SAMIRA LESSA ABDALLA

Eficácia *in vivo* do sumo de
Kalanchoe gastonis-bonnieri no controle do
biofilme bacteriano e cálculo dentário de cães

São Paulo
2012

SAMIRA LESSA ABDALLA

**Eficácia *in vivo* do sumo de
Kalanchoe gastonis-bonnieri no controle do
biofilme bacteriano e cálculo dentário de cães**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Departamento:

Cirurgia

Área de concentração:

Clínica Cirúrgica Veterinária

Orientador:

Prof. Dr. Marco Antônio Gioso

**São Paulo
2012**

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade de São Paulo)

T.2664
FMVZ

Abdalla, Samira Lessa

Eficácia *in vivo* do sumo de *Kalanchoe gastonis-bonniieri* no controle do biofilme bacteriano e cálculo dentário de cães / Samira Lessa Abdalla. -- 2012.

138 f., il.

Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia, São Paulo, 2012.

Programa de Pós-Graduação: Clínica Cirúrgica Veterinária.
Área de concentração: Clínica Cirúrgica Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Marco Antônio Gioso.

1. Placa bacteriana. 2. Ação anticálcico. 3. Ação antiplaca. I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão de Ética para uso de animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado “Eficácia *in vivo* do sumo de *kalanchoe gastonis-bonnieri* no controle do biofilme bacteriano e cálculo dental de cães”, protocolado sob o nº 1782/2009, utilizando 34 (trinta e quatro) cães, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Marco Antonio Gioso, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da “Comissão de Ética para uso de animais” da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 25/11/2009.

We certify that the Research “*In vivo* efficacy of *Kalanchoe gastonis-bonnieri* juice in the control of bacterial biofilms and dental calculus in dogs”, protocol number 1782/2009, utilizing 34 (thirty for) dogs, under the responsibility Prof. Dr. Marco Antonio Gioso, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by “Ethics Committee for animal use” of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo was approved in the meeting of day 11/25/2009.

São Paulo, 25 de outubro de 2012.

Denise Tabacchi Fantoni
Presidente

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: ABDALLA, Samira Lessa

Título: Eficácia *in vivo* do sumo de *Kalanchoe gastonis-bonnieri* no controle do biofilme bacteriano e cálculo dentário de cães

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Dedicatória

Aos meus pais!

De vocês que recebi o dom mais precioso do universo: a vida.
Inspiraram-me a certeza de tua presença e a segurança de teus
passos guiando os meus. Muito obrigada pelo reconhecimento do
meu esforço e compreensão em todos os momentos difíceis. Se eu
pudesse lhes fazer eternos... Eu os faria. A vocês, Nassim João
Henriques Abdalla e Sônia Lessa, não mais que com justiça,
dedico esta vitória!!

Aos animais!

A todos os cães que participaram deste experimento, meu
profundo agradecimento.
Ao meu querido Ralphinho, amor da minha vida, que me ajudou a
escolher a minha profissão, que esteve ao meu lado por 14 anos e
um mês, te amo pra sempre, espero que esteja bem, um dia te
encontro de novo, meu filho!

Agradecimentos

À vida!
O Menestrel

Depois de algum tempo você aprende a diferença, a sutil diferença entre dar a mão e acorrentar uma alma. E você aprende que amar não significa apoiar-se. E que companhia nem sempre significa segurança. Começa a aprender que beijos não são contratos e que presentes não são promessas.

Aprende que verdadeiras amizades continuam a crescer mesmo a longas distâncias. E o que importa não é o que você tem na vida, mas quem você tem na vida. E que bons amigos são a família que nos permitiram escolher. Percebe que seu melhor amigo e você podem fazer qualquer coisa, ou nada, e terem bons momentos juntos.

Descobre que as pessoas com quem você mais se importa na vida são tomadas de você muito depressa... por isso sempre devemos deixar as pessoas que amamos com palavras amorosas; pode ser a última vez que as vejamos.

Aprende que as circunstâncias e os ambientes têm influência sobre nós, mas nós somos responsáveis por nós mesmos. Começa a aprender que não se deve comparar com os outros, mas com o melhor que pode ser.

Descobre que se leva muito tempo para se tornar a pessoa que quer ser, e que o tempo é curto.

Aprende que paciência requer muita prática.

Aprende que há mais dos seus pais em você do que você supunha.

Aprende que nem sempre é suficiente ser perdoado por alguém... Algumas vezes você tem de aprender a perdoar a si mesmo.

Aprende que o tempo não é algo que possa voltar. Portanto, plante seu jardim e decore sua alma, em vez de esperar que alguém lhe traga flores.

E você aprende que realmente pode suportar... que realmente é forte, e que pode ir muito mais longe depois de pensar que não se pode mais. E que realmente a vida tem valor e que você tem valor diante da vida! Nossas dúvidas são traidoras e nos fazem perder o bem que poderíamos conquistar se não fosse o medo de tentar.

William Shakespeare

Aos meus irmãos!

**As palavras de amizade e conforto podem ser curtas e sucintas,
mas o seu eco é infindável.**

Madre Teresa de Calcutá

À minha irmã, Cristina Lessa Abdalla, meus sinceros
agradecimentos pela compreensão em todos os momentos difíceis.

Ao meu irmão, Henrique Lessa Abdalla, agradeço muito pela ajuda
técnica em relação aos programas de computador. Ao reconhecer o que
precisávamos neste experimento, pesquisou e disponibilizou os
programas gratuitos utilizados para seleção e medida das áreas, além
de ter sido um grande professor durante as explicações de como
manusear estes programas.

Amo vocês!!

Ao meu amor!

Quando se ama não é preciso entender o que se passa lá fora, pois tudo passa a acontecer dentro de nós (Clarice Lispector).

Ao meu amor Santiago Rodrigues Baptista, por estar sempre ao meu lado, por seu carinho, respeito e lealdade. Agradeço todos os dias por ter te conhecido, por me suportar durante este período estressante, dar forças e me incentivar a continuar. Te amo pra sempre!

Você é como a primavera

Que chega cálida e perfumada

Iluminando com seu sorriso

O dia a dia insípido de minha vida.

Você é a luz

Você é o sol

Você é o pássaro que voa liberto

Na imensidão dos céus

Voltando carinhoso para o mesmo ninho.

Você, você é tudo isso

E mais ainda

Você é um raio de luar em minha noite!

Vera Henriques de Mello (minha querida Tia avó)

Aos Professores!

Querem que vos ensine o modo de chegar à ciência verdadeira? Aquilo que se sabe saber que se sabe; aquilo que não se sabe, saber que não se sabe; na verdade é este o saber.

Confúcio

Ajuda o teu semelhante a levantar a carga, mas não a levá-la.

Pitágoras

Ao meu orientador, Prof. Dr. Marco Antônio Gioso, quem admiro e respeito muito, meus sinceros agradecimentos pela transmissão de conhecimentos, por me deixar fazer parte de sua equipe no Laboratório de Odontologia Comparada - LOC e principalmente pela oportunidade de chegar até aqui.

À Professora Doutora Marta Fernanda Albuquerque da Silva, colaboradora e acima de tudo amiga; graças a sua disponibilidade, interesse, prestatividade e confiança de me deixar seguir neste experimento, hoje chegamos ao fim desta etapa. Muito obrigada por me deixar fazer parte da sua vida, mesmo longe, você sempre estará comigo.

À Professora Doutora Sônia Soares Costa, muito obrigada por sua dedicação, transferência de conhecimentos e principalmente a confiança em me deixar seguir em frente com o auxílio de sua equipe para realização deste projeto.

Ao Prof. Dr. Fábio Barbour Scott, meus agradecimentos pela transmissão de conhecimentos, por sua disponibilidade e principalmente confiança em me deixar fazer parte de sua equipe por um longo período.

Às Professoras Doutoras Silvia Renata Gaido Cortopassi e Denise Tabacchi Fantoni meus sinceros agradecimentos pela transferência de conhecimentos, simpatia e colaboração para que tudo em minha vida durante este longo período de doutoramento corresse bem, vocês me ajudarão a lembrar com alegria de minha passagem pela USP.

Aos amigos!

A felicidade de um amigo deleita-nos. Enriquece-nos. Não nos tira nada.

Jean Cocteau

À Fernanda Maria Lopes Kubtiza, muito obrigada por sua amizade, seu carinho, sua compreensão nos momentos mais difíceis da minha vida, pela transferência de conhecimento e principalmente pelo apoio neste projeto e na carreira de odontologia veterinária.

Ao Juliano Kubtiza, muito obrigada por sua amizade, seu carinho e por sua iluminação.

A amizade é o conforto indescritível de nos sentirmos seguros com uma pessoa, sem ser preciso pensar o que se pensa, nem medir o que se diz.

George Eliot

À Paula Cunha Correa da Silva, agradeço muito por sua amizade, pelo apoio emocional e sua disponibilidade durante este experimento.

A amizade é uma predisposição recíproca que torna dois seres igualmente ciosos da felicidade um do outro.

Platão

Aos queridos Nathália Baptista, Juliana Baptista, Rubens Baptista, Gabriela Madalozzo, Valmor Eugênio Madalozzo, Lilian Cavriani, Giulia Cavriani e Renê Cavriani muito obrigada pelo carinho, confiança, apoio e por me deixarem fazer parte da vida de vocês!

Ao Daniel da Silva Guedes Junior e Fábio Jorge Moreira da Silva, muito obrigada pela disponibilidade, amizade e apoio de vocês durante o experimento.

À Ana Rita Carvalho Pereira, minha amiga, sem você nada teria acontecido; muito obrigada por todas as horas de dedicação e esforço em prol da ciência veterinária.

Ao João Telhado Pereira e Valéria Moura, muito obrigada pela compreensão e apoio em todos os momentos de nosso convívio.

Aos primos Angelina Laurenti, Carlos Ângelo Laurenti, Renato Laurenti e Verena Reimer; muito obrigada, meus primos, por todo apoio nestas idas e vindas de São Paulo para tentar compreender melhor a Odontologia Veterinária.

Aos amigos Célio Jardim dos Santos júnior, Gustavo de Deus, Eduardo Toshio Irino, Clemente Eduardo Jacquet e Ricardo Tubaldini Nunes muito obrigada pela compreensão, apoio e por torcerem por mim desde o início do nosso convívio.

Que ninguém se engane, só se consegue a simplicidade através de muito trabalho (Clarice Lispector).

Aos queridos Patrícia Bonifácio Flôr, Geni Cristina Fonseca Patricio e José Miron Oliveira da Silva, Selene Aparecida de Oliveira muito obrigada pelos ensinamentos, paciência e carinho dedicados a mim durante todo nosso convívio dentro e fora da FMVZ/USP.

À Neusa Kazue Habe e Elza Faquim muito obrigada pela paciência e correções da tese.

À Raquel Sartori Gonçalves Dias, Marlon Vinícius Cabral Ramalho, Michelle Bertolini do Couto, Marcela Araújo Soares Coutinho, Thaís Ribeiro Correia Azevedo, Monique Moraes Lambert, Maria Clara Botelho, Ana Luiza Mattos, Fabrício Nascimento e Pedro Fázio Júnior, meu grande agradecimento pelo apoio, ensinamentos, pela ajuda, por todo carinho e confiança cedidos à minha pessoa.

Ao Armando Abreu, muito obrigada pelo seu sacrifício de acordar duas horas antes de ir para o colégio e me acompanhar em todas as manhãs frias e desertas, durante todo o experimento, e sempre com o maior sorriso!

Agradeço ao CNPq pela disponibilização de verba para aquisição dos materiais de consumo para realização deste estudo.

A Vanessa Miranda Barros Andrade, ao B.E.T. laboratoires do Brasil, a Roberta Alves e ao Laboratório Genesi, muito obrigada pela colaboração.

Agradeço todas as dificuldades que enfrentei; não fosse por elas, eu não teria saído do lugar. As facilidades nos impedem de caminhar. Mesmo as críticas nos auxiliam muito.

Chico Xavier

BIOGRAFIA

Samira Lessa Abdalla, filha de Sônia Lessa e Nassim João Henriques Abdalla, irmã de Henrique Lessa Abdalla e Cristina Lessa Abdalla, é pós-graduanda no Curso de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica Veterinária da FMVZ/USP, cursou primeiro e segundo graus no Colégio Santo Inácio, é graduada em Medicina Veterinária e mestre em Ciências Veterinárias, no Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Ciências Clínicas pela UFRRJ concluído em 2008, possui pós-graduação *latu sensu* em Odontologia Veterinária pela Anclivepa São Paulo concluído em 2010. Foi bolsista de iniciação científica durante os anos de 2004 e 2005 e monitora da disciplina de Anestesiologia e Técnica Cirúrgica II da UFRRJ durante o ano de 2004. Estagiou na área de cirurgia no Hospital Veterinário da UFRRJ e pelo Projeto de Controle de Natalidade de Cães e Gatos da UFRRJ, de 2002 a 2005, e em clínica particular de pequenos animais durante o ano de 2003. Estagiou também na área de Odontologia Veterinária no Laboratório de Odontologia Comparada da FMVZ-USP em 2007 e 2008 e no Odontovet, no ano de 2007. Realizou cursos teóricos e práticos de Odontologia Veterinária de pequenos animais e selvagens, curso de Inseminação Artificial em Bovinos, e a participação em diversos congressos na área de Medicina Veterinária.

RESUMO

ABDALLA, S. L. **Eficácia *in vivo* do sumo de *Kalanchoe gastonis-bonnieri* no controle do biofilme bacteriano e cálculo dentário de cães.** [*In vivo* efficacy of a *Kalanchoe gastonis-bonnieri* juice in the control of bacterial biofilms and dental calculus in dogs]. 2012. 138f. Tese (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

A Doença Periodontal é causada pelo acúmulo de placa bacteriana sobre os dentes e estruturas adjacentes. As plantas medicinais são utilizadas como um meio de tratamento há muitos anos, sendo o resultado do acúmulo do conhecimento popular. No entanto, elas são utilizadas com pouco critério. Do ponto de vista da odontologia, as plantas medicinais ainda têm sido pouco estudadas. A comprovação clínica dos efeitos do sumo de *Kalanchoe gastonis-bonnieri* (KGB) a 10% sobre o desenvolvimento do biofilme bacteriano e cálculo dentário em cães pode oferecer alternativa valiosa para o tratamento e prevenção da doença periodontal, ou o prolongamento dos efeitos do tratamento cirúrgico clássico. Desta forma, seriam reduzidos os riscos do tratamento cirúrgico, o custo terapêutico, o surgimento de cepas bacterianas resistentes, e a ocorrência de efeitos colaterais, além de serem fornecidos subsídios para uso em outras espécies, inclusive a humana, com aproveitamento de recursos naturais amplamente disponíveis e ainda pouco conhecidos e utilizados, propiciando a transferência tecnológica para o setor produtivo. O presente estudo objetivou utilizar o método de análise computadorizada, para medição de área de placa bacteriana e cálculo dentário nos dentes de cães, por meio da comparação entre os grupos tratado (sumo de KGB a 10%), controle negativo (solução fisiológica a 0,9%) e controle positivo (gluconato de clorexidina a 0,12%). Foram utilizados 34 cães da raça Beagle com similares características e mantidos sob o mesmo manejo e dieta alimentar. As avaliações da cavidade oral após o tratamento periodontal sob anestesia geral inalatória, dia zero, ocorreram para placa bacteriana, no dia sete, e para cálculo dentário, no dia. O sumo de *Kalanchoe gastonis-bonnieri* a 10% apresentou eficácia no controle da formação da placa bacteriana em relação ao grupo controle negativo, e do cálculo dentário em relação aos grupos controles negativo e positivo, obtendo-se diferença significativa para estes três julgamentos. Então, este poderia ser utilizado como um coadjuvante na

prevenção da doença periodontal. São necessários estudos complementares a longo prazo para comprovação da ausência efeitos colaterais, além da descoberta do mecanismo de ação do sumo de *Kalanchoe gastonis-bonnieri* a 10% sobre o biofilme bacteriano e o cálculo dentário.

Palavras-chave: Placa bacteriana. Ação anticálcio. Ação antiplaca.

ABSTRACT

ABDALLA, S. L. ***In vivo* efficacy of a *Kalanchoe gastonis-bonnieri* juice in the control of bacterial biofilms and dental calculus in dogs.** [Eficácia *in vivo* do sumo de *Kalanchoe gastonis-bonnieri* no controle do biofilme bacteriano e cálculo dentário de cães]. 2012. 138f. Tese (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

The Periodontal Disease is caused by dental plaque accumulation on teeth and adjacent structures. Medicinal plants are used as a means treatment for many years, being the result of the accumulation of popular knowledge. However, they are used with little criterion. From the standpoint of Dentistry, the medicinal plants still has been little studied. The clinical proof of the effects of the extract of the plant *Kalanchoe gastonis-bonnieri* (KGB) on biofilm and calculus in dogs can offer valuable alternative for the treatment and prevention of periodontal disease, or even a continuation of treatment effects surgical classic. Thus, the risks would be reduced from surgical treatment, the cost of therapy, the emergence of resistant bacterial strains, and the occurrence of side effects, and subsidies are provided for use in other species, including humans, with use of natural resources widely available and still little known and used, providing, including technology transfer to the productive sector. This study aims to evaluate the computerized analysis method for measurement of dental plaque and calculus areas on the teeth of dogs, by comparison between the traded (10% of KGB juice), negative control group (0,9% of saline solution) and positive control group (chlorhexidine 0.12% sprayed in the oral cavity daily). 34 Beagle dogs with similar characteristics and kept under the same management and diet were used. Evaluations of oral cavity after the periodontal treatment (performed under general inhalation anesthesia) and after seven days for dental plaque, and 28 for calculus. The 10% of *Kalanchoe gastonis-bonnieri* juice showed efficacy in controlling the formation of plaque compared to the negative control group, and dental calculus in relation to negative and positive control groups, obtaining significant difference for these three trials. Thus, this could be used as an adjunct in the prevention of periodontal disease. Nevertheless, further studies are needed to prove the long-term absence of side effects, in addition, the discovery of the

mechanism of action of to 10% *Kalanchoe gastonis-bonnieri* juice on the bacterial biofilm and dental calculus formation.

Key words: Dental plaque. Anticalculus. Antiplaque.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Representação da anatomia dentária e tecidos adjacentes em dente de espécime carnívoro: esmalte (a); dentina (b); polpa (c); gengiva (d); cimento (e); ligamento periodontal (f); osso alveolar (g). Fonte: LOPES, 2008.....	29
Figura 2 -	Ilustração do odontograma, dentes da cavidade oral de canídeos, dentes numerados de acordo com sistema Triadan modificado. Fonte: CORREA; VENTURINI; GIOSO (1998); FLOYD, 1991).....	30
Figura 3 -	Canino mandibular esquerdo (seta azul) posicionado entre o terceiro incisivo e o canino maxilar esquerdo em oclusão normal (indivíduo 15).....	30
Figura 4 -	Incisivos mandibulares contatam suas faces incisais nos cúngulos dos incisivos maxilares em oclusão normal (indivíduo 15).....	31
Figura 5 -	As cúspides principais dos pré-molares (1 ^o , 2 ^o , 3 ^o) maxilares apontam para o espaço interproximal (setas azuis) dos pré-molares (1 ^o , 2 ^o , 3 ^o e 4 ^o) mandibulares (indivíduo 9).....	31
Figura 6 -	O 4 ^o pré-molar maxilar oclui “em tesoura” (linhas amarelas) com o 1 ^o molar mandibular (A e B) (indivíduo 9).....	32
Figura 7 -	Presença de apinhamento dental em 2,3 e 4 pré-molares maxilares esquerdo (setas amarelas), giro vertidos, em cão da raça Pug. Fonte: ABDALLA (2007).....	32
Figura 8 -	Presença de rotação de 90 graus, giro versão, do dente 3 pré-molar maxilar esquerdo (círculo amarelo) em cão da raça Maltês.....	32
Figura 9 -	<i>Kalanchoe gastonis bonnieri</i> (Foto: Jardim do NPPN – UFRJ) Fonte: S. S. COSTA (2009).....	58
Figura 10 -	Realização da coleta de amostra da saliva e placa bacteriana dental da cavidade oral de um cão da raça Beagle (indivíduo 3), sob anestesia geral inalatória, com auxílio de suabe estéril, no dia zero, antes do tratamento periodontal	78
Figura 11 -	Imagens digitalizadas das mandíbulas e maxilas esquerdas (A) e direitas (B) da cavidade oral de cães, tratadas no programa <i>BrOffice.org Impress</i> com dentes avaliados indicados por setas, de acordo com o modelo de Logan e Boyce (1994).....	80
Figura 12 -	Faces vestibulares dos dentes maxilares e mandibulares de um cão da raça Beagle (indivíduo 5), no dia zero, antes do tratamento periodontal, observar presença de cálculo dentário nos diversos dentes.....	81
Figura 13 -	Sondagem da profundidade do sulco gengival com auxílio de sonda periodontal em dente quarto pré-molar maxilar direito de um cão da raça Beagle (indivíduo 7).....	81
Figura 14 -	Aplicação da solução de eosina aquosa a 2%, (A) com auxílio de algodão e pinça anatômica nas faces vestibulares dos dentes maxilares e mandibulares de um cão da raça Beagle (indivíduo 5). Em (B) observar áreas coradas pela eosina aquosa a 2% após enxague com	

	água.....	81
Figura 15 –	Remoção do cálculo dentário com auxílio de ultrassom dos dentes maxilares e mandibulares de um cão Beagle (indivíduo 5).....	82
Figura 16 –	Após a remoção do cálculo dentário com auxílio de ultrassom dos dentes maxilares e mandibulares de um cão Beagle (indivíduo 5), foi realizada nova coloração com eosina aquosa a 2% e enxague com água, observar áreas ainda coradas, revelando a presença de placa bacteriana.....	82
Figura 17 –	Em (A) realização do polimento dos dentes maxilares e mandibulares direto (indivíduo 5), com auxílio de pasta profilática, taça de borracha, micromotor e contra ângulo. Em (B) observar os dentes com ausência de placa bacteriana após o polimento e enxague com água.....	82
Figura 18 -	Imagem digital da face vestibular dos dentes da maxila e mandíbula esquerda de cão, tratada no programa GIMP2.6.11 após colorir-se de azul escuro as áreas totais dos dentes.....	86
Figura 19 -	Imagem digital da face vestibular dos dentes da maxila esquerda de cão, tratada no programa GIMP2.6.11 após contornar-se as áreas acometidas por cálculo no dia zero.....	86
Figura 20 -	Imagem digital da face vestibular dos dentes da maxila esquerda de cão, tratada no programa GIMP2.6.11 após contornar-se as áreas coradas com eosina a 2% acometidos por placa bacteriana no dia zero.....	87
Figura 21 -	Imagem digital da face vestibular dos dentes da maxila e mandíbula esquerda de cão, tratada no programa GIMP2.6.11 após contornar-se as áreas coradas com eosina a 2% acometidos por placa bacteriana, no sétimo dia após o tratamento periodontal.....	87
Figura 22 -	Imagem digital da face vestibular dos dentes da maxila e mandíbula esquerda de cão, tratada no programa GIMP2.6.11 após contornar-se as áreas acometidas por cálculo, 28 dias após o tratamento periodontal.....	87
Figura 23 –	Mucosas jugais e gengiva sem alterações locais indesejáveis (A) e (B) de um cão da raça Beagle do grupo pré-experimento (indivíduo 11).....	91
Figura 24 –	Acúmulo de placa bacteriana em faces vestibulares dos dentes da maxila e mandíbula esquerda de cão da raça Beagle (indivíduo 18) do grupo controle negativo, no dia sete.....	96
Figura 25 –	Acúmulo de placa bacteriana em faces vestibulares dos dentes da maxila e mandíbula esquerda de cão da raça Beagle (indivíduo 30) do grupo controle positivo, no dia sete.....	96
Figura 26 –	Acúmulo de placa bacteriana em faces vestibulares dos dentes da maxila e mandíbula esquerdas de cão da raça Beagle (indivíduo 1) do grupo tratado, no dia sete.....	96
Figura 27 –	Acúmulo de cálculo em faces vestibulares dos dentes da maxila e mandíbula esquerdas de cão da raça Beagle (indivíduo 18) do grupo controle negativo, no dia 28.....	97
Figura 28 –	Acúmulo de cálculo em faces vestibulares dos dentes da maxila e mandíbula esquerdas de cão da raça Beagle (indivíduo 33) do grupo controle positivo, no dia 28.....	97

