam a produção de anticorpos, ativam macrófagos, proliferam células T e interferon.
- 4) Alteração do metabolismo – Cria aumento ou diminuição da atividade enzimática.
- 5) Atividade antimicrobiana- Alguns microrganismos produzem metabólitos que têm a capacidade de neutralizar enterotoxinas ou diminuir a absorção de substâncias.

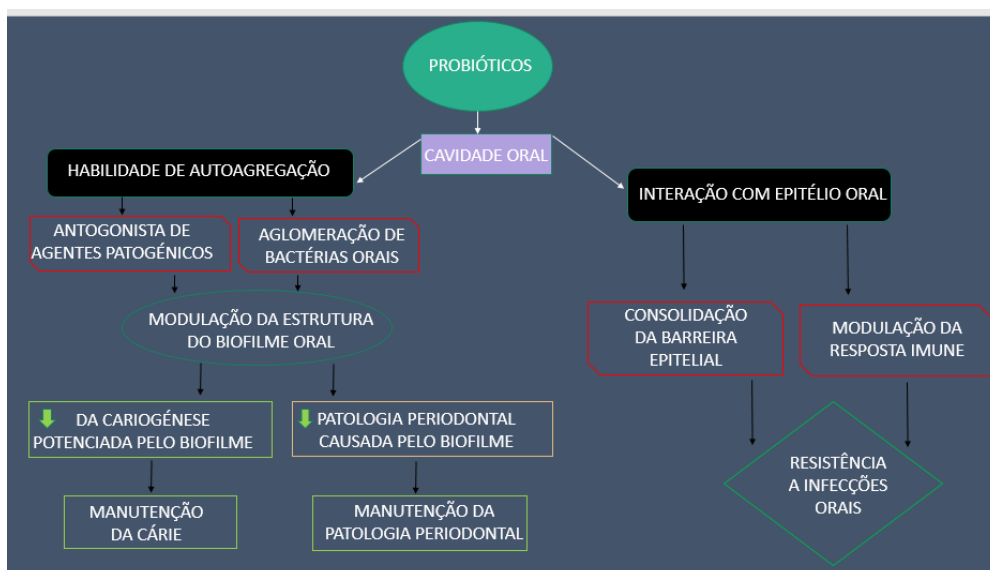


Figura 19 – Diagrama adaptado do mecanismo de ação do probiótico oral.

Fonte: (Stamatova e Meurman, 2009)

A cavidade oral representa a primeira região do trato gastrointestinal, onde os probióticos podem criar um biofilme, que age como uma barreira protetora para os tecidos contra as doenças bucais, pois mantém as bactérias patogênicas longe destes tecidos, além de competir com bactérias cariogênicas inibindo seu crescimento (MEURMAN, 2007). Esse biofilme derivado do mecanismo de ação dos probióticos na cavidade oral preenchem os espaços onde acumulam bactérias patogênicas, ou seja, o probiótico vai se aderir no sulco gengival do dente, diminuindo a gengivite, halitose, bactérias carcinogênicas, que acarretam a doença periodontal (ÇAGLAR et al., 2005; COMELLI et al., 2002; KANG et al., 2006).

A doença periodontal e a cárie dental ocasionam o desequilíbrio da microbiota oral, no qual as espécies acidogênicas predominam. Desta forma, ocasionando mais doenças orais. O probiótico tem a função de gerar e harmonizar um equilíbrio da microbiota oral (RICCIA et al., 2012).

As bactérias benéficas utilizadas nos probióticos orais são classificadas como bactérias ácido-láticas do gênero *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. Elas trazem efeitos benéficos nos dentes, reduzindo a desmineralização do esmalte dentário e impedindo o crescimento da microbiota prejudicial, pois essas bactérias irão modular a imunidade da cavidade oral (FOUREAUX, 2012)

Os *Lactobacillus* são microrganismos Gram positivos, anaeróbicos facultativos, que não formam esporos e não flagelados, que produzem ácido láctico através do hidrato de carbono que têm a capacidade fermentativa. Atualmente existem 56 espécies de *Lactobacillus*, que dependem da temperatura entre 30° e 40° C e pH entre 5,5 e 6,3 para poder crescerem com excelência, figura 20 (STAMATOYA e MEURMAN, 2009).

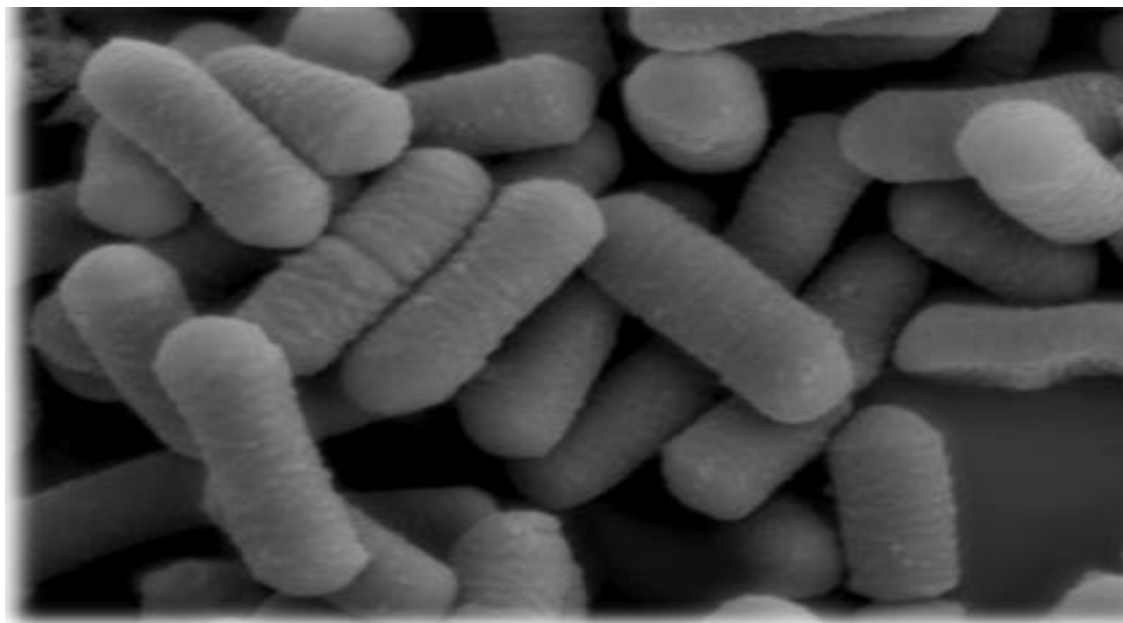


Figura 20- Bactérias probióticas de *Lactobacillus* visualizado através do microscópio eletrônico
Fonte-(Stamatova e Meurman, 2009)

A cavidade oral apresenta diversos tipos de estripes de *Lactobacillus*, que são divididos em dois grupos. Os que produzem ácido láctico pela fermentação da glucose, são denominados de homofermentativo, nos quais são derivados dos *Lactobacillus casei* e *Lactobacillus acidophilus*. Já o grupo de *Lactobacillus* heterofermentativo produzem acetato, etanol e dióxido de carbono devido ao acréscimo do ácido láctico, como por exemplo *Lactobacillus fermentum* (KARPINSKI e SZKARADKEWICZ, 2013).

A estabilidade de doença periodontal pode ocorrer pela ação antagonista do *Lactobacillus*, que irá inibir os agentes patogênicos periodontais como *Aggregatibacter*, *Actinomyces comitans*, *Prevotella intermedia* e *Porphyromonas gingivalis*, fazendo com que a produção de ácido láctico diminua o pH da cavidade oral liberando peróxido de hidrogênio gerando manutenção e equilíbrio da microbiota oral através do *Lactobacillus spp* (KARPINSKI e SZKARADKEWICZ, 2013).

O probiótico da espécie *Lactobacillus reuteri* têm intuito de reduzir o sangramento, a gengivite e o índice de placa bacteriana (REDDY et al., 2010), Nadkerny et al., 2015. Em um outro estudo Teughels et al. (2013), foi avaliaram a eficácia do *Lactobacillus reuteri* em formato de goma de mascar, para tratamento de periodontite crônica com a técnica de raspagem e alisamento

radicular (RAR). Quando realizada a raspagem radicular, ocorrem a remoção de todos os cálculos dentários, restos alimentares da superfície dentária do cimento radicular, que faz parte da estrutura da raiz, mantendo a superfície radicular completamente lisa e limpa. Esse estudo foi elaborado com 30 pacientes com idade a partir de 35 anos, que apresentavam periodontite severa. Os pacientes foram divididos aleatoriamente em dois grupos: grupo de teste (RAR + probiótico) e grupo controle (RAR + placebo). Após o tratamento periodontal, os pacientes mastigavam duas vezes ao dia a goma de probiótico contendo *L. reuteri*, durante 12 semanas. Em ambos os grupos foi possível observar redução significativa dos parâmetros clínicos da periodontite crônica, pois os probióticos (bactérias benéficas) em associação do RAR, diminuíram a atividade antimicrobiana e anti-inflamatória das bactérias patogênicas. Sendo assim, o *L. reuteri*, pode ser considerado um microorganismo promissor na prevenção e tratamento periodontal.

O probiótico *Lactobacillus salivarius* foi administrado para avaliar a população bacteriana do biofilme supra/subgengival, sendo possível verificar uma redução significativa nas cinco bactérias periodontopatogênicas *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia*, *P. gingivalis*, *T. denticola* e *T. forsythia* (REDDGY et al., 2010, NADKERNY et al., 2015). O *Lactobacillus salivarius* diminui a produção de citocinas dos linfócitos T, provenientes do baço, pois os *Lactobacillus* favorecem a defesa do hospedeiro através da imunidade de células T (NADKERNY et al., 2015). Em um estudo clínico, foram selecionados pacientes fumadores e não fumadores. Esses pacientes foram separados aleatoriamente em dois grupos, grupo A- foi administrado comprimidos de probióticos contendo *L. salivares* WB21, e no outro grupo foi ingerido comprimidos contendo xilitol (placebo). Como resultado, conclui-se que o grupo que ingeriu o comprimido com *L. salivares*, teve diminuição da placa bacteriana e de níveis salivares de lactoferrina, junto com a redução da profundidade da bolsa periodontal, principalmente em pacientes fumantes (SAHA et al., 2012).

Riccia et al., (2007), observou a eficácia de *Lactobacillus brevis* como um anti-inflamatório em pacientes com doença periodontal. A arginina-desiminase do *Lactobacillus brevis*, foi capaz de realizar a remoção do substrato (arginina) de óxido nítrico (MARCHETTI et al, 2015).

As bactérias do gênero *Bifidobacterium* são gram-positivas, com formato de bacilos curtos, curvados e bifurcados, desprovidos de flagelos, que não formam esporos, figura 21 (STAMATOVA e MEURMAN, 2009).

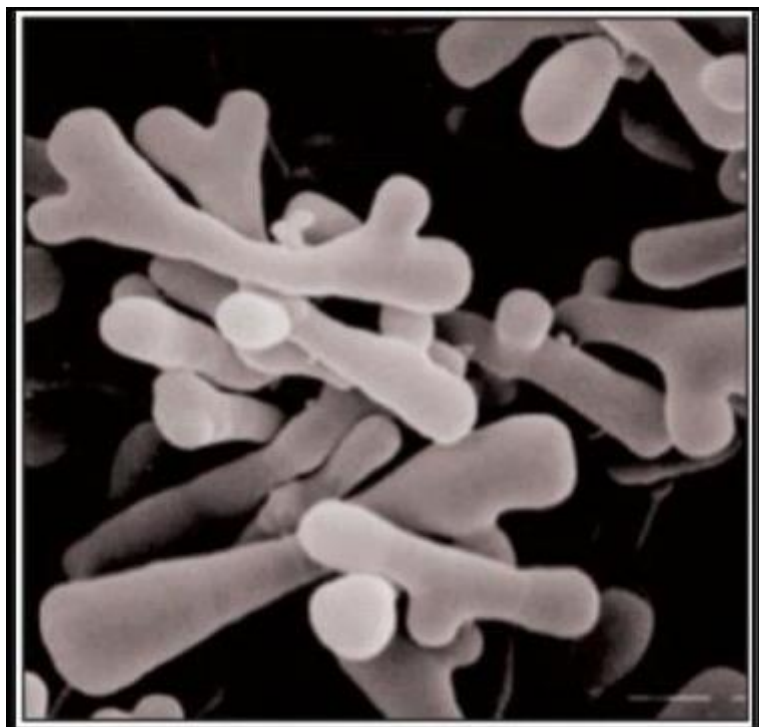


Figura 21– Probiótico do gênero *Bifobacterium* visualizada de microscópio eletrônico

Fonte - (adaptado de Inturri et al., 2014)

As bactérias do gênero *Bifidabacterium* são heterofermentativas, que produzem ácidos láctico e acético e não produzem dióxido de carbono. Atualmente, existem 30 espécies de *Bifidobacterium*, sendo 10 de origem humana através da boca, fezes e vagina, 17 de origem animal, duas de água residuais e uma de leite fermentando. Para obter o crescimento dos estripes dessa bactéria a temperatura deve estar entre 37 e 41°C com pH 6 a 7 (Zinedine e Faid, 2007).

Em um estudo realizado na Rússia, foi observado o uso de probiótico em forma de comprimido para o tratamento de gengivite e periodontite em humanos. O resultado obtido pelo uso do probiótico da espécie *Bifidobacterium bifidium*, auxiliou na redução gengival e na inflamação periodontal (REDDGY et al., 2010, NADKERNY et al., 2015). O *Bifidobacterium bifidium*, no sistema gastrointestinal auxilia na expressão de interleucinas-1 β , interleucinas--6, interleucinas--

12, TNF- α e IFN- γ , gerando o aumento de interleucinas--2, interleucinas--4 e - interleucinas-10 (Oliveira et al. 2009).

Segundo Jindal et al., (2012), os estripes de *Bifidobacterium* tem um efeito sinérgico com a contagem salivar e redução significativa *S. mutans* na cavidade oral. Essa redução ocorre devido a inibição da aderência bacteriana e pelo efeito bactericida, com a atividade seletiva contra *Streptococcus mutans*.

Os dados dos efeitos dos probióticos na cavidade oral acumulam-se a cada dia. Sabe-se que os probióticos estão se tornando uma alternativa promissora para o controle do aumento da resistência aos antibióticos administrados pelos métodos tradicionais de controle da doença periodontal (KODUGANTI et al., 2011).

OBJETIVO

3. OBJETIVO

Avaliar a terapia probiótica sinérgica na formação da placa bacteriana e gengivite em cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) mantido em cativeiro.

MATERIAL E MÉTODOS

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Animais

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) FMVZ/ UNESP sob o número de protocolo 0173/2017 e SISBIO número 60130.

Foram avaliados 132 dentes de 6 cachorros-do-mato *Cerdocyon thous*, mantidos em cativeiro, que apresentavam idades de 1, 6 a 3 anos, sendo 5 machos e 1 fêmea, pesando em média 6 quilos e com doença periodontal grau I e II de acordo com a classificação do *American Veterinary Dental College* (AVDC, 2015). Esses animais eram do Centro de Medicina e Pesquisa em Animais Selvagens (CEMPAS) da UNESP. Os indivíduos foram identificados por leitores eletrônicos de microchips, que estavam localizados na região cervical dorsal dos animais.

Os animais foram separados aleatoriamente em 2 grupos após a profilaxia dentária:

GRUPO POSITIVO (Tratado) - recebeu o probiótico em forma de pó por 60 dias

GRUPO NEGATIVO (Controle Negativo) – não recebeu o probiótico

O grupo positivo recebeu o probiótico pulverizado em pescoço de frango ou coração de galinha colocados em uma bandeja plástica, diariamente por 60 dias no período matutino e posteriormente os animais se alimentavam com frutas e ração comercial premium para cães em outro recipiente plástico. Já o grupo negativo recebia sua alimentação em um recipiente plástico no período matutino, mas sem adição de probióticos no pescoço de frango.

Os animais de ambos os grupos eram alimentados duas vezes ao dia, com o mesmo alimento para ambos os grupos e na mesma quantidade e no mesmo horário.

5.2. Probiótico

O probiótico foi preparado pelo laboratório de farmácia de manipulação. Artpharma na cidade de Jundiaí.

Foram produzidos 60 envelopes para cada animal do grupo tratado, onde foi oferecido por dois meses, ou seja, 60 dias direto, sem nenhum intervalo. Cada pacote tinha 1 bilhão (UFC) das espécies: *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus brevis* e *Bifidobacterium bifidum* em forma de pó com sabor de bacon.

5.3 Pré– operatório/ Anestesia

Os aniamis dos Cempas, inicialmente foram submetidos a jejum hídrico e alimentar de oito horas anteriormente à profilaxia dentária. Os animais foram cercados no recinto e contidos através de um puçá, como medicação pré-anestésica utilizou-se 8 mg/kg de cloridrato de cetamina e 0,5 mg/kg de cloridrato de midazolan, via intramuscular. Em seguida, os animais foram pesados e encaminhados para o centro cirúrgico. Subsequente após 20 minutos da contenção química, canulou-se a veia cefálica com um cateter de calibre 22. Cada paciente recebeu solução de ringer com lactato 10ml /kg. Para indução da anestesia, foi empregado propofol (5 mg/kg/IV), aplicado lentamente. Em seguida o paciente foi entubado por sonda endotraqueal número 5,5 e mantido com isofluorano e oxigênio.

Os animais foram posicionados em decúbito lateral sobre a mesa cirúrgica, como protocolo sempre começando a avaliação pelo lado esquerdo.

5.4 Avaliação

Foi selecionado o cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) que apresentou doença periodontal de Grau 1 a Grau 2 (figura 22). Na cavidade oral foi avaliado o terceiro incisivo, canino, 1, 2, 3 e 4 pré-molar da maxila e na mandíbula avaliou-se o canino, 2,3, 4 pré-molar e primeiro molar de acordo com Logan e Boyce

(1994). Com auxílio de uma sonda periodontal as alterações foram registradas no odontograma (figura 23).

A profilaxia odontológica foi realizada no dia 0, diminuindo a quantidade de placa bacteriana na cavidade oral, assim comparando com mais riqueza os grupos positivo e negativo.

Após 60 dias do tratamento periodontal, os animais foram contidos novamente e os elementos dentários foram corados com eosina 2%, fotografados e em seguida avaliados e mensurados através dos programas PHOTOSHOP ONLINE® e EXCEL®, com intuito de avaliar a eficácia do probiótico dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifobacterium* no controle da placa bacteriana e gengivite dos cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*).



Figura 22 - Cavidade oral lado esquerdo (A) lado direito (B), das faces vestibulares maxilares e mandibulares de cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) (indivíduo 3), no dia 0 antes do tratamento periodontal. **Fonte**- Arquivo pessoal, 2018

FICHA DE EXAME CLÍNICO

ANAMNESE

Queixa principal:

Proxeta Sabrina
Animal 3 / Grupo Positivo
Tratamento / Profilaxia Dentária antes do procedimento

Histórico dental: nunca

Histórico médico: —

Exames prévios: () raioX () ECG () outros:

Alimentação: () caseira: frutas

() Osso natural

() Higiene bucal

(K) razão:

() Ossos/biscoitos artificiais

() Vícios de roer madeira, Palco

EXAME CLÍNICO

Assimetria da cabeça () NDN Linfonodo () NDN Outros () NDN

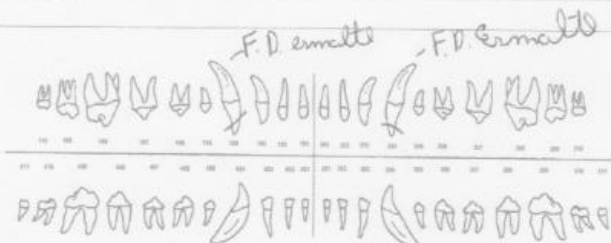
Aumento de volume () NDN Fístula () NDN

Lábios () NDN Saliva () NDN Outros () NDN

Mucosas NDN

Oclusão: ☒ Normal () Outras:

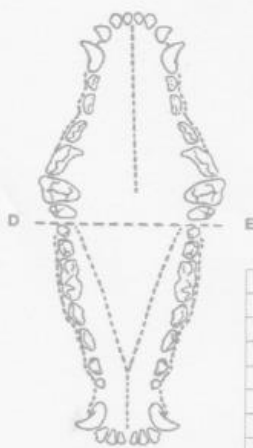
Observações



Legenda

Bolsa periodontal (BP) em mm
Retração gengival (RG) em mm
Exposição de furca (EF) grau I, II, III
Hiperplasia gengival (HG)
Mobilidade dental (MD) grau I, II, III
Gengivite (G) grau I, II, III
Placa (P) grau I, II, III
Cálculo (C) grau I, II, III
Ausência de dente (E)
Fratura dental (FD)
Exposição de polpa (EP)
Dente supra-numerário (SN)

Giro-versão (GV)
Apinhamento dental (AD)
Desgaste (D)
Escurecimento dental (ED)
Erosão de esmalte (EE)
Hipoplasia de esmalte (HE)
Lesão de reabsorção (LR)
Cárie (Ca)
Dente não erupcionado (NE)
Persistência de decíduo (PD)
Lesão de palato (LP)
Dente extraído (X)



Dente	M2	M1	P4	P3	P2	P1	C	I3	I2	I1	I1	I2	I3	C	P1	P2	P3	P4	M1	M2
Triadad	110	109	108	107	106	105	104	103	102	101	201	202	203	204	205	206	207	208	209	210
Mobilidade																				
Retração																				
Bolsa																				
Furca																				
Hiperplasia																				
Calculo																				
Placa	1	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	1
Gengivite																				

Direito

Esquerdo

Dente	M3	M2	M1	P4	P3	P2	P1	C	I3	I2	I1	I1	I2	I3	C	P1	P2	P3	P4	M1	M2	M3
Triadad	411	410	409	408	407	406	405	404	403	402	401	301	302	303	304	305	306	307	308	309	310	311
Mobilidade																						
Retração																						
Bolsa																						
Furca																						
Hiperplasia																						
Calculo																						
Placa				1	2	2	1	1							1	1	2	2	2	1	1	
Gengivite																						

DIAGNÓSTICO

Parecer clínico:

Doença Periodontal Grau 1

Tratamento recomendado:

Profilaxia dentária

Medicação pré-operatória:

Exames solicitados: ECG () Hemograma () Ht () uréia/creatinina () F.hepática () biópsia () raioX () Tomografia () outros ()

Figura 23 - Ficha de avaliação odontológica

Fonte- Arquivo pessoal, 2018.

5.5 Avaliação periodontal dia 0

Com o animal anestesiado, realizou-se a remoção do cálculo dentário com ultrassom dentário Dabi Atlante que gira 32 mil hertz por segundo (figura 24), onde removeu a maioria do cálculo espesso aderido nas coroas do dente e em seguida, realizou-se a raspagem subgengival e supragengival com a cureta de gracey tamanho 14. O polimento do esmalte do dente foi realizado com pasta profilática e uma taça de borracha acoplada à caneta de baixa rotação (figura 25). Cavidade oral do cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) após profilaxia dentária (figura 26).

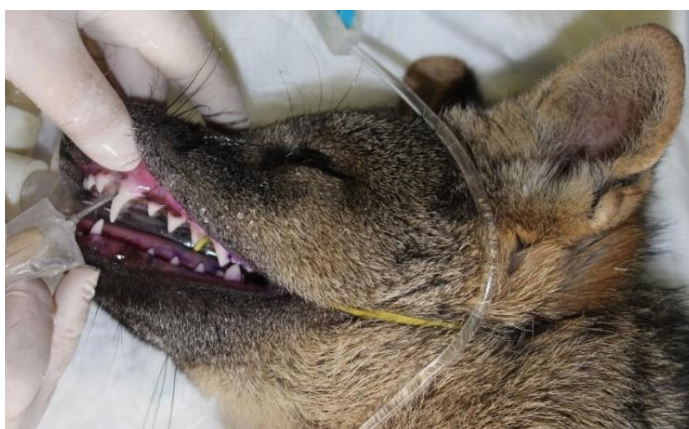


Figura 24 – Remoção de cálculo supra-gengival e sub-gengival com ultrassom dentário na face vestibular esquerda dos dentes maxilares e mandibulares de cachorro-do-mato (indivíduo 1).

Fonte- Arquivo pessoal, 2018.



Figura 25 - Polimento com taça de borracha acoplado em uma caneta de baixa rotação e pasta profilática, aplicada na face vestibular dos dentes maxilares e mandibulares esquerda de cachorro-do-mato (indivíduo 1). Fonte- Arquivo Pessoal, 2018.



Figura 26 - A – Lado direito cavidade oral do indivíduo número 3 no antes do tratamento periodontal. B – Lado direito do indivíduo número 3 após tratamento periodontal onde zerou a placa bacteriana para começar o tratamento com probiótico

Fonte- Arquivo pessoal, 2018

5.6 Avaliação por fotografia digital

A avaliação visual ocorreu com o animal anestesiado, onde realizou aplicação da eosina 2% com auxílio de uma gaze na face vestibular da coroa dos elementos dentários maxilares e mandibulares (figura 27). De acordo com metodologia utilizada por Logan e Boyce (1994) modificada por Harvey (2002) e Hennet et al., (2006) Veterinary Oral Health Council (VOHC, 2012).



Figura 27 - Cavidade oral lado direito (A), cavidade oral lado esquerdo (B), de um cachorro-domato, com aplicação de eosina aquosa a 2%, aplicada com auxílio gaze sobre as faces vestibulares dos dentes dos maxilares e mandibulares.

Fonte: Arquivo pessoal, 2018

Para obter um padrão de fotografia digital, afim de obter resultados mais concretos da cavidade oral, utilizou-se uma mesa estativa de câmera fotográfica sedida pela Fapesp número 025192 (figura 28), na qual foi possível escolher a distância do eixo perpendicular da câmera fotográfica e da cavidade oral. Ficou padronizado para todos os animais utilizar uma distância de 10 cm entre a câmera e a cavidade oral (figura 29). Para realização das fotos digitais foi utilizado câmera da Canon profissional com a resolução de 2592 a 1728 e distância focal de 55 mm, na opção de macro e Flash acionadas. Para evitar distorções e poder mensurar e obter resultados seguros e fidedignos, utilizou-se uma fita métrica posicionada linear à cavidade oral do dente.



Figura 28- Mesa estativa para câmera fotográfica
Fonte- Arquivo pessoal, 2018.

Para analisar as fotografias digitais no computador, foi utilizado o programa gratuito PHOTOSHOP® ONLINE, que tratou as imagens digitais dos dentes maxilares e mandibulares direita e esquerda, obtendo somente uma cor para área de placa bacteriana ou cálculo dentário total, figura 30. Já para obter as mensurações e tratar as imagens, utilizou-se o ImageJ®, figura 31, 32 e 33. As porcentagens da placa bacteriana ou cálculo dentário na face vestibular dos dentes foram obtidas pelo programa Excel® (pacote office home®).



Figura 29 -Áreas coradas com solução de eosina aquosa a 2% nas faces vestibulares dos dentes da maxila e mandíbula de um cachorro-do-mato(*Cerdocyon thous*), indivíduo(3), no dia 0

Fonte - Arquivo pessoal, 2018



Figura 30- Imagem da cavidade oral do lado esquerdo cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*), indivíduo (3) com imagem digital da face vestibular dos dentes da maxila e mandíbula, tratada no photoshop online, após a coloração de preto das áreas totais dos dentes avaliados.

Fonte – Arquivo pessoal, 2018



Figura 31 – Imagem das áreas vestibulares da maxila e mandíbula acometidas por cálculo dentário no dia 0 do cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) indivíduo (3), imagem digital tratada no Photoshop® online após coloração de preto das áreas de placa bacteriana

Fonte- Arquivo pessoal, 2018.



Figura 32- Áreas coradas com solução de eosina aquosa 2% nas faces vestibulares dos dentes da maxila e mandíbula de um cachorro-do-mato(*Cerdocyon thous*), indivíduo (3), após 60 dias do tratamento periodontal e o uso do probiótico.

Fonte – Arquivo pessoal, 2018.



Figura 33 – Imagem das áreas vestibulares da maxila e mandíbula acometidas por cálculo dentário após 60 dias do tratamento periodontal e do uso do probiótico no cachorro do mato(*Cerdocyon thous*), indivíduo (3), imagem digital tratada no Photoshop Online®.

Fonte - Arquivo pessoal, 2018

Para realizar a análise, os dados referentes à porcentagem de placa antes do tratamento com o probiótico e após 60 dias de tratamento, para os grupos POSITIVO e NEGATIVO, foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk para averiguar se apresentavam ou não distribuição normal. Como os valores não seguiram essa premissa, foi realizado o teste de Wilcoxon para comparar as porcentagens entre os grupos POSITIVO e NEGATIVO.

RESULTADOS

6. Comparação entre os grupos - Todos os dentes

6.1 Entre as porcentagens

Foram realizadas comparações entre os dois grupos nos dois momentos de avaliação. Apesar da avaliação no dia 0 (zero) os animais não receberem nenhum tipo de tratamento, a comparação foi realizada para confirmar a igualdade entre os grupos.

Em relação ao dia 0, não houve diferença estatística significativa entre os grupos de estudo ($W = 1834,5$, $p\text{-value} = 0,1963$). A figura abaixo representa os gráficos de boxplot para cada grupo no dia 0.

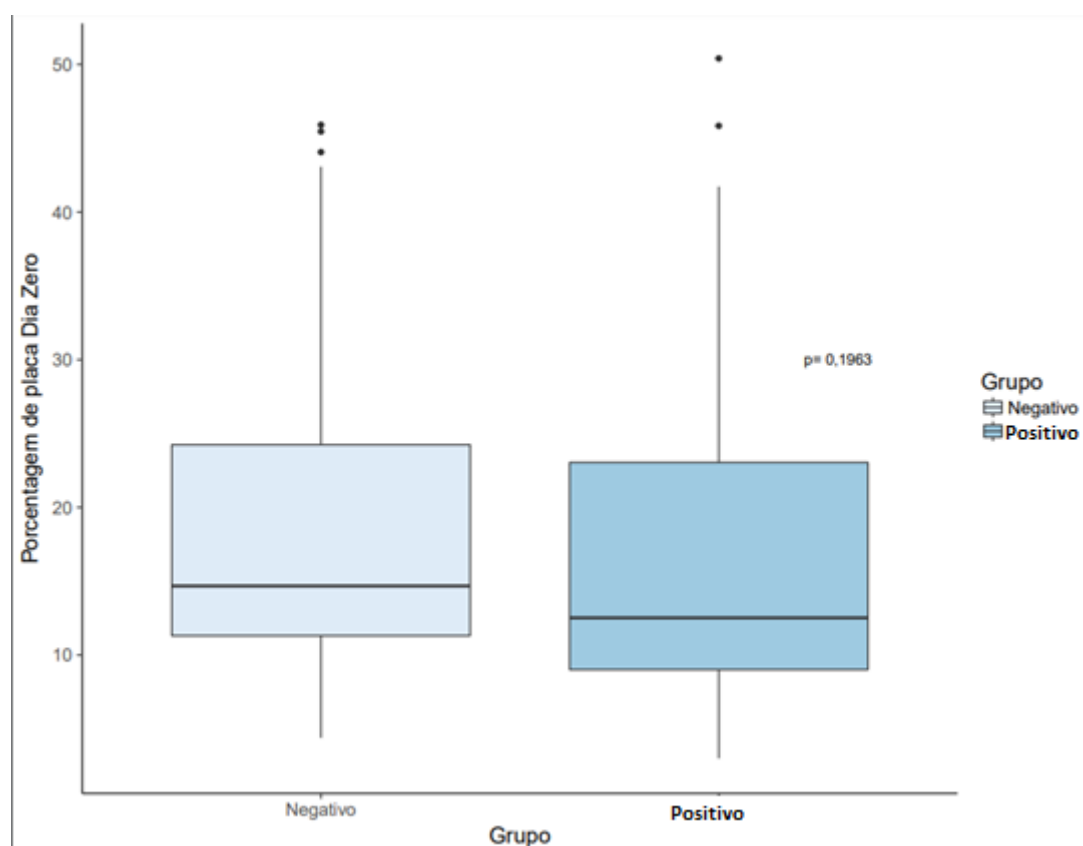


Gráfico 1- Porcentagem de placa bacteriana entre o grupo positivo e negativo no dia 0.

Em relação ao dia 60 pós-tratamento, não houve diferença significativa entre os grupos ($W = 1827$, $p\text{-value} = 0,1845$). A figura abaixo representa o gráfico de boxplot para os grupos 60 dias pós-tratamento.

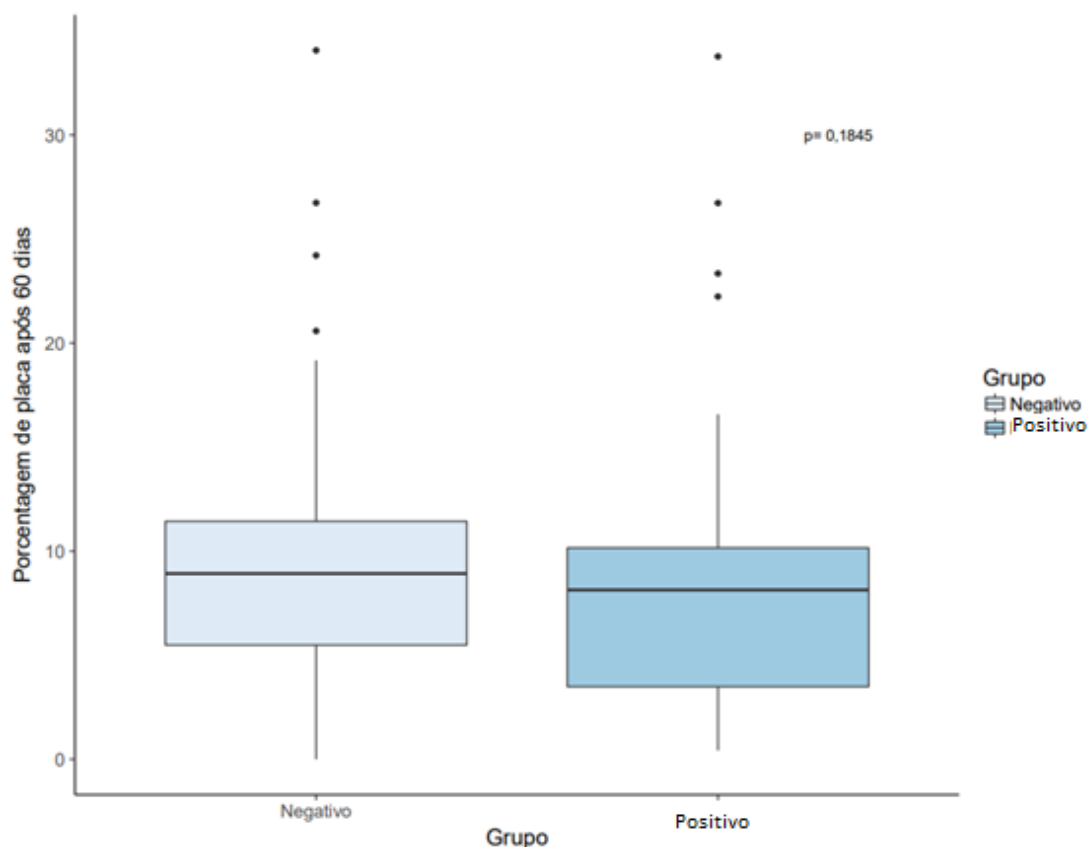


Gráfico 2 - Porcentagem de placa bacteriana entre o grupo positivo e negativo após 60 dias.

6.2. Entre as diferenças das porcentagens

A fim de se evitar qualquer viés de avaliação e para elucidar o efeito do tratamento na porcentagem de placa, os valores obtidos 60 dias pós-tratamento foram subtraídos dos valores obtidos no dia 0, obtendo assim uma porcentagem que corresponde de quantidade de placa foi formada em 60 dias para cada grupo estudado. Não houve diferença significativa entre os grupos em relação à diferença obtida entre os dois momentos de avaliação ($W = 2030,5$; $p\text{-value} = 0,7043$). A figura abaixo representa o gráfico de boxplot para a diferença entre os momentos de avaliação.