Figura 29 – Acúmulo de cálculo em faces vestibulares dos dentes da maxila e mandíbula esquerdas de cão da raça Beagle (indivíduo 1) do grupo tratado, no dia 28..... 97

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 –	Descrição das faces dentárias (WOELFEL; SCHEID, 2000).....	33
Quadro 2 –	Aspectos anatômicos das faces vestibulares dos dentes correspondentes ao modelo de Logan; Boyce (1994) segundo Kowalesky (2005).....	34
Quadro 3 –	Sistema de índice de intensidade de cor do cálculo dentário e de placa bacteriana, corada com eosina a 2% de acordo com Logan e Boyce (1994). Cada dente estudado recebe um escore de cor, que multiplica o escore de área acometida. A média de todos os escores dos dentes é o índice de cálculo e de placa da cavidade oral.	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Sistema de índice de cálculo e de placa bacteriana de Logan e Boyce (1994). A área da face vestibular da coroa dental acometida, em relação à face vestibular total, é determinada atribuindo-se um escore de acordo com os dados dos intervalos de percentagem abaixo.....	71
Tabela 2 –	Sistema de índice de cálculo e de placa bacteriana modificado de Logan e Boyce (1994).....	84
Tabela 3 –	Comparação na avaliação visual, dos valores de índice de placa bacteriana (IPB), no dia sete, índice de cálculo (IC), no dia 28, entre os grupos controles negativo (CN) e positivo (CP).....	92
Tabela 4 –	Comparação na avaliação computadorizada, dos valores de índice de área de placa bacteriana (IAPB), no dia sete, índice de área de cálculo (IAC), no dia 28, obtidos do tratamento das imagens digitais da cavidade oral de cães da raça Beagle, entre os grupos controles negativo (CN) e positivo (CP).....	93
Tabela 5 –	Comparação na avaliação computadorizada, dos valores de índice de área de placa bacteriana (IAPB), no dia sete, índice de área de cálculo (IAC), no dia 28, obtidos do tratamento das imagens digitais da cavidade oral de cães da raça Beagle, entre os grupos tratado (GT) e controle positivo (CP).....	94
Tabela 6 –	Comparação na avaliação computadorizada, dos valores de índice de área de placa bacteriana (IAPB), no dia sete, índice de área de cálculo (IAC), no dia 28, obtidos do tratamento das imagens digitais da cavidade oral de cães da raça Beagle, entre os grupos tratado (GT) e controle negativo (CN).....	95
Tabela 7 –	Resultados dos exames de TSH (ng/ml), realizado pelo B.E.T. Laboratories, antes da utilização do extrato da planta <i>Kalanchoe gastonis-bonnieri</i> e após 28 dias de sua utilização tópica na cavidade oral de 14 cães (indivíduos 1 ao 14) pertencentes aos grupos tratado e pré experimento.....	98
Tabela 8 –	Resultados dos exames de T4 livre bifásico (ng/dl), realizado pelo B.E.T. Laboratories, antes da utilização do extrato da planta <i>Kalanchoe gastonis-bonnieri</i> e após 28 dias de sua utilização tópica na cavidade oral de 14 cães (indivíduos 1 ao 14) pertencentes aos grupos tratado e pré experimento.....	98
Tabela 9 –	Resultados dos exames de T4 total (ng/dl), realizado pelo B.E.T. Laboratories, antes da utilização do extrato da planta <i>Kalanchoe gastonis-bonnieri</i> e após 28 dias de sua utilização tópica na cavidade oral de 14 cães (indivíduos 1 ao 14) pertencentes aos grupos tratado e pré experimento.....	98
Tabela 10 –	Resultados dos testes t de <i>Student</i> das funções renal e hepática das amostras de soro dos cães do grupo tratado, comparando-se o dia zero com o dia 28.....	99

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE A –	Ficha para anotações de observações na avaliação visual de acordo com a seleção de dentes segundo Logan e Boyce (1994) e numeração segundo Floyd (1991).....	132
APÊNDICE B –	Tabela 11 – Resultados de IAPB e IAC obtidos a partir da avaliação computadorizada e IPB e IC da avaliação visual do grupo controle negativo (CN) nos dias zero, sete e 28.....	133
APÊNDICE B –	Tabela 12 – Resultados de IAPB e IAC obtidos a partir da avaliação computadorizada e IPB e IC da avaliação visual do grupo controle positivo (CP) nos dias zero, sete e 28.....	133
APÊNDICE B –	Tabela 13 – Resultados de IAPB e IAC obtidos a partir da avaliação computadorizada e IPB e IC da avaliação visual do grupo tratado (GT) nos dias zero, sete e 28.....	134
APÊNDICE C –	Tabela 14 – Resultados das análises laboratoriais, para o TSH, realizadas com amostras de soro sanguíneo, dos dias zero e 28, de 14 cães tratados com sumo de <i>Kalanchoe gastonis-bonnieri</i> , pelo B.E.T. laboratores.....	135
APÊNDICE C –	Tabela 15 – Resultados das análises laboratoriais, para o T4 livre básico, realizadas com amostras de soro sanguíneo, dos dias zero e 28, de 14 cães tratados com sumo de <i>Kalanchoe gastonis-bonnieri</i> , pelo B.E.T. laboratores.....	136
APÊNDICE C –	Tabela 16 – Resultados das análises laboratoriais, para o T4 total, realizadas com amostras de soro sanguíneo, dos dias zero e 28, de 14 cães tratados com sumo de <i>Kalanchoe gastonis-bonnieri</i> , pelo B.E.T. laboratores.....	137
APÊNDICE D –	Tabela 17 – Resultados das análises laboratoriais, para funções renal e hepática, realizadas com amostras de soro sanguíneo, do dia zero, de 10 cães tratados com sumo de <i>Kalanchoe gastonis-bonnieri</i> , pelo Laboratório de Desenvolvimento de Produtos Parasitocidas da UFRRJ.....	138
APÊNDICE D –	Tabela 18 – Resultados das análises laboratoriais, para funções renal e hepática, realizadas com amostras de soro sanguíneo, do dia 28, de 10 cães tratados com sumo de <i>Kalanchoe gastonis-bonnieri</i> , pelo Laboratório de Desenvolvimento de Produtos Parasitocidas da UFRRJ.....	138

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AVDC	<i>American Veterinary Dental College</i>
C	Dente canino
CD	Cálculo dentário
Cm	Centímetro
CN	Controle Negativo
CP	Controle Positivo
DP	Doença Periodontal
FMVZ	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
GT	Grupo tratado
I	Dente incisivo
IAC	Índice de Área de Cálculo
IAPB	Índice de Área de Placa Bacteriana
IC	Índice de Cálculo
IPB	Índice de Placa Bacteriana
IV	Intravenosa
JAC	Junção amelo-cementária
kg	Quilograma
KGB	<i>Kalanchoe gastonis-bonnieri</i>
LOC	Laboratório de Odontologia Comparada
M	Dente molar
mm	Milímetro
NCI	Nível clínico de inserção
OMS	Organização Mundial de Saúde
PB	Placa Bacteriana
pH	Potencial hidrogeniônico
PM	Dente pré-molar
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
UFRRJ	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
USP	Universidade de São Paulo
VCI	Departamento de Cirurgia
VOHC	Veterinary Oral Health Council

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
%C	Percentual de Cálculo Dental
%PB	Percentual de Placa Bacteriana
%RM	Percentual de Redução Médio
p	Nível de significância
<	Menor
DP	Desvio padrão

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	26
2 OBJETIVO	27
3 REVISÃO DE LITERATURA	28
3.1 ANATOMIA DENTÁRIA	28
3.1.1 Faces dentárias	33
3.2 PATOGENIA DA DOENÇA PERIODONTAL	36
3.2.1 Prevenção da doença periodontal	41
3.3 TRATAMENTOS ALTERNATIVOS	45
3.3.1 Fitoterapia	47
3.3.2 Espécies vegetais com aplicação terapêutica para a saúde bucal	49
3.3.3 Gênero <i>Kalanchoe</i>	56
3.3.3.1 <i>Kalanchoe gastonis-bonnierii</i>	57
3.4 PRECAUÇÕES NO USO DE PLANTA MEDICINAIS	60
3.5 CLOREXIDINA	63
3.5.1 Mecanismo de Ação	63
3.5.2 Propriedades	64
3.5.2.1 Antisséptica	64
3.5.2.2 Anti-placa e anti-gengivite	64
3.5.2.3 Substantividade	65
3.5.2.4 Metabolismo e toxicologia	66
3.5.3 Efeitos colaterais	66
3.5.4 Uso clínico	67
3.5.5 Cálculo Dentário	68
3.6 AGENTES COM AÇÃO ANTICÁLCULO	69
3.7 MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DOS ÍNDICES DA CAVIDADE ORAL	70
3.8 SOLUÇÕES EVIDENCIADORAS DE PLACA BACTERIANA ORGANIZADA	72
4 MATERIAL E MÉTODOS	74
4.1 ANIMAIS	74
4.2 SUMO DE <i>Kalanchoe gastonis-bonnierii</i>	74
4.2.1 Preparo do extrato de <i>K. gastonis-bonnierii</i> (KGB)	75
4.3 PRÉ-EXPERIMENTO	75
4.4 GRUPOS EXPERIMENTAIS	76
4.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	76
4.5.1 Pré-operatório	76
4.5.2 Anestesia	79
4.5.3 Avaliação Periodontal no dia zero (pré-operatória)	79
4.5.4 Tratamento Periodontal	80

4.5.5 Procedimento experimental.....	83
4.5.6 Avaliações.....	83
4.5.6.1 Avaliação Visual.....	83
4.5.6.2 Avaliação Computadorizada.....	84
4.6 ANÁLISE DOS RESULTADOS.....	88
4.6.1 Pré-experimento.....	88
4.6.2 Validação do grupo controle positivo de acordo com VOHC (2012)	88
4.6.3 Análises estatísticas das avaliações computadorizadas.....	89
4.6.3.1 Comparação do grupo controle negativo versus controle positivo na avaliação computadorizada.....	89
4.6.3.2 Comparação do grupo tratado versus controle positivo na avaliação computadorizada.....	89
4.6.3.3 Comparação do grupo tratado versus controle negativo na avaliação computadorizada.....	89
4.6.4 Avaliação dos testes hormonais.....	90
4.6.5 Avaliação dos testes de crescimento bacteriano <i>in vitro</i>.....	90
4.6.6 Avaliação das funções renal e hepática dos cães do grupo tratado.....	90
5 RESULTADOS.....	91
5.1 PRÉ-EXPERIMENTO.....	91
5.2 VALIDAÇÃO DO GRUPO CONTROLE POSITIVO DE ACORDO COM VOHC (2012)	91
5.3 ANÁLISES ESTATÍSTICAS DAS AVALIAÇÕES COMPUTADORIZADAS.....	92
5.3.1 Comparação do grupo controle negativo versus controle positivo na avaliação computadorizada.....	92
5.3.2 Comparação do grupo tratado versus controle positivo na avaliação computadorizada.....	93
5.3.3 Comparação do grupo tratado versus controle negativo na avaliação computadorizada.....	94
5.4 AVALIAÇÃO DOS TESTES HORMONAIS.....	98
5.5 AVALIAÇÃO DOS TESTES DE CRESCIMENTO BACTERIANO <i>IN VITRO</i>	99
5.6 RESULTADOS DE FUNÇÕES RENAL E HEPÁTICA DOS CÃES DO GRUPO TRATADO.....	99
6 DISCUSSÃO.....	100
7 CONCLUSÃO.....	113
REFERÊNCIAS.....	114
APÊNDICES.....	132

1 INTRODUÇÃO

A doença periodontal é, dentre as moléstias da cavidade oral, a que apresenta mais alto índice de ocorrência em cães. É causada pelo acúmulo de biofilme bacteriano nos dentes e nas estruturas adjacentes que o suportam. Como complicações decorrentes da doença periodontal, são descritas alterações ou lesões em diferentes sistemas e órgãos: circulatório, hepático, ósseo, nervoso e renal (DEBOWES et al., 1996; MICHELL, 2005). Outro fator relevante é o custo do tratamento que requer correção cirúrgica em repetidas sessões, sob risco anestesiológico.

A maioria das doenças da cavidade oral possui estreito relacionamento com a microbiota local, pois ela interage direta ou indiretamente no estabelecimento desses processos mórbidos, com graves complicações e atuando como um grande e variado foco de infecção.

Há muitos anos, na medicina humana, algumas plantas com possíveis efeitos antimicrobianos são usadas como terapia alternativa ou adjuvante em processos mórbidos infecciosos. Essa prática estende-se à higiene oral e ao tratamento da periodontopatia, por meio do uso de enxágues orais ou com a mastigação rotineira de gravetos e outras partes de plantas, como é hábito em alguns países.

A comprovação clínica dos efeitos do sumo da planta *Kalanchoe gastonis-bonnieri* sobre o desenvolvimento do biofilme bacteriano, formação do cálculo dentário e progressão da doença periodontal em cães pode oferecer alternativa valiosa para o tratamento e prevenção da doença periodontal, ou mesmo no prolongamento dos efeitos do tratamento cirúrgico clássico. Desta forma, seriam reduzidos os riscos do tratamento cirúrgico, o custo terapêutico, o surgimento de cepas bacterianas resistentes, e a ocorrência de efeitos colaterais, além de serem fornecidos subsídios para uso em outras espécies, inclusive a humana, com aproveitamento de recursos naturais amplamente disponíveis e ainda pouco conhecidos e utilizados, propiciando a transferência tecnológica para o setor produtivo.

2 OBJETIVO

Este trabalho visou avaliar a evolução da formação do biofilme bacteriano e acúmulo de cálculo na superfície vestibular dentária em cães da raça Beagle, após o tratamento periodontal, mediante a aplicação tópica diária de sumo de *Kalanchoe gastonis-bonnieri* a 10% (grupo tratado), comparativamente a solução fisiológica (controle negativo) e a solução de gluconato de clorexidina 0,12% (controle positivo), por meio da avaliação computadorizada e com coloração por solução aquosa de eosina a 2%.

3 REVISÃO DE LITERATURA

A odontologia veterinária brasileira vem se desenvolvendo e tem sido comprovado por meio de estudos a prevalência de afecções orais em cães (VENTURINI, 2006; FECCHIO et. al., 2009).

A boca, por sua constituição e finalidade, está sujeita a diversos processos mórbidos primários ou secundários incluindo os traumatismos e as afecções bacterianas e virais, destacam-se dentre as alterações observadas na cavidade oral de cães, as gengivites, periodontites, neoplasias, lesões de reabsorção, estomatites e cárie dentária. Dentre as moléstias da cavidade oral de cães, a que merece atenção especial por apresentar grande ocorrência é a doença periodontal (LUND et al., 1999; KYLLAR; WITTER, 2005) que acomete o periodonto (GISO, 2007).

3.1 ANATOMIA DENTÁRIA

No cão, a dentição permanente compreende três incisivos, um canino, quatro pré-molares e dois molares. A designação atualmente aceita das fórmulas dentárias para cães é para dentes permanentes: $2 \times (3/3 \text{ i}, 1/1 \text{ c}, 4/4 \text{ pm}, 2/3 \text{ m}) = 42$ (HARVEY, 1985; WIGGS; LOBPRISE, 1997).

Como na maioria dos mamíferos domésticos, cães e gatos apresentam dentição difiodonte, possuindo dois conjuntos de dentes, um designado decíduo ou primário e outro permanente. Quanto à implantação dos dentes nos alvéolos dentários, cães e gatos possuem dentição tecodonte, onde os dentes são firmemente fixados nos alvéolos, tipicamente por meio de gonfose, um tipo de ligamento fibroso em que um objeto cônico é inserido e fixado em uma cavidade. Os carnívoros, em geral, possuem dentição braquiodonte, na qual a relação coroa raiz é pequena. Quanto à oclusão, cães e gatos apresentam anisognatia, onde a zona oclusal dos molares mandibulares é mais estreita que a contraparte maxilar (WIGGS; LOBPRISE, 1997).

Os dentes são formados por tecidos duros denominados, esmalte, dentina e cimento (Figura 1). O esmalte é o tecido mais duro e mineralizado do organismo e

recobre toda a coroa dentária (TEN CATE, 1988). A dentina é o principal volume da superfície do dente sob o esmalte e o cemento. Ela é formada por hidroxiapatita e tecidos orgânicos, nela encontram-se os túbulos dentinários, que se estendem da superfície externa até a polpa, e se os prolongamentos citoplasmáticos dos odontoblastos forem expostos, estes podem transmitir sensações dolorosas à polpa. O cemento é um tecido avascular que recobre a raiz; seu conteúdo inorgânico é menor que o dos ossos, o que o torna mais macio (HENNET, 1995).

O dente é dividido em coroa, colo, o qual é mais proeminente em pré-molares e molares, e as raízes. A coroa situa-se acima da margem gengival, a ponta da coroa é conhecida como cúspide. O colo é a junção da coroa com a raiz. A raiz encontra-se abaixo da margem gengival, coberta pelo cemento, a ponta da raiz é conhecida como ápice, que tem sua terminação em forma de delta, é uma área tanto de entrada como de saída de vasos e nervos da câmara pulpar. E a furca é a região onde as raízes começam a se dividir em dentes de raízes múltiplas (FROST; WILLIAMS, 1986).

Figura 1 – Representação da anatomia dentária e tecidos adjacentes em dente de espécime carnívoro: esmalte (a); dentina (b); polpa (c); gengiva (d); cemento (e); ligamento periodontal (f); osso alveolar (g)

Fonte: Lopes (2008).

O periodonto é o conjunto de tecidos moles e duros que suportam as raízes e permite a retenção do dente. Quatro componentes principais formam o periodonto (Figura 1): gengiva, cemento, ligamento periodontal e osso alveolar (GIOSO, 2007).

O sistema mais utilizado para nomenclatura dentária dos cães é o Sistema

Triadan modificado. Este sistema utiliza três dígitos para identificar cada dente. O primeiro dígito refere-se ao quadrante, sendo denominado o número um para o superior direito, dois para o superior esquerdo, três para o inferior esquerdo e quatro para o inferior direito (Figura 2). E para animais jovens, com dentição decídua, são utilizados os quadrantes cinco (superior direito), seis (superior esquerdo), sete (inferior esquerdo) e oito (inferior direito) (FLOYD, 1991).

Figura 2 – Ilustração do odontograma, dentes da cavidade oral de canídeos, dentes numerados de acordo com sistema Triadan modificado

Fontes: Correa; Venturini e Gioso (1998); Floyd (1991).

A oclusão normal ocorre quando os dentes caninos inferiores (Figura 3) alojam-se entre os caninos superiores e os incisivos laterais superiores em oclusão central, sem contato entre os dentes (GIOSO, 2007).

Figura 3 – Canino mandibular esquerdo (seta azul) posicionado entre o terceiro incisivo e o canino maxilar esquerdo em oclusão normal (indivíduo 15)

Fonte: Abdalla (2012).

As faces incisais dos dentes incisivos inferiores contatam os cíngulos dos incisivos superiores (Figura 4), isto é, levemente caudal aos superiores (mordida em tesoura); as cúspides principais dos pré-molares (1º, 2º, 3º) maxilares apontam para o espaço interproximal dos pré-molares (1º, 2º, 3º e 4º) mandibulares (Figura 5); o primeiro pré-molar mandibular encontra-se rostral ao primeiro pré-molar maxilar, e o quarto pré-

molar mandibular é rostral ao quarto pré-molar maxilar (Inter digitação); o quarto pré-molar maxilar oclui “em tesoura” com o primeiro molar mandibular (Figura 6), impedindo a visão deste último quando a boca está totalmente fechada. Somente as coroas dos molares superiores e inferiores apresentam contatos cúspide-fossa. As linhas de oclusão (que unem as faces oclusais dos dentes) nos cães mesocefálicos são sigmóides, tanto para o arco superior como para o inferior (GISO, 2007).

Colmery e Frost (1986) inferiram que o apinhamento dental (Figura 7) é um problema bem maior em cães de raça pequena do que nos de porte grande e que os cães menores tinham os dentes muito grandes para seus arcos dentais, o que resultaria em apinhamento de coroa ou rotação de 90 graus (Figura 8).

Figura 4 – Incisivos mandibulares contatam suas faces incisais nos cíngulos dos incisivos maxilares em oclusão normal (indivíduo 15)

Fonte: Abdalla (2012).

Figura 5 – As cúspides principais dos primeiro, segundo e terceiro pré-molares maxilares apontam para o espaço interproximal (setas azuis) dos pré-molares mandibulares (indivíduo 9)

Fonte: Abdalla (2012).

Figura 6 – O quarto pré-molar maxilar oclui “em tesoura” (linhas amarelas) com o primeiro molar mandibular (A e B) (indivíduo 9)

Fonte: Abdalla (2012).

Figura 7 – Presença de apinhamento dental em segundo, terceiro e quarto pré-molares maxilares esquerdo (setas amarelas), giro vertidos, em cão da raça Pug

Fonte: Abdalla (2007).

Figura 8 – Presença de rotação de 90 graus, giro versão, do dente terceiro pré-molar maxilar esquerdo (círculo amarelo) em cão da raça Maltês

Fonte: Abdalla (2007).

Nos braquicefálicos é comum a rotação dos terceiros pré-molares, segundo pré-molares e, às vezes, do primeiro molar. Isso predisporia o animal ao acúmulo de alimento, que contribuiria para a formação de placa e cálculo. Os autores sugeriram que os criadores de raças pequenas fossem aconselhados quanto ao problema do tamanho dos dentes no arco dental, lembrando que, em geral, era muito mais fácil alterar o tamanho do esqueleto do que o dos dentes. Conclamaram, assim, os criadores a repensar seus objetivos a longo prazo e que o mesmo raciocínio fosse aplicado aos felinos (COLMERY; FROST, 1986).

3.1.1 Faces dentárias

Woelfel e Scheid (2000) definem as faces dentárias em vestibular, mesial, lingual, palatina e oclusal (Quadro 1).

Quadro 1 – Descrição das faces dentárias

Faces dentárias	Descrição
Vestibular	é a superfície próxima à face que repousa próximo ou contra às bochechas ou lábios. O termo facial também pode ser usado
Mesial	é a face dos dentes mais próxima da linha mediana do arco dental
Lingual	é a face dos dentes mais próxima da língua
Palatina	é a face dos dentes maxilares mais próximas do palato
Oclusal	é a superfície de mastigação dos dentes posteriores. Os incisivos e caninos não possuem uma face oclusal e sim a margem incisal que é a superfície cortante dos dentes anteriores

Fonte: Woelfel e Scheid (2000)

A descrição das faces vestibulares dos dentes de cães correspondentes ao modelo Logan e Boyce (1994) foram descritas no estudo de Kowalesky (2005) (Quadro 2).