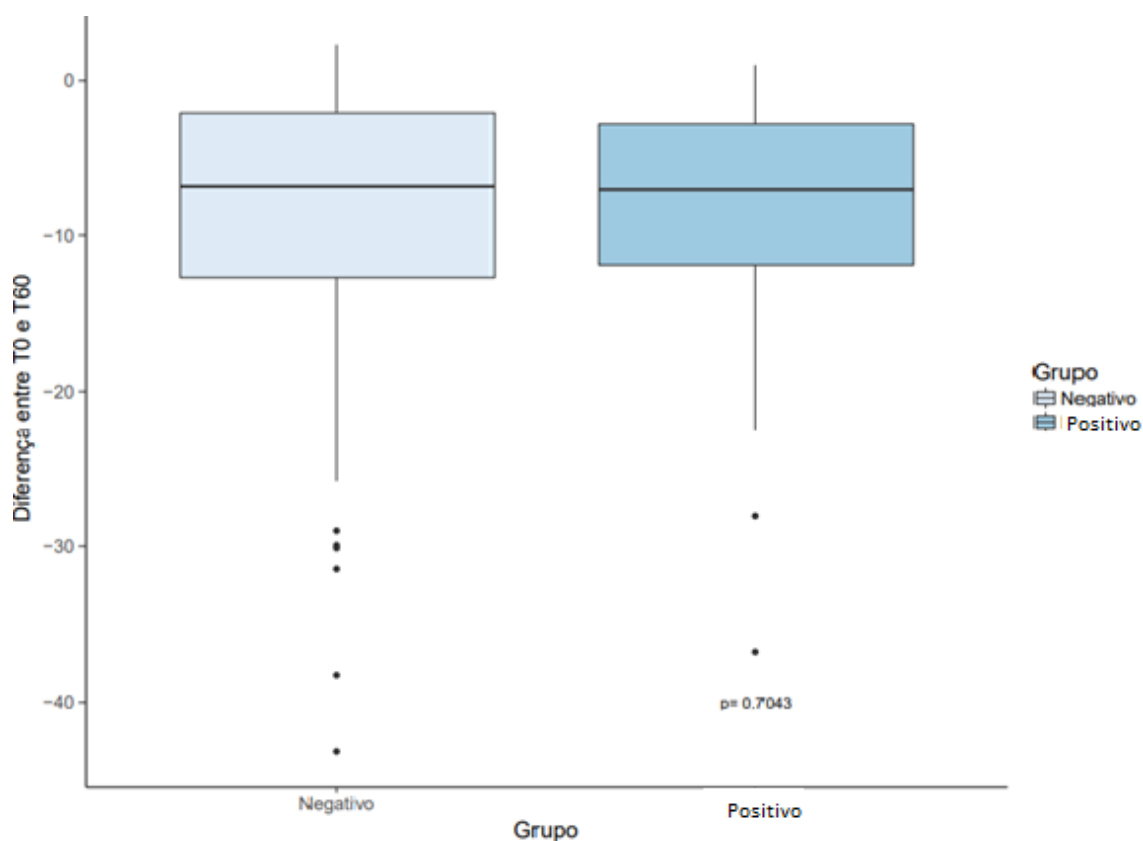


Gráfico 3 – Porcentagem da placa bacteriana formada em 60 dias.

6.3. Comparação entre os grupos dentários dentro do mesmo grupo

Foram realizadas comparações entre cada tipo de dente para cada grupo e entre grupos para os mesmos tipos dentários. Para a escolha do teste, os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e ao teste de Bartlett, para averiguar a variância entre os grupos. Foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis, para comparar os dentes superiores do grupo POSITIVO; e o teste de ANOVA para uma via, para comparar os dentes inferiores do grupo POSITIVO; e dentes superiores e inferiores do grupo NEGATIVO.

6.3.1. Grupo POSITIVO

Houve diferença estatística em relação aos dentes maxilares do grupo POSITIVO (Kruskal-Wallis chi-squared = 24,757; df = 5; p-value = 0,0001552), entre os dentes 1º pré-molar superior e 4º pré-molar superior (p= 0,0189068250);

3º incisivo superior e 4º pré-molar superior (0,0009836494); 1º pré-molar superior e canino superior (0,0486793314); e 3º incisivo superior e canino superior (0,0030627001). O gráfico abaixo representa os boxplots para cada dente maxilar para o grupo POSITIVO.

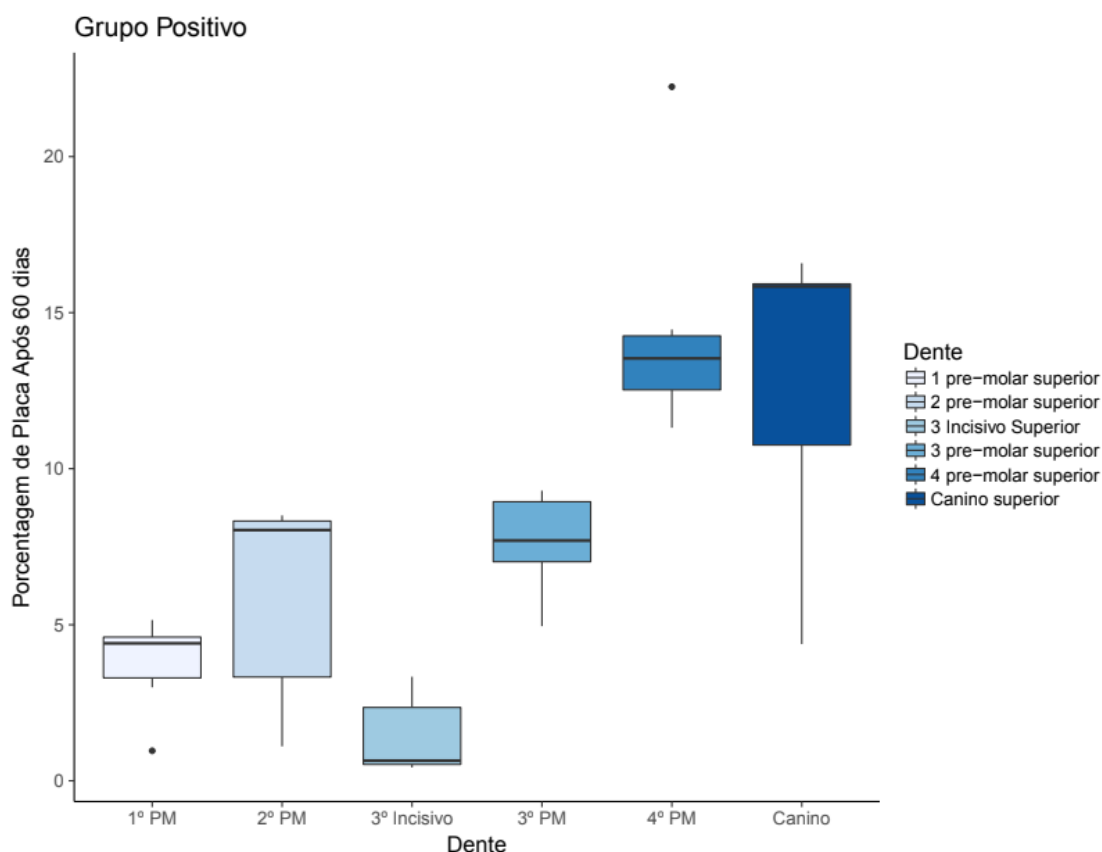


Gráfico 4 - Comparação entre os dentes da maxila do grupo positivo.

Houve diferença estatística em relação aos dentes mandibulares do grupo POSITIVO (ANOVA; $df = 4$; F-value = 7,165; p-value = 0,000548), entre os dentes 2º pré-molar inferior e 1º molar ($p = 0,0005201$); 3º pré-molar inferior e 1º molar (0,0064422); 4º pré-molar inferior e 1º molar (0,0258584); e canino inferior e 1º molar (0,0022905). O gráfico a seguir representa os boxplots para cada dente mandibular para o grupo POSITIVO.

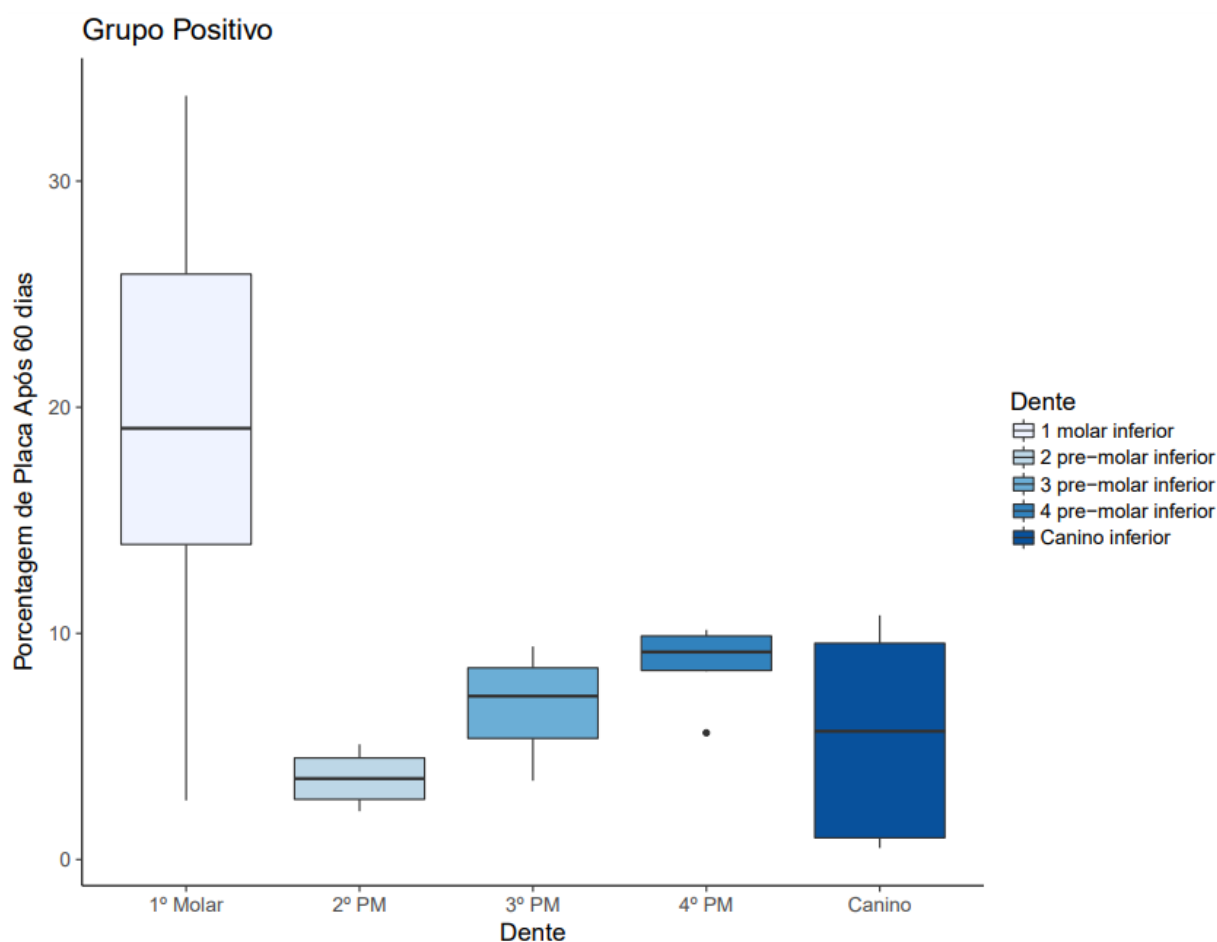


Gráfico 5- Comparação entre os dentes da mandíbula do grupo positivo.

6.3.2 Grupo NEGATIVO

Houve diferença estatística em relação aos dentes maxilares do grupo NEGATIVO (ANOVA; $df = 5$; F-value = 7,994; p-value = 0,00000693), entre os dentes 3º incisivo superior e 4º pré-molar superior ($p = 0,008335008$). O gráfico a seguir representa os boxplots para cada dente maxilar para o grupo NEGATIVO.

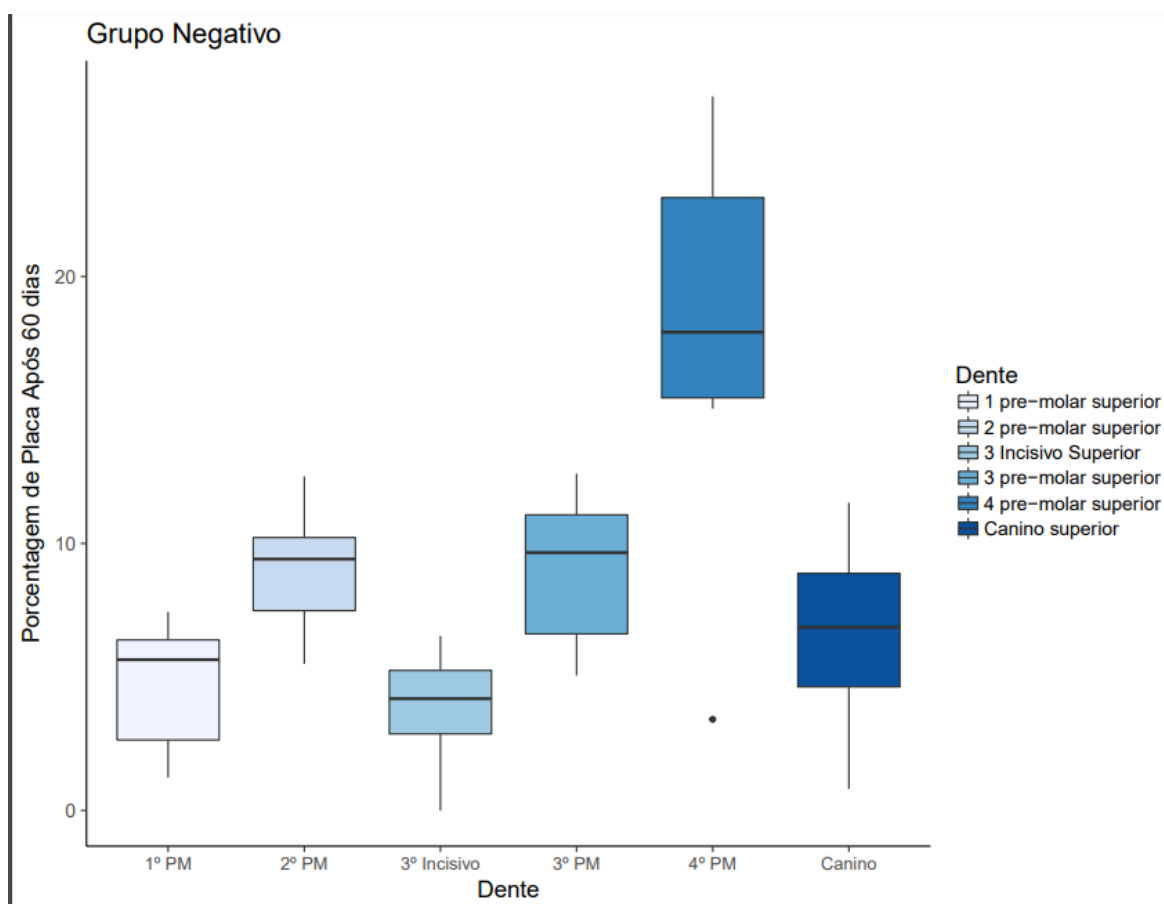


Gráfico 6 - Comparação entre os dentes da maxila do grupo negativo.

Houve diferença estatística em relação aos dentes mandibulares do grupo NEGATIVO (ANOVA; $df = 4$; $F\text{-value} = 3,878$; $p\text{-value} = 0,0144$), entre os dentes 2º pré-molar inferior e 1º molar ($p = 0,0482191$); 3º pré-molar inferior e 1º molar ($0,0411208$); e canino inferior e 1º molar ($0,0167200$). O gráfico a seguir representa os boxplots para cada dente mandibular para o grupo NEGATIVO.

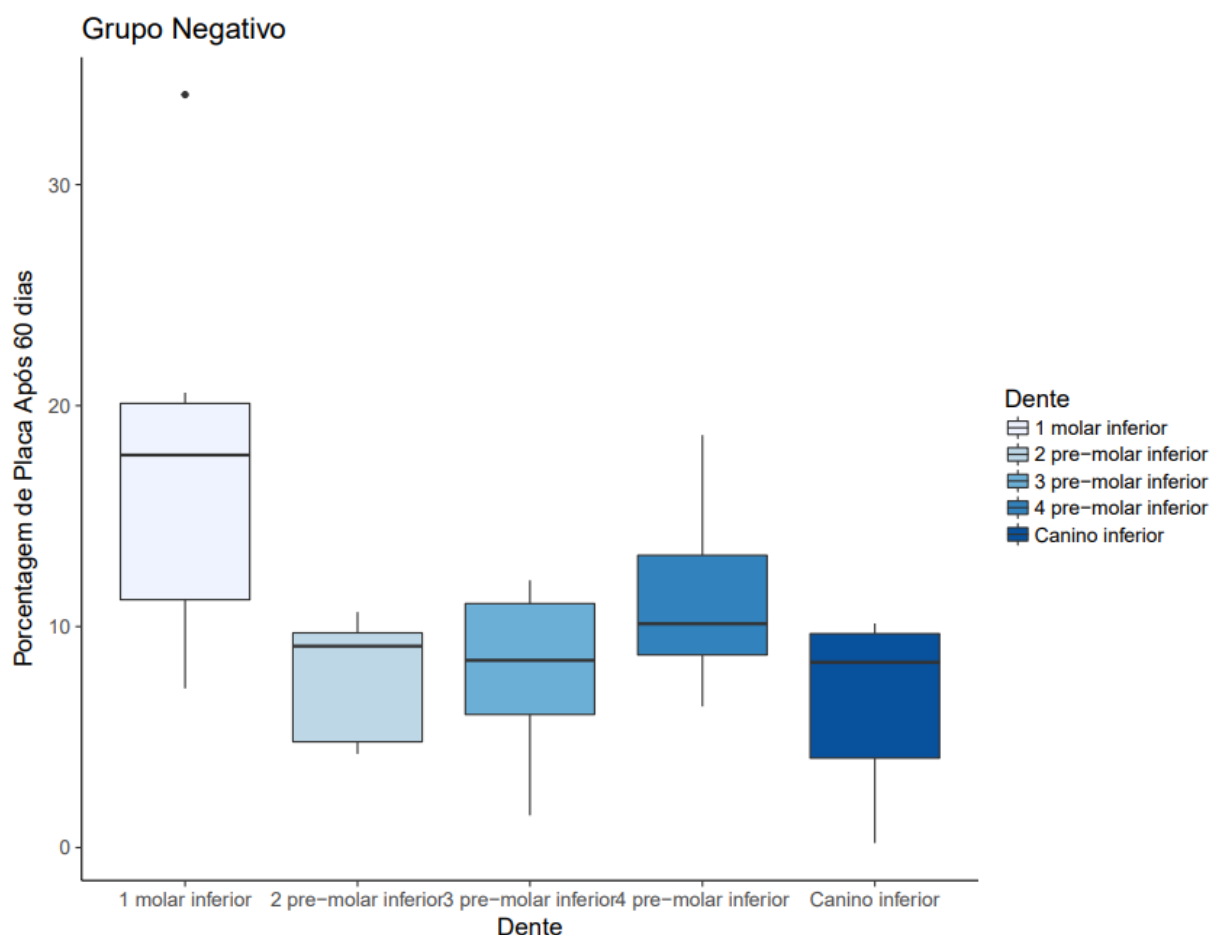


Gráfico 7 - Comparação entre os dentes da mandíbula do grupo positivo.

6.4. Comparação entre os grupos em relação ao grupo dentário

Foi utilizado o teste de Wilcoxon para as comparações entre os grupos em relação aos dentes canino superior e 2º pré-molar superior; e o teste T de Student em relação aos demais grupos dentários.

Em relação aos grupos dentários maxilares, não houve diferença significativa entre os grupos para os dentes 3º Incisivo superior ($t = -2,1208$, $df = 8,0894$, $p\text{-value} = 0,06636$); Canino superior ($W = 30$, $p\text{-value} = 0,06494$); 1º pré-molar superior ($t = -0,76947$, $df = 8,1298$, $p\text{-value} = 0,4634$); 2º pré-molar superior ($W = 8$, $p\text{-value} = 0,132$); 3º pré-molar superior ($t = -0,98439$, $df = 7,6437$, $p\text{-value} = 0,3551$).

O gráfico a seguir representa as comparações entre os grupos em relação ao grupo dentário maxilar.

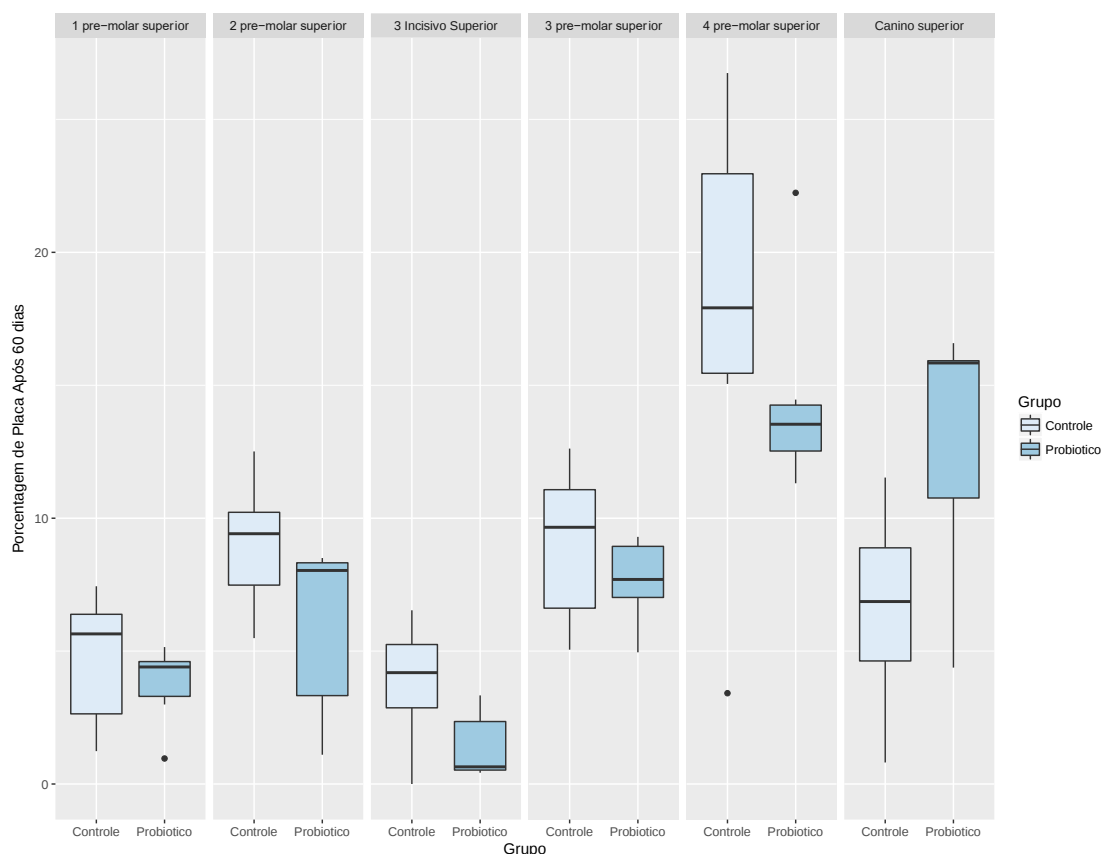


Gráfico 8 - Comparação entre os dentes da maxila do grupo positivo e negativo.

Em relação aos grupos dentários mandibulares, não houve diferença significativa entre os grupos para os dentes caninos inferiores ($t = -0,44043$, $df = 9,7333$, $p\text{-value} = 0,6692$); 3º pré-molares inferiores ($t = -0,58193$, $df = 7,9795$, $p\text{-value} = 0,5767$); 4º pré-molar inferior ($t = -1,3353$, $df = 6,4744$, $p\text{-value} = 0,2268$); e 1º molar inferior ($t = 0,22896$, $df = 9,798$, $p\text{-value} = 0,8236$). Houve diferença estatística para os dentes 2º pré-molares inferiores ($t = -2,9022$, $df = 5,1006$, $p\text{-value} = 0,03292$).

O gráfico a seguir representa as comparações entre os grupos em relação ao grupo dentário mandibular.

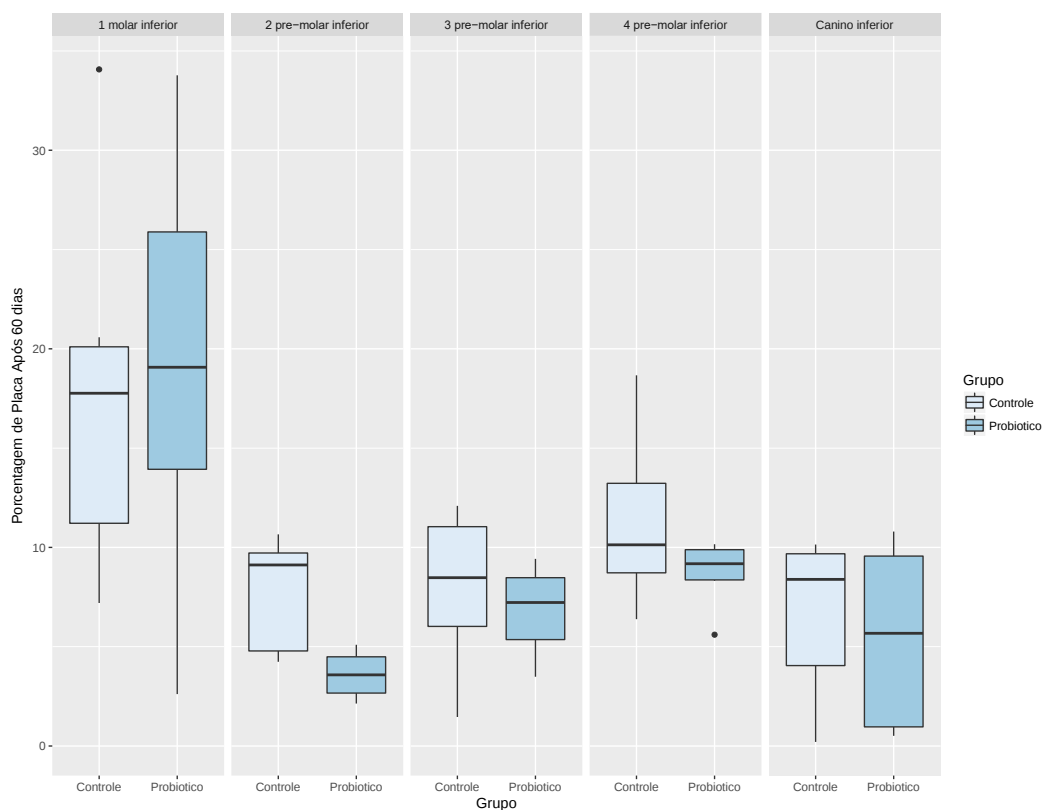


Gráfico 9 - Comparação entre os dentes da mandíbula do grupo positivo e negativo.

O grau de significância estabelecido para os testes estatísticos foi de 5% ($p < 0,05$). Os testes estatísticos foram realizados em programa de computador (RStudio, Version 0.99.903 – © 2009-2016 RStudio, Inc.).

Apesar de não haver diferença estatística significativa entre os grupos de estudo, podemos observar que existe uma tendência de acúmulo de placa nos dentes canino e 4º pré-molar maxilares e 1º molar mandibular em relação aos demais dentes. Ao compararmos os mesmos dentes entre os diferentes grupos de avaliação, podemos observar uma forte tendência da atuação do probiótico nos dentes 3º incisivo, canino maxilares, apesar de não haver diferença significativa entre eles; e uma atuação evidente em 2º pré-molar mandibular e principalmente em 4º pré-molar maxilar.

DISCUSSÃO

7. DISCUSSÃO

O cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*), foi escolhido devido a grande similaridade morfológica craniana e dentária dos canídeos domésticos com canídeos selvagens (ELBROCH, 2006; REIS et. al., 2006). A principal função dos dentes em ambas as espécies é dar início ao processo da alimentação, junto com os fluidos salivares, gerando a digestão (HARVEY, 1985).

A doença periodontal tem como fator etiológico primário a placa bacteriana que é um biofilme com coloração amarelada sobre a superfície dentária que gera uma resposta inflamatória no periodonto (GORREL 2010; WIGGS e LOBPRISE, 1997; DUPONT, 1997 e CLARCKE, 2011). Os cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*) do atual estudo, apresentaram 100 % de doença periodontal, devido a presença de placa bacteriana que variou entre o primeiro e segundo estágio conforme cita o AVDC (2012). A avaliação odontológica dos cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*), ocorreu através da avaliação visual e instrumental com auxílio de uma sonda periodontal em cada dente, onde todas as anormalidades foram registradas no odontograma criado por Logan e Boyce (1994).

Nos estudos de Meurman (2007) e Foureaux (2012), foi demonstrado que o uso do probiótico nas afecções orais proporciona o balanço ecológico da cavidade oral, mediante a exclusão competitiva de bactérias patogênicas, inibição do crescimento bacteriano, modulação da resposta imunológica e produção de imunoglobulinas IgA. Viera (2013) concorda com os autores citados anteriormente, pois em seu estudo verificou que o probiótico para infecções orais teve eficácia na prevenção e tratamento dessas doenças, pois foi possível observar que o probiótico realiza o crescimento de uma microbiota nociva, modulando a resposta imunológica de toda a cavidade oral. Com base nessas informações esse estudo avaliou a ação dos probióticos das espécies *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus brevis* e *Bifidobacterium bifidum*, sobre a formação do biofilme bacteriano dental nos cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*).

No presente estudo foi avaliado o sinergismo das cepas *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus brevis* e *Bifidobacterium bifidum*,

em formato de pó ministrada para os cachorros-do-mato. O resultado entre o grupo positivo e negativo após 60 dias do tratamento periodontal, mostrou que não houve uma diferença estatisticamente significativa. Supõe-se que alguns fatores podem ter contribuído para esse resultado. O primeiro fator é o número de animal avaliado nesse estudo, pode ter comprometido o resultado. O outro fator seria a forma que o probiótico foi administrado, por ser tratar de um animal selvagem de cativeiro, não foi possível aplicar o probiótico diretamente na cavidade oral desses animais, diferente do estudo realizado em ratos de laboratório (RICCIA, 2007).

No presente trabalho, observou-se que primeiro molar inferior e o quarto pré-molar superior, tiveram uma maior tendência no acúmulo de placa bacteriana, isso está relacionado à morfologia dentária e as saídas dos ductos salivares. Kowalesky (2005), descreve que o quarto pré-molar superior apresenta mais acúmulo de placa bacteriana em sua fossúla da face vestibular e o canino apresenta mais acúmulo de placa bacteriana no terço cervical do dente. Como ação anti-cálculo o probiótico utilizado neste estudo teve tendência de ação promissora no 3º incisivo, canino e no quarto pré-molar da maxila e no 2º pré-molar da mandíbula. Os autores Gioso (2007), Holmstrom (1997), Wiggs e Bloom (2003), citaram que dentes como caninos, com cúspides cortantes, rasgam e perfuram o alimento e os pré-molares cortam e seguram os alimentos. Supõe-se que o acúmulo do probiótico nos dentes citados acima, ocorreu pelo fato de maior contato com o alimento durante a mastigação. No presente estudo, mesmo não tendo um resultado significativo pela estatística, foi possível verificar na inspeção direta, uma diferença na diminuição na quantidade do acúmulo de cálculo nos animais que utilizaram probiótico por 60 dias.

Niemiec, 2008, Gioso, 2007, Harvey & Emily, 1993, Holmstrom, 2005, diversos estudos procuram agentes quimioterápicos ou naturais que irão prevenir ou retardar o crescimento da placa bacteriana na superfície dentária (Fouraux, 2012, Fouraux, 2012, Reddgy, 2010, Riccia, 2007, Saha, 2012; Teughels, 2013;). Neste estudo, o probiótico foi desenvolvido para o retardamento do crescimento da placa bacteriana e gengivite, desta forma, probiótico compete com a placa bacteriana criando um biofilme de microrganismo vivo que disputa a sua aderência com as bactérias da cavidade oral.

Como sugestão para estudos futuros para microrganismos vivos (probióticos) na cavidade oral de animais, indica-se uma avaliação com mais detalhes para compreender o mecanismo do probiótico e o sinergismo das cepas utilizadas neste trabalho, assim podendo gerar uma padronização e controle de qualidade do produto.

Vale a pena ressaltar que a utilização de probiótico dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* para prevenção da placa bacterina e gengivite na cavidade oral de canídeos selvagens em cativeiro é o primeiro relato desta natureza, sendo assim, sugere-se que essa atividade deve ser mais explorada com a finalidade de trazer mais benefícios sócio econômicos com a redução da formação de placa e cálculo dentários em canídeos selvagens de cativeiro, diminuindo a incidência de doença periodontal nessas espécies.

CONCLUSÃO

8. CONCLUSÃO

Conclui-se que foi possível a utilização dos probióticos dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifobacteriu* na cavidade oral dos cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*), obtendo resultado estaticamente significativo perante esse estudodemonstrando fortes indícios de aderência do probiótico na cavidade oral. Nesse estudo os animais utilizados não foram prejudicados, pois a quantidade de de probiótico utilizado foi ideal para cada indivíduo.

São necessários mais estudos para poder avaliar a longo prazo a utilização do probiótico como coadjuvante para prevenção da placa bacteriana e gengivite do cachorro-do-mato (mato (*Cerdocyon thous*) mantido em cativeiro promovendo uma qualidade de vida para esses animais.

REFERÊNCIAS

AMERICAN VETERINARY DENTAL COLLEGE. **Veterinary dental Nomenclature**, disponível <https://www.avdc.org/Nomenclature/Nomen-Intro.html>, acessado Janeiro - 2019

ABDALLA.L.S.. **Eficácia in vivo do sumo de Kalanchoe gastonis-bonnierei no controle do biofilme bacteriano e cálculo dentário de cães**. Tese de mestrado usp, 2012.

BELLOWS, J. **The practice of veterinary dentistry**. Iowa: Iowa State University Press, p - 204. 1999

BERTA, A. “ **Cerdocyon Thous**” in: Mammalian Species, 1982, pag 1-4 .BORGES,F.M; SALGARELLO,R.M; GURIAN, T.M “ **Recentes Avanços na nutrição de cães e gatos**” In: III Simpósio de nutrição de animais de estimação - Colégio Brasileiro de Alimentação animal, p. 21 – 60 ano 2003.

BIANCHINI.F.A.M, MAYORGA.L.E.S. P, CASTRO.A.A. P, JUNIOR.R.L.J “ **Estudo das alterações ante-morte da cavidade oral de mãos-peladas (Procyon cancrivorus) de vida livre e de cativeiro**” Pesq. Vet. Bras. 33(5),p- 651- 661. Maio 2013

BRAGA, C.A; RESENDE, C.M.F; PESTANA, A.C.N.R; CARMO, L.S; COSTA.J.E.; SILVA, L.A; ASSIS, L.N; LIMA.L. A; FARIA, L.M., CARVALHO, M.A.. R. **Isolamento e identificação da microbiota periodontal de cães da raça Pastor Alemão**. Ciência Rural, v 35, n 2, p. 385- 390, 2005.

BORGES, S.A.; DAHLKE, F.; LAURENTIZ, A.C. et al. **Impacto da formulação com conceito de proteína ideal em dietas com soja integral e ingredientes alternativos para frangos de corte**. Revista Brasileira de Ciência Avícola, v.5, p.28, 2003.

CLARKE.D. E; KELMAN M, PERKINS.N.” **Effectiveness of a Vegetable Dental Chew on Periodontal Disease Parameters in Toy Breed Dogs**” J.VET DENT, vol.28, n 4 , winter 2011.

CUBAS Z.S, SILVA J.C.R, CATÃO-DIAS J.L. “**Tratado de animais selvagens: Medicina Veterinária**”. 1ª Edição. São Paulo: Ed Roca, p - 523-677. Português, 2007.

COMELLI, E. M.; GUGGENHEIM, B.; STINGELE, F.; NESSER, J. R. **Selection of dairy bacterial strains as probiotics for oral health**. European Journal of Oral Sciences, v.110, p.218-224, 2002

ÇAGLAR, E.; KARGUL B.; TANBOGA I. **Bacteriotherapy and probiotics role on oral health**. Oral Diseases, v.11, p. 131-137, 2005.