Quadro 2 – Aspectos anatômicos das faces vestibulares dos dentes de cães correspondentes ao modelo de Logan e Boyce (1994)

(Continua)

Dentes		Descrição da face vestibular
Terceiro Incisivo Maxilar		Face vestibular: a coroa apresenta as margens mesial e distal inclinadas, curvilíneas, com concavidade em direção distal, o que lhe dá um aspecto triangular.
Caninos Maxilares		Face vestibular: é triangular e lisa, levemente convexa. É o mais longo dos dentes. A coroa lanceolada, quando vista pelas faces vestibular ou lingual, é alongada, assumindo no seu aspecto geral, a forma cônica. Delgada em sentido línguo-vestibular.
Caninos Mandibulares		Face vestibular: lisa, aspecto triangular, ligeiramente convexa. Projeta-se ligeiramente para vestibular.
Primeiro Pré-molar Maxilar		Face vestibular: triangular, lisa e convexa. Apresenta uma bossa em região cervical, em meia lua

(Continuação)

Dentes		Descrição da face vestibular
Segundo Pré-molar maxilar		Face vestibular: convexa, triangular, possui três cúspides: a maior e principal situada medialmente em relação às demais; cúspide central de tamanho intermediário e cúspide distal: a menor e, neste dente, menos evidente. Sendo ainda as cúspides central e distal situadas na margem distal. A margem mesial é retilínea e convergente em direção à cúspide
Terceiro Pré-molar maxilar		Face vestibular: semelhante ao dente segundo pré-molar maxilar. Cúspides central e distal mais desenvolvidas
Quarto Pré-molar Maxilar		Face vestibular: forma triangular. Cúspide mesial é a maior e bem mais desenvolvida que nos demais. Entre esta e a cúspide central há uma fissura e próximo à margem oclusal, nesta fissura, há uma fôssula. Cúspides central e distal menos evidentes. Bossa em terço cervical. Maior dente do grupo e o único trirradicular. Também conhecido como dente carnicheiro.
Segundo Pré-molar IMandibular		Face vestibular: convexa, triangular, possui três cúspides: a maior e principal está situada mesialmente em relação às demais; cúspide central de tamanho intermediário e cúspide distal: a menor. Neste dente as cúspides central e distal são muito discretas. Sendo ainda as cúspides central e distal situadas na margem distal. A margem mesial é retilínea e convergente em direção cúspide.
Terceiro Pré-molar Mandibular		Face vestibular: triangular e convexa. Cúspides central e distal mais desenvolvidas. Colo dentário mais largo no sentido méso-distal. Espaço interdental diminuído distalmente em relação ao quarto pré-molar, o que em algumas espécies, principalmente de pequeno porte, ocasiona apinhamento.

(Conclusão)

Dentes		Descrição da face vestibular
Quarto Pré-molar mandibular		Face vestibular: forma triangular. Semelhante ao dente Terceiro Pré-molar Inferior. Cúspides mais desenvolvidas que nos demais. Bossa em terço cervical
Primeiro Molar Mandibular		Face vestibular: Lisa e convexa. Convergente em sentido oclusal. Possui três cúspides; mesial, central e distal. Entre a cúspide central e a mesial há uma pequena fissura. E entre as cúspides central e distal há um sulco. Tem a linha cervical muito robusta.

Fonte: Kowalesky (2005)

3.2 PATOGENIA DA DOENÇA PERIODONTAL

A doença periodontal é uma enfermidade oral caracterizada pelo acometimento do periodonto. É a doença mais comum em cães e acomete cerca de 80% dos animais com mais de quatro anos de idade. Esta doença é progressiva e envolve duas fases: gengivite (reversível) e periodontite (irreversível, mas muitas vezes controlável) (HARVEY; EMILY, 1993). Vários materiais acumulados sobre a superfície dental participam da fisiopatologia da doença periodontal. Estas substâncias são: saliva, película adquirida do esmalte, debris alimentares, matéria alba, placa bacteriana e cálculo dentário, que são acumulados em dinâmica contínua (SCHWARTZ; MASSLER; LE BEAU, 1971).

A saliva atua em três fases na doença periodontal. Na primeira age como um filme de proteção contra a invasão microbiana; as substâncias salivares antimicrobianas incluem mucina, lactoferrina, lisosima e lactoperoxidase, além de conter imunoglobulinas A. Na segunda age como proteção mecânica em todo epitélio oral. Na terceira age como um rico suplemento vascular e agregação de células imunorreativas no suporte de tecidos de conexão (HARVEY; EMILY, 1993).

A película adquirida do esmalte é um filme fino, que protege e lubrifica o esmalte, composto por proteínas e glicoproteínas da saliva e do fluido gengival (LOGAN, 2006).

A matéria alba é composta por material frouxo, esbranquiçado, grande parte por bactérias, células epiteliais de descamação e células sanguíneas, acumulando-se na cavidade oral sem higiene e na superfície da placa bacteriana ou dos dentes, segundo Muhlemann e Schroeder (1964 apud SCHWARTZ; MASSLER, 1969). Este material pode ser removido por ação mecânica de um forte jato de água, o que não acontece com o que permanece denominada placa bacteriana (MANDEL, 1966).

A placa bacteriana é um biofilme organizado aderido à superfície dos dentes, composta por restos alimentares, saliva, polissacarídeos extracelulares, restos celulares, leucócitos, macrófagos, lipídios, carboidratos e bactérias (DUPONT, 1998).

O cálculo dentário, formado pela mineralização da placa bacteriana com a precipitação de sais minerais provenientes da saliva, embora não seja um irritante gengival ativo, como a placa, pode ser um irritante gengival passivo local, por possuir superfície externa rugosa, o que facilita o acúmulo de placa bacteriana viável (DUPONT, 1997). O pH aumentado, alcalino, da cavidade oral, favorece a calcificação do cálculo dentário. Por este motivo, os cães, que possuem pH bucal entre 7,5 e 9,0, apresentam maior acúmulo de cálculo do que o ser humano, que apresenta pH bucal em torno de 7,2 (GIOSO, 2007).

O cálculo dentário é composto por componentes inorgânicos e uma matriz orgânica. Diferentes fosfatos de cálcio (principalmente hidroxiapatita) compõem os componentes minerais do cálculo dentário. Proteínas salivares se adsorvem na superfície do dente para formar um filme contínuo para novos micro-organismos orais se aderirem. Seguindo a aderência bacteriana inicial na superfície dentária, uma comunidade complexa de micro-organismos se desenvolve e forma o biofilme, com significativa resistência aos agentes antimicrobianos (JIM; YIP, 2002). A supersaturação da saliva com respeito aos fosfatos de cálcio é a força termodinâmica motriz para a mineralização da placa. O mecanismo envolvido é similar à resposta do desenvolvimento de concreções ao redor de cateteres urinários (GRASES et al., 2001) e da formação de alguns tipos de cálculo renal (GRASES; COSTA; GARCI, 1998).

O cálculo dentário geralmente adere de forma persistente às superfícies dentárias. Isto ocorre devido ao fato de que a película sob a placa bacteriana também se torna calcificada, segundo Kopczyk e Conroy (1968 apud LINDHE, 2005). Além disso, as irregularidades da superfície também são preenchidas por cristais de cálculo

(BERCY; FRANK, 1980). O cálculo dentário geralmente é observado nas faces vestibular e lingual dos dentes, próximo aos ductos salivares e menos frequente nas faces oclusais (PROWSE et al., 2008). Em populações humanas que tem acesso regular a cuidados profissionais e que pratica higiene oral regular, o cálculo supragengival é restrito a áreas de saída dos ductos salivares (WHITE, 1991).

O fator etiológico da doença periodontal é a placa bacteriana (LÖE, 1967) também chamada de induto mole ou biofilme dentário, que se organiza entre 24 e 48 horas (GIOSO, 2007). Se o acúmulo da placa bacteriana não for controlado ocorre progressão da doença periodontal (HARVEY; EMILY, 1993). Durante a mastigação, ocorre a bacteremia e absorção de toxinas bacterianas oriundas da cavidade oral, pela movimentação do dente no alvéolo, devido à rica vascularização do periodonto (GIOSO, 2007). A resposta imunológica sistêmica individual aos micro-organismos gera imunocomplexos, que se aderem à parede interna dos endotélios, levando à lise endotelial e inflamação local resultando em destruição contínua do periodonto (DUPONT, 1997; GIOSO, 2007), além de complicações sistêmicas, que são relatadas como alterações em rins, fígado, coração (DEBOWES et al., 1996) e articulações, o que remete para sua gravidade e importância, podendo levar o animal à morte. A existência de lesões prévias nestes órgãos aumenta a probabilidade de instalação de microrganismos ou de complexo imune (anacorese) (GIOSO, 2007). Em humanos há diversos trabalhos que indicam a doença periodontal como risco potencial para afecções sistêmicas, como insuficiência renal, doenças cardíacas e pulmonares, e partos prematuros (SHIOTA et al., 2002; LÉON et al., 2007; FISHER et al., 2008)

Quando em equilíbrio, hospedeiro versus parasita, a microbiota e a ação antimicrobiana da saliva e o excelente suprimento sanguíneo oral atuam como barreira natural, protegendo a mucosa oral contra patógenos exógenos (HEDLUND, 2002). No entanto, alterações locais do equilíbrio ecológico podem resultar em infecções oportunistas (BRAGA et al., 2005).

O contato constante da placa bacteriana (e seu material antigênico) com a gengiva marginal provoca uma resposta inflamatória denominada gengivite, enquanto não houver a perda de inserção do epitélio juncional (DUPONT, 1997). A ocorrência de gengivite está relacionada à falta de higiene oral e pode ser reversível quando a placa bacteriana é removida (HARVEY, 1998; GIOSO, 2007). O processo inflamatório gengival, assim como de outros tecidos moles adjacentes, eleva o pH da cavidade oral, criando um habitat mais adequado à sobrevivência de microrganismos patogênicos

(COLMERY; FROST, 1986).

Com a progressão do processo inflamatório, há início da formação de bolsa periodontal com produção e acúmulo de pus. Histologicamente mantêm-se os polimorfonucleares e linfócitos além da presença de outras células plasmáticas. Instala-se, então, inflamação grave, formam-se bolsas profundas, ocorre retração gengival com a perda da inserção do epitélio juncional, reabsorção óssea, presença de pus e mobilidade dentária devido à destruição do periodonto pelas toxinas bacterianas e resposta imunológica do hospedeiro, chamada de periodontite, que é irreversível. Ao exame histológico há permanência do padrão celular anterior. O processo de degradação tecidual é continuado pelo avanço subgengival da placa bacteriana e cálculo, pela inflamação aguda e reabsorção osteoclástica influenciadas por prostaglandinas (COLMERY; FROST, 1986). Nesta fase, a perda dentária é a evolução mais provável (ROSEMBERG; REHFELD; EMMERING, 1966; PAGE; SCHROEDER, 1981; SMITH; ZONTINE; WILLITS, 1985).

O espectro bacteriano responsável pela evolução do processo inflamatório modifica-se de acordo com o estágio da doença periodontal. A placa bacteriana se forma com mais intensidade durante o período de repouso, onde não há presença de comida e menor atividade oral. Inicialmente há pouca diferença entre a microbiota da placa supragengival e subgengival. Entretanto, com contínuo acúmulo de bactérias, haverá mudança na população microbiana, de aeróbias (DUPONT, 1998), gram positivas e anaeróbias facultativas sem motilidade, principalmente *Streptococcus sanguis* e *Actinomyces viscosus* (WIGGS; LOBPRISE, 1997; GIOSO, 2007) passam a predominar bactérias gram negativas e anaeróbias com motilidade, sem decréscimo, no entanto, das aeróbias. Em cães, nos sítios saudáveis, as bactérias anaeróbias facultativas e aeróbias são predominantes, e apenas 25% de bactérias anaeróbias estão presentes, enquanto que o percentual de anaeróbias estritas poderá aumentar para 95% em cães com periodontite (HARVEY; EMILY, 1993; WIGGS; LOBPRISE, 1997; GIOSO, 2007).

Em cães ainda permanecem não estabelecidas as principais bactérias envolvidas na formação e composição da placa dental inicial, porém estudos em humanos descrevem como principais bactérias dos gêneros *Streptococcus* (HARVEY; EMILY, 1993; LOESCHE; GROSSMAN, 2001; KATSURA et al., 2001; DRUMOND et al., 2004), *Actinomyces* (KATSURA et al., 2001) e *Lactobacilus* (DRUMOND et al., 2004). Estudos dos componentes da microbiota da placa supra-gengival de cães beagle avaliadas por

hibridização DNA-DNA, resultaram na identificação de diversas espécies de *Streptococcus*, incluindo algumas relacionadas com a microbiota da placa dental em humanos tais como *S. mitis*, *S. constellatus*, *S. oralis* e *S. sanguis* (ROBER et al., 2009).

No estudo de Pieri¹ (2012), os gêneros predominantes na placa dental inicial de cães foram: *Streptococcus* sp., *Staphylococcus* sp. e *Enterococcus* sp. (informação verbal). É importante ressaltar que todos os *Staphylococcus* foram coagulase negativos, logo não pertencentes à espécie *S. aureus*. O isolamento de *S. mutans*, não foi possível nas amostras da cavidade oral de cães, uma bactéria considerada a mais importante na formação da placa dental de humanos, o que corrobora o citado por Dent e Marsh (1981) de que existe uma relação entre a presença de *Streptococcus mutans* e dietas ricas em sacarose, o que não é o esperado em rações de cães.

Em dentes multi-radiculares, a reabsorção do osso alveolar pode levar à exposição da região interproximal das raízes, denominada de furca. O grau de envolvimento desta região implica, dentre outros fatores, na escolha do tratamento a ser realizado, como exodontia ou cirurgia periodontal (HARVEY; EMILY, 1993; WIGGS; LOBPRISE, 1997). Assim, classifica-se a exposição de furca em três graus, segundo a *Veterinary Dental Nomenclature*, desenvolvida pelo *American Veterinary Dental College* (AVDC, 2012):

- Grau 1: a sonda periodontal penetra na região de furca do dente multirradicular em profundidade inferior à metade da distância até a face contra lateral do dente, em qualquer direção.
- Grau 2: a sonda periodontal penetra mais da metade da profundidade da região de furca, sem atravessar para o outro lado.
- Grau 3: a sonda periodontal atravessa a região de furca, para o outro lado.

Outro método utilizado para avaliar o comprometimento do suporte periodontal do dente é a determinação da mobilidade dentária, classificada em graus (AVDC, 2012):

- Grau 0: mobilidade dentária fisiológica, de até 0,2mm.
- Grau 1: mobilidade aumentada, em qualquer direção, exceto axial, entre 0,2 a 0,5mm.

¹ PIERI, F. A. **Atividade antimicrobiana do óleo de copaíba (*Copaifera langsdorffii*) e seus constituintes, e avaliação do bioproduto obtido na inibição de bactérias da placa dental de cães.** 2012. 91f. Tese (Doutorado em ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2012. (informação verbal)

- Grau 2: mobilidade aumentada, em qualquer direção, exceto axial, entre 0,5 a 1mm.
- Grau 3: mobilidade aumentada, em qualquer direção, acima de 1mm, ou qualquer movimentação axial.

A classificação de doença periodontal aceita pelo AVDC (2012) baseia-se no estágio de gravidade da enfermidade para cada elemento dentário. Já que o paciente pode apresentar dentes com diferentes estágios da doença. Desta maneira, a doença periodontal compreende os seguintes estágios:

- Normal (0): clinicamente normal
- Estágio 1: gengivite – sem perda de inserção periodontal
- Estágio 2: periodontite inicial – perda de menos que 25% da inserção periodontal, exposição de furca grau 1
- Estágio 3: periodontite moderada – perda de 25 a 50% da inserção periodontal, exposição de furca grau 2
- Estágio 4: periodontite grave ou avançada – perda de mais de 50% da inserção periodontal, exposição de furca grau 3

A perda da inserção periodontal pode ser avaliada por meio da sondagem periodontal ou determinada radiograficamente, com auxílio da distância da margem alveolar à junção amelo-cementária, em relação à raiz (AVDC, 2012).

3.2.1 Prevenção da doença periodontal

O depósito de placa bacteriana e subsequente colonização por bactérias ocorre imediatamente após o tratamento periodontal da cavidade oral. É descrito na literatura que, em alguns minutos após o tratamento periodontal, cerca de um milhão de organismos são depositados por mm^2 na superfície do esmalte, segundo Lindhe (1989 apud ROUDEBOUSH; LOGAN; HALE, 2005).

A higiene oral, além do tratamento periodontal executado em intervalos regulares, é necessária para prevenir a gengivite (DUPONT, 1997). O tratamento periodontal que não segue um controle adequado da placa bacteriana resulta em insucesso, uma vez que pode ocorrer recidiva quando a placa bacteriana permanece instalada nos dentes

(GROVE, 1998). O efetivo controle do biofilme bacteriano é o fator crítico na prevenção da doença periodontal (GARMYN; VAN STEENBERGHE; QUIRYNEN, 1998; SANZ; HERRERA, 1998; AXELSSON; ALBANDAR; RAMS, 2002)

Há relato na literatura de que o procedimento de higiene mecânica pode, com sucesso, prevenir a doença periodontal em cães. Entretanto, o nível de dedicação e motivação requerido para obter e manter a saúde oral em cães não é facilmente mantido pelos proprietários (RAWLINGS; GORREL; MARKWELL, 1998).

Em cães, a mudança nos hábitos naturais e as dificuldades de realização da escovação dos dentes pelos proprietários fazem da doença periodontal uma afecção comum na espécie (HARVEY; EMILY, 1993). Em estudo de Miller e Harvey (1994), após o tratamento periodontal da cavidade oral de cães, os proprietários receberam instruções sobre as técnicas de escovação dos dentes de seus cães e, após seis meses, 53% destes proprietários continuavam escovando os dentes dos cães várias vezes por semana. O hábito da escovação poderia ocasionar redução de 90% na predisposição à periodontite, pelo controle da placa bacteriana (DUPONT, 1998).

A prevenção surge como um aspecto essencial na doença periodontal, no sentido de reduzir a incidência e gravidade, bem como na manutenção de dentes saudáveis durante toda a vida (LYON, 1991). A prevenção requer remoção da placa sub e supra gengival por meio de escovação, ação mecânica, junto com a utilização frequente de produtos mastigáveis que possuam ação antimicrobiana, antibioticoterapia e agentes antibacterianos, os quais devem ser usados com critério (JENSEN et al., 1995). A escova dental destrói o biofilme por meio do atrito, ação mecânica (DUPONT, 1998).

A remoção do biofilme bacteriano leva à resolução da inflamação gengival, e ao cessar o controle de placa leva à inflamação recorrente. O controle da placa e a manutenção da saúde gengival têm sido bem estabelecidos na literatura (AXELSSON; LINDHE, 1981; COBB, 1996). Isto tem sido mostrado em estudos rigorosos de controle de placa por longos períodos de tempo, nos quais foi possível observar a redução dos níveis e alteração da composição das bactérias subgengivais e a diminuição da profundidade de bolsas periodontais (MCNABB; MOMBELLI; LANG, 1992; HELLSTROM et al., 1996).

O registro mais antigo de preocupação humana para reduzir o acúmulo de cálculo dental data ao redor do ano 3000 a.C., quando anciãos sumerianos, povo asiático, um dos primeiros habitantes da Mesopotâmia, foram enterrados com palitos de dente de prata e ouro para ser usado em vida após a morte. Albucasis (936-1013 d.C.), um

árabe médico e cirurgião, definiu a relação entre cálculo e doença dental, e explicou a necessidade da remoção completa dos depósitos: "Os depósitos sobre as raízes dos dentes dentro e fora e entre as gengivas, camadas feias e áspera que podem ser de cor preta, amarela ou verde. Como resultado disto, há uma destruição das gengivas e supuração ao redor dos dentes. Raspar os dentes que têm placas até que não reste nada deles" (FAIRBROTHER; HEASMAN, 2000).

Ele projetou um conjunto de 14 instrumentos e descreveu o seu uso para remover os depósitos. Desde o tempo de Albucasis nosso conhecimento e entendimento do cálculo e doença periodontal tem aumentado consideravelmente, embora a busca para encontrar um eficaz e aceitável meio químico de inibir o cálculo continua. As principais estratégias que têm sido investigados são: (i) dissolver ou amenizar o cálculo maduro, por remoção da porção inorgânica; (ii) afetar a matriz de cálculo, ou seja, para mudar o "esqueleto" em torno do qual o cálculo é depositado, (iii) alterar a fixação do cálculo na superfície do dente; (iv) impedir a formação de placa bacteriana; (v) inibir o crescimento de cristais e, assim, prevenir o desenvolvimento de placa mineralizada. Pesquisas direcionadas para encontrar adequados agentes químicos anticalculus têm ajudado esclarecer a fisiologia e bioquímica da formação do cálculo (FAIRBROTHER; HEASMAN, 2000).

Com respeito às técnicas que cada paciente pode aplicar, a segunda linha de intervenção também inclui a adição de quimioterápicos aos veículos de higiene oral como pastas e colutórios (WHITE, 2005). A adição do flúor aos cremes dentais na década de 50 deu início à nova era de prevenção de doenças orais com aplicação de quimioterápicos. Este fato com grande viabilidade e benefícios comprovados clinicamente otimizando a escovação e não requerendo mudanças no hábito de higiene oral. Hoje, opções terapêuticas recomendadas como dentifrícios e colutórios orais incluem flúor para controle de cáries (SÖDER; JIN; SÖDER, 1993), vários ingredientes para o controle da sensibilidade dentinária (SÖDER et al., 1995) e antimicrobianos, como triclosan, combinações de óleos essenciais, antimicrobianos de íons metálicos diversos (zinco, estanho e cobre), clorexidina, cloreto de cetilperidínio para controle da placa e gengivite (SMITH; BROOK; ELCOCK, 2001; STAUDT et al., 2001; SMITH et al., 2004).

Quando o cálculo já está formado, ele não pode ser eliminado por escovação dentária, devido às suas propriedades de dureza e aderência. Então, o cálculo só poderá ser removido com auxílio de tratamento profissional (WHITE, 1991).

Em resumo, existe uma forte evidência do benefício do uso da adição de agentes quimioterápicos aos métodos mecânicos de escovação e fio dental em adultos no controle de placa e gengivite (SHARMA et al., 2002; BAUROTH et al., 2003; SANTOS, 2003; SHARMA et al., 2004).

O maior benefício é a prevenção da doença periodontal, mas estudos futuros são necessários para demonstrar que o uso destes agentes resultarão na menor prevalência e gravidade da doença periodontal (GUNSOLLEY, 2006)

O uso em longo prazo de antibióticos sistêmicos ou tópicos para controlar a doença periodontal é problemático devido à tendência de que organismos resistentes surjam e recidive a doença. Os antissépticos orais são úteis para a descontaminação da superfície dos tecidos da cavidade oral (GROVE, 2000).

Segundo Greenstein, Berman e Jaffin (1986), a resistência de bactérias para certos fármacos aparece como resultado de seleção de mutantes que se desenvolvem devido às alterações cromossomiais ou por meio da transferência de informação genética por conjugação. Antimicrobianos comumente não causam mutações, ao contrário, participam na seleção para prover um ambiente que conduz ao crescimento de micro-organismos menos suscetíveis.

A aplicação tópica de um medicamento para o controle da doença é considerada a mais desejável, tendo em vista a menor incidência de efeitos colaterais quando comparada a outras vias de aplicação. Para a prevenção da doença periodontal, levando-se em consideração a maior prevalência da placa supragengival, sugere-se o uso de soluções de uso tópico oral, como os enxaguatórios bucais, suficientes para o combate às bactérias em questão, e com grande vantagem devido à sua facilidade de aplicação na maioria dos pacientes (CIANCIO; NIEZENGARD, 1997).