DEBOWES, L.J.; MOSIER, D.; LOGAN, E.; HARVEY, C.E.; LOWRY, S.; RICHARDSON, D.C. **"Association of periodontal disease and histologic lesions in multiple organs from 45 dogs"**. Journal of Veterinary Dentistry, v.13, n.2, p.57-60, 1996.

ELBROCH, M. **Animal skulls: a guide to North American species**. 1st ed. Mechanicsburg: Stackpole Books, p. 726, 2006

DEEM, S.L. **Role of the zoo veterinarian in the conservation of captive and free-ranging wildlife**. International Zoo Yearbook, v 41, n1, p 3-11, 2007.

DOBSON. (2012). **Bacteriocin production: a probiotic trait?** Appl Environ Microbiol, 78 (1), p-1-6, 2012.

DUPONT, G. A.; DEBOWES, L. J. **Atlas of dental radiography in dogs and cats**. Saint Louis: Saunders, p-, 268, 2009.

ERKKILÄ, S.; PETÄJÄ, E.; EEROLA, S.; LILLEBERG, L.; MATTILA-SANDHOLM, T.; SUINKO, M. L. **Flavour profiles of dry sausages fermented by selected novel meat starter culture**. Meat Science, v.58, p.111-116, 2001.

EMILY, P.; PENMAN, S. **Handbook of small animal dentistry**. 2. ed. Oxford: Pergamon, 117p, 1994.

EVANS. E. H; LAHUNTA. A. **"The Digestive Apparatus and Abdomen"** in: Miller's Anatomy of the Dog, Ed. Elsevier, 4º ed, pg- 281 a 337, 2013.

FECCHIO R.S., GOMES M.S., ROSSI JUNIOR J.L. & GIOSO M.A. **"Oral diseases in captive capuchin monkeys. Exotic"** DVM: a practical resource for clinicians 10(2) p- 15-20, 2008.

FECCHIO R.S., ROSSI JUNIOR J.L., FERRO D.G. & GIOSO M.A. **"Medicina preventiva aplicada à odontologia veterinária em animais selvagens"**. Nosso Clínico n.12: p-44-52, 2009.

FOREEST, A. W. V. **Veterinary dentistry in zoo and wild animals**. In FOWLER, E. M. Zoo & Wild Animals Medicine. W. B. Saunders Company, Philadelphia, 1986.

FOUREAUX. C.R. **"Avaliação radiográfica, morfométrica e histométrica de terapia probiótica (Bacillus subtilis) em modelo de doença periodontal induzida em ratos"**

submetidos a estresse crônico por imobilização” em: Tese de mestrado de faculdade de Larvras, 2012.

GLATT, S.E; FRANCL, K.E; SCHEELS, J.L. **A survey of current dental problems and treatments of zoo animals**. International Zooyearbook, v.42, n1, p 206- 213, 2008.

GIOSO.A.M. **“Doença Periodontal ”** em Odontologia veterinária para o clínico de pequenos animais, segunda edição, Ed. Manolle, São Paulo, p- 07 – 24, 2007.

GOMES M.S. **Carnívora - Canidae (Lobo-guará, cachorro-do-mato, raposa do mato)**, p.492-504. In: Cubas Z.S., Silva J.C.R., Catão-Dias J.L. (Eds), Tratado de Animais Selvagens: medicina veterinária. Roca, São Paulo. p- 1376, 2006

GORREL. C. **“Doença Periodontal - Introdução”** em: Odontologia em pequenos animais, Ed. Elsevier, Rio De Janeiro, p -31 – 34,2010

HAUKIOJA, A. **Probiotics and Oral Health**. European Journal of Dentistry, v.4, p- 348-355, 2010.

HARVEY, C.E **“Anatomy of the Oral Cavity in the Dog and Cat”** in: Veterinary Dentistry, W.B. Saunders Company, Philadelphia, p- 289-308.1985

HARVEY, C.E; NIEVES, M.A **“ Perspectives on Veterinary Dental Care: Issues and Answers”** In: Small Animal Scope, v.11, n.1, p-. 5- 12. 1991.

HARVEY, C, E. **Peridontal disease in dogs: Etiopathogeneses, prevalence and significance**. Veterinary Clinics of North American: Small Animal Practice, v 28, n 5, p- 1111-1227, 1998.

HUTCHINS. M, SMITH. B, ALLARD. R. **“The ethical basis for keeping wild animals in captivity”**. Em: In defense of zoos and aquariums, p- 958-66, 2003

HENNET, P. **Effectiveness of dental gel to reduce plaque in beagle dogs**. Journal of Veterinary Dentistry, v 19, n1, p11-14, 2002.

HOLMSTROM. E. S, FITCH. F. P, EINSNER. R. E. **“Dental Records ”** in: **Veterinary Dental Techniques for Small Animal Practitioner**, 4º ed, Editora Moby, Filadelfia, pg 01a 35. 2007.

JINDAL, G. **Can early exposure to probiotics in children prevent dental caries? A current perspective.** J Oral Biol Craniofac Res, 2 (2), p-.110-5, 2012.

KANG,M.H; LIM.C.Y; PARK.H.M **Nasopharyngeal tooth foreing body in a dog.** Journal of veterinary dentistry , v 28, p 26 – 29 , 2011

KARPINSKI, T. e SZKARADKIEWICZ, A. **Microbiology of dental caries.** Journal of Biology and Earth Sciences, 03 (01), p -. 21-24, 2013.

KOWALESKY.J “**Anatomia Dental de Cães (Canis Familiaris) e Gatos (Felis Catus): Consideração cirúrgica**” em: Tese de pós-graduação da faculdade de medicina veterinária e zootecnia da Universidade de São Paulo, 2005.

LOPEZ, F.M “**Avaliação do Sistema Estomatognático e de Sincrânios de Lobo- guará (Chrysocyon Brachyurus) em vida livre e cativo**” em: Tese de pós-graduação da faculdade de medicina veterinária e zootecnia da Universidade de São Paulo, 2008.

MACDONALD.D.W E SILLERO-ZUBIRI , **canids: foxes , wolves, jackals and dogs: status survey and consevation action plan**, Oxford University Press, Oxford, pag 232 – 236, 2004.

MARCHETTI.E,TECCO.S,SANTONICO.M,VERNILE.C,CICIARELLI.D,TARANTINO.E,MARZO. G, MARSH, P. **D Dental plaque as a biofilm and a microbial community - implications for health and disease.** BMC Oral Health, 6 Suppl 1, p- 14, 2006.

MEURMAN JH, STAMATIVA I. “**Probiotics: contributionsto oral health.**” Oral Dis.Sep;13(5):p - 443-451. 3, 2007.

MILES .A.E.W ; GRIGSON.C “ **Colyer’s variation and disease of the teeth animals.** Cambridge: Cambridge university press, p.- 672, 2003.

MITCHELL, P. Q. **Small animal dentistry.** Woburn: Butterworth-Heinemann ,p.- 253, 2002.

NANCY. A.“ **Estruturas dos Tecidos Orais** ” Em: Ten Cate: Histologia Oral, ed: Elsevier, 8º edição, Rio de Janeiro, 2013.

NIEMIEC, B. A. **Small animal dental, oral and maxillofacial diseases**. London: Crc Press, p-288, 2010.

NADKERNY .V.P, RAVISHANKAR.L.P, PRAMOND .V, ABHAY.A BHANDARI.S “ **A comparative evaluation of the efficacy of probiotic and chlorhexidine mouthrinses on clinical inflammatory parameters of gigivitis: A randomized controlled clinical study**” , Em : Journal of indian society of periodontology., nov, dec 19(6), p -633 – 639, 2015.

OLIVEIRA, R. S.; CRUZ, R. M. S.; VIEIRA, M. C.; SILVA, C. L. M.; GASPAR, M. N. **Enterococcus faecalis and Psedomonas aeruginosa behavior in frozen water cress (Nasturtium officinale) submitted to temperature abuses**. International Journal of Refrigeration, v. 32, p. 472-477, 2009.

PACHALY, J. R. **Noções de Odonto-estomatologia aplicada aos animais selvagens**. Apostila da disciplina do curso ministrado no Zoológico de São Paulo, 05/1997.

PENNAZZA.G. “**Multi-sensor approach for the monitoring of Halitoses treatment via Lactobacillus Brevis – Containing lozenges- A randomized, double- blind placebo-controlled clinical trial**” em : sensors , www.mdpi.com/journal/sensors, p- 19583 – 19596, 2015.

POSSEMIERS, S.; MARZORATI, M.; VERSTRAETE, W.; VAN DE WIELE, T. Bacteria and chocolate: **A successful combination for probiotic delivery**. International Journal of Food Microbiology, v.141, p. 97–103, 2010.

RAMOS, A. S. **Bacteremia transitória e risco de endocardite em cães com doença periodontal em diferentes procedimentos odontológicos e usuais**, 2010. 81f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2010.

RIVIERA-ESPINOZA, Y.; GALLARDO-NAVARRO, Y. **Non-diary probiotic products**. Food Microbiology, v.27, p.1-11, 2010.

PILLEY; GORREL. C “Tooth Fracture”. In: **Veterinary Dentistry for the General Practitioner**, ed. Elsevier, 1º ed, p- 144 a 148, 2004.

PIERI. G. C. N; MANÇANARES. A. F. C; BERTASSOLI. B; LIMA. M. N. J; THOMAZ. M. J; CARVALHO. F. A. “ **Classificação Morfofuncional dos Dentes de Quati, Nasua nasua**” Em:

Pesquisa. Vet. Bras. 31(5), maio 2011, pg 447 a 451, disponível: <http://www.scielo.br/pdf/pvb/v31n5/v31n5a13.pdf>, acessado 15/04/2018 as 13:00.

REIS RN, PERACCHI AL, PEDRO WA, LIMA IP; **Mamíferos do Brasil**. Londrina, p- 244-245, 2006.

REDDGY J.J.; SAMPATHKUMAR. N ; ARADHYA.S. **“Probiotics in dentistry: review of the current status”** Rev. Clín. Pesq. Odontol., Curitiba, v. 6, n. 3, p. 261-267, set./dez. 2010.

RICCIA.D.N, BIZZINI.F, PERILLI.M.G, POLIMENI.A, TRINCHIERI.V, AMICOSANTE.G, CIFONE.M.G **“Anti-inflammatory effects os lactobacillus brevis on periodontal disease”** em : oral diseases , p- 376 – 385, 2007.

ROSSI JUNIOR. J.L. **“Avaliação do sistema estomatognático e de sincrânios de onça-pintada (Panthera onca) e puma (Puma concolor) capturados ou coletados em natureza”**. Tese de Doutorado em Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP, São Paulo, ,p- 132, 2007 .

ROZA, M. R. **Odontologia em pequenos animais**. Rio de Janeiro: LF livros, p- 361, 2004.

RUIZ-MIRANDA. C.R, GRATIVOL A.D, SABATINI. V, OLIVEITA C.R, FARIA G.V, MORAIS M.M. **“Etologia e conservação”** em: Del-Claro K, Prezoto F. As distintas faces do comportamento animal. Jundiaí: SBET – Sociedade Brasileira de Etologia & Livraria Conceito, p. 199-210, 2003.

SAHA, S. **Probiotics as oral health biotherapeutics**. Expert Opin Biol Ther, 12 (9), p-. 1207-20, 2012

SARAF K, SHASHIKANTH M.C, PRIV T, SULTANA N, CHAITANYA N.C. **“Probiotics do they have a role in medicine and dentistry”**J.Assoc PhysiciansIndia, Aug; 58:488-90, p- 95-96, 2010.

SANTOS. S. N; CARLOS. A. S. R; ALBUQUERQUE. R. G. **“ Doença periodontal em Cães e Gatos – Revisão De Literatura”** Em: Medvep - Revista científica de Medicina Veterinária - Pequenos Animais e Animais de estimação, p- 01 – 12, 2012

SANTIAGO M.E.B. & OLIVEIRA L.T.F. **Order Carnivora, Family Canidae (dogs, foxes, maned wolves)** Medicine, p.279-290. In: Fowler M.E. & Cubas Z.S. (Eds), Biology, Medicine, and Surgery of South American Wild Animal. Wiley, Iowa. p -550, 2001

SILATER GJ, THALMANN O.L, JENNIFER A, SCHWEIZER R.M, KOEPFLI K.P, POLLIGER J.P, RAWLENCE N.J, AUSTIN J.J, COOPER A, WAYNE R.K. **“Evolutionary history of the**

Falklands wolf. Current biology", 2009 p. 937-938. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2009.09.018>> . Acesso em 01 de fevereiro de 2017.

SILVA, C.B. X. et al. **Atropelamentos de lobos guarás *Chrysocyon brachyurus* nas rodovias dos Campos Gerais**, Palmeira – Ponta Grossa, Paraná. In: REUNIÃO ANUAL DA SBPN,8.,2000.

SUKKARWALLA, A. *et al.* **Efficacy of miswak on oral pathogens**. Dent Res J (Isfahan), 10 (3), p- 314-20, 2013

STAMATOVA, I. e MEURMAN, J. H. **Probiotics: health benefits in the mouth**. Am J Dent, 22 (6), p- 329-38, 2009

TUTT, C. **Small Animal Dentistry: a manual of techniques**. Oxford: Blackwell, p - 282, 2006.

TEUGHEL, W. *et al.* **Clinical and microbiological effects of *Lactobacillus reuteri* probiotics in the treatment of chronic periodontitis: a randomized placebo-controlled study**. J Clin Periodontol, 40 (11), p-. 1025-35, 2013.

VAN VALKENBURGH. B “ **Carnivore dental adaptations and diet: a study of trophic diversity within guide**”. New York: Cornell University Press, p 410 – 436, 1989.

VIEIRA, A. T., TEXEIRA, M. M. e MARTINS, F. S. **The role of probiotics and prebiotics in inducing gut immunity**. Front Immunol, 4, p-. 445, 2013

VISHNU, H.P. Probiotics and Oral Health. In: VIRDI, M. **Oral Health Care – Pediatric, Research, Epidemiology and Clinical Practices**. Prof. Mandeep Virdi (Ed.), p. 195-204, 2012

WIGGS, R.B; BLOOM, B.C “**Exotic placental carnivore dentistry**. The Veterinary Clinics of North America. Exotic Animal Practice, v 6, n 3, p 571- 599, 2003

WIGGS, R. B.; LOBPRISE, H. B. **Veterinary dentistry: principles and practice**. Philadelphia: Lippincott-Raven,p- 748, 1997.

Zinedine, A. e Faid, M. **Isolation and Characterization of Strains of *Bifidobacteria* with Probiotic Properties In vitro**. World Journal of Dairy & Food Sciences, 02 (01), pp. 28-34, 2007.

ARTIGO CIENTÍFICO

ARTIGO CIENTÍFICO

Artigo para ser submetido ao Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, cujas normas estão descritas no link: <http://www.scielo.br/revistas/abmvz/pinstruc.htm>

RESUMO

A doença periodontal ocorre pelo acúmulo de placa bacteriana sobre os dentes e estruturas adjacentes e esta é uma das principais afecções que acomete o cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) em cativeiro. Na odontologia veterinária, o probiótico é uma alternativa para animais selvagens de cativeiro, pois ele diminui o risco do tratamento cirúrgico, resistência a cepas bacterianas e efeitos colaterais da doença periodontal.

O objetivo deste estudo foi avaliar a ação dos probióticos das espécies *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus brevis* e *Bifidobacterium bifidum*. Foram avaliados 132 dentes de 6 cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*), provenientes do Centro de Medicina e Pesquisa em Animais Selvagens (CEMPAS) da UNESP, com doença periodontal grau I e II. Os animais foram separados aleatoriamente após 60 dias de tratamento periodontal entre o grupo positivo e grupo negativo (sem aditivo de probiótico na comida). A medição da área bacteriana e do cálculo dentário ocorreu através da análise das imagens digitais que foram comparadas entre o grupo positivo e o grupo negativo após 60 dias do tratamento periodontal. Os probióticos dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os grupos de estudo, mas foi possível observar forte tendência de aderência e atuação do probiótico no terceiro incisivo, canino e quarto pré-molar superior. Vale a pena ressaltar que esse estudo é o primeiro relato de caso desta natureza no qual utiliza de probiótico para prevenção da doença periodontal em animais.

Palavras-chaves: Canídeos selvagens, probiótico, odontologia veterinária, cachorro-do-mato.

ABSTRACT

Periodontal disease occurs by the accumulation of plaque on the teeth and adjacent structures and this is one of the main conditions that affect the captive crab-eating fox (*Cerdocyon thous*). In veterinary dentistry, the probiotic is an alternative for captive wildlife, as it decreases the risk of surgical treatment, resistance to bacterial strains and side effects of periodontal disease.

The aim of this study was to evaluate the action of probiotics of *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus brevis* and *Bifidobacterium bifidum* species. A total of 132 teeth of six crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) from the UNESP Center for Medicine and Wildlife Research (CEMPAS) with grade I and II periodontal disease were evaluated. The animals were randomly separated after 60 days of periodontal treatment between the positive and negative group (no probiotic additive in the food). Measurement of bacterial area and dental calculus occurred through the analysis of digital images that were compared between the positive and negative groups after 60 days of periodontal treatment. The probiotics of the genera *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* showed no statistically significant difference between the study groups, but it was possible to observe a strong tendency of adherence and performance of the probiotic in the third incisor, canine and fourth premolar. It is noteworthy that this study is the first case report of this nature in which it uses probiotics to prevent periodontal disease in animals.

Keywords: Wild canids, probiotic, veterinary dentistry, crab-eating fox.

INTRODUÇÃO

O cachorro-do-mato pertence a ordem *Carnivora* que são altamente diversificados, com peso variável e dietas que podem incluir insetos, frutas e até grandes herbívoros (BERTA, 1982; MAC DONALD e SILLERO-ZUBIRI, 2004). Com o aumento do crescimento das áreas agrícolas e das áreas urbanas, ocorreram mudanças na qualidade do ambiente dos canídeos selvagens, tais como a localização dos alimentos e água. Desta forma, esses animais procuram outros lugares para sobrevivência, onde necessitam atravessar malhas rodoviárias e correm o risco de serem atropelados, principalmente os animais jovens que estão à procura de um novo território (SILVA et al., 2000).