Desta forma, pesquisadores prosseguem em suas análises à procura de novos produtos para uso na prevenção da doença periodontal através da inibição da placa bacteriana, com possibilidade de uso contínuo (PIERI et al., 2010), buscando-se com especial interesse um quimioterápico que combine propriedades como a atividade antimicrobiana, sem provocar resistência bacteriana, e inibição de aderência microbiana nas superfícies dentais, que sugeririam grande potencial para utilização em terapias na cavidade oral e como auxiliar na higiene oral (SUDO et al., 1976; CORNER et al., 1988). Para utilização na terapêutica de animais domésticos, sugere-se a inclusão deste agente antimicrobiano e antiaderente em formulações contendo

palatabilizantes à base de galinha, carne bovina, peixes, etc (De MARCO; GIOSO, 1997).

A solução de clorexidina (CX), por não atingir bolsas periodontais profundas sem a ajuda da irrigação vigorosa, não é eficaz na doença periodontal grave sem o tratamento cirúrgico precedente. Antissépticos são indicados para o tratamento da gengivite sem danos mais profundos do tecido ou para o cuidado pós-operatório de uma doença mais grave após a limpeza subgengival completa. O antisséptico mais eficaz nesta década é a clorexidina, que atua na destruição da maioria dos patógenos periodontais, possuindo a habilidade de agir mais eficientemente sobre bactérias patogênicas do que sobre as bactérias nativas que predominam em bocas saudáveis (GROVE, 2000).

Segundo DePaola et al. (1989), Hancock, Newell (2001) e Ciancio (2003) métodos mecânicos de higiene oral para remoção de placa requerem tempo, motivação, compreensão e destreza manual. Então, agentes quimioterápicos podem ter uma função de adjuntos no método de controle mecânico de placa. Wolff (1985), Bouwsma (1996) e Gunsolley (2006) já sugeriam os agentes químicos como adjuntos aos métodos de ação mecânica. Por estas limitações, requerem-se urgentemente estratégias de controle de placa (SOLÍS; SANTOS; NART, 2011).

3.3 TRATAMENTOS ALTERNATIVOS

Estes agentes químicos, como triclosan e clorexidina, têm sido usados em colutórios orais, ou adicionados a dentifrícios para evitar a formação de placa e desenvolvimento de gengivite (YATES et al., 1993; PALOMO et al., 1994; NOGUEIRA FILHO; TOLEDO; CURY, 2000). Como algumas destas substâncias podem ter efeitos locais indesejáveis, tais como descoloração dentária ou alteração de paladar, agentes fitoterápicos com propriedades anti-inflamatória e antimicrobiana tem sido investigadas (LEE; ZHANG; LI, 2004; SALGADO et al., 2006).

O uso de produtos naturais na prevenção e tratamento de afecções orais tem aumentado recentemente e poderia ser benéfico para a camada socioeconômica com menor capacidade financeira (BOTELHO et al., 2007).

Desde seus primórdios, o ser humano percebeu os efeitos curativos das plantas medicinais, notando que de alguma forma sob a qual o vegetal medicinal era administrado (pó, chá, banho e outros) proporcionava a recuperação da saúde do indivíduo (MATOS, 1999). As plantas medicinais, utilizadas há milhares de anos, servem de base para estudos na produção de novos fármacos (MACEDO; De CARVALHO; NOGUEIRA, 2002). Aproximadamente 40% dos medicamentos atualmente disponíveis foram desenvolvidos direta ou indiretamente a partir de fontes naturais, assim subdivididos: 25% de plantas, 12% de micro-organismos e 3% de animais (CALIXTO, 2001).

Das 252 drogas consideradas básicas e essenciais pela OMS, 11% são originárias de plantas e um número significativo são drogas sintéticas obtidas de precursores naturais (RATES, 2001). Além disso, nas últimas décadas, o interesse populacional pelas terapias naturais tem aumentado significativamente nos países industrializados e achasse em expansão o uso de plantas medicinais e fitoterápicos (WHO, 2001). Considera-se também que as vendas neste setor crescem 10% ao ano, com estimativa de terem alcançado a cifra de US\$ 550 milhões no ano de 2001 (KNAPP, 2001).

Estima-se que 80% da população nos países em desenvolvimento faz uso de fitoterápicos, sendo que 85% destes possuem extratos de plantas medicinais (EMBRAPA, 1994).

No Brasil, a utilização de plantas no tratamento de doenças apresenta fundamental influência das culturas indígena, africana e europeia. A cultura brasileira sofreu sérias influências desta mistura de etnias, tanto no aspecto espiritual, como material, fundindo-se aos conhecimentos existentes no país. A base da formação da medicina popular é hoje retomada pela medicina natural, que aproveita seu conhecimento prático dando-lhe, porém, um caráter científico na tentativa de restituir a saúde ao ser humano, de uma forma natural (RODRIGUES; CARVALHO, 2001). Embora o nosso país possua a maior diversidade vegetal do mundo, com cerca de 60.000 espécies vegetais superiores catalogadas (PRANCE, 1977), apenas 8% foram estudadas para pesquisas de compostos bioativos e 1.100 espécies foram avaliadas em suas propriedades medicinais (GUERRA et al., 2001).

Revilla (2001) lembra que a OMS, na estratégia Saúde para todos no ano 2000, finalmente reconheceu a necessidade de incorporar à Saúde Pública os princípios,

recursos e técnicas da Medicina Natural, pois além de aliviar as enfermidades de milhões de pessoas, é uma alternativa terapêutica praticamente sem custo.

O estudo do conhecimento e das conceituações desenvolvidas pela sociedade a respeito do mundo vegetal permite saber as indicações e o modo de uso das plantas medicinais. Desta forma, novos métodos terapêuticos têm a oportunidade de serem avaliados clinicamente em sua eficácia, podendo também ser aconselhados em procedimentos odontológicos (BORBA; MACEDO, 2006).

A grande vantagem destas plantas medicinais se baseia principalmente na ausência de efeitos colaterais, presentes nos anti-inflamatórios e antissépticos de uso tradicional. Estes surgiram da tentativa de se sintetizar as substâncias presentes em plantas e ervas de uso popular, porém, são agregadas outras substâncias à composição destes medicamentos que acabam causando os temíveis efeitos adversos (XAVIER; RAMOS; XAVIER FILHO, 1995), além de problemas associados ao uso intermitente de antibióticos, principalmente àqueles relacionados a resistências de algumas linhagens de microrganismos a vários medicamentos (SOUZA FILHO; ALVES, 2002).

As potencialidades de uso das plantas medicinais encontram-se longe de estar esgotadas, afirmação endossada pelos novos paradigmas de desenvolvimento social e econômico baseados nos recursos renováveis. Novos conhecimentos e novas necessidades certamente encontrarão, no reino vegetal, soluções, por meio da descoberta e do desenvolvimento de novas moléculas com atividade terapêutica ou com aplicações tanto na tecnologia farmacêutica quanto no desenvolvimento de fitoterápicos com maior eficiência de ação (SCHENKEL et al., 2003).

3.3.1 Fitoterapia

A fitoterapia é uma terapêutica tradicional recomendada pela OMS (Organização Mundial da Saúde) como forma de apoio às ações de atendimento primário a saúde (COWAN, 1999). No estudo de Moura (2006) foi lembrado que a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, aprovada por meio do Decreto Nº 5.813, de 22 de junho de 2006, estabelece diretrizes e linhas prioritárias para o desenvolvimento de ações pelos diversos parceiros em torno de objetivos comuns voltados à garantia do

acesso seguro e uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos em nosso país, ao desenvolvimento de tecnologias e inovações, assim como ao fortalecimento das cadeias e dos arranjos produtivos, ao uso sustentável da biodiversidade brasileira e ao desenvolvimento do Complexo Produtivo da Saúde.

Apesar das inúmeras possibilidades de uso de plantas medicinais na odontologia, estas têm sido pouco exploradas, seja para tratar doenças bucais ou para tratar doenças sistêmicas que repercutem em alterações na saúde bucal (SANTOS et al., 2009a). Nesse sentido, o trabalho de Lima Júnior et al. (2005) constatou que 82,5% da população usa plantas medicinais e 49,5% dos entrevistados o fazem para tratar doenças bucais. As principais indicações foram para o tratamento de inflamações, odontalgias e processos cicatriciais e, quanto às formas de utilização mais comuns dessas plantas, destacaram-se a decocção, a maceração e a infusão.

Etimologicamente, a fitoterapia é formada por dois radicais de origem grega: phyton (planta) e therapeía (tratamento), segundo Teske e Trenitini (1995 apud LIMA JÚNIOR, 2005).

De acordo com a resolução nº 17/00 da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), fitoterápico pode ser definido como: “medicamento farmacêutico obtido através de processos tecnologicamente adequados, empregando-se exclusivamente matérias-primas vegetais, com finalidade profilática, curativa, paliativa ou para fins de diagnóstico. É caracterizado pelo conhecimento da eficácia e dos riscos de seu uso, assim como pela reprodutibilidade e garantia de sua qualidade. Não se considera fitoterápico aquele produto que, na sua composição, inclua substâncias ativas isoladas, de qualquer origem, nem as associações destas com extratos vegetais” (BRASIL, 2000).

Os fitoterápicos podem conter excipientes, além dos ingredientes ativos. Se ao material vegetal estão associadas substâncias ativas, definidas do ponto de vista químico, sintéticas ou isoladas de plantas, o produto final não é considerado um fitoterápico. Assim, planta medicinal não é fitoterápico. Em resumo o fitoterápico é medicamento vegetal, que, como tal, está submetido aos preceitos éticos enunciados pela Organização Médica Mundial e aos requisitos legais definidos pela legislação, no caso do Brasil é regulamentada pela ANVISA (BRASIL, 2000).

Face ao aumento crescente do uso da fitoterapia, aliado à existência de poucas pesquisas de qualidade nesta área – quando se compara as intervenções da medicina convencional e do difícil acesso à literatura sobre este assunto – surgem

questionamentos acerca da eficácia e segurança da utilização de fitoterápicos. O desconhecimento acerca das informações mínimas necessárias ao uso correto de plantas medicinais e de medicamentos fitoterápicos, aliados às dificuldades encontradas pelos profissionais da saúde para obtenção de informações de qualidade, tornam a fitoterapia um alvo fácil para a automedicação sem responsabilidade (ALEXANDRE; GARCIA; SIMÕES, 2005).

O aumento do uso indiscriminado desses recursos naturais, aliado ao conhecimento limitado sobre a ação dessas plantas, faz surgir questionamentos acerca da eficácia e segurança da utilização de fitoterápicos, assim, para garantir melhores respostas a estas lacunas, questionamentos, os ensaios clínicos devem ser conduzidos de acordo com alguns requisitos fundamentais: os medicamentos fitoterápicos devem ser elaborados com extratos padronizados, ou seja, com constituintes químicos conhecidos tanto do ponto de vista qualitativo como quantitativo; deve-se realizar um diagnóstico preciso dos pacientes a serem incluídos no ensaio; a população de estudo deve ser adequada para que os resultados possam ser extrapolados para a população total; os processos de randomização e cegamento devem ser adequados para minimizar os vieses e a superestimativa dos resultados (ALEXANDRE; GARCIA; SIMÕES, 2005).

3.3.2 Espécies vegetais com aplicação terapêutica para a saúde bucal

Segundo Toledo et al. (2003) como etapa prévia ao desenvolvimento de fitoterápicos faz-se necessário a realização de estudos etnobotânicos, os quais segundo Rodrigues e Carvalho (2001) são estudos concernentes à relação mútua entre populações tradicionais e as plantas. De posse do levantamento etnobotânico, define-se a espécie vegetal a ser estudada, bem como o local da coleta. Nesta fase inicial do trabalho científico, coleta-se um espécime da planta, prepara-se uma exsicata e faz-se a identificação botânica e o registro em um museu ou herbário. A segunda etapa de coleta, destinada ao estudo fitoquímico (o qual compreende as etapas de isolamento, elucidação estrutural e identificação dos constituintes mais importantes do vegetal, principalmente de substâncias originárias do metabolismo secundário, responsáveis, ou não, pela ação biológica), nesta etapa, escolhe-se a parte da planta que será

investigada (raiz, cascas do caule, caule, galhos, folhas, flores, frutos). Posteriormente, são realizados ensaios de atividade biológica para investigar a atividade farmacológica e toxicológica das substâncias isoladas, de frações obtidas ou extratos totais da droga vegetal (MACIEL; PINTO; VEIGA JÚNIOR, 2002; TOLEDO et al., 2003).

A utilização de plantas medicinais no tratamento das doenças bucais pode ser um método com inúmeras vantagens em relação ao tratamento alopático tradicional, uma vez que o Brasil é um país onde a maioria da população, não tem acesso a compra de produtos farmacêuticos sintéticos (FRANÇA et al., 2007).

A associação de plantas medicinais à prática odontológica é algo ainda muito recente (BUFFON et al., 2001; FERNANDES JÚNIOR et al., 2006).

a) Espécies vegetais de uso popular (etnobotânica)

O primeiro manuscrito conhecido a respeito da prática de utilização de plantas medicinais é datado de 1500 a.C. um papiro egípcio (Papiro de Ebers, nome do egiptólogo alemão Georg Ebers). Este contém cerca de 800 receitas e refere-se a mais de 700 drogas, incluindo babosa, absinto, hortelã, meimendo, mirra, cânhamo, óleo de rícino e mandrágora. Com esses ingredientes, os egípcios preparavam várias decocções, vinhos e infusões, além de pílulas, unguentos e emplastros (LIMA JÚNIOR, 2005; COSTA et al., 2008).

Estudos vêm sendo realizados procurando avaliar atividades de várias plantas, buscando conceitos culturais de tratamento e prevenção, estabelecendo a real importância do trabalho fitoterápico junto a comunidades carentes. Observando a utilidade de determinado fitoterápico de uso odontológico, Dnunes et al. (1999) procuraram enfocar plantas que possuísem atividade terapêutica comprovada e passível de utilização em Odontologia. Alguns exemplos são *Curcuma longa* L., *Anacardium occidentale* L. e *Matricaria recudita* L., com ação antiinflamatória; *Spilanthes acmela* e *Cymbopogon citratus*, com ação analgésica; *Brassica* sp. e *Malagueta capsicum*, *Gingiber officinal*, com ação revulsiva; *Lippia aff. alnifolia*, *Lippia sidoides*, *Myracrodruom urundeuva* e *Tabebuia avellanadae*, com ação antibiótica; *Symphytum officinale*, *Aloe* sp. e *Rosamarinus officinalis*, com ação cicatrizante; *Ocimum gratissimun*, *Cróton zenhtneri* e *Punica granatum* L., com ação anti-séptica.

Em um estudo de revisão realizado por Thaeri et al. (2011) foram descritas algumas plantas com atividade principalmente antigengivite como: *Sanguinaria Canadensis*, *Carum carvi*, *Matricaria recutita*, *Echinacea*, *Commiphora molm*, *Salvia officinalis*, *Aloe vera*.

Oliveira et al. (2007) realizaram uma extensa revisão de literatura acerca de indicações de plantas medicinais na odontologia em afecções como cáries, estomatites, gengivites, periodontites e outras. Foram encontradas espécies, distribuídas em 52 Famílias Botânicas, citadas como úteis no tratamento de afecções odontológicas. As plantas medicinais mais indicadas foram *Punica granatum* L. (10 citações), *Althaea officinalis* L. (8), *Salvia officinalis* L. (8), *Calêndula officinalis* L. (8), *Malva sylvestris* L. (7) e *Plantago major* L. (6).

Cavalcante et al. (2010), realizou um levantamento etnobotânico em sete cidades da 1ª regional de saúde do Estado da Paraíba, as plantas mais citadas pelos usuários de serviços públicos de saúde, raizeiros e os cirurgiões-dentistas, foram a romã (*Punica granatum*), o cajueiro roxo (*Anacardium occidentale*), aroeira (*Schinus terebinthifolius*), barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*).

Lima Júnior et al. (2005) e Santos et al. (2009a) estudaram a *Punica granatum*, com nome popular de romã. Conforme indicação popular e de cirurgiões-dentistas, este vegetal tem ação cicatrizante e é frequentemente utilizada no tratamento de afecções bucais, como a gengivite. Para tanto, é feito o cozimento da casca da *P. granatum* L. e utilizado na forma de bochechos (LIMA JÚNIOR et al., 2006).

Lima Júnior et al. (2006) e Santos et al. (2009a) referem que o *Anacardium occidentale*, com nome popular de cajueiro roxo, é usado como depurativo, cicatrizante e adstringente, indicado para feridas e úlceras da boca, na forma de cozimento de suas cascas.

No estudo etnobotânico realizado por Santos et al. (2009a) no município de João Pessoa-PB, o cajueiro roxo foi a segunda planta mais utilizada pelos usuários do serviço público de saúde.

No estudo de Lima Júnior et al. (2006) observou que a *Ximenia americana*, com nome popular de Ameixa Lima, no uso popular, o bochecho com a casca cozida tem sido utilizado durante o processo de cicatrização de feridas bucais.

No levantamento realizado por Santos et al. (2009a) sobre a planta *Stryphnodendron adstringens*, com nome popular de barbatimão, com raizeiros

(erveiros) de João Pessoa-PB, constatou-se que o barbatimão era a planta medicinal mais comercializada por estes e uma das mais indicadas para o sangramento gengival.

No estudo de Borba e Macedo (2006) a espécie vegetal que obteve maior diversidade de aplicação terapêutica para a saúde bucal foi o poejo (*Mentha pulegium* L.), seguida de goiabeira-branca (*Psidium guajava* L. var. *pyrifer*), açafraão (*Crocus sativus* L.), arnica-do-campo (*Camarea ericoides* St. Hil.), camomila (*Matricaria chamomilla* L.), mangava-brava (*Lafoensia pacari* A. St.-Hil.) e tanchagem (*Plantago major* L.).

A sucupira-preta (*Bowdichia virgilioides* H.B.K.), indicada para dor de dente, é citada por Macedo e Pacheco (2001), Borba e Macedo (2006), no Município de Cuiabá, MT.

O uso do gerbão (*Stachytarpheta elattior* Schult.), foi indicado para inflamação de dente (MEDEIROS; FONSECA; ANDREATA, 2004; BORBA; MACEDO, 2006).

Amann (1969) informa que as crianças no período de erupção podem ter naturalmente febre e diarreia, e aconselha o uso de uma colher pequena de pó de guaraná (*Paullinia cupana* Kunth) por dia, para facilitar a dentição, e camomila (*Matricaria chamomilla* L.) para abrandar a diarreia.

Observou-se o uso da goiabeira (*Psidium guajava* L. var. *pomifera*) e do fumo (*Nicotiana tabacum* L.), para limpeza dos dentes e gengiva (BORBA; MACEDO, 2006). Lorenzi e Matos (2002) enfatizam que o fumo é empregado na medicina popular mesmo antes da chegada de Colombo às Américas.

O estudo de Rosa, Maia e Gallo (2010) conclui que a atividade anti-infecciosa de *A. chica* pode ser usada na prevenção e tratamento das inflamações da boca causadas por bactérias e fungos, como também, para as indicações odontológicas de tratamento dos processos cicatriciais, através da lavagem das lesões, com o chá obtido na decocção ou infusão das folhas.

b) Espécies vegetais com estudos *in vitro*

As plantas são ricas em uma grande variedade de metabólitos secundários, como taninos, terpenóides, alcalóides, e flavonóides, que *in vitro* demonstraram ter propriedades antimicrobianas (COWAN, 1999).

Mais de 300 espécies de micro-organismos diferentes podem ser reconhecidas na cavidade oral. Os micro-organismos mais comuns encontrados na fase de gengivite foram bactérias gram-positivas aeróbias dentre estas podem ser citadas: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sp.*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis* (HARVEY; THORNSBERRY; MILLER, 1995)

Atualmente os tratamentos alternativos e a utilização de produtos naturais visando uma melhor qualidade de vida vem se tornando cada vez mais populares em todo o mundo, inclusive na Medicina Veterinária. Deste modo, a busca pelo potencial curativo das plantas e o estudo sobre espécies que apresentam efeito antimicrobiano, progride em grande velocidade. Vários trabalhos abordam espécies brasileiras (LOPES, 1991; MCCHESENEY; CLARK; SILVEIRA, 1991; PERES et al., 1997; GNAN; DAMELLO, 1999; BIAVATTI et al., 2001; PIERI et al., 2010), definindo-se, na maior parte deles, as substâncias responsáveis por este efeito.

Nos últimos anos, tem ocorrido um grande aumento no número de testes *in vitro* induzidos para atividades relacionadas a estágios de doenças e isto tem resultado em reuniões internacionais e publicações que compilam e discutem os testes disponíveis (HOSTETTMANN, 1991; BOHLIN; BRUN, 1999; GEBHARDT, 2000; O'NEILL; LEWIS, 2002).

Os testes *in vitro* são conhecidos como bioensaios e são utilizados em diversos laboratórios no mundo na descoberta de drogas e na pesquisa etnofarmacológica. São utilizados mais frequentemente culturas de células, enzimas ou receptores isolados como alvos para substâncias em teste, mas em alguns casos, pequenos animais podem ser utilizados, como por exemplo, o uso de nematódeos *Caenorhabditis elegans* para estudos de anti-helmintos (PERRETT; WHITFIELD, 1995). Os bioensaios *in vitro* mais antigos foram provavelmente utilizados na pesquisa de extratos e compostos com atividades antibacteriana e antifúngica, e estes foram seguidos por testes de citotoxicidade em células de mamíferos, frequentemente aplicados em programas para descoberta de agentes anticâncer (SUFFNESS, 1987) e, mais recentemente, na busca

por compostos com potenciais antivirais (VAN DEN BERGHE et al., 1986), particularmente HIV (CARDELLINA et al., 1993).

O efeito de extratos e constituintes isolados de plantas sobre microrganismos causadores da doença periodontal vem sendo comprovado em ensaios *in vitro* para bactérias isoladas da cavidade oral do homem (TAIWO; XU; LEE, 1999; CAI et al., 2000; HO et al., 2001). Várias espécies com ação antimicrobiana contra patógenos da cavidade oral vêm sendo estudadas, dentre as quais podem ser citadas: *Mosla chinensis* e *Pogostemon cablin* (OSAWA et al., 1990), *Schinus terebinthifolius* Raddi (GUERRA et al., 2000), *Acacia arábica* (ALMAS, 2001), *Malva sylvestris*, *Calêndula officinalis*, *Plantago major*, *Curcuma zedoarea* (BUFFON et al., 2001), *Melaleuca alternifolia* (GROPPO et al., 2002), *Perilla frutescens* Britton var. *Japonica* Hara (YAMAMOTO; OGAWA, 2002), *Hydrastis Canadensis* (HWANG et al., 2003), *Aframomum melegueta*, *Piper guineense*, *Xylopi aethiopica*, *Zingiber officinale* (KOONING; AGYARE; ENNISON, 2004), *Salvadora pérsica* (ALMAS; SKAUG; AHMAD, 2005), *Croton cajucara Benth* (ALVIANO et al., 2005), *Curcuma longa* L. (KIM et al., 2005), *Syzygium joabolanum* (LOGUERCIO et al., 2005), *Anacardium occidentale* Linn (PEREIRA et al., 2006c), *Punica granatum* Linn (MACHADO et al., 2002; CATÃO et al., 2005; PEREIRA et al., 2006b; VASCONCELOS et al., 2006), *Lippia sidoides* (BOTELHO et al., 2007), *Stryphnodendron adstringens* (SOUZA et al., 2007; SANTOS et al., 2009b), *Myracrodruon urundeuva*, *Psidium guajava* Linn (ALVES et al., 2009), *Copaifera langsdorffii*, *Copaifera officinalis* (PIERI et al., 2012).