Segundo o Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), o cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) é classificado como vulnerável à extinção (CUBAS et al., 2007). O conhecimento da anatomia, fisiologia, comportamento, habitat e nutrição dos animais em cativeiros auxiliam nos melhores diagnósticos e aumentam inteiramente a longevidade e bem-estar desses animais (PACHAL, 2001 e GIOSO, 2007). Dentre as afecções encontradas nos canídeos de cativeiro, a cavidade oral merece destaque, pois a alimentação oferecida contém níveis adequados de nutrientes, mas não há uma diversidade de texturas necessárias para manter a saúde dos dentes e gengivas (JUNIOR, 2007). Em estudo de sínclinos de *Procyon cancrivorus*, realizado por Bianchini et. al. (2007), a afecção mais prevalente na cavidade oral é a doença periodontal com 85,39 %, tendo a maior incidência em animais procedentes de cativeiros, devido a alterações da dieta e hábitos alimentares que foram responsáveis por grande parte dessas lesões.

A doença periodontal é uma infecção multifatorial, tendo como o fator etiológico primário a placa bacteriana, que gera uma resposta inflamatória no periodonto de proteção e, posteriormente, no periodonto de sustentação (GORREL, 2010; WIGGS e LOBPRISE, 1997). A placa dentária é definida como um material viscoso e amarelado, que se forma sobre o esmalte do dente, constituído por bactérias. (WIGGS e LOBPRISE, 1997). As bactérias comumente encontradas na doença periodontal são as bactérias anaeróbias facultativas sem motilidade, principalmente os *Streptococcus sanguis* e *Actinomyces viscosus* (GIOSO, 2007). O tempo da placa bactéria para se instalar sob a superfície dentária demora cerca de 24 a 48 horas e só nesta forma organizada que causa lesão periodontal. O sulco gengival torna-se o ambiente ideal para a proliferação de bactérias anaeróbias e gram-negativas (EMILY e PENMAN, 1994), tais como as *Porphyromonas spp*, *Prevotella spp*, *Peptostreptococcus spp* e *Fusobacterium spp* (HARVEY, 1998). A doença periodontal quando não controlada inicialmente, acaba aumentando a resposta e agressão aos tecidos onde a resposta imunológica e inflamatória resultam em destruição do periodonto, ocasionando assim perda funcional e dentária (GIOSO, 2007).

A periodontite é uma manifestação tardia da doença periodontal (HARVEY, 1998), na qual a placa bacteriana se insere no sulco gengival e

desencadeia uma resposta imunológica na cavidade oral do animal que ocasiona a retração gengival (GIOSO, 2007). A retração gengival gera perda óssea, que provoca uma instabilidade e mobilidade dentária e, durante a mastigação, faz com que o dente seja empurrado contra o osso restante, concebendo a esfoliação do mesmo (HARVEY, 1998).

O termo probiótico designa-se a microrganismos vivos que, administrados em quantidades adequadas, promovem benefícios à saúde do hospedeiro (MEURMAN, 2007). O uso do probiótico na doença periodontal tem como objetivo promover o balanço ecológico mediante a exclusão competitiva de bactérias patogênicas, que exercem sua ação de múltiplos mecanismos como a fagocitose, inibição do crescimento bacteriano, modulação local da resposta imune, além de diminuir a resposta inflamatória e estimular a produção de imunoglobulinas (IgA) (FOUREAUX, 2012; MEURMAN, 2007). O biofilme derivado do mecanismo dos probióticos na cavidade oral preenchem os espaços onde acumulam bactérias patogênicas, diminuindo a gengivite, halitose e bactérias carcinogênicas, que acarretam a doença periodontal (ÇAGLAR et al., 2005; COMELLI et al., 2002, GRUDIANOV et al., 2002; KANG et al., 2006). O probiótico na doença periodontal tem a função de gerar e harmonizar o equilíbrio da microbiota oral. As bactérias benéficas utilizadas nos probióticos orais, são classificadas como bactérias ácido-láticas do gênero *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. Elas trazem efeitos benéficos nos dentes, reduzindo a desmineralização do esmalte dentário e impedindo o crescimento da microbiota prejudicial, pois essas bactérias irão modular a imunidade da cavidade oral (FOUREAUX, 2012). As bactérias benéficas do gênero *Lactobacillus* geram uma ação antagonista inibindo os agentes patogênicos periodontais como *Aggregatibacter*, *Actinomyces comitans*, *Prevotella intermedia* e *Porphyromonas gingivalis*, fazendo com que a produção de ácido láctico diminua o pH da cavidade oral liberando peróxido de hidrogênio gerando manutenção e equilíbrio da microbiota oral (KARPINSKI e SZKARADKEWICZ, 2013). O probiótico do gênero *Bifidobacterium* tem um efeito sinérgico com a contagem salivar e redução significativa de *S. mutans* na cavidade oral. Essa redução ocorre devido à inibição da aderência bacteriana e pelo efeito bactericida, com a atividade seletiva contra *Streptococcus mutans* (JINDAL et al., 2012)

O presente estudo visa colaborar com um método alternativo de prevenir a formação da placa bacteriana e gengivite com auxílio de microrganismo vivos, que quando ministrados em quantidades adequadas são benéficos a saúde.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) FMVZ/ UNESP sob o número de protocolo 0173/2017 e SISBIO número 60130.

Foram avaliados 132 dentes de 6 cachorros-do-mato *Cerdocyon thous*, mantidos em cativeiro, que apresentavam idades de 1, 6 a 3 anos, sendo 5 machos e 1 fêmea, pesando em média 6 quilos e com doença periodontal grau I e II de acordo com a classificação do *American Veterinary Dental College* (AVDC, 2015). Esses animais eram do Centro de Medicina e Pesquisa em Animais Selvagens (CEMPAS) da UNESP. Os indivíduos foram identificados por leitores eletrônicos de microchips, que estavam localizados na região cervical dorsal dos animais.

Os animais foram separados aleatoriamente em 2 grupos após a profilaxia dentária:

GRUPO POSITIVO (Tratado) - recebeu o probiótico em forma de pó por 60 dias

GRUPO NEGATIVO (Controle Negativo) – não recebeu o probiótico

O grupo positivo recebeu o probiótico pulverizado em pescoço de frango ou coração de galinha colocados em uma bandeja plástica, diariamente por 60 dias no período matutino e posteriormente os animais se alimentavam com frutas e ração comercial premium para cães em outro recipiente plástico. Já o grupo negativo recebia sua alimentação em um recipiente plástico no período matutino, mas sem adição de probióticos no pescoço de frango.

Os animais de ambos os grupos eram alimentados duas vezes ao dia, com o mesmo alimento para ambos os grupos e na mesma quantidade e no mesmo horário.

Probiótico

O probiótico foi preparado pelo laboratório de farmácia de manipulação. Artpharma na cidade de Jundiaí.

Foram produzidos 60 envelopes para cada animal do grupo tratado, onde foi oferecido por dois meses, ou seja, 60 dias direto, sem nenhum intervalo. Cada pacote tinha 1 bilhão (UFC) das espécies: *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus brevis* e *Bifidobacterium bifidum* em forma de pó com sabor de bacon.

Avaliação

Foi selecionado o cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*) que apresentou doença periodontal de Grau 1 a Grau 2. Na cavidade oral foi avaliado o terceiro incisivo, canino, 1, 2, 3 e 4 pré-molar da maxila e na mandíbula avaliou-se o canino, 2,3, 4 pré-molar e primeiro molar de acordo com Logan e Boyce (1994). Com auxílio de uma sonda periodontal as alterações foram registradas no odontograma. A profilaxia odontológica foi realizada no dia 0, diminuindo a quantidade de placa bacteriana na cavidade oral, assim comparando com mais riqueza os grupos positivo e negativo.

Após 60 dias do tratamento periodontal, os animais foram contidos novamente e os elementos dentários foram corados com eosina 2%, com auxílio de uma gaze na face vestibular da coroa dos elementos dentários maxilares e mandibulares, figura 1. De acordo com metodologia utilizada por Logan e Boyce (1994) modificada por Harvey (2002) e Hennessey et al., (2006) Veterinary Oral Health Council (VOHC, 2012).

Para analisar as fotografias digitais no computador, foi utilizado o programa gratuito PHOTOSHOP® ONLINE, que tratou as imagens digitais dos dentes maxilares e mandibulares direita e esquerda figura 2, obtendo somente uma cor para área de placa bacteriana ou cálculo dentário total, figura 3 . Já para obter as mensurações e tratar as imagens, utilizou-se o ImageJ®, figura 4 e 5. As porcentagens da placa bacteriana ou cálculo dentário na face vestibular dos dentes foram obtidas pelo programa Excel® (pacote office home®).



Figura 1 -Áreas coradas com solução de eosina aquasa a 2% nas faces vestibulares dos dentes da maxila e mandibula de um cachorro-do-mato(*Cerdocyon thous*), indivíduo(3), no dia 0

Fonte - Arquivo pessoal, 2018



Figura 2- Imagem da cavidade oral do lado esquerdo cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*), indivíduo (3) com imagem digital da face vestibular dos dentes da maxila e mandibula, tratada no photoshop online, após a coloração de preto das áreas totais dos dentes avaliados.

Fonte – Arquivo pessoal, 2018





Figura 3 – Imagem das áreas vestibulares da maxila e mandíbula acometidas por cálculo dentário no dia 0 do cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) indivíduo (3), imagem digital tratada no Photoshop® online após coloração de preto das áreas de placa bacteriana

Fonte- Arquivo pessoal, 2018.

Figura 4- Áreas coradas com solução de eosina aquosa 2% nas faces vestibulares dos dentes da maxila e mandíbula de um cachorro-do-mato(*Cerdocyon thous*), indivíduo (3), após 60 dias do tratamento periodontal e o uso do probiótico.

Fonte – Arquivo pessoal, 2018.



Figura 5 – Imagem das áreas vestibulares da maxila e mandíbula acometidas por cálculo dentário após 60 dias do tratamento periodontal e do uso do probiótico no cachorro do mato(*Cerdocyon thous*), indivíduo (3), imagem digital tratada no Photoshop Online®.

Fonte - Arquivo pessoal, 2018

Para realizar a análise, os dados referentes à porcentagem de placa antes do tratamento com o probiótico e após 60 dias de tratamento, para os grupos POSITIVO e NEGATIVO, foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk para averiguar se apresentavam ou não distribuição normal. Como os valores não seguiram essa premissa, foi realizado o teste de Wilcoxon para comparar as porcentagens entre os grupos POSITIVO e NEGATIVO.

Resultados

Entre as porcentagens

Em relação ao dia 0, não houve diferença estatística significativa entre os grupos de estudo ($W = 1834,5$, $p\text{-value} = 0,1963$). A figura abaixo representa os gráficos de boxplot para cada grupo no dia 0.

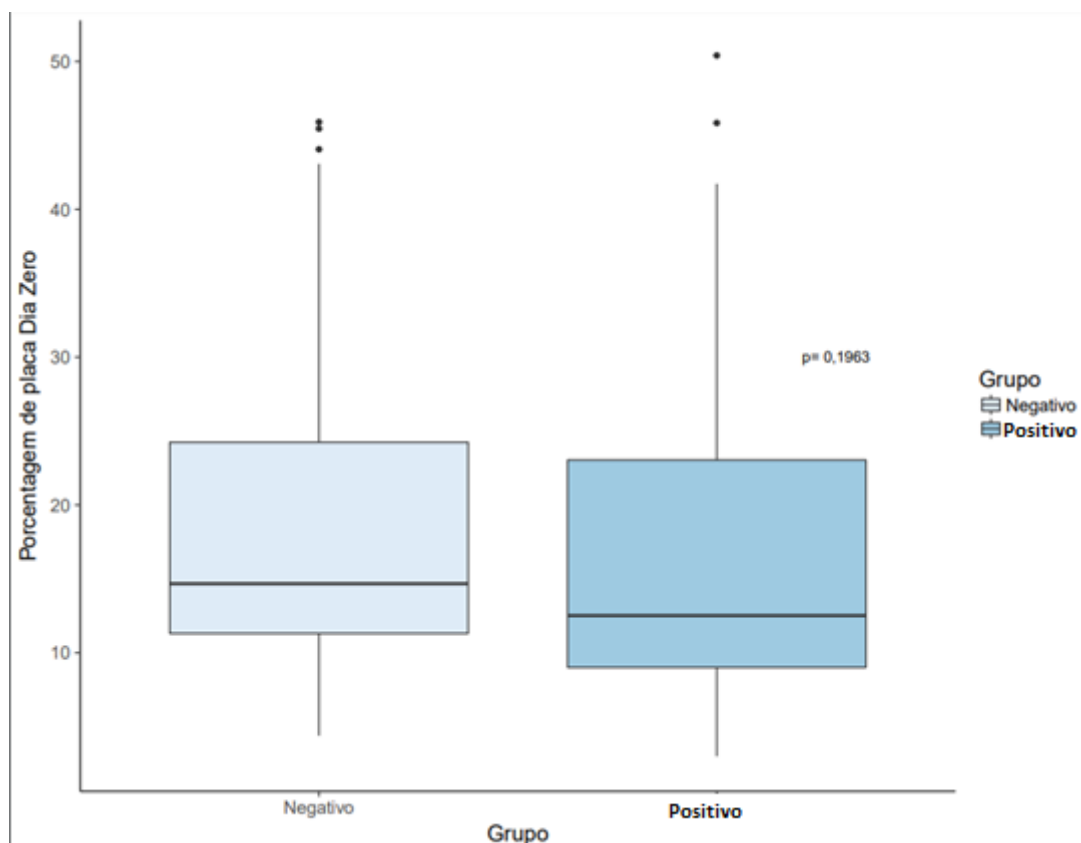


Gráfico 1- Porcentagem de placa bacteriana entre o grupo positivo e negativo no dia 0.

Em relação ao dia 60 pós-tratamento, não houve diferença significativa entre os grupos ($W = 1827$, $p\text{-value} = 0,1845$). A figura abaixo representa o gráfico de boxplot para os grupos 60 dias pós-tratamento.

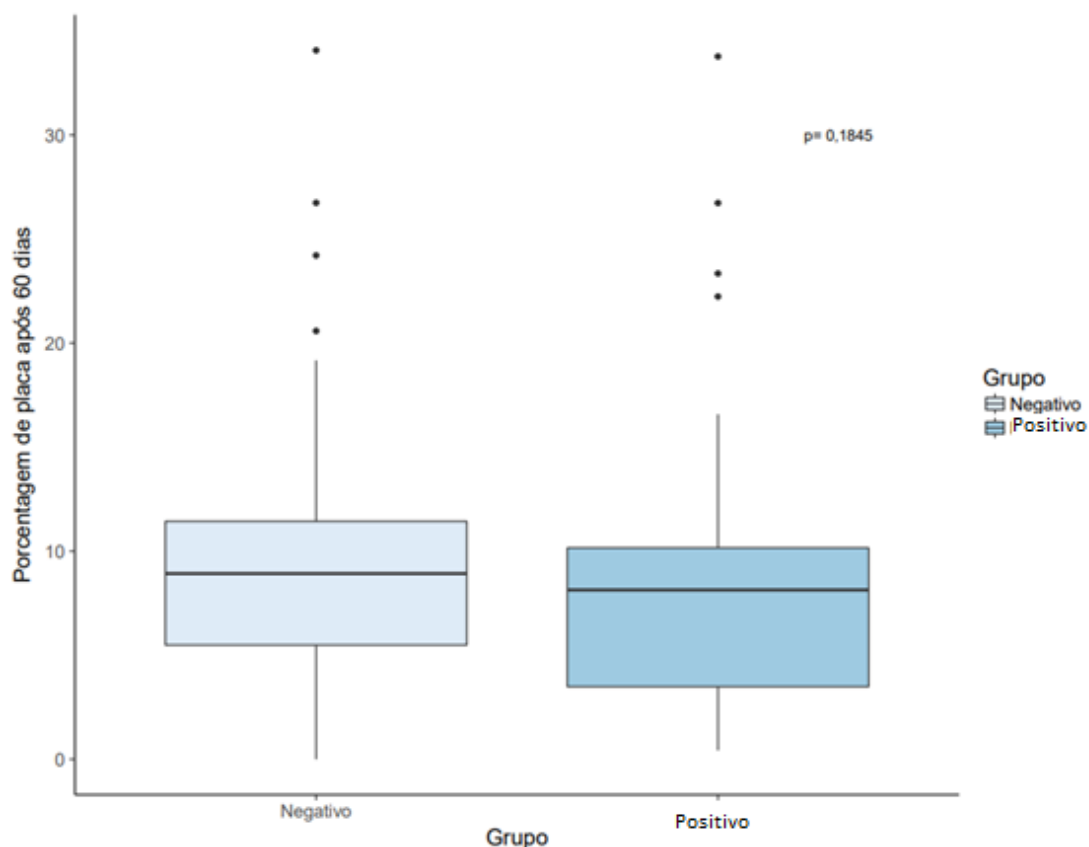


Gráfico 2 - Porcentagem de placa bacteriana entre o grupo positivo e negativo após 60 dias.

Entre as diferenças das porcentagens

A fim de se evitar qualquer viés de avaliação e para elucidar o efeito do tratamento na porcentagem de placa, os valores obtidos 60 dias pós-tratamento foram subtraídos dos valores obtidos no dia 0, obtendo assim uma porcentagem que corresponde de quantidade de placa foi formada em 60 dias para cada grupo estudado. Não houve diferença significativa entre os grupos em relação à diferença obtida entre os dois momentos de avaliação ($W = 2030,5$; $p\text{-value} = 0,7043$). A figura abaixo representa o gráfico de boxplot para a diferença entre os momentos de avaliação.