Alguns outros autores procuraram avaliar a ação de extratos de plantas em bactérias resistentes a antibióticos, como Nascimento et al. (2000), que avaliaram a atividade antimicrobiana de extratos de *Achillia millifolium*, *Syzygium aromaticum*, *Melissa officinalis*, *Ocimum basilicum*, *Psidium guajava*, *Punica granatum*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis*, *Syzygium joabolanum* e *Thymus vulgaris* (mil-folhas, cravo-da-índia, erva cidreira, manjeriço, goiaba, romã, alecrim, sálvia, jabolão e tomilho respectivamente) e os fitofármacos (ácido benzóico, ácido cinâmico, eugenol e farnesol). Além disso, os possíveis efeitos sinérgicos da associação entre antibióticos e extratos vegetais foram estudados. O maior potencial antimicrobiano foi verificado para os extratos de cravo e jabolão, inclusive com maior atividade sobre os microrganismos resistentes a antibióticos (83,3%). Os extratos de sálvia e de mil-folhas não apresentaram nenhuma atividade antimicrobiana. A associação de antibióticos e

extratos vegetais ou fitofármacos mostrou que em alguns casos, ocorreu sinergismo, possibilitando que antibióticos já ineficazes apresentassem ação sobre estas bactérias.

No estudo *in vitro* de Haffajee e Socransky (2008) foi observado o efeito inibitório sobre 40 espécies de bactérias da cavidade oral, testando três agentes no qual a clorexidina a 0,12% foi mais eficaz do que o colutório com extrato de planta que foi mais efetivo que o colutório com essência de óleo de planta. O colutório com extrato de planta poderia servir como um colutório antimicrobiano natural alternativo para pacientes que não podem utilizar álcool, conservantes artificiais, flavorizantes e cores artificiais.

O efeito antimicrobiano de um dentifrício contendo *Aloe vera* foi demonstrado em um estudo *in vitro*, no qual o agente fitoterápico inibiu diversos microrganismos orais, tais como *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Actinomyces viscosus* e *Candida albicans* (LEE; ZHANG; LI, 2004).

O estudo de Almas (2002) concluiu que a clorexidina a 0,2% e o extrato de *Salvadora pérsica* a 50% tiveram um efeito similar sobre a dentina. O extrato de *S.persica* removeu mais lama dentinária do que a clorexidina.

c) Espécies vegetais com estudos *in vivo*

Vários estudos clínicos em humanos também foram realizados, utilizando-se enxágue oral com extratos ou soluções obtidas a partir dos extratos de plantas ou de seus constituintes isolados (BUSSCHER; PERDOK, 1992; VAN DER WEIJDEN et al., 1998; TENENBAUM; DAHAN; SOELL, 1999; JAGTAP; KARKERA, 2000; GONZALEZ et al., 2001), bem como a exposição direta a partes frescas das plantas, como casca, gravetos ou sementes (de MIRANDA et al., 1996; ADERINOKUN; LAWYOIN; ONYEASO, 1999; DAROUT; ALBANDAR; SKAUG, 2000). Em países em desenvolvimento (devido a costumes religiosos ou tradição), a Organização Mundial de Saúde recomenda a mastigação de “gravetos de plantas”, pela ampla disponibilidade, baixo custo e simplicidade de uso, como método de higiene oral, sugerindo a necessidade de mais pesquisas para avaliação do papel das plantas na higiene oral (WU; DAROUT; SKAUG, 2001).

No resultado do teste de evidenciação da placa bacteriana com solução de fucsina, a área de cobertura com placa foi de $22,4 \pm 5,3\%$ para a solução teste com óleo de copaíba, de $29,2 \pm 5,4\%$ para a solução controle positivo e de $54,6 \pm 8,8\%$ de cobertura para a solução controle negativo. Não houve diferença estatística entre a solução de óleo de copaíba e a de controle positivo, e observou-se diferença significativa entre esses grupos e o grupo controle negativo ($P < 0,001$) (PIERI et al., 2010).

O colutório oral contendo *Aloe vera* mostrou redução significativa de gengivite e acúmulo de placa (VILLALOBOS; SALAZAR; SÁNCHEZ, 2001). Um dentífrico com *Aloe vera* também foi testado e houve redução de gengivite e acúmulo de placa significativa em relação ao placebo (PRADEEP; AGARWAL; NAIK, 2012).

3.3.3 Gênero *Kalanchoe*

Kalanchoe é um gênero conhecido popularmente no Brasil, Índia, China e África por seu uso na cura de úlceras gástricas, ferimentos, artrites, infecções e reumatismo. O gênero *Kalanchoe* tem recebido uma atenção especial no Laboratório de Química de Produtos Bioativos (LPN-Bio), no Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais (UFRJ), coordenado pela Professora Sônia Soares Costa, em um programa de pesquisa de caráter interdisciplinar, visando à busca de substâncias polares bioativas. Considerado como um gênero pseudopantropical, possui apenas uma espécie na América, 56 no sul e leste africano, 60 em Madagascar, além de compreender espécies no sudeste asiático que se estendem até a China (ALLORGE-BOITEAU, 1996).

O nome do gênero, *Kalanchoe*, foi empregado pela primeira vez por Michel Adanson em 1763, que fez uma longa viagem de exploração ao Senegal, de 24 de abril de 1749 a 6 de setembro de 1753. Publicou em 1757 “Histoire Naturelle du Senegal” e, em 1763, “Les Familles Naturelles des Plantes”. Membro da Academia de Ciências, Adanson morreu em Paris em 1806 e indicou a China como país de origem da planta. Na China usa-se um nome o qual tem transcrição fonética de “Kalan Chauhuy”, que quer dizer: “Que cai e que cresce”, certamente uma referência à forma da planta propagar seus embriões foliares (COSTA et al., 1994).

Algumas espécies deste gênero são utilizadas pela população no tratamento de doenças infecciosas, ferimentos e infartamentos ganglionares. No Brasil, as espécies de *Kalanchoe* mais conhecidas e utilizadas pela população são *K. pinnata* e *K. brasiliensis*. Extratos de ambas as espécies são capazes de inibir a proliferação de linfócitos estimulada por mitógenos (COSTA et al., 1994; Da SILVA et al., 1995), enquanto extratos de *K. pinnata* e seus flavonoides possuem propriedades leishmanicidas importantes *in vitro* e *in vivo* (MUZITANO et al., 2006a, b, 2009).

As espécies *Kalanchoe pinnata* e o *Kalanchoe brasiliensis* Camb., ambas conhecidas popularmente como saião e folha da fortuna, são indistintamente utilizadas pela população com as mesmas finalidades curativas: tratamento de inflamações, cicatrização e úlceras (MORS; RIZZINI; PEREIRA, 2000).

A *Kalanchoe brasiliensis* Camb. (Crasulaceae) é uma erva medicinal brasileira, tradicionalmente aplicada para tratar feridas, abscessos, aumento de gânglios e processos inflamatórios (LUCAS; MACHADO, 1946; ROSSI-BERGMANN et al., 1997). É frequentemente usado na medicina popular brasileira como um extrato aquoso, e é conhecido por conter muitos flavonoides (ROSSI-BERGMANN et al., 1997).

Recentemente, em um estudo realizado em colaboração com o LPN-Bio, foi demonstrada a atividade antialérgica para extratos de *K. pinnata*, o que corrobora para o grande potencial de aplicação farmacológica desta espécie medicinal (CRUZ et al., 2008).

Os principais constituintes químicos encontrados no gênero são flavonoides glicosídicos, terpenos e bufadienolidos (COSTA; JOSSANG; BODO, 1995). Recentemente, uma revisão publicada por Costa et al. (2008) atualiza os conhecimentos sobre os metabólitos secundários e as propriedades biológicas de espécies de *Kalanchoe*.

3.3.3.1 *Kalanchoe gastonis-bonnieri*

A espécie *Kalanchoe gastonis-bonnieri* (Figura 9), que foi descrita por R. Hamet; H. Perrier é uma erva suculenta, com folhas grandes, carnudas, denteadas, espessas e formam mudas no ápice. É conhecida pelo nome popular de planta-da-vida, mala

madre e jacaré devido à forma de suas folhas e pertence à família Crassulaceae (LORENZI; SOUZA, 1995) ou também por folha da Amazônia (LIMA et al., 2009).

Figura 9 – *Kalanchoe gastonis-bonniei*

Fonte: Jardim do NPPN – UFRJ – S. S. Costa (2009)

É usada na medicina tradicional mexicana em distúrbios gêrito-urinários, infecções vaginais e como contraceptivo vaginal, uma vez que causa a inviabilização espermatoídica e alteração do plasma seminal (OSOSKI et al., 2002). É uma espécie utilizada na Amazônia, Minas Gerais e no México como anti-inflamatório. Ainda que estudos tenham confirmado a indicação popular no controle da dor e da inflamação (LOPES et al., 2002), são necessários estudos complementares para estabelecer melhor tal mecanismo. Apesar disto, são poucos os estudos validando o seu uso medicinal e a composição química da espécie era desconhecida até então.

Alguns autores referem a possibilidade do uso de *K. gastonis-bonnieri* como contraceptivo vaginal testado *in vitro* (OKO; CLERMENT, 1990; HUACUJA et al., 1995). Esta atividade foi observada como uma característica geral dos extratos de planta da família Crassulaceae (HUACUJA et al., 1985; HUACUJA et al., 1997).

No estudo *in vitro* de Menezes (2006) sobre a ação antimicrobiana da *K. gastonis-bonnieri* observou-se atividade nos Teste de Difusão em Disco e Concentração Inibitória Mínima sobre *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis* e não houve ação sobre *Staphylococcus aureus*, microrganismos presentes na cavidade oral de cães.

Considerando o potencial terapêutico e a falta de estudos químicos para a espécie, o trabalho de Correa (2010) visou o estudo fitoquímico de folhas de *K. gastonis-bonnieri* (KGB), com ênfase em flavonoides, bem como a avaliação do potencial terapêutico *in vitro* dos extratos de suas folhas (espécimes fora e na floração), flores e partes subterrâneas em Hiperplasia Prostática Benigna (HPB). Adicionalmente, esses extratos foram avaliados quanto à composição fenólica por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detecção por rede de diodos (CLAE-UV). O estudo químico de folhas de *K. gastonis-bonnieri* (espécimes fora da floração) permitiu a obtenção de dois flavonoides: apigenina 6-C-beta-D-glucopiranosídeo-8-C-beta-D-glucopiranosídeo (vicenina-2; KGB1) e quercetina 3-O-alfa-L-ramnopiranosídeo-7-O-beta-D-glucopiranosil-(1-3)-alfa-L-ramnopiranosídeo (KGB2). Este trabalho é pioneiro na descrição de flavonoides para a espécie, os quais são inéditos para a família Crassulaceae. Este é o primeiro relato do isolamento e da elucidação estrutural do flavonoide KGB2. Os extratos aquosos das diferentes partes vegetais de *K. gastonis-bonnieri* mostraram atividade inibitória da proliferação celular, com destaque para o infuso das partes subterrâneas que foi capaz de diminuir, inclusive, a viabilidade celular e induzir a morte celular das células de HPB por apoptose. O estudo preliminar da composição fenólica de *K. gastonis-bonnieri* por CLAE-UV permitiu sugerir a presença de derivados de ácido hidroxibenzóico, derivados hidrocínânicos e derivados lignânicos nos extratos aquosos, os quais podem estar relacionados à atividade inibidora da proliferação de células prostáticas no modelo de HPB.

No estudo de LIMA et al. (2009) foi realizada a comparação histoquímica de indivíduos, cultivados à sombra e ao sol, da planta *Kalanchoe gastonis-bonnieri*. Esta apresenta Metabolismo Ácido Crassuláceo (CAM). Observou-se a ocorrência de compostos químicos, distribuídos nos seguintes tecidos: flavonóides e substâncias

fenólicas em idioblastos no mesofilo; saponinas na epiderme e nos idioblastos; amido no parênquima clorofiliano, concentrado principalmente no entorno das nervuras; alcalóides e flavonóides no floema e lignina somente no xilema. No entanto, as plantas não apresentaram diferenças qualitativas na composição química, quando comparados os dois tratamentos, sol e sombra. Esta família apresenta adaptações a ambientes áridos e com radiação solar intensa. A maioria dos compostos químicos presentes na planta pode estar desempenhando a função de proteção, contra herbívoros e como antifúngico, podendo também atuar em sistemas simbióticos planta-fungo.

Em um estudo recente realizado por Legramandi (2011) observou-se que a fração acetato de *K. gastonis-bonnieri* foi ativa, com CIM de 31,25µg ml⁻¹ contra *C. neoformans* e *C. glabrata*, apresentando, ainda, CIM e CFM contra *C. parapsilosis* (62,5µg ml⁻¹). A atividade antimicrobiana foi estudada e mostrou-se que a espécie apresenta boa atividade contra diversas cepas de fungos. Ainda, esta atividade parece estar relacionada com a presença de terpenos no caso de *K. gastonis-bonnieri*, já que estes estavam presentes nas frações mais ativas. A presença de metabólitos secundários que apresentam boa atividade, associada à obtenção de drogas vegetais de qualidade e a possibilidade de realização de testes simples e de baixo custo para auxiliar na identificação destas espécies vegetais são motivos que justificam a continuidade dos estudos, podendo levar ao desenvolvimento de medicamentos que podem ser úteis na terapêutica auxiliando no combate a infecções fúngicas relacionadas a micro-organismos resistentes aos tratamentos convencionais. Além disso, a descrição de atividade antifúngica com espécies inéditas é uma esperança para o desenvolvimento de novos medicamentos antifúngicos com novos mecanismos de ação e, portanto, inovadores e úteis na terapêutica.

3.4 PRECAUÇÕES NO USO DE PLANTA MEDICINAIS

O uso de recursos naturais é estimulado, muitas vezes, de maneira pouco criteriosa. Os conhecimentos empíricos acumulados no passado, advindos da tradição cultural aliado aos científicos desenvolvidos ao longo do tempo, mostram que as plantas medicinais e os medicamentos fitoterápicos também podem causar efeitos adversos, apresentar toxicidade e contraindicações de uso. O princípio de que o

benefício advindo da utilização de um produto com finalidade medicamentosa deve superar seu risco potencial deve ser aplicado também aos produtos da medicina tradicional/popular (ALEXANDRE; GARCIA; SIMÕES, 2005).

Milhões de animais são usados todos os anos em dolorosos e aflitivos experimentos científicos. A legislação em sociedades modernas é baseada na suposição que seja eticamente aceitável (KOLAR, 2006). Os principais parâmetros neste contexto correspondem ao conceito dos “3Rs”, repor, refinar e reduzir, definido por Russell e Burch (1959). Tem sido reconhecido que a adoção dos “3Rs” pode melhorar a qualidade da ciência. Experimentos realizados apropriadamente, que minimizam a variação, proporcionam melhores condições padronizadas de cuidados com os animais e minimizar o estresse e dor desnecessários, frequentemente produzem dados mais confiáveis (FLECKNELL, 2002). Em estudo realizado por Midtlyng et al. (2011) considerando-se o conceito dos “3Rs” foi concluído que como uma medida imediata para realização de testes com animais deveria ser avaliado e modificado seguindo-se o refinamento e a redução, por exemplo, o número de peixes no controle desprotegido no teste de vacinação desafio deve ser reduzido ao mínimo.

Direcionando-se estes estudos para odontologia, as diretrizes incluiriam testes de provisões de eficácia clínica, perfis toxicológicos e avaliação microbiológica para placa supragengival. O subcomitê também determina que os testes toxicológicos também pudessem incluir subpopulações de animais que retratam a humana e que estudos adequados *in vivo* de toxicidade aguda e crônica em várias espécies animais poderiam ser testados. Poder-se-ia utilizar: dose única, doses repetidas, estudos de irritação oral, farmacocinética e biodistribuição e sensibilização da derme. Para agentes que seriam utilizados diariamente ou por longo período, estudos de potenciais toxicológicos e carcinogênicos devem ser considerados. Todos os estudos devem incluir controles negativos e positivos, com dosagens conhecidas. Observações durante o teste clínico sobre irritações de mucosa devem ser consideradas (WU; SAVITT, 2002).

No trabalho de Beltrán et al. (2003) a planta *K. gastonis-bonnieri* teve atividade comprovada para regulação da fertilidade masculina, por afetar a motilidade, viabilidade e densidade do esperma humano *in vitro*. Além, de no mesmo estudo ter sido observado que a toxicidade foi de 13g/Kg de peso corporal, que induziu 80% de letalidade em ratos (*in vivo*) e a dose letal foi estimada em 11g/Kg de peso corporal. Estes resultados sobre a toxicidade foram similares em outros estudos com espécies de Kalanchoes como: *K. daigremontana*, *K. fedtschenki* e *K. tubiflora*. Quando alguns

efeitos tóxicos foram observados em frangos após a administração de 10g/Kg de peso corporal (WILLIAM'S; SMITH, 1984)

Em relação à toxicidade de plantas nos experimentos com animais Melo et al. (2006) verificaram a toxicidade do extrato bruto seco (EBS) do cajueiro em cães. Para tanto, foi determinado previamente, os parâmetros hematológicos e bioquímicos do sangue destes animais, para em seguida ser realizado os ensaios toxicológicos. Durante quatro semanas, estes receberam 126mg/kg (nove vezes a dose de uso popular). Ao fim do experimento novas amostras de sangue foram coletadas com fins de determinação dos parâmetros hematológicos e bioquímicos. Os resultados obtidos demonstraram que o EBS alterou os parâmetros hematológicos e bioquímicos observados para a elevação das enzimas hepáticas AST (aspartato transaminase) e ALT (alanina transaminase), indicando anormalidade na função hepática. Os demais parâmetros apresentaram níveis normais. No entanto, vinte e um dias após o tratamento os níveis retornaram ao normal. Assim, percebe-se que para o registro do fitomedicamento é necessária a comprovação de sua eficácia e ausência de toxicidade frente a ensaios pré-clínicos e clínicos.

O *Animal Poison Control Center* recebeu 30 chamadas sobre possíveis exposições à planta *Kalanchoe* das quais 12 tiveram sinais clínicos após ingestão de kalanchoe (quatro cães e oito gatos). A maioria dos casos foi relatada em Ilínois (33%), seguido da Califórnia (17%), Nova Iorque (17%) e Pensilvânia (17%). Os sinais mais comuns foram vômitos (23%), depressão (13%), taquicardia (7%) e diarreia (7%) (MYLEWSKI; KHAN, 2006).

Outra questão importante em relação aos cuidados com a experimentação animal é a utilização de plantas medicinais que podem desencadear outras doenças dependendo das dosagens utilizadas, na literatura foi descrito que os flavonoides são frequentemente encontrados em medicamentos derivados de plantas, que tem uma grande variedade de atividades biológicas incluindo efeitos antioxidante (MIDDLETON, 1984) e antitireoide (CODY; KOEHRLE; HESCH, 1989; LINDSAY; GAITAN; COOKSEY, 1989; DIVI; DOERGE, 1995; DOERGE; DIVI, 1995). Previamente foi relatado que o consumo de flavonoides e outros xenobióticos em experimentos com animais reduziu tanto a captação de íons iodo da tireoide quanto a atividade da tireoperoxidase (TPO), produzindo mudanças histológicas na glândula da tireoide (CODY; KOEHRLE; HESCH, 1989; LINDSAY; GAITAN; COOKSEY, 1989).

No estudo de Ferreira, Rosenthal e Carvalho (2000) foi observado que o extrato

aquoso de *K. brasiliensis* inibiu competitivamente a atividade de oxidação do iodo da TPO. O efeito inibitório da TPO poderia levar à diminuição do iodo tireoidiano *in vivo* e poderia ser goitrogênico, capaz de provocar hipotireoidismo (LINDSAY; GAITAN; COOKSEY, 1989). Entretanto, não existem estudos que comprovem a relação da utilização prolongada de *K. brasiliensis* com hipotireoidismo (FERREIRA; ROSENTHAL; CARVALHO, 2000).

Acredita-se que o uso intermitente, ou baixas doses de extrato de *K. brasiliensis* podem não ter efeito significativo sobre os hormônios tireoidianos. Entretanto, é possível que com o uso crônico poderia ocorrer um prolongado efeito inibitório na síntese do hormônio tireoidiano, e caso permaneça a tendência do uso descontrolado de produtos naturais, isto pode levar ao hipotireoidismo, especialmente em regiões de baixo teor de iodo (FERREIRA; ROSENTHAL; CARVALHO, 2000).

3.5 CLOREXIDINA

Em 1940, cientistas ao pesquisarem sobre agentes antimaláricos formularam componentes chamados de polibiguanidas com ação antimicrobiana. A clorexidina é comumente usada como um agente antiplaca. A sua fórmula estrutural consiste de dois anéis simétricos 4-clorofenil e dois grupos biguanida conectados por uma cadeia central de hexametileno (BRECX; THEILADE, 1984)

3.5.1 Mecanismo de Ação

O mecanismo de ação da clorexidina é inespecífico. Inicialmente a clorexidina se liga a múltiplos locais da superfície da bactéria, causando ruptura no sistema de transporte na membrana da célula. O resultante desbalanceamento osmótico aumenta a permeabilidade da membrana, permitindo que a clorexidina entre, onde ela precipita o conteúdo, causando a morte da célula (HENNESSEY, 1977; ROBINSON, 1995).

A clorexidina é uma base estável como um sal. A preparação oral mais comum de digluconato de clorexidina é solúvel em água e, num pH fisiológico, prontamente se

dissocia liberando o componente clorexidina carregado positivamente. Seu efeito bactericida da droga é devido à molécula catiônica que se liga aos complexos microbianos e às paredes das células microbianas negativamente carregadas, alterando assim o equilíbrio osmótico das células (BRECX; THEILADE, 1984).

Rölla e Melsen (1975) sugeriram também que a clorexidina funciona para inibir a formação de placa bacteriana por dois mecanismos, sendo um deles por se unir aos grupos de ácidos aniônicos nas glicoproteínas salivares, desta maneira reduzindo a formação da placa bacteriana, e o outro pela sua união às bactérias salivares interferindo com sua adsorção ao dente.

3.5.2 Propriedades

3.5.2.1 Antisséptica

A clorexidina é bactericida e efetiva contra organismos gram positivos, gram negativos e leveduras (GREENSTEIN; BERMAN; JAFFIN, 1986). Hennessey (1973) relatou que os gram positivos são mais afetados que os gram negativos e que *Streptococcus* são mais afetados que *Staphylococcus*.

3.5.2.2 Antiplaca e Antigengivite

No estudo de Loe e Schiöutt (1970) em pacientes humanos, o bochecho com 10ml de solução de clorexidina a 0,2%, resultou na supressão de novos depósitos de placa bacteriana. Após cessada a aplicação da clorexidina, a placa bacteriana reapareceu e a contagem salivar de organismos retornou aos valores de referência dentro de 48 horas (SCHIÖUTT; LÖE; BRINER, 1976).

A clorexidina foi usada como um agente ativo em muitos estudos clínicos incluindo colutórios pós-cirúrgicos (LINDHE; NEWMAN, 1975; WESFELT et al., 1983) e seu efeito benéfico potencial foi demonstrado (SANZ et al., 1989; JONES, 1997; ADDY,

2003; GUNSOLLEY, 2006). Newman e Addy (1982) mostraram que os escores de inflamação gengival e de placa foram menores quando aplicado clorexidina do que com solução salina.

Os índices de placa bacteriana foram similares com um único enxágue pela manhã ou à tarde. Entretanto com o uso de um único enxágue os índices foram maiores do que aqueles notados após dois enxágues diários (ADDY et al., 1982).

Löe et al. (1976) relataram que a aplicação de clorexidina resultou em diminuição da quantidade de placa bacteriana e gengivite; notou-se que após 24 meses não houve diferença estatística significativa para índice de gengivite entre os grupos de teste e de controle. Isto pode ser atribuído à inabilidade do agente em penetrar subgengivalmente e enfatiza que o debridamento é um adjuvante necessário.

No estudo de Gruet et al. (1995) observou-se que com o uso de bioadesivo com clorexidina, por 14 dias, localizado na mucosa labial de cães, foram reduzidas halitose, placa bacteriana, bactérias anaeróbias e espiroquetas. A aplicação de um gel dental com clorexidina reduziu o acúmulo de placa bacteriana em pouco tempo e poderia ser considerado para uma aplicação por longo período para melhorar a saúde oral de cães (HENNET, 2002).

3.5.2.3 Substantividade

A clorexidina tem uma eficácia antiplaca incomum derivada da sua habilidade de adsorção a substratos aniônicos (hidroxiapatita, película, glicoproteínas salivares e membranas mucosas) (GREENSTEIN; BERMAN; JAFFIN, 1986), chamada de substantividade.

Bonesvoll et al. (1974), usando clorexidina marcada radioativamente, determinaram que aproximadamente 30% da substância foi retirada depois que um paciente bochechou 10ml de solução de clorexidina a 0,2% durante um minuto. A ligação da clorexidina foi liberada entre um período de oito e 12 horas e concentrações fracas foram encontradas na saliva até 24 horas.

A liberação lenta da substância nos locais de retenção provê um efeito prolongado (GREENSTEIN; BERMAN; JAFFIN, 1986). A clorexidina possui boa substantividade, isto é, grande habilidade de se aderir aos tecidos orais, incluindo a

superfície dos dentes, subsequentemente é liberada em uma forma ativa. Depois de uma única aplicação, permanecem concentrações suficientes por 12 horas de ação antimicrobiana (ROBINSON, 1995; GIOSO, 2007).

3.5.2.4 Metabólica e Toxicológica

A absorção reduzida de clorexidina é um fator para sua baixa toxicidade. Experimentos conduzidos com bochechos de clorexidina marcada radioativamente indicaram que a penetração na mucosa e na gengiva foi mínima (MAGNUSSON; HEYDEN, 1973), e que foi pouco absorvida no trato gastrointestinal (CASE, 1977).

Bonesvoll (1977) relatou que quando enxágues de clorexidina oral foram utilizados, 4% da solução e todo o fármaco absorvido foram eventualmente engolidos; 90% do agente retido foram excretados nas fezes e o restante foi eliminado via trato urinário.

3.5.3 Efeitos Colaterais

O efeito colateral mais comum da clorexidina é a formação de manchas marrons que se desenvolvem no terço gengival e interproximal nos dentes afetados. Isto ocorre em aproximadamente 50% dos pacientes que utilizam durante vários dias. Manchas na língua também têm sido relatadas (LÖE et al., 1976; ADDY, 2003; SANTOS, 2003). O mecanismo preciso não foi determinado, mas isto pode ser causado pela dieta (ELLINGSEN; ROLLA; ERIKSEN, 1982).

Tem sido relatado que, ocasionalmente, reduz a palatabilidade por várias horas (GREENSTEIN; BERMAN; JAFFIN, 1986; ADDY, 2003; SANTOS, 2003). Após cessar a terapia as sensações voltam ao normal. Colutórios orais de clorexidina com aromatizantes foram parcialmente bem sucedidos por reduzirem o sabor amargo da clorexidina (GREENSTEIN; BERMAN; JAFFIN, 1986). No estudo de Rawlings, Gorrel e Markwell (1998) em cães, com a utilização de solução de clorexidina a 0,2%, não foi observada redução de palatabilidade nem ulcerações na mucosa oral.

Não houve efeito sistêmico colateral atribuído à aplicação da clorexidina após dois anos de uso em humanos (SCHIÖUTT; LÖE; BRINER, 1976).

Efeitos locais tem limitado o uso da clorexidina por longos períodos de tempo, promovendo o interesse, no meio científico, na determinação de agentes antiplaca alternativos (WU; SAVITT, 2002; ADDY, 2003) com melhor tolerância e eficácia similar (JONES, 1997).

3.5.4 Uso Clínico

Como uso clínico da clorexidina pode-se citar redução da gengivite em casos de inflamação gengival grave e doença periodontal com uso de clorexidina por uma ou duas semanas após terapia periodontal profissional. A clorexidina promove tratamento de lesões traumáticas, inflamatórias ou ulcerativas, prevenindo ou resolvendo a bacteremia e a infecção bacteriana secundária (ROBINSON, 1995).

A bacteremia ocorre durante os procedimentos dentais em humanos e cães, e pode ser fonte para infecções sistêmicas (ZETNER; THIEMANN, 1993).

No trabalho de Nieves et al. (1997) comprovou-se essa teoria, comparando-se o isolamento de bactérias da placa dental e do sangue durante e após procedimentos dentais de rotina em cães. Os autores encontraram bacteremia em todos os 20 cães estudados, após aproximadamente 40 minutos do procedimento, sendo que de 60 a 90% dos gêneros bacterianos encontrados na placa, encontravam-se também no sangue desses animais. Essa bacteremia, portanto, pode persistir após o tratamento dentário, não estando associada com a gravidade da doença dental.

Antes do tratamento periodontal da cavidade oral, deve ser realizada a livre aplicação de solução de clorexidina, pois com a ação dos raspadores mecânicos ocorre a produção de aerossol contendo enorme quantidade de bactérias orais que tornam o ambiente contaminado por muitas horas. Este é um risco para a saúde do médico veterinário e sua equipe, mesmo quando se utiliza máscara, óculos e gorro de proteção. Com este adjuvante reduz-se a quantidade de bactérias em aspersão e a bacteremia no próprio animal. Entretanto, este efeito é limitado pelo difícil acesso da solução no espaço subgengival, além de não reduzir o total da unidade formadora de colônia (UFC) presente (BOWERSOCK et al., 2000). Alguns hospitais veterinários têm

minimizado drasticamente este risco de contaminação, por meio da criação de uma sala odontológica separada, longe da sala de preparação cirúrgica e da sala de cirurgia. Para aqueles hospitais cujos projetos não permitem salas separadas, a descontaminação da boca antes do procedimento cirúrgico pode ser uma prática alternativa. Muitos colutórios de clorexidina oral são justamente fabricados com esse propósito (MICHELL, 2005).

Após o tratamento periodontal recomenda-se enxágues orais para promover o fim da inflamação gengival e o retardo da recolonização por bactérias (ROBINSON, 1995).

O uso de clorexidina junto com pastas dentais pode ser inapropriado devido ao potencial de interações entre os ingredientes e subsequente inativação do agente (ADDY et al., 1982).

3.5.5 Cálculo Dentário

Alguns estudos indicam que o uso de solução de clorexidina é ineficaz em relação ao acúmulo de cálculo dentário (HULL; DAVIES, 1972; LÖE et al., 1976; LANG et al., 1982; GROSSMAN et al., 1986; YATES et al., 1993; ADDY, 2003; SANTOS, 2003). Entretanto, outros estudos mostraram que, com a redução da formação de placa bacteriana, por meio da aplicação regular de clorexidina, reduz-se subsequentemente a deposição de cálculo dentário, pois a placa bacteriana é o substrato para que o cálculo seja formado (SCHROEDER, 1969; GRUET et al., 1995; RAWLINGS; GORREL; MARKWELL, 1998). Porém, o cálculo pode ser formado na ausência de bactérias (FITZGERALD; MCDANIEL, 1960). Bactérias mortas ou não viáveis liberam pirofosfatos (PELLAT; GRAND, 1986), o que leva a uma diminuição local dos níveis de pirofosfatos naturais e de saliva, potencializando a mineralização da parede celular bacteriana. Desta maneira, pode-se explicar o fenômeno de que embora a clorexidina seja um agente potencial antiplaca, ela causa atualmente, aumento na formação de cálculo supragengival. Este aumento não diminui o efeito terapêutico da clorexidina, entretanto, mesmo os pacientes com aumento de cálculo tiveram redução de gengivite (FAIRBROTHER; HEASMAN, 2000).

3.6 AGENTES COM AÇÃO ANTICÁLCULO

Embora uma grande variedade de agentes, desde solventes industriais a enzimas terem sido testadas, a estratégia de maior sucesso no controle de cálculo tem sido a prevenção da mineralização da placa e os agentes anticálcio mais populares são os baseados em zinco ou pirofosfatos (MANDEL, 1995). O uso a longo prazo de dentífricos anticálcio poderia reduzir a quantidade de acúmulo de cálculo, e assim, influenciar na necessidade da rotina de raspagem, em termos de tempo e intervalo entre profilaxias (NETUVELI; SHEIHAM, 2004). A presença de inibidores da cristalização pode prevenir ou retardar a formação da fase mineral do cálculo dentário (GRASES et al., 2009).

Agentes anticálcio estão onipresentes em dentífricos e colutórios orais, frequentemente contendo mais de um agente ativo. Isto foi claramente demonstrado em estudos controlados sobre a eficácia na redução do acúmulo de cálculo, entretanto a observação clínica em longo prazo ainda deve ser determinada (FAIRBROTHER; HEASMAN, 2000).

No artigo de revisão de Fairbrother e Heasman (2000) vários agentes com ação anticálcio foram descritos relacionando-os aos seus mecanismos de ação, dentre estes pode-se citar alguns ácidos, álcalis, agentes quelantes de cálcio, enzimas, a ureia, alguns compostos de agentes químicos, antimicrobianos, os inibidores de mineralização, alguns metais, bifosfonados, a vitamina C, alguns pirofosfatos, polímeros e copolímeros.

O mais importante neste caso seria o inibidor de calcificação, que para ser efetivo, precisa interferir no desenvolvimento de cristais. Estes crescem em locais de imperfeições estruturais. Eles possuem alguns tipos de mecanismos de ação, dependendo do seu tipo e concentração. Como a mudança na morfologia do cristal, estabilização das fases iniciais do crescimento dos cristais, inibição do crescimento do cristal, adsorção dentro do crescimento do cristal substâncias mais solúveis do que o cristal inicial e a formação de complexos solúveis (FAIRBROTHER; HEASMAN, 2000).

3.7 MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DOS ÍNDICES DA CAVIDADE ORAL

Em odontologia veterinária, os métodos de quali-quantificação da doença periodontal e da higiene oral têm sido utilizados principalmente para avaliação de produtos com potencial preventivo no acúmulo de cálculo dentário (ROSEMBERG; REHFELD; EMMERING, 1966; SMITH; ZONTINE; WILLITS, 1985).

Os índices são usados nas avaliações dentais de cães e gatos para permitir a análise estatística da extensão da acumulação de placa bacteriana e cálculo dentário. Eles são baseados nos índices usados previamente em humanos e estudos laboratoriais em Beagles (LINDHE; HAMP; LÖE, 1975)

A doença periodontal é de difícil mensuração objetiva. Vários índices medindo o acúmulo de placa bacteriana e a gengivite têm sido criados em humanos. O índice de Silness e Løe e a modificação de Turesky (1970) do índice de placa bacteriana de Quigley e Hein (1962) são exemplos de sistemas bem aceitos para obtenção da área acometida pela placa bacteriana, mas poderia ser benéfico considerar-se um novo sistema de mensuração em cães (HENNET, 1999).

Logan e Boyce (1994) afirmam que o fator chave no desenvolvimento e uso de um sistema de escore válido é o uso de examinadores consistentes; qualquer método utilizado requer examinadores bem treinados, mas sempre haverá uma intra e inter variabilidade dos avaliadores e o uso dos mesmos avaliadores durante todo estudo é a abordagem usualmente utilizada para minimizar essa variabilidade.

Hoje, um método muito usado de avaliação é o de Logan e Boyce (1994), no qual se utiliza o índice de placa bacteriana e o índice de cálculo. No índice de placa bacteriana utiliza-se a coloração dos dentes com o agente eosina aquosa a 2% que rapidamente identifica a área acometida por placa bacteriana organizada e estima a espessura baseando-se na intensidade da coloração. O dente a ser avaliado é dividido nas metades gengival e oclusal e para cada parte é designado um escore (Tabela 1 e Quadro 3) separado para área acometida pela placa bacteriana e para a espessura da placa bacteriana (intensidade de coloração). Uma escala de índice em intervalos é mais confiável, do que a escala sem intervalo, pois os resultados são mais precisos (SÖDER; JIN; SÖDER, 1993).

Tabela 1 - Sistema de índice de cálculo e de placa bacteriana de Logan e Boyce (1994). A área da face vestibular da coroa dental acometida, em relação à face vestibular total, é determinada atribuindo-se um escore de acordo com os dados dos intervalos de percentagem abaixo

<i>Índice</i>	<i>% de área de superfície dentária acometida</i>
0	0
1	1 a 24 %
2	25 a 49%
3	50 a 74 %
4	75 a 100%

Quadro 3 - Sistema de índice de intensidade de cor do cálculo dentário e de placa bacteriana, corada com eosina a 2% de acordo com Logan e Boyce (1994). Cada dente estudado recebe um escore de cor, que multiplica o escore de área acometida. A média de todos os escores dos dentes é o índice de cálculo e de placa da cavidade oral

Índice	Cálculo dentário	Placa bacteriana organizada e evidenciada por eosina aquosa a 2%
1	Amarelo claro	Rosa a vermelho claro
2	Marrom claro	Vermelho
3	Marrom escuro	-----

O escore de cada metade é calculado multiplicando-se o escore da área pelo da espessura. Os escores gengival e oclusal são somados para obter o total do dente; a soma de todos os escores é dividida pelo número de dentes avaliados, obtendo-se o índice de placa bacteriana (LOGAN; BOYCE, 1994).

Uma limitação da análise da doença periodontal é a imprecisão dos dados obtidos pela avaliação visual humana e a necessidade de que os avaliadores sejam bem treinados e padronizados. Vários índices que medem o acúmulo de placa bacteriana e gengivite em humanos têm sido propostos, mas poderia ser benéfico considerar-se um novo sistema de mensuração em cães (SÖDER; JIN, SÖDER, 1993; HENNET, 1999). A avaliação visual pode-se tornar não representativa, pois as formas irregulares dos dentes tornam difícil a avaliação objetiva da área, e a aplicação apropriada dos índices utilizados em humanos e modificados para o uso em cães e gatos tem sido questionada (HARVEY, 2002).

A inovação no método de avaliação com a utilização de programas computadorizados traz a precisão matemática para a análise do índice de placa bacteriana e do índice de cálculo dentário. Desse modo, apenas um avaliador e uma medição são necessários. Esse método pode contribuir para que as novas pesquisas de avaliação da progressão da doença periodontal e da inibição do biofilme bacteriano dental de cães, com a utilização de produtos odontológicos veterinários específicos,

sejam seguras e precisas, além de serem fornecidos subsídios para uso em outras espécies (ABDALLA et al., 2009).

No estudo de Abdalla et al. (2009) as imagens digitalizadas foram analisadas em computador com o auxílio dos programas gratuitos *GIMP 2* para tratar a imagem, do *ImageJ* para se obter as mensurações e do *Broffice.org Calc* para se obter as percentagens das áreas das superfícies vestibulares dos dentes acometidos por placa ou cálculo em relação à área total de cada dente.

No estudo de Pieri et al. (2010), com cães, também foram realizadas avaliações computadorizadas das imagens, que foram analisadas em pacote gráfico Imagelab 2.4 (Softium, Ceará, Brasil).

Em humanos há algum tempo já se realizam estudos com avaliações computadorizadas como nos estudos de Söder, Jin e Söder, (1993) e Staudt et al. (2001).

O *Veterinary Oral Health Council* (VOHC, 2012) recomenda um protocolo padrão para realização de experimentos relacionados com placa bacteriana e cálculo dentário, no qual os animais devem apresentar peso, conformação de crânio e idade similares. A saúde geral deve ser avaliada por meio de exame clínico e laboratorial e se apresentar dentro dos padrões de normalidade. A dieta deve ser padronizada com ração seca comercial. Todos os dentes listados devem estar presentes, intactos, com oclusão normal. No dia zero os dentes devem ser limpos e polidos, para que o escore de placa bacteriana e cálculo dentário seja zero no início do experimento. Para validação do modelo experimental para teste de agentes químicos deve-se seguir os requisitos preconizados pelo VOHC, no qual a diferença mínima requerida, comparando-se o grupo tratado com o controle negativo deve ser de 15% e comparando-se os grupos controles negativo e positivo, deve ser de 20 % em cada julgamento, além de que deve existir uma diferença estatística em cada julgamento com $p < 0,05$.

3.8 SOLUÇÕES EVIDENCIADORAS DE PLACA BACTERIANA ORGANIZADA

No estudo de Silva, Paranhos e Ito (2002) foram testadas clinicamente e avaliadas visualmente soluções evidenciadoras de placa bacteriana, quanto à capacidade em corar o biofilme da prótese total, permitindo a identificação das áreas

contendo biofilme organizado. Foi relatado que cinco soluções (azul de metileno a 0,05%, eritrosina a 5%, fluoresceína sódica a 1% e vermelho neutro a 1%) foram excelentes evidenciadores, que coraram o biofilme de forma intensa, possibilitando a correta determinação do contorno das áreas contendo biofilme, e duas (eosina a 1%, proflavina monossulfato a 0,3%) foram bons evidenciadores, que coraram o biofilme de forma mais fraca, mas possibilitaram a determinação do contorno das áreas com biofilme. As soluções que apresentaram melhores resultados para facilidade de remoção foram eosina a 1%, eritrosina a 5%, fluoresceína sódica a 1%, vermelho neutro a 1%, proflavina a 0,3% e azul de metileno a 0,05%, respectivamente.

Para os estudos que avaliam a atividade antimicrobiana de produtos com possíveis ações antiplaca, é importante conhecer a capacidade antimicrobiana do evidenciador de placa bacteriana. O uso aleatório de um evidenciador pode interferir nos resultados se ele apresentar capacidade antibacteriana. Silva, Paranhos e Ito (2002) relataram que na avaliação da ação antimicrobiana, as soluções que não apresentaram ação contra leveduras (*Candida albicans*) e *Streptococcus mutans* foram eosina a 1%, fluoresceína sódica a 1% e vermelho neutro a 1%. As soluções que não apresentaram ação somente contra leveduras foram eritrosina a 5%, proflavina a 0,3%. Deste estudo pode-se concluir que as soluções que apresentaram capacidade em corar o biofilme, facilidade de remoção da superfície da prótese e não apresentaram ação antimicrobiana foram eosina a 1%, vermelho neutro a 1% e fluoresceína sódica a 1%. Essas soluções podem ser empregadas em estudos que avaliam produtos específicos com ação antiplaca.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi aprovado pela Comissão de Bioética da FMVZ/USP sob o número de protocolo 1782/2009, e pelo Comitê de Ética do Instituto de Veterinária da UFRRJ.

4.1 ANIMAIS

Foram utilizados 34 cães adultos (de um a oito anos), da raça Beagle, machos e fêmeas, pesando em média 12,5 kg, de temperamento dócil e que permitiam a manipulação oral, oclusão normal, acometidos por doença periodontal até o estágio dois de acordo com a classificação do *American Veterinary Dental College* (AVDC, 2012). Animais que preencheram esses critérios e que, contudo manifestassem sinais de outras enfermidades foram excluídos do estudo.

Os cães foram alocados em canis individuais, no canil de experimentação do Laboratório de Desenvolvimento de Produtos Parasiticidas do Departamento de Parasitologia Animal da UFRRJ sob a supervisão do Professor Doutor Fábio Barbour Scott, mantidos sob condições padronizadas de alimentação e manejo.

Para facilitar a avaliação dos animais, o experimento foi realizado em etapas com lotes de dez animais por período.

Os indivíduos já haviam sido identificados por meio de leitores eletrônicos de microchips injetáveis, os quais foram aplicados na região cervical dorsal dos cães para cadastro, ao chegarem ao Laboratório de Desenvolvimento de Produtos Parasiticidas do Departamento de Parasitologia Animal da UFRRJ.

4.2 SUMO DE *Kalanchoe gastonis-bonniieri*

O sumo foi preparado no Laboratório de Química de Produtos Bioativos (LPN-Bio) do Núcleo de Pesquisas em Produtos Naturais da Universidade Federal do Rio de

Janeiro e cedida para experimentação, sob supervisão da Prof. Dra. Sonia Soares Costa.

A espécie de planta utilizada foi *Kalanchoe gastonis-bonnieri*, com base em estudos prévios sobre efeitos antimicrobianos de plantas medicinais (MENEZES, 2006).

4.2.1 Preparo do extrato de *K. gastonis-bonnieri*

As folhas de *Kalanchoe gastonis-bonnieri* foram coletadas no início da manhã em um jardim residencial na cidade do Rio de Janeiro na data de 26 de maio de 2009. Uma amostra fora da floração do material foi identificada e sua exsicata (RGA 31592) está depositada no Herbário do Departamento de Botânica no Instituto de Biologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Algumas destas folhas (massa = 448,57g) foram picadas e trituradas para obtenção de sumo, após a adição de água destilada (10%). O material homogeneizado foi filtrado em papel de filtro, depois em algodão, até a obtenção de um extrato translúcido. Isto é, havia 1g de *Kalanchoe gastonis-bonnieri* para cada 10ml do extrato translúcido.

4.3 PRÉ-EXPERIMENTO

Estudos preliminares foram realizados em quatro animais com as mesmas características e cuidados descritos para os animais de experimentação, independente da presença de doença periodontal, para ajuste do método de aplicação da solução teste, e verificação de possíveis reações locais indesejáveis, como: ulcerações, pigmentações, descamações e inflamações em tecidos orais, ou outras inesperadas, durante 28 dias.

4.4 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Foram utilizados 30 animais distribuídos em três grupos de 10, submetidos aos seguintes experimentos:

Grupo T: TRATADO, no qual foi realizado o tratamento de raspagem periodontal clássica (MICHELL, 2005) e, posteriormente, a aplicação da solução aquosa de extrato vegetal (*Kalanchoe gastonis-bonnieri*).

Grupo CN: CONTROLE NEGATIVO, no qual foi realizado o tratamento de raspagem periodontal clássica e aplicação de solução fisiológica.

Grupo CP: CONTROLE POSITIVO, no qual foi realizado o tratamento de raspagem periodontal clássica e aplicação de solução de clorexidina a 0,12%².

4.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

4.5.1 Pré-operatório

Inicialmente os animais foram submetidos ao exame físico individual. Os animais que ao exame físico foram identificados sinais ou sintomas de outras enfermidades foram desqualificados e não incluídos no experimento. A seguir, dos animais aparentemente hígidos foram obtidas amostras de sangue para exames complementares. Informações relativas à conformação do arco dentário, do crânio, que poderiam influenciar na instalação e desenvolvimento da periodontite foram anotadas em fichas individuais juntamente com as informações obtidas ao exame físico e dados laboratoriais.

Os cães foram submetidos a jejum hídrico de oito horas e alimentar de 12 horas anteriormente ao tratamento periodontal da cavidade oral (dia zero).

Antibioticoterapia profilática foi realizada para minimizar a bacteremia e para proteção da equipe de médicos veterinários e constou da aplicação intravenosa de

² Periogard®, gluconato de clorexidina a 0,12%, fabricante: Colgate-palmolive indústria e comércio LTDA. S.B.Campo, SP.

ampicilina sódica³ na dosagem de 20mg.Kg⁻¹, uma hora antes da intervenção cirúrgica (ANDRADE, 2002; GIOSO, 2007).