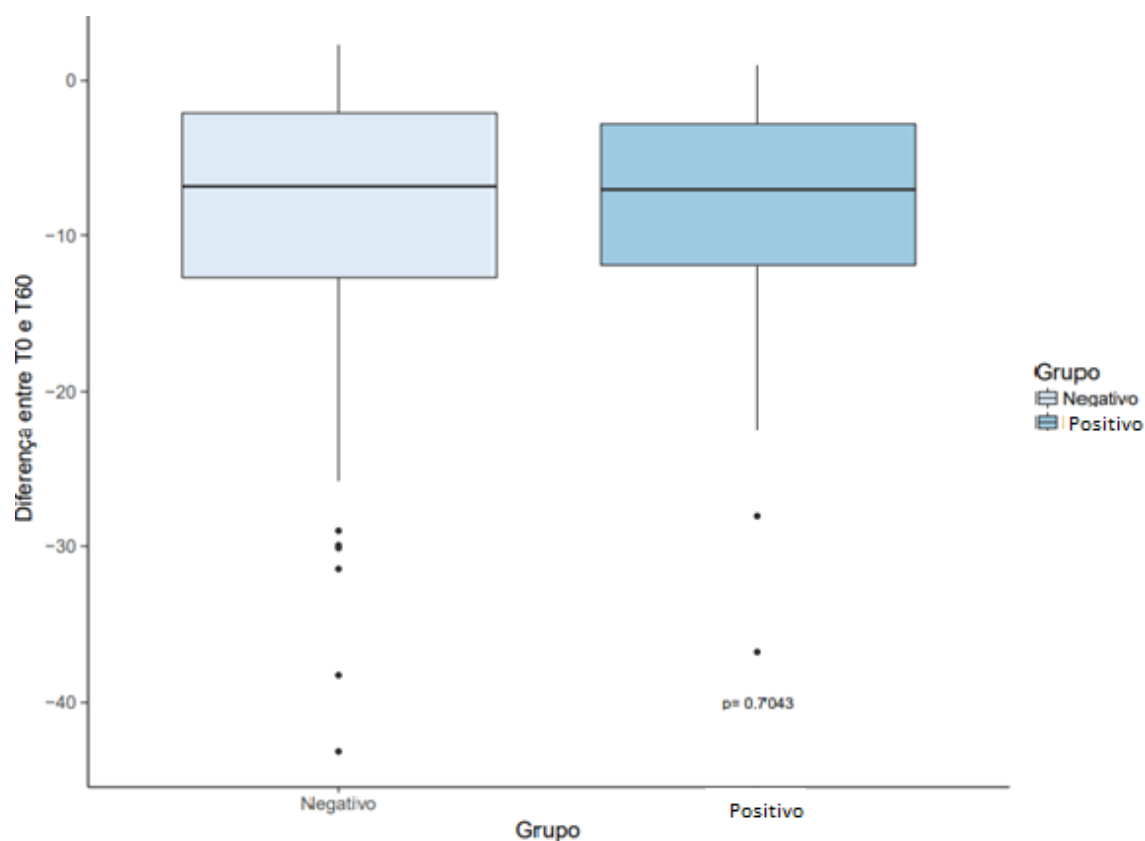


Gráfico 3 – Porcentagem da placa bacteriana formada em 60 dias.

Comparação entre os grupos dentários dentro do mesmo grupo

Foram realizadas comparações entre cada tipo de dente para cada grupo e entre grupos para os mesmos tipos dentários. Para a escolha do teste, os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e ao teste de Bartlett, para averiguar a variância entre os grupos. Foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis, para comparar os dentes superiores do grupo POSITIVO; e o teste de ANOVA para uma via, para comparar os dentes inferiores do grupo POSITIVO; e dentes superiores e inferiores do grupo NEGATIVO.

Grupo POSITIVO

Houve diferença estatística em relação aos dentes maxilares do grupo POSITIVO (Kruskal-Wallis chi-squared = 24,757; df = 5; p-value = 0,0001552), entre os dentes 1º pré-molar superior e 4º pré-molar superior ($p = 0,0189068250$); 3º incisivo superior e 4º pré-molar superior (0,0009836494); 1º pré-molar superior e canino superior (0,0486793314); e 3º incisivo superior e canino superior

(0,0030627001). O gráfico abaixo representa os boxplots para cada dente maxilar para o grupo POSITIVO.

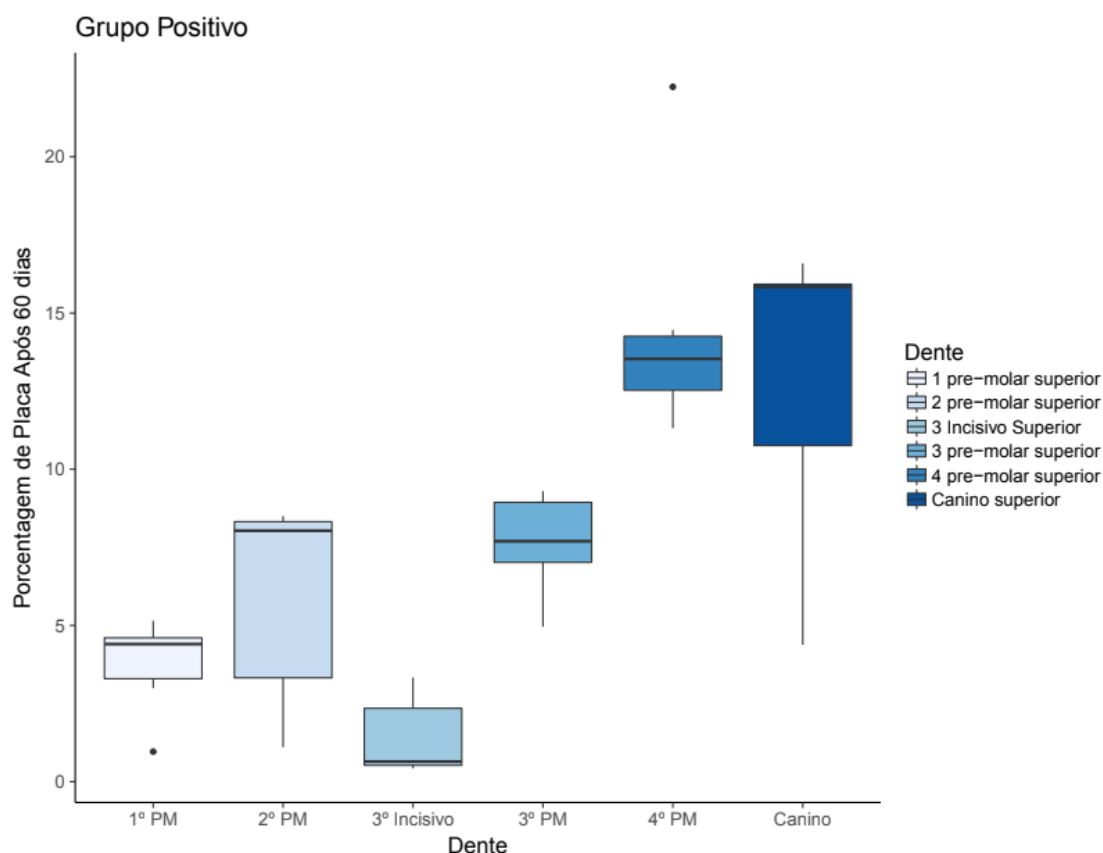


Gráfico 4 - Comparação entre os dentes da maxila do grupo positivo.

Houve diferença estatística em relação aos dentes mandibulares do grupo POSITIVO (ANOVA; $df = 4$; $F\text{-value} = 7,165$; $p\text{-value} = 0,000548$), entre os dentes 2º pré-molar inferior e 1º molar ($p = 0,0005201$); 3º pré-molar inferior e 1º molar ($0,0064422$); 4º pré-molar inferior e 1º molar ($0,0258584$); e canino inferior e 1º molar ($0,0022905$). O gráfico a seguir representa os boxplots para cada dente mandibular para o grupo POSITIVO.

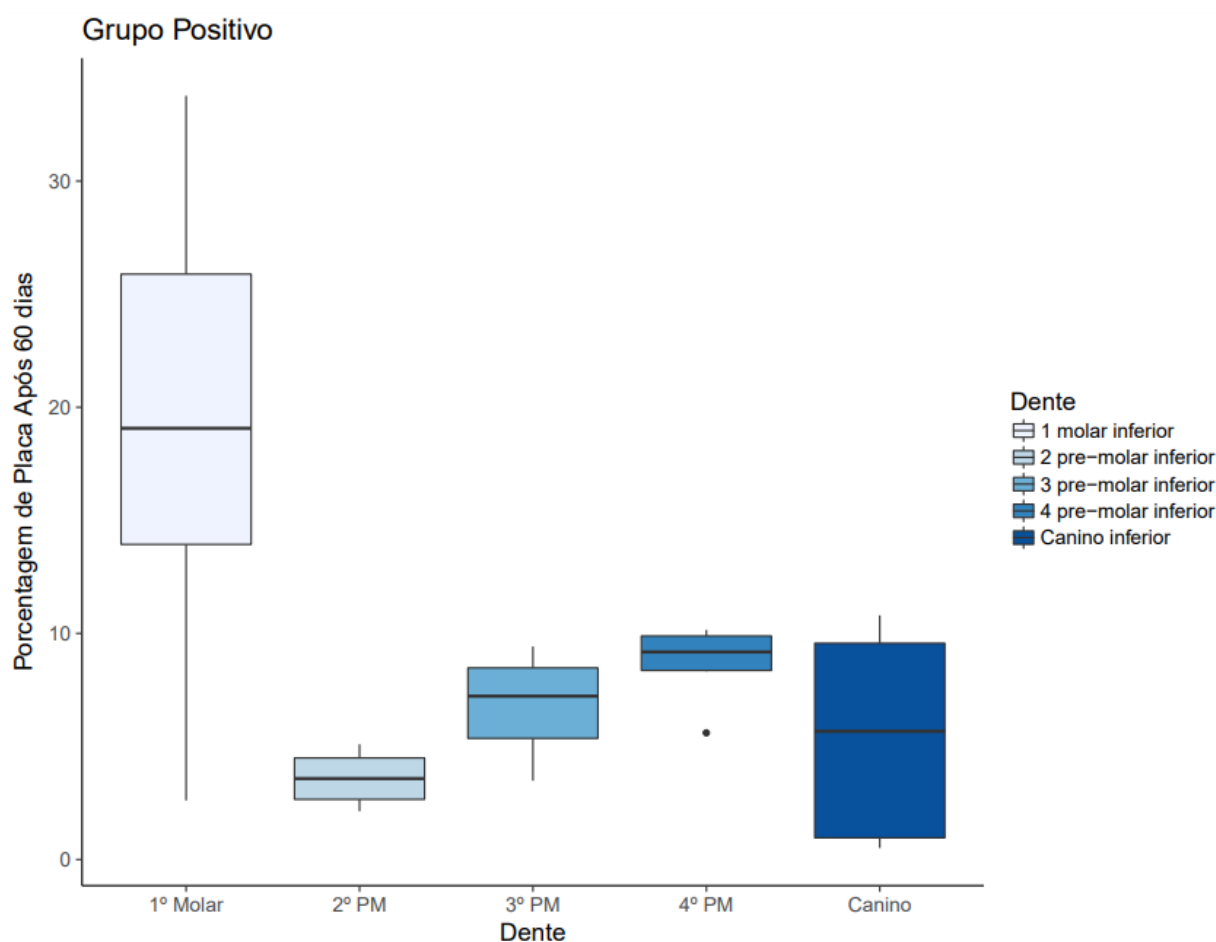


Gráfico 5- Comparação entre os dentes da mandíbula do grupo positivo.

Grupo NEGATIVO

Houve diferença estatística em relação aos dentes maxilares do grupo NEGATIVO (ANOVA; $df = 5$; F-value = 7,994; p-value = 0,00000693), entre os dentes 3º incisivo superior e 4º pré-molar superior ($p = 0,008335008$). O gráfico a seguir representa os boxplots para cada dente maxilar para o grupo NEGATIVO.

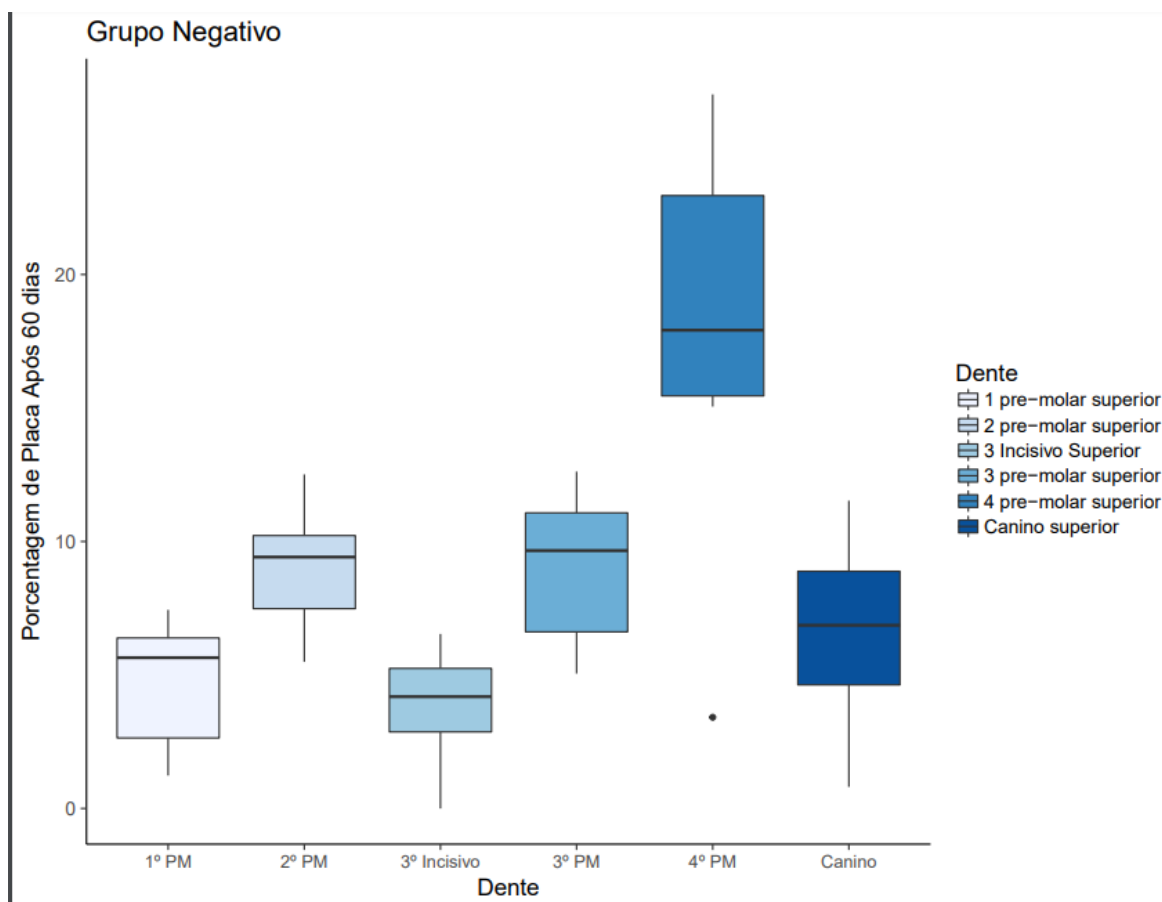


Gráfico 6 - Comparação entre os dentes da maxila do grupo negativo.

Houve diferença estatística em relação aos dentes mandibulares do grupo NEGATIVO (ANOVA; $df = 4$; $F\text{-value} = 3,878$; $p\text{-value} = 0,0144$), entre os dentes 2º pré-molar inferior e 1º molar ($p = 0,0482191$); 3º pré-molar inferior e 1º molar ($0,0411208$); e canino inferior e 1º molar ($0,0167200$). O gráfico a seguir representa os boxplots para cada dente mandibular para o grupo NEGATIVO.

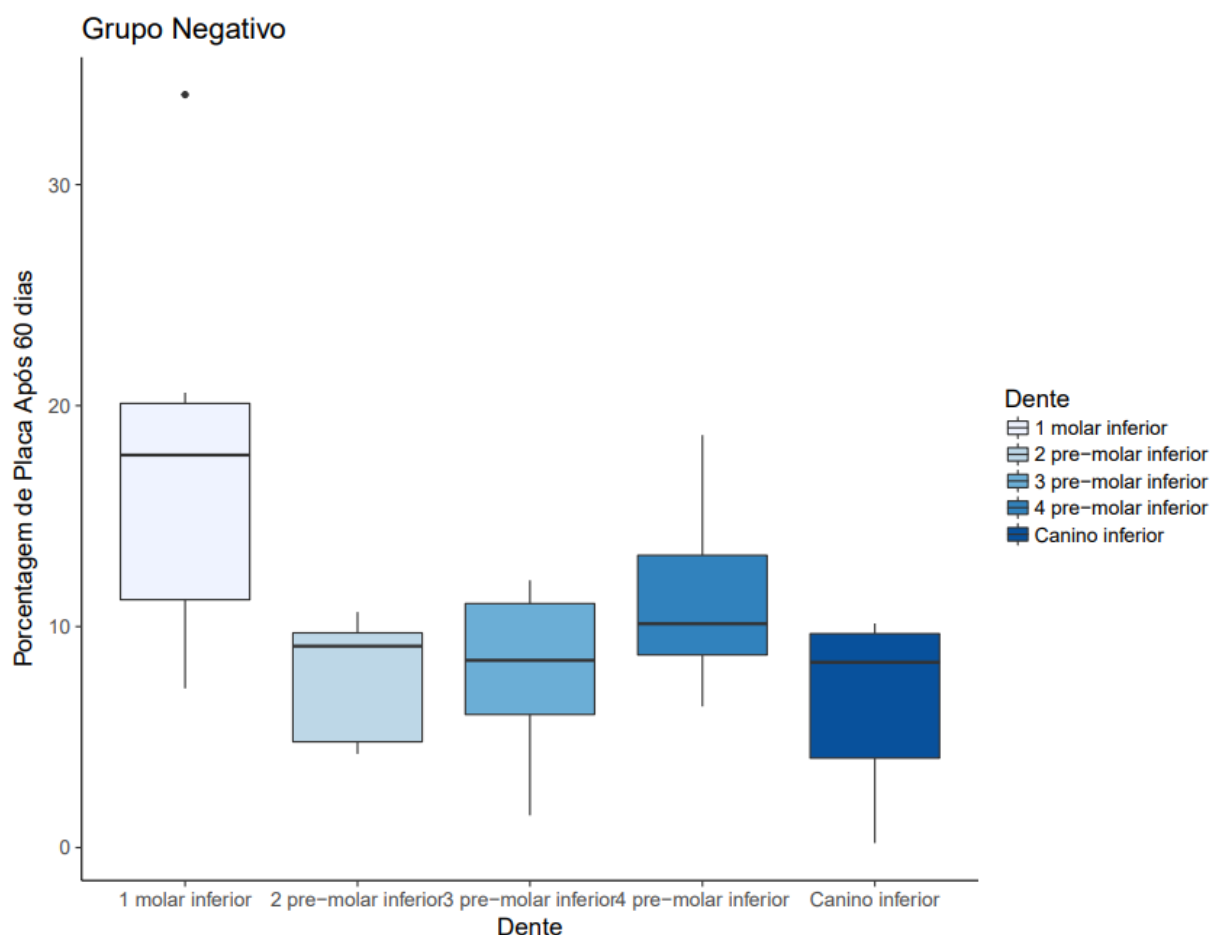


Gráfico 7 - Comparação entre os dentes da mandíbula do grupo positivo.