Exames complementares:

a) Amostras de sangue

Amostras de sangue foram obtidas por punção da veia jugular, em frascos com e sem anticoagulante EDTA, acondicionadas em recipientes isotérmicos e conduzidas ao Laboratório de Desenvolvimento de Produtos Parasitocidas do Departamento de Parasitologia Animal da UFRRJ sob a supervisão do Professor Doutor Fábio Barbour Scott, onde foram processadas, no máximo em 12 horas. Das amostras com anticoagulante foi realizado hemograma completo segundo Jain (1993); volume globular (VG) pelo método do microhematócrito, hemoglobina pelo método da cianometahemoglobina e hematimetria em câmara de Newbauer.

A bioquímica sanguínea, compreendendo análises de ureia, creatinina, fosfatase alcalina, alaninaminotransferase e aspartato aminotransferase foi feita de acordo com informações contidas em Kaneko, Harvey e Bruss (1997).

Após a avaliação clínica e laboratorial, os animais, sem evidências de enfermidades, foram submetidos a jejum hídrico de oito horas e alimentar de 12 horas, para então serem submetidos ao tratamento cirúrgico clássico.

b) Amostras de sangue para avaliação de hormônios tireoidianos

Foram coletadas amostras de sangue de 14 cães (indivíduos 1 ao 14), nos dias zero e 28, e preservadas amostras de soro para realização da quantificação de hormônios tireoidianos (TSH, T4 livre bifásico e T4 total) pelo B.E.T. Laboratories⁴.

³ Ampicilina, ampicilina sódica. fabricante: Eurofarma. São Paulo, SP.

⁴ B.E.T. laboratories - Avenida Borges de Medeiros 2225 Lagoa - Rio de Janeiro - RJ - Brasil - 22470-000 Tel/Fax (21) 2512-3326 • (21) 2540-6940 bet@betlabs.com.br - www.betlabs.com.br

c) Levantamento Microbiológico

Antes da realização do tratamento periodontal, foram colhidas amostras de saliva e de placa bacteriana supragengival de sete cães (Indivíduos 1 ao 7), do grupo tratado, com auxílio de suabes estéreis⁵, por fricção leve, em diferentes sítios orais: na região de gengiva, mucosa extra-sulcular e superfície vestibular do dente quarto pré-molar maxilar direito (Figura 10), posteriormente os suabes foram enviados para o laboratório Genesi⁶, responsável pelo cultivo, isolamento e identificação das bactérias, em no máximo 24 horas.

Figura 10 - realização da coleta de amostra da saliva e placa bacteriana dental da cavidade oral de um cão da raça Beagle (Indivíduo 3), sob anestesia geral inalatória, com auxílio de suabe estéril, no dia zero, antes do tratamento periodontal

⁵ Suabe estéril copan – Importado por: Laborclin produtos para laboratórios Ltda. Pinhais/PR – Brasil - - 83.321-210. www.laborclin.com.br

⁶ Laboratório Genesi – Estrada da Barra da Tijuca, n 1636 – Bl D- Lj B – 3 piso – Barra da Tijuca – RJ Cep:22641001 tel.: (21) 2492-1793

4.5.2 Anestesia

Como medicação pré-anestésica utilizou-se acepromazina⁷ ($0,1\text{mg.kg}^{-1}$ IV) e morfina⁸ ($0,5\text{mg.kg}^{-1}$ IM). Decorridos vinte minutos, a veia cefálica foi canulada com cateter número 22 e o paciente recebeu solução de Solução fisiológica NaCl a 0,9%⁹ no volume de $10\text{ml.kg}^{-1}.\text{hora}$, durante todo o procedimento. A indução da anestesia constituiu-se de propofol¹⁰ (5mg.kg^{-1} IV), aplicado lentamente pela via intravenosa (tempo de infusão de 60 segundos). O paciente foi entubado com sonda endotraqueal de Magill número 7.0, sendo em seguida conectada ao circuito valvular circular do aparelho de anestesia, em sistema sem reinalação com auxílio do circuito do tipo Mapleson, e mantido em respiração espontânea com isoflurano¹¹ vaporizado com $30\text{ml.kg}^{-1}.\text{min}$ de oxigênio a 100% (MASSONE, 1994; FANTONI; CORTOPASSI, 2002).

4.5.3 Avaliação Periodontal no dia zero (pré-operatória)

Foram avaliados os dentes maxilares - terceiro incisivos, caninos, 1º, 2º, 3º e 4º pré-molares, e mandibulares - caninos, 2º, 3º, 4º pré-molares e primeiro molar, de acordo com o modelo de Logan e Boyce (1994) (Figura 11), no dia zero e registrados no odontograma (CORRÊA; VENTURINI; GIOSO, 1998), os seguintes parâmetros: índice de cálculo (IC) e índice de placa bacteriana (IPB), a ficha de avaliação encontra-se no anexo A, seguindo-se a metodologia de Logan e Boyce (1994) modificada de acordo com Harvey (2002), Hennet, Servet e Venet (2006) e VOHC (2012), conforme descrito no item 4.5.6.1 (Avaliação Visual).

⁷ Acepran 0,2%, acepromazina. Laboratório Univet, São Paulo, SP-Brasil.

⁸ Dimorf Injetável (solução) 10 mg/1 ml, sulfato de morfina, Cristalia produtos quimicos farmaceuticos Ltda. São Paulo, SP- Brasil.

⁹ Solução fisiológica a 0,9%. Isofarma Industrial Farmacêutica Ltda. Eusébio – CE – Brasil

¹⁰ Propofol. Biossintetica farmacêutica LTDA. São Paulo, SP – Brasil.

¹¹ Isoforine. Isoflurano. Cristalia produtos quimicos farmaceuticos Ltda. São Paulo, SP- Brasil.

Figura 11 – Imagens digitalizadas das mandíbulas e maxilas esquerdas (A) e direitas (B) da cavidade oral de cães, tratadas no programa *BrOffice.org Impress*¹² com dentes avaliados indicados por setas, de acordo com o modelo de Logan e Boyce (1994)

Fonte: Abdalla et al. (2009).

4.5.4 Tratamento Periodontal

Previamente ao tratamento periodontal foi aplicada solução de clorexidina a 0,12% para antissepsia e também para proteção da equipe de médicos veterinários (BOWERSOCK et al., 2000; MICHELL, 2005).

Após a avaliação periodontal pré-cirúrgica foi realizado o tratamento periodontal na cavidade oral, constando da remoção da maioria do cálculo espesso aderente às coroas dos dentes, utilizando-se em seguida o subsom¹³ acoplado ao equipo¹⁴ e complementação com raspador manual, curetagem subgengival e polimento do esmalte com pasta de polimento¹⁵ em taça de borracha¹⁶ acoplada a aparelho micromotor¹⁷ (MICHELL, 2005) (Figuras 12 a 17).

¹² *BrOffice.org Impress*, programa de computador obtido em 10/01/2007 na página: www.broffice.org

¹³ KaVo SONICborden® 2000. Fabricante: Kavo dental excellence, Joinville - SC

¹⁴ Equipo MD3 03CR. Fabricante: Dentscler, Ribeirão Preto – SP

¹⁵ Pasta Herjos-F. Fabricante: Vigodent S/A Ind. e Com., Bonsucesso - RJ

¹⁶ Taça de borracha. Fabricante: Microdont Micro Usinagem de Precisão Ltda, São Paulo - SP

¹⁷ Micro Motor Premiun sem Refrigeração. Fabricante: Dentscler, Ribeirão Preto – SP

Figura 12 – Faces vestibulares dos dentes maxilares e mandibulares de um cão da raça Beagle (indivíduo 5), no dia zero, antes do tratamento periodontal; observar presença de cálculo dentário nos diversos dentes

Figura 13 – Sondagem da profundidade do sulco gengival com auxílio de sonda periodontal em dente quarto pré-molar maxilar direito de um cão da raça Beagle (indivíduo 7)

Figura 14 – Aplicação da solução de eosina aquosa a 2%, (A) com auxílio de algodão e pinça anatômica nas faces vestibulares dos dentes maxilares e mandibulares de um cão da raça Beagle (indivíduo 5). Em (B) observar áreas coradas pela eosina aquosa a 2% após enxague com água

Figura 15 – Remoção do cálculo dentário com auxílio de ultrassom dos dentes maxilares e mandibulares de um cão da raça Beagle (indivíduo 5)

Figura 16 – Após a remoção do cálculo dentário com auxílio de ultrassom dos dentes maxilares e mandibulares de um cão da raça Beagle (indivíduo 5), foi realizada nova coloração com eosina aquosa a 2% e enxague com água, observar áreas ainda coradas, revelando a presença de placa bacteriana

Figura 17 – Em (A) realização do polimento dos dentes maxilares e mandibulares direto de um cão da raça Beagle (indivíduo 5), com auxílio de pasta profilática, taça de borracha, micromotor e contra ângulo. Em (B) observar os dentes com ausência de placa bacteriana após o polimento e enxague com água

4.5.5 Procedimento experimental

Os animais incluídos no grupo tratado receberam, por meio de seringa de 10 ml, aplicação diária de sumo de *Kalanchoe gastonis-bonnieri* a 10%, na forma de jatos, divididos igualmente na região do vestíbulo superior direito e esquerdo, durante 28 dias.

Nos grupos controles negativo e positivo foi seguido o mesmo protocolo descrito acima, substituindo-se o sumo vegetal por solução fisiológica e de clorexidina a 0,12%, respectivamente.

4.5.6 Avaliações

As avaliações realizadas anteriormente ao tratamento periodontal da cavidade oral estão relacionadas no item 4.5.3 (Avaliação Periodontal no dia zero (pré-operatória). As avaliações para placa bacteriana organizada e cálculo dentário, formados após o tratamento periodontal, foram realizadas no dia sete e 28 respectivamente, de acordo com as indicações do *Veterinary Oral Health Council* (VOHC, 2012).

4.5.6.1 Avaliação Visual

As avaliações visuais da placa bacteriana organizada formada sete dias após o tratamento periodontal foram realizadas sempre pelo mesmo avaliador no mesmo local, canil do Laboratório de Desenvolvimento de Produtos Parasiticidas do Departamento de Parasitologia Veterinária da UFRRJ; os cães foram colocados sobre uma maca e contidos manualmente sem anestesia geral ou sedação, e após coloração com eosina aquosa a 2% (LOGAN; BOYCE, 1994) suavemente aplicada com o auxílio de algodão sobre a superfície vestibular da coroa dos dentes e de imediato lavada com água. Este

procedimento foi realizado pela manhã, entre seis e oito horas, à sombra e no canil respectivo do cão avaliado.

Para avaliação da área da face vestibular dental acometida seguiu-se a metodologia de Logan e Boyce (1994) modificada de acordo com Harvey (2002), Hennes, Servet e Venet (2006) e VOHC (2012), na qual a face vestibular dentária foi aferida como área total, sem a divisão das coroas dentárias em três regiões.

A determinação do índice de placa bacteriana (IPB) baseou-se no sistema de Logan e Boyce (1994), considerando-se o percentual de área acometida pela placa em relação à face vestibular total de cada dente avaliado, com cinco níveis de escores (0 a 4) (Tabela 1). Os escores de cada dente foram somados e divididos pelo número de dentes avaliados, para se obter o índice de área de placa bacteriana da cavidade oral de cada animal.

No dia 28, foram realizadas as avaliações de cálculo dentário, no mesmo horário e local descritos para avaliação de placa bacteriana, e sempre pelo mesmo avaliador (esta pós-graduanda), por meio da observação direta da cavidade oral dos cães.

À semelhança das avaliações de placa bacteriana, foi seguida a metodologia de Logan e Boyce (1994) e, da mesma forma, foram determinados índices de cálculo (IC), da cavidade oral de cada animal.

4.5.6.2 Avaliação Computadorizada

Fotografias digitais da cavidade oral de cada animal foram obtidas nos dias zero, sete e 28, para obtenção do percentual de área acometida por placa bacteriana (%PB) e cálculo (%C) e do índice de área de placa bacteriana (IAPB) e índice de área de cálculo (IAC) (Tabela 2).

Tabela 2 – Sistema de índice de cálculo e de placa bacteriana modificado de Logan e Boyce (1994)

<i>Índice</i>	<i>% de área de superfície dentária acometida</i>
0	0
1	$0 < a < 25$
2	$25 \leq a < 50$
3	$50 \leq a < 75$
4	$75 \leq a \leq 100$

As fotos foram realizadas, antes e após coloração com eosina aquosa a 2%, com os seguintes parâmetros: resolução de 2364x1728, opções macro e *flash* acionadas, distância da câmera em relação aos dentes proporcional ao campo visual desejado, eixo da lente objetiva da máquina fotográfica direcionado perpendicular à superfície vestibular dos dentes e, no mesmo plano dos dentes avaliados, alocada uma régua milimetrada para evitar erros devido a distorções e permitir a calibração da mensuração linear e da área do dente na imagem.

As imagens digitais foram analisadas em computador com o auxílio dos programas gratuitos *GIMP* 2.6.11¹⁸ (Figuras 18 a 22) para tratar a imagem, do *ImageJ*¹⁹ para se obter as mensurações, e do *Broffice.org Calc*²⁰ para se obter as percentagens das áreas das faces vestibulares dos dentes acometidos por placa ou cálculo em relação à área total de cada dente.

O tratamento das imagens digitais das faces vestibulares dos dentes das maxilas direita e esquerda e das mandíbulas direita e esquerda foi realizado no programa *GIMP* 2.6.11 para se obter uma única cor na área de placa bacteriana, cálculo dentário e área total.

Para isto, seguiu-se o seguinte procedimento: Arquivo/Abrir: selecionou-se o arquivo da foto a ser trabalhada. Arquivo/Salvar como: em “tipo de arquivo”, selecionou-se *GIMP XCF IMAGE*, o que modifica a extensão do arquivo para *.xcf*, salvar. Realizou-se o redimensionamento da imagem para “largura: 800 por altura: 600” e escolha da opção “interpolação cúbica (melhor)”, utilizou-se o “aumento de 200%” para selecionar as áreas, com o auxílio da opção “seleciona regiões contíguas” que selecionou placa bacteriana e cálculo; para correção utilizou-se a opção “máscara rápida” com o auxílio do “pincel” com espaçamentos adequados para correção, no “aumento de 400%”. Foi então criada uma “nova camada” e colorida a área selecionada com a cor rosa ou verde que foram atribuídas para placa bacteriana e cálculo dentário, respectivamente. Em seguida foi feita uma seleção de contorno destas áreas em uma “nova camada”, e esta nova seleção foi também colorida nas cores azul claro e amarelo, que foram atribuídas para placa bacteriana e cálculo dentário, respectivamente. Feito este procedimento colou-se a seleção de placa bacteriana ou cálculo novamente sobre imagem e completou-se a seleção até totalizar a área da face

¹⁸ *GIMP* 2.6.11, programa de computador obtido em 10/08/2011 na página: www.gimp.org

¹⁹ *IMAGE J*, programa de computador obtido em 10/01/2007 na página: <http://rsb.info.nih.gov/ij/>

²⁰ *Broffice.org Calc*, programa de computador obtido em 10/01/2007 na página: www.broffice.org

vestibular de cada dente avaliado. Foi criada uma “nova camada” e colorida a área selecionada com a cor azul escuro. Selecionou-se então uma área da régua que continha a medida de um centímetro e foi copiada e colada, depois apagou-se o “fundo” da imagem e obteve-se apenas as áreas coloridas e a medição linear em cm na régua, que foi ajustado para ficar paralelo à linha da grade do programa *GIMP 2.6.11*, obtendo-se a real distância de um centímetro. Este arquivo foi salvo em “.xcf “ e depois em “.gif ”, para ser aberto pelo programa *IMAGE J*, no qual foram obtidas as medidas das áreas em centímetro quadrado, da seguinte maneira: posicionou-se o *mouse* no início de um centímetro, anotou-se o número exibido no programa, depois reposicionou-se no final de um cm e foi novamente anotado; foi feita a subtração destes valores e obteve-se a distância de um centímetro em pontos (*pixels*) para cada imagem digitalizada. As áreas contendo apenas uma cor, por vez, foram selecionadas e o programa mostrava as áreas destas cores em centímetro quadrado, que foram copiadas e coladas no programa *Broffice.org Calc* para obter-se o **percentual de área de placa bacteriana (%PB)** ou de **cálculo (%C)** em relação à área total de cada face vestibular dos dentes acometidos (ABDALLA et al., 2009).

Figura 18 – Imagem digital da face vestibular dos dentes da maxila e mandíbula esquerda de cão, tratada no programa *GIMP2.6.11* após colorir-se de azul escuro as áreas totais dos dentes

Figura 19 – Imagem digital da face vestibular dos dentes da maxila esquerda de cão, tratada no programa *GIMP2.6.11* após contornar-se as áreas acometidas por cálculo no dia zero

Figura 20 – Imagem digital da face vestibular dos dentes da maxila esquerda de cão, tratada no programa GIMP2.6.11 após contornar-se as áreas coradas com eosina a 2% acometidos por placa bacteriana no dia zero

Figura 21 – Imagem digital da face vestibular dos dentes da maxila e mandíbula esquerda de cão, tratada no programa GIMP2.6.11 após contornar-se as áreas coradas com eosina a 2% acometidos por placa bacteriana, no sétimo dia após o tratamento periodontal

Figura 22 – Imagem digital da face vestibular dos dentes da maxila e mandíbula esquerda de cão, tratada no programa GIMP2.6.11 após contornar-se as áreas acometidas por cálculo, 28 dias após o tratamento periodontal

4.6 ANÁLISE DOS RESULTADOS

4.6.1 Pré-experimento

As anotações sobre a avaliação de possíveis reações locais indesejáveis por meio da observação visual decorrentes do uso do sumo de *Kalanchoe gastonis-bonnierii* a 10%, realizado em quatro animais durante 28 dias, foram descritas em fichas próprias (Apêndice A) referentes a cada indivíduo.

4.6.2 Validação do grupo controle positivo de acordo com o VOHC (2012)

Foi realizada análise comparativa do percentual de redução médio (%RM) de placa bacteriana e cálculo dentário, entre os grupos controle negativo e controle positivo, utilizando-se os dados de índice de placa bacteriana e índice de cálculo na avaliação visual, conforme as recomendações de VOHC (2012) para validação de produtos químicos com ação antiplaca e anticálcio, objetivando-se avaliar a efetividade do grupo tratado (tratamento com extrato de planta) no modelo experimental.

Os dados médios de índice de placa bacteriana ou índice de cálculo de cada grupo (controle negativo e controle positivo) foram aplicados na fórmula seguinte, para obtenção do %RM:

$$\%RM=100-(100 \times A \times 1/B)$$

Onde: A é igual à média de índice de placa bacteriana ou índice de cálculo no grupo controle positivo e B é igual à média de índice de placa bacteriana ou Índice de cálculo do grupo controle negativo.

Seguindo-se as recomendações do VOHC (2012) foram analisados os dados da avaliação visual de índice de placa bacteriana e índice de cálculo nos julgamentos dos dias sete e 28, respectivamente, comparando-se os grupos controles positivo e negativo, por meio do teste t de *Student*.

4.6.3 Análises estatísticas das avaliações computadorizadas

4.6.3.1 Comparação do grupo controle negativo versus controle positivo na avaliação computadorizada

Foram comparados os resultados de índice de área de placa bacteriana (IAPB), no dia sete, e índice de área de cálculo (IAC), no dia 28, obtidos por meio da avaliação computadorizada, entre os grupos controle negativo e controle positivo, submetendo-se estes valores ao cálculo do percentual de redução médio (%RM) e ao teste t de *Student*.

4.6.3.2 Comparação do grupo tratado versus controle positivo na avaliação computadorizada

Foram comparados os resultados de índice de área de placa bacteriana (IAPB), no dia sete, e índice de área de cálculo (IAC), no dia 28, obtidos por meio da avaliação computadorizada, entre os grupos tratado e controle positivo, submetendo-se estes valores ao cálculo do percentual de redução médio (%RM) e ao teste t de *Student*.

4.6.3.3 Comparação do grupo tratado versus controle negativo na avaliação computadorizada

Foram comparados os resultados de índice de área de placa bacteriana (IAPB), no dia sete, e índice de área de cálculo (IAC), no dia 28, obtidos por meio da avaliação computadorizada, entre os grupos tratado e controle negativo, submetendo-se estes valores ao cálculo do percentual de redução médio (%RM) e ao teste t de *Student*.

4.6.4 Avaliação dos testes hormonais

Foi realizado o teste t de *Student*, para dados pareados em dois tempos de avaliação no mesmo grupo experimental, antes e depois da utilização do extrato de planta.

4.6.5 Avaliação dos testes de crescimento bacteriano *in vitro*

As bactérias identificadas após realização da incubação *in vitro* foram relacionadas e discutidas segundo a literatura.

4.6.6 Avaliação das funções renal e hepática dos cães do grupo tratado

Foram realizadas as análises bioquímicas das funções renal e hepática dos cães do grupo tratado no dia zero e dia 28, além da realização dos testes t de *Student* para dados pareados comparando-se os dias zero e 28.

5 RESULTADOS

5.1 PRÉ-EXPERIMENTO

O pré-experimento (Figura 23) não mostrou reações locais indesejáveis decorrentes do uso do extrato da planta. Diante deste fato, o projeto prosseguiu e foram realizadas as aplicações nos 10 animais pertencentes ao grupo tratado.

Figura 23 – Mucosas jugais e gengiva sem alterações indesejáveis (A) e (B) (indivíduo 11)

5.2 VALIDAÇÃO DO GRUPO CONTROLE POSITIVO DE ACORDO COM O VOHC (2012)

Os resultados da análise comparativa do percentual de redução médio (%RM) de placa bacteriana e cálculo dentário, entre os grupos controles negativo e positivo, utilizando-se os dados de índice de placa bacteriana e índice de cálculo na avaliação visual, foram: para índice de placa bacteriana, no dia sete, percentual de redução médio=8,65% e para índice de cálculo, no dia 28, percentual de redução médio=36,79% (Tabela 3). Os índices encontram-se tabelados no apêndice B (Tabelas 11 e 12).

Tabela 3 – Comparação na avaliação visual, dos valores de índice de placa bacteriana (IPB), no dia sete, índice de cálculo (IC), no dia 28, entre os grupos controles negativo (CN) e positivo (CP)

Avaliação Visual				
	IPB CP	IPB CN	IC CP	IC CN
Média	2,101	2,3	1,69	2,674
Desvio Padrã	0,19	0,21	0,14	0,13
%RM	8,65%		36,79%	
Teste t de Student	P=0,4845		P=0,0001**	

%RM=percentual de redução médio, IAPB= índice de área de placa bacteriana, IAC= índice de área de cálculo, IPB= índice de placa bacteriana, IC= índice de cálculo, CN=grupo controle negativo, CP=grupo controle positivo

Quando os mesmos valores foram submetidos ao teste t de *Student* não houve diferença estatisticamente significativa para os dados do dia sete IPB ($p= 0,48$), ou seja, os valores de p foram superiores a 0,05.

Porém, para os valores do IC no dia 28 houve diferença estatisticamente significativa com $p= 0,0001$.

5.3 ANÁLISES ESTATÍSTICAS DAS AVALIAÇÕES COMPUTADORIZADAS

5.3.1 Comparação do grupo controle negativo versus controle positivo na avaliação computadorizada

Nos dias sete e 28 obteve-se o valor de $P>0,05$, portanto, não houve diferença estatisticamente significativa. Com isso pôde-se afirmar que pela avaliação computadorizada não foram observadas diferenças significativas da formação de placa bacteriana e cálculo, entre o grupo controle negativo (Figuras 24 e 27) e o grupo positivo (Figuras 25 e 28) (Tabela 4). Os índices encontram-se tabelados no apêndice B (Tabelas 11 e 12).

Tabela 4 – Comparação na avaliação computadorizada, dos valores de índice de área de placa bacteriana (IAPB), no dia sete, índice de área de cálculo (IAC), no dia 28, obtidos do tratamento das imagens digitais da cavidade oral de cães da raça Beagle, entre os grupos controles negativo (CN) e positivo (CP)

Avaliação Computadorizada				
	IAPB CP	IAPB CN	IAC CP	IAC CN
Média	2,082	2,436	2,25	2,178
Desvio Padrão	0,16	0,5	0,2	0,48
%RM	14,532%		-3,305%	
Teste t de Student	P=0,1352		P=0,7831	

%RM=percentual de redução médio, IAPB= índice de área de placa bacteriana, IAC= índice de área de cálculo, IPB= índice de placa bacteriana, IC= índice de cálculo, CN=grupo controle negativo, CP=grupo controle positivo

5.3.2 Comparação do grupo tratado versus controle positivo na avaliação computadorizada

Foi realizado o *teste Shapiro-Wilk W test* para validação de que os índices apresentavam-se em distribuição normal. Tanto para o controle positivo quanto para grupo tratado foram encontrados os valores de $P > 0,05$. Com isso, aceitou-se que os dados apresentavam-se em distribuição normal.

Para a comparação das variâncias foi realizado o teste F. Sendo a hipótese nula com variantes iguais entre ambos os grupos nos dias sete e 28.

No dia sete obteve-se o valor de $p > 0,05$, portanto, não se rejeitou a hipótese nula (H_0). Os grupos da avaliação do dia sete apresentaram homocedasticidade ($p = 0,096$).

No dia 28 obteve-se o valor de $p < 0,05$, portanto, rejeitou-se a hipótese nula (H_0), ou seja, aceitou-se que há variância entre os grupos. Os grupos da avaliação do dia 28 não apresentaram homocedasticidade ($p = 0,0128$).

Devido aos testes anteriormente descritos foi aplicado o teste *t de Student* para variâncias iguais. Para o julgamento do dia sete índice de área de placa bacteriana (IAPB) o valor de p foi maior que 0,05 ($p = 0,26$), portanto, não houve diferença significativa entre o grupo controle positivo (Figura 25) e o grupo tratado (Figura 26) (Tabela 5). Os índices encontram-se tabelados no apêndice B (Tabelas 12 e 13).

Foi aplicado também o teste *t de Student* para variâncias diferentes analisando-se os dados do julgamento do dia 28, índice de área de cálculo dentário (IAC). O resultado foi de $p=0,026$. Sendo $p<0,05$ houve diferença significativa entre os grupos tratado e controle positivo para este julgamento. Além disso, como a média do controle positivo foi maior (2,25) comparado com o grupo tratado (1,76), pôde-se concluir que o controle positivo (Figura 28) apresentou maior formação de cálculo que o grupo tratado (Figura 29) (Tabela 5). Os índices encontram-se tabelados no apêndice B (Tabelas 12 e 13).

Tabela 5 – Comparação na avaliação computadorizada, dos valores de índice de área de placa bacteriana (IAPB), no dia sete, índice de área de cálculo (IAC), no dia 28, obtidos do tratamento das imagens digitais da cavidade oral de cães da raça Beagle, entre os grupos tratado (GT) e controle positivo (CP)

Avaliação Computadorizada				
	IAPB CP	IAPB GT	IAC CP	IAC GT
Média	2,082	1,955	2,25	1,76
Desvio Padrão	0,16	0,1	0,2	0,09
%RM	6,09%		21,77%	
Teste t de Student	P=0,26		P=0,026*	

IAPB= índice de área de placa bacteriana, IAC= índice de área de cálculo, IPB= índice de placa bacteriana, IC= índice de cálculo, %RM=percentual de redução médio, GT=grupo tratado, CP=grupo controle positivo

5.3.3 Comparação do grupo tratado versus controle negativo na avaliação computadorizada

Foi realizado o teste *Shapiro-Wilk W test* para validação de que os índices apresentavam-se em distribuição normal. Tanto para o controle negativo quanto para grupo tratado foram encontrados valores de $P>0,05$. Com isso aceitou-se que os dados apresentavam-se em distribuição normal.

Para a comparação das variâncias foi realizado o teste *F*. Sendo a hipótese nula com variantes iguais entre ambos os grupos nos dias sete e 28.

Nos dias sete e 28 obteve-se $P>0,05$, portanto não se rejeitou a hipótese nula (H_0). Os grupos apresentaram homocedasticidade ($p=0,89$ – dia sete) ($p= 0,07$ – no dia 28).

Devido aos testes anteriormente descritos aplicou-se o teste *t de Student* para variâncias iguais analisando-se os dados de IAPB e IAC de ambos os grupos.

O resultado do julgamento do dia sete, IAPB, foi de $p=0,010$, como $p<0,05$ houve diferença significativa entre os grupos tratado e controle negativo. Por meio da avaliação computadorizada realizada no dia sete pôde-se afirmar que a média de IAPB do grupo tratado (1,955) era consideravelmente menor quando comparado com o controle negativo (2,436). Logo, pôde-se concluir que ocorreu maior formação de placa no dia sete no grupo controle negativo (Figura 24) do que no grupo tratado (Figura 26).

No julgamento do dia 28, IAC, obteve-se o valor de $p=0,0164$, como $p < 0,05$ houve diferença significativa entre os grupos tratado e controle negativo. Assim, obteve-se que a média de IAC para o grupo tratado (1,76) era consideravelmente menor que a média de IAC do controle negativo (2,178). Pôde-se concluir que ocorreu maior formação de cálculo dentário no grupo controle negativo do que no grupo tratado (Tabela 6). Os índices encontram-se tabelados no anexo B (Tabelas 11 e 13).

Tabela 6 – Comparação na avaliação computadorizada, dos valores de índice de área de placa bacteriana (IAPB), no dia sete, índice de área de cálculo (IAC), no dia 28, obtidos do tratamento das imagens digitais da cavidade oral de cães da raça Beagle, entre os grupos tratado (GT) e controle negativo (CN)

Avaliação Computadorizada				
	IAPB GT	IAPB CN	IAC GT	IAC CN
Média	1,955	2,436	1,76	2,178
Desvio Padrão	0,1	0,5	0,09	0,48
%RM	19,74%		19,19%	
Teste t de Student	P=0,01*		P=0,0164*	

IAPB= índice de área de placa bacteriana, IAC= índice de área de cálculo, IPB= índice de placa bacteriana, IC= índice de cálculo, %RM=percentual de redução médio, GT=grupo tratado, CN=grupo controle negativo

As imagens digitais da cavidade oral de cães da raça Beagle nos julgamentos para placa bacteriana, dia sete, e cálculo dentário, dia 28, dos grupos experimentais tratado, controles negativo e positivo (Figuras 24 a 29).

Figura 24 – Acúmulo de placa bacteriana nas faces vestibulares dos dentes da maxila e mandíbula esquerda de cão da raça Beagle (indivíduo 18) do grupo controle negativo, no dia sete

Figura 25 – Acúmulo de placa bacteriana nas faces vestibulares dos dentes da maxila e mandíbula esquerda de cão da raça Beagle (indivíduo 30) do grupo controle positivo, no dia sete

Figura 26 – Acúmulo de placa bacteriana nas faces vestibulares dos dentes da maxila e mandíbula esquerdas de cão da raça Beagle (indivíduo 1) do grupo tratado, no dia sete

Figura 27 – Acúmulo de cálculo nas faces vestibulares dos dentes da maxila e mandíbula esquerdas de cão da raça Beagle (indivíduo 18) do grupo controle negativo, no dia 28

Figura 28 – Acúmulo de cálculo nas faces vestibulares dos dentes da maxila e mandíbula esquerdas de cão da raça Beagle (indivíduo 33) do grupo controle positivo, no dia 28

Figura 29 – Acúmulo de cálculo nas faces vestibulares dos dentes da maxila e mandíbula esquerdas de cão da raça Beagle (indivíduo 1) do grupo tratado, no dia 28

5.4 AVALIAÇÃO DOS TESTES HORMONAIS

Foram realizados o teste t de *Student* para avaliação de um dado em dois tempos no mesmo grupo experimental antes e depois da utilização do extrato de planta; para os hormônios testados não houve diferença estatisticamente significativa (Tabelas 7 a 9). Os resultados encontram-se tabelados no apêndice C (Tabelas 14 a 16).

Tabela 7 – Resultados dos exames de TSH (ng/ml), realizado pelo B.E.T. Laboratories, antes da utilização do extrato da planta *Kalanchoe gastonis-bonnieri* e após 28 dias de sua utilização tópica na cavidade oral de 14 cães (indivíduos 1 ao 14) pertencentes aos grupos tratado e pré experimento

Valores TSH (ng/ml)	Dia zero	28 dias de tratamento
	0,94	1,14
DP	1,308	1,731
Teste t de Student	P=0,2168	
Valores normais	0,05-0,50 ng/ml	

Tabela 8 – Resultados dos exames de T4 livre bifásico (ng/dl), realizado pelo B.E.T. Laboratories, antes da utilização do extrato da planta *Kalanchoe gastonis-bonnieri* e após 28 dias de sua utilização tópica na cavidade oral de 14 cães (indivíduos 1 ao 14) pertencentes aos grupos tratado e pré experimento

Valores T4 livre bifásico (ng/dl)	Dia zero	28 dias de tratamento
	0,88	1,16
DP	0,59	0,66
Teste t de Student	P=0,4123	
Valores normais	0,62-3,11 ng/dl	

Tabela 9 – Resultados dos exames de T4 total (ng/dl), realizado pelo B.E.T. Laboratories, antes da utilização do extrato da planta *Kalanchoe gastonis-bonnieri* e após 28 dias de sua utilização tópica na cavidade oral de 14 cães (indivíduos 1 ao 14) pertencentes aos grupos tratado e pré experimento

Valores T4 total (ng/dl)	Dia zero	28 dias de tratamento
	7,5	7,04
DP	1,226	1,708
Teste t de Student	p=0,0603	
Valores normais	15-30ng/dl	

5.5 AVALIAÇÃO DOS TESTES DE CRESCIMENTO BACTERIANO *IN VITRO*

As bactérias identificadas após realização da incubação, isolamento e identificação *in vitro* foram: *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

5.6 RESULTADOS DE FUNÇÕES RENAL E HEPÁTICA DOS CÃES DO GRUPO TRATADO

Foram realizadas as análises bioquímicas das funções renal e hepática dos cães do grupo tratado no dia zero e dia 28, além da realização dos testes t de *Student* para dados pareados comparando-se os dias zero e 28, e não foram observadas diferenças estatisticamente significantes (Tabela 10). Os resultados encontram-se tabelados no apêndice D (Tabelas 17 e 18).

Tabela 10 – Resultados dos testes t de *Student* das funções renal e hepática das amostras de soro dos cães do grupo tratado, comparando-se o dia zero com o dia 28

Bioquímica	ALP-AMP UI/L	ALT UI/L	AST UI/L	CREATININA mg/dl	UREIA mg/dl
média dia zero	68,4	60,9	22,2	0,84	30,6
média dia 28	59,2	74,1	26,7	0,81	34,5
dp dia zero	60,96	50,19	6,32	0,21	13,03
dp dia 28	65,77	81,23	11,48	0,21	22,12
teste t de Student	P=0,3439	P=0,5160	P=0,1311	P=0,3434	P=0,3630
Valores de referência	10 - 92	10 - 88	10 - 88	0,5 – 1,5	15 - 40

6 DISCUSSÃO

Para padronização e repetibilidade deste estudo optou-se por seguir as indicações do *Veterinary Oral Health Council* (2012) e, deste modo, todos os cães utilizados foram da mesma raça, possuíam similares conformações de crânio, bem como de peso, idade, e oclusão dental normal (Figuras 3 a 6), de acordo com Wiggs, Lobprise (1997) e Gioso (2007). Foram também mantidos sob o mesmo manejo e dieta alimentar, além de serem dóceis e facilmente manipulados, não necessitando, desta forma, de contenção química durante as avaliações da cavidade oral. Todos os cães incluídos neste estudo apresentaram na avaliação prévia ao tratamento periodontal da cavidade oral, estado semelhante de doença periodontal até o estágio dois da classificação do *American Veterinary Dental College* (2012), devido a presença de cálculo em todos os dentes avaliados. Apesar disto, os animais não apresentavam destruição dos tecidos periodontais fato que, provavelmente, deveu-se ao fenômeno do equilíbrio hospedeiro *versus* parasita (HEDLUND, 2002).

A escolha da raça Beagle foi favorável por propiciar a padronização dos aspectos relacionados acima, além de ser a mais utilizada em estudos de doença periodontal, incluindo trabalhos veterinários sobre redução de placa bacteriana e cálculo dentário (GORREL; RAWLINGS, 1996). Na literatura, experimentos epidemiológicos e clínicos apontam que a etiologia e progressão da doença periodontal em cães e humanos possuem similaridades e, desta forma, cães da raça Beagle são úteis para avaliação da efetividade do potencial de agentes antiplaca (HULL; DAVIES, 1972).

Foram avaliados 85 dos 100 cães do canil de experimentação do Laboratório de Desenvolvimento de Produtos Parasiticidas, pois os 15 restantes eram filhotes. Estavam acometidos por doença periodontal 100% dos cães avaliados, superando o índice de 80%, segundo Harvey e Emily (1993), e de outros autores que referem o grande acometimento de cães por doença periodontal como Lund et al. (1999), Kyllar e Witter (2005), e no Brasil segundo Venturini (2006) e Fecchio et al. (2009). Dos 85 animais mencionados, 42 tinham acúmulo de cálculo dentário e gengivite até o estágio dois de doença periodontal. Os outros 53 cães apresentavam alterações acima do estágio dois, de acordo com o AVDC (2012), ou apinhamento dental (COLMERY; FROST, 1986), ou, por fim, ausência de alguns dentes, não conferindo o número

existente na fórmula dentária para cães (HARVEY, 1985) e, conseqüentemente, excluídos da experimentação.

Colmery e Frost (1986) também referiram que a rotação dos terceiros pré-molares, segundo pré-molares (Figuras 7 e 8) e, às vezes, do primeiro molar predisporia o animal ao acúmulo de alimento, que contribuiria para a formação de placa e cálculo, mais um motivo para que os animais deste experimento acometidos por mal posicionamento dentário fossem excluídos da experimentação.

No método de avaliação de placa bacteriana e cálculo dentário neste estudo utilizou-se o sistema Triadan modificado para identificação dos dentes (FLOYD, 1991), que foram selecionados de acordo com o modelo de Logan e Boyce (1994). As faces vestibulares das coroas dentárias (WOELFEE; SHEID, 2000; KOWALESKY, 2005) foram aferidas por meio das avaliações visual, segundo Logan e Boyce (1994), e computadorizada de acordo com Abdalla et al. (2009).

Foi importante o conhecimento anatômico dentário (FROST; WILLIAMS, 1986; TEN CATE, 1988; HENNET, 1995) para a realização deste experimento, devido às particularidades anatômicas existentes nas faces vestibulares dos dentes aferidos (WOELFEE; SHEID, 2000; KOWALESKY, 2005).

Existem diversas possibilidades de uso de plantas medicinais na odontologia, mas a sua exploração é pequena no meio científico e médico (SANTOS et al., 2009a). O Brasil, embora tenha a maior diversidade vegetal do mundo, com cerca de 60.000 espécies vegetais superiores catalogadas (PRANCE, 1977), apenas 8% foram estudadas para pesquisas de compostos bioativos e 1.100 espécies foram avaliadas em suas propriedades medicinais (GUERRA et al., 2001). Embasado nestas informações, o trabalho visou a avaliação da atividade do sumo de *Kalanchoe gastonis-bonnieri* sobre o biofilme bacteriano dental de cães.

A aplicação tópica do sumo de *Kalanchoe gastonis-bonnieri* na concentração de 10% foi iniciada após 24 horas do tratamento periodontal no dia zero, pois segundo Lindhe (1989 apud ROUDEBOUSH et al. 2005), a deposição de microrganismos sobre a superfície dentária se inicia minutos após o término do tratamento periodontal.

Avaliações após o tratamento periodontal da cavidade oral foram realizadas no dia sete, para placa bacteriana, e no dia 28, para cálculo dentário, considerando-se o preconizado pelo VOHC (2012). Outros estudos também se utilizaram do mesmo protocolo de datas para avaliações, devido à possibilidade de observação no dia sete de placa bacteriana, e no dia 28, de cálculo dentário (LINDHE; HAMP; LOE, 1975;

GORREL; RAWLINGS, 1996; RAWLINGS; GORREL; MARKWELL, 1998; SCHERL et al., 2007).

Os cães foram submetidos à raspagem dos dentes que, segundo White (1991), é a única forma de remoção do cálculo dentário. Com isso, obtiveram um resultado favorável à saúde geral dos animais, como observado por Lyon (1991).

A utilização da clorexidina (BRECX; THEILADE, 1984) foi realizada devido à comprovação da sua ação antiplaca por diversos estudos (LOE; SCHIÖUTT, 1970; LINDHE; NEWMAN, 1975; ROLLA; MELSEN, 1975; LOE et al., 1976; SCHIÖUTT; LOE; BRINER, 1976; HENNESSEY, 1973; HENNESSEY, 1977; ADDY et al., 1982; NEWMAN; ADDY, 1982; WESTFELT et al., 1983; SANZ et al., 1989; GRUET et al., 1995; ROBINSON, 1995; JONES, 1997; HENNET, 2002; ADDY, 2003), e sua substantividade (BONESVOLL et al., 1974; GREENSTEIN; BERMAN; JAFFIN, 1986; ROBINSON, 1995; GIOSO, 2007) e por ser pouco absorvida pelo organismo, não causando efeitos sistêmicos (MAGNUSSON; HEYDEN, 1973; CASE, 1977), uma vez que 90% do antisséptico retido pelo organismo é excretado em fezes e urina (BONESVOLL, 1977).

Após a administração de clorexidina durante 28 dias, não se observou efeitos indesejáveis locais, como o escurecimento do esmalte dos dentes e ulcerações em mucosas, o que pode ocorrer, de acordo com Loe et al. (1976), Greenstein, Berman e Jaffin (1986), Santos (2003), fato que também foi descrito em humanos no trabalho de Schiöutt, Loe e Briner (1976) e em cães por Rawlings, Gorrel e Markwell (1998).

Antes do tratamento periodontal da cavidade oral, aplicou-se solução de clorexidina à 0,12% para prevenção da bacteremia (ZETNER; THIEMANN, 1993; NIEVES et al., 1997), para antisepsia e também para proteção da equipe de médicos veterinários (BOWERSOCK et al., 2000; MICHELL, 2005).

A utilização da eosina aquosa à 2%, solução evidenciadora de placa bacteriana, foi adequada a este experimento por não possuir ação antimicrobiana e ser de fácil remoção da superfície dental (SILVA; PARANHOS; ITO, 2002) e, assim, indicada para emprego em estudos que avaliam produtos específicos de ação antiplaca. Além disto, considerou-se que a lavagem da cavidade oral para retirada da eosina aquosa a 2% não influenciou os resultados, uma vez que apenas matéria alba e debris alimentares (SCHWARTZ; MASSLER; Le BEAU, 1971) podem ser removidos pela ação mecânica de jato de água, não ocorrendo com a placa bacteriana (MANDEL, 1966) e cálculo dentário, que permanecem no local (HARVEY; EMILY, 1993).

Rawlings, Gorrel e Markwell (1998) afirmaram que o nível de dedicação e motivação requerido para obter e manter a saúde oral em cães dificilmente é mantido pelos proprietários, observado no estudo de Miller e Harvey (1994), quando 53% dos proprietários continuavam escovando os dentes dos cães após seis meses do tratamento. Segundo Dupont (1998), o hábito da escovação para profilaxia da cavidade oral poderia levar à redução de 90% na predisposição à periodontite pelo controle da placa bacteriana. Por outro lado, se após o tratamento periodontal não se segue um controle adequado, pode ocorrer recidiva da doença (GROVE, 1998).

Diante deste quadro, considera-se que a utilização de produtos antimicrobianos pode ser útil na prevenção da doença periodontal em cães, conforme afirmam Jensen et al. (1995). Estudos para avaliação da efetividade de novos agentes químicos na inibição da formação de placa bacteriana e cálculo dentário, portanto, são relevantes devido à possibilidade de seleção de organismos resistentes a partir do uso inadequado dos agentes disponíveis no mercado (GREENSTEIN; BERMAN; JAFFIN, 1986; GROVE, 2000; SOUZA FILHO; ALVES, 2002), já que a placa bacteriana inicial possui significativa resistência aos agentes antimicrobianos existentes (JIM; YIP, 2002).

Além disso, é interessante a realização da busca por um agente eficaz e seguro no uso a longo prazo contra placa e cálculo dentários, sem efeitos locais e sistêmicos indesejáveis (SUDO et al., 1976; CORNER et al., 1988), como alterações já descritas para a clorexidina e o triclosan (XAVIER; RAMOS; XAVIER FILHO, 1995; LEE; ZHANG; LI, 2004; SALGADO et al., 2006). A melhor conduta de administração para este adjuvante seria a aplicação tópica, segundo Ciancio e Niezengard (1997), com adição de palatilizantes para a terapêutica de animais domésticos (De MARCO; GIOSO, 1997).

O efetivo controle da placa bacteriana, por ser o agente etiológico da doença periodontal (LOE, 1967), é o fator chave na prevenção da doença periodontal (AXELSSON; LINDHE, 1981; COBB, 1996; GARMYN; VAN STEENBERGHE; QUIRYNEN, 1998; GROVE, 1998; SANZ; HERRERA, 1998; AXELSSON; ALBANDAR; RAMS, 2002).

O método mecânico é considerado de difícil realização e mesmo assim é o mais eficaz no controle da placa (De PAOLA et al., 1989; HANCOCK; NEWELL, 2001; CIANCIO, 2003), por isto, diversos estudos têm procurado por um agente quimioterápico eficaz contra a placa bacteriana e o cálculo dentário, como um adjuvante na prevenção da doença periodontal (WOLFF, 1985; BOUWSMA, 1996;

MCNABB; MOMBELLI; LANG, 1992; YATES et al., 1993; PALOMO et al., 1994; NOGUEIRA FILHO; TOLEDO; CURY, 2000; HELLSTROM et al., 1996; GUNSOLLEY, 2006) inclusive na área de fitoterápicos com ação antimicrobiana *in vitro* sobre as bactérias do biofilme dentário (MENEZES, 2006). Ainda dentro deste contexto existem autores que procuram agentes com diversos mecanismos de ação anticálcio como foi descrito na revisão de Fairbrother e Hesasman (2000).

Como descrito na literatura as bactérias mais comuns encontradas no biofilme dental inicial de cães são: *Actinomyces viscosus* e *Streptococcus sanguis* (WIGGS; LOBPRISE, 1997; GIOSO, 2007) e segundo estudo recente de Pieri²¹ (2012) as bactérias de maior ocorrência foram: *Streptococcus sp.*, *Staphylococcus sp.* e *Enterococcus sp.*, o que corrobora com alguns estudos em humanos que descrevem como sendo as principais bactérias, na placa inicial, pertencentes aos gêneros *Streptococcus* (HARVEY; EMILY, 1993; KATSURA et al., 2001; LOESCHE; GROSSMAN, 2001; DRUMOND et al., 2004) e *Actinomyces* (KATSURA et al., 2001). Estudos dos componentes da microbiota