Comparação entre os grupos em relação ao grupo dentário

Foi utilizado o teste de Wilcoxon para as comparações entre os grupos em relação aos dentes canino superior e 2º pré-molar superior; e o teste T de Student em relação aos demais grupos dentários.

Em relação aos grupos dentários maxilares, não houve diferença significativa entre os grupos para os dentes 3º Incisivo superior ($t = -2,1208$, $df = 8,0894$, $p\text{-value} = 0,06636$); Canino superior ($W = 30$, $p\text{-value} = 0,06494$); 1º pré-molar superior ($t = -0,76947$, $df = 8,1298$, $p\text{-value} = 0,4634$); 2º pré-molar superior ($W = 8$, $p\text{-value} = 0,132$); 3º pré-molar superior ($t = -0,98439$, $df = 7,6437$, $p\text{-value} = 0,3551$).

O gráfico a seguir representa as comparações entre os grupos em relação ao grupo dentário maxilar.

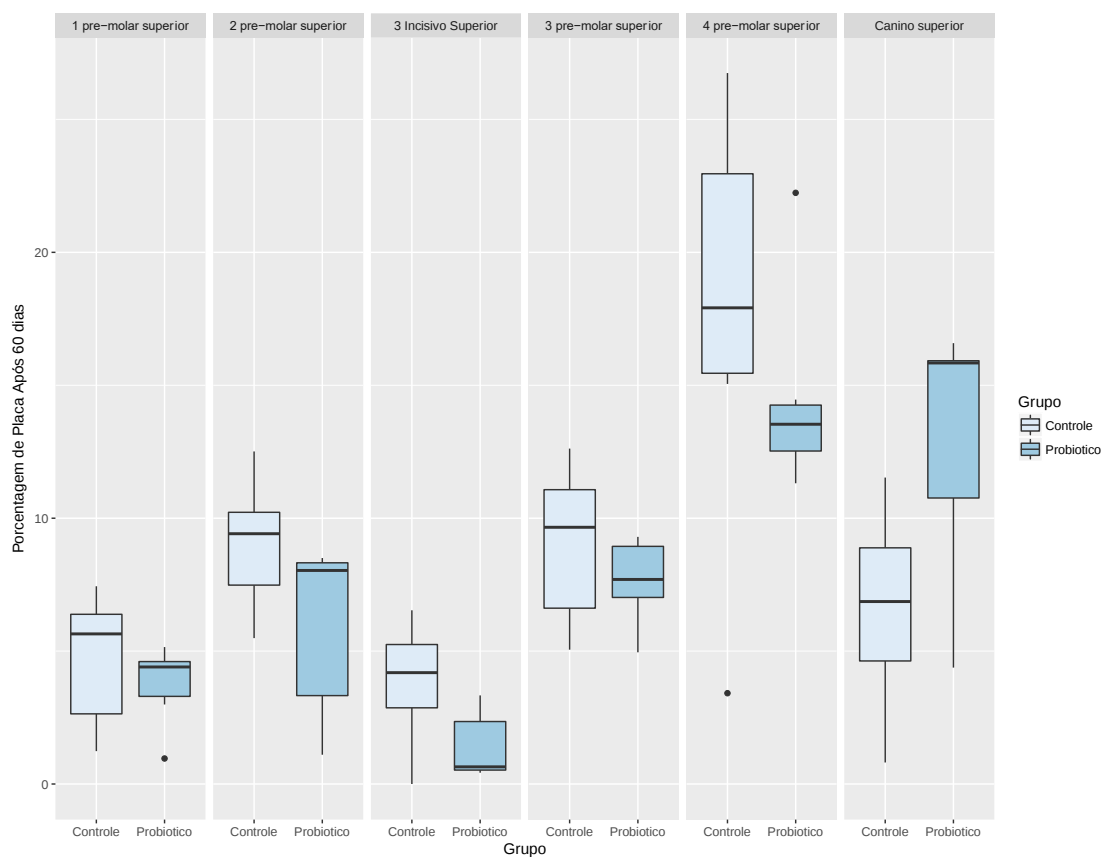


Gráfico 8 - Comparação entre os dentes da maxila do grupo positivo e negativo.

Em relação aos grupos dentários mandibulares, não houve diferença significativa entre os grupos para os dentes caninos inferiores ($t = -0,44043$, $df = 9,7333$, $p\text{-value} = 0,6692$); 3º pré-molares inferiores ($t = -0,58193$, $df = 7,9795$, $p\text{-value} = 0,5767$); 4º pré-molar inferior ($t = -1,3353$, $df = 6,4744$, $p\text{-value} = 0,2268$); e 1º molar inferior ($t = 0,22896$, $df = 9,798$, $p\text{-value} = 0,8236$). Houve diferença estatística para os dentes 2º pré-molares inferiores ($t = -2,9022$, $df = 5,1006$, $p\text{-value} = 0,03292$).

O gráfico a seguir representa as comparações entre os grupos em relação ao grupo dentário mandibular.

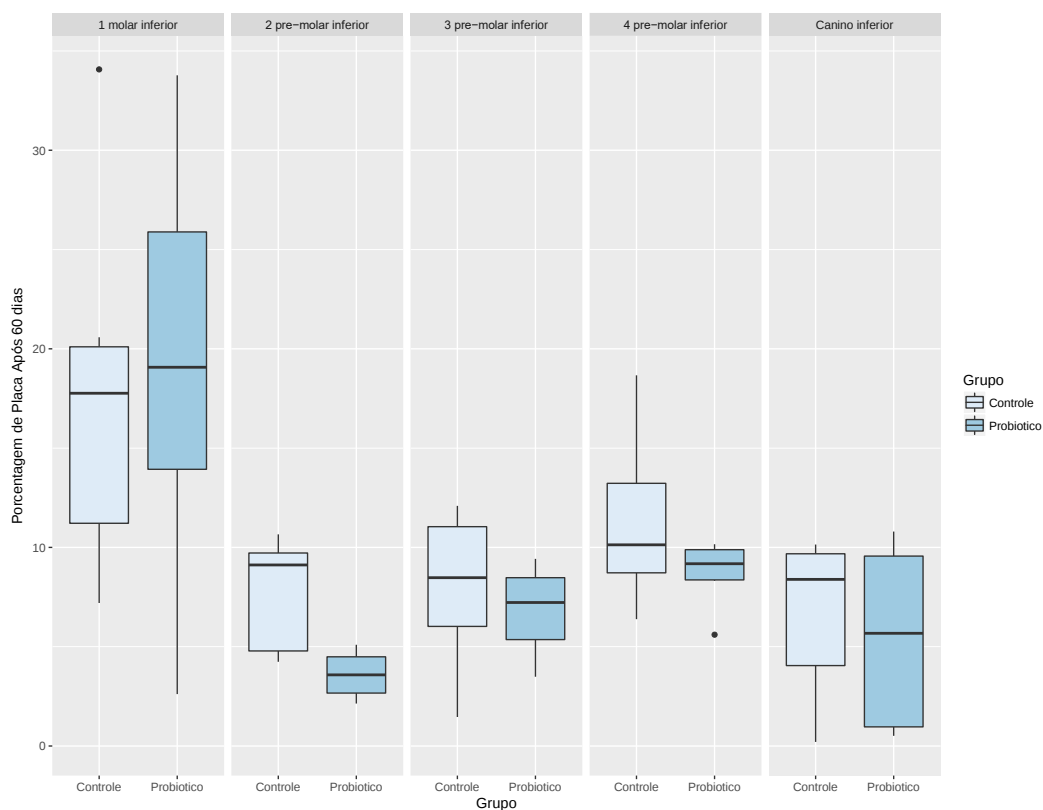


Gráfico 9 - Comparação entre os dentes da mandíbula do grupo positivo e negativo.

O grau de significância estabelecido para os testes estatísticos foi de 5% ($p < 0,05$). Os testes estatísticos foram realizados em programa de computador (RStudio, Version 0.99.903 – © 2009-2016 R Studio, Inc.).

Apesar de não haver diferença estatística significativa entre os grupos de estudo, podemos observar que existe uma tendência de acúmulo de placa nos dentes canino e 4º pré-molar maxilares e 1º molar mandibular em relação aos demais dentes. Ao compararmos os mesmos dentes entre os diferentes grupos de avaliação, podemos observar uma forte tendência da atuação do probiótico nos dentes 3º incisivo, canino maxilares, apesar de não haver diferença significativa entre eles; e uma atuação evidente em 2º pré-molar mandibular e principalmente em 4º pré-molar maxilar.

Discussão

O cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*), foi escolhido devido a grande similaridade morfológica craniana e dentária dos canídeos domésticos com canídeos selvagens (ELBROCH, 2006; REIS et. al., 2006). A principal função dos

dentes em ambas as espécies é dar início ao processo da alimentação, junto com os fluidos salivares, gerando a digestão (HARVEY, 1985).

A doença periodontal tem como fator etiológico primário a placa bacteriana que é um biofilme com coloração amarelada sobre a superfície dentária que gera uma resposta inflamatória no periodonto (GORREL 2010; WIGGS e LOBPRISE, 1997; DUPONT, 1997 e CLARCKE, 2011). Os cachorros-do-mato (*Cerdocyon thous*) do atual estudo, apresentaram 100 % de doença periodontal, devido a presença de placa bacteriana que variou entre o primeiro e segundo estágio conforme cita o AVDC (2012).

Nos estudos de Meurman (2007) e Foureaux (2012), foi demonstrado que o uso do probiótico nas afecções orais proporciona o balanço ecológico da cavidade oral, mediante a exclusão competitiva de bactérias patógenas, inibição do crescimento bacteriano, modulação da resposta imunológica e produção de imunoglobulinas IgA. Neste estudo o foi avaliado o sinergismo das cepas *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus brevis* e *Bifidobacterium bifidum*, em formato de pó ministrada para os cachorros-do-mato. O resultado entre o grupo positivo e negativo após 60 dias do tratamento periodontal, mostrou que não houve uma diferença estatisticamente significativa. Supõe-se que alguns fatores podem ter contribuído para esse resultado. O primeiro fator e o número de animal avaliado nesse estudo, pode ter comprometido o resultado. O outro fator seria a forma que o probiótico foi administrado, por ser tratar de um animal selvagem de cativeiro, não foi possível aplicar o probiótico diretamente na cavidade oral desses animais, diferente do estudo realizado em ratos de laboratório (RICCIA, 2007).

No presente trabalho, observou-se que primeiro molar inferior e o quarto pré-molar superior, tiveram uma maior tendência no acúmulo de placa bacteriana, isso está relacionado à morfologia dentária e as saídas dos ductos salivares. Kowalesky (2005), descreve que o quarto pré-molar superior apresenta mais acúmulo de placa bacteriana em sua fossula da face vestibular e o canino apresenta mais acúmulo de placa bacteriana no terço cervical do dente. Como ação anti-cálculo o probiótico utilizado neste estudo teve tendência de ação promissora no 3º incisivo, canino e no quarto pré-molar da maxila e no 2º pré-molar da mandibula. Os autores Gioso (2007), Holmstrom (1997), Wiggs e Bloom (2003), citaram que dentes como caninos, com cúspides cortantes,

rasgam e perfuram o alimento e os pré-molares cortam e seguram os alimentos. Supõe-se que o acúmulo do probiótico nos dentes citados acima, ocorreu pelo fato de maior contato com o alimento durante a mastigação. No presente estudo, mesmo não tendo um resultado significativo pela estatística, foi possível verificar na inspeção direta, uma diferença na diminuição na quantidade do acúmulo de cálculo nos animais que utilizaram probiótico por 60 dias.

Niemiec, 2008, Gioso, 2007, Harvey & Emily, 1993, Holmstrom, 2005, diversos estudos procuram agentes quimioterápicos ou naturais que irão prevenir ou retardar o crescimento da placa bacterina na superfície dentária (Fouraux, 2012, Fouraux, 2012, Reddgy, 2010, Riccia, 2007, Saha, 2012; Teughels, 2013;). Neste estudo, o probiótico foi desenvolvido para o retardamento do crescimento da placa bacteriana e gengivite, desta forma, probiótico compete com a placa bacteriana criando um biofilme de microrganismo vivo que disputa a sua aderência com as bactérias da cavidade oral.

Como sugestão para estudos futuros para microrganismos vivos (probióticos) na cavidade oral de animais, indica-se uma avaliação com mais detalhes para compreender o mecanismo do probiótico e o sinergismo das cepas utilizadas neste trabalho, assim podendo gerar uma padronização e controle de qualidade do produto.

Vale a pena ressaltar que a utilização de probiótico dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* para prevenção da placa bacterina e gengivite na cavidade oral de canídeos selvagens em cativeiro é o primeiro relato desta natureza, sendo assim, sugere-se que essa atividade deve ser mais explorada com a finalidade de trazer mais benefícios sócio econômicos com a redução da formação de placa e cálculo dentários em canídeos selvagens de cativeiro, diminuindo a incidência de doença periodontal nessas espécies.

Conclusão

Conclui-se que foi possível a utilização dos probióticos dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifobacteriu* na cavidade oral dos cachorros-do-mato (*Cercopithecus*), obtendo resultado estaticamente significativo perante esse estudodemonstrando fortes indícios de aderência do probiótico na cavidade oral. Nesse estudo os animais utilizados não foram prejudicados, pois a quantidade de de probiótico utilizado foi ideal para cada indivíduo.

São necessários mais estudos para poder avaliar a longo prazo a utilização do probiótico como coadjuvante para prevenção da placa bacteriana e gengivite do cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) mantido em cativeiro promovendo uma qualidade de vida para esses animais.

REFERÊNCIAS

BERTA, A. “ **Cerdocyon Thous**” in: Mammalian Species, 1982, pag 1-4 .BORGES, F.M; SALGARELLO, R.M; GURIAN, T.M “ **Recentes Avanços na nutrição de cães e gatos**” In: III Simpósio de nutrição de animais de estimação - Colégio Brasileiro de Alimentação animal, p. 21 – 60 ano 2003.

BIANCHINI, F.A.M, MAYORGA, L.E.S. P, CASTRO, A.A. P, JUNIOR, R.L.J “ **Estudo das alterações ante-morte da cavidade oral de mãos-peladas (*Procyon cancrivorus*) de vida livre e de cativeiro**” Pesq. Vet. Bras. 33(5), p- 651- 661. Maio 2013

CUBAS Z.S, SILVA J.C.R, CATÃO-DIAS J.L. “**Tratado de animais selvagens: Medicina Veterinária**”. 1ª Edição. São Paulo: Ed Roca, p - 523-677. Português, 2007.

COMELLI, E. M.; GUGGENHEIM, B.; STINGELE, F.; NESSER, J. R. **Selection of dairy bacterial strains as probiotics for oral health**. European Journal of Oral Sciences, v.110, p.218-224, 2002

ÇAGLAR, E.; KARGUL B.; TANBOGA I. **Bacteriotherapy and probiotics role on oral health**. Oral Diseases, v.11, p. 131-137, 2005.

EMILY, P.; PENMAN, S. **Handbook of small animal dentistry**. 2. ed. Oxford: Pergamon, 117p, 1994.

ELBROCH, M. **Animal skulls: a guide to North American species**. 1st ed. Mechanicsburg: Stackpole Books, p. 726, 2006

FOUREAUX. C.R “ **Avaliação radiográfica, morfométrica e histométrica de terapia probiótica (*Bacillus subtilis*) em modelo de doença periodontal induzida em ratos submetidos a estresse crônico por imobilização**” em: Tese de mestrado de faculdade de Larvas, 2012.

GLATT, S.E; FRANCL, K.E; SCHEELS, J.L. **A survey of current dental problems and treatments of zoo animals**. International Zooyearbook, v.42, n1, p 206- 213, 2008.

GIOSO.A.M. **“Doença Periodontal ”** em Odontologia veterinária para o clínico de pequenos animais, segunda edição, Ed. Manolle, São Paulo, p- 07 – 24, 2007.

GORREL. C. **“Doença Periodontal - Introdução”** em: Odontologia em pequenos animais, Ed. Elsevier, Rio De Janeiro, p -31 – 34,2010

HARVEY, C, E. **Peridontal disease in dogs: Etiopathogeneses, prevalence and significance.** Veterinary Clinics of North American: Small Animal Practice, v 28, n 5, p- 1111-1227, 1998.

JINDAL, G. **Can early exposure to probiotics in children prevent dental caries? A current perspective.** J Oral Biol Craniofac Res, 2 (2), p-.110-5, 2012.

JUNIOR. J.L. **“Avaliação do sistema estomatognático e de sínclônios de onça-pintada (Panthera onca) e puma (Puma concolor) capturados ou coletados em natureza”.** Tese de Doutorado em Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP, São Paulo, ,p- 132, 2007 .

KANG,M.H; LIM.C.Y; PARK.H.M **Nasopharyngeal tooth foreign body in a dog.** Journal of veterinary dentistry , v 28, p 26 – 29 , 2011

KARPINSKI, T. e SZKARADKIEWICZ, A. **Microbiology of dental caries.** Journal of Biology and Earth Sciences, 03 (01), p -. 21-24, 2013.

MACDONALD.D.W E SILLERO-ZUBIRI , **canids: foxes , wolves, jackals and dogs: status survey and consevation action plan**, Oxford University Press, Oxford, pag 232 – 236, 2004.

MEURMAN JH, STAMATIVA I. **“Probiotics: contributionsto oral health.”** Oral Dis.Sep;13(5):p - 443-451. 3, 2007.

PACHALY, J. R. **Noções de Odonto-estomatologia aplicada aos animais selvagens.** Apostila da disciplina do curso ministrado no Zoológico de São Paulo, 05/1997.

SILVA, C.B. X. et al. **Atropelamentos de lobos guarás Chrysocyon brachyurus nas rodovias dos Campos Gerais,** Palmeira – Ponta Grossa, Paraná. In: REUNIÃO ANUAL DA SBPN,8.,2000.

WIGGS, R. B.; LOBPRISE, H. B. **Veterinary dentistry: principles and practice**. Philadelphia: Lippincott-Raven, p- 748, 1997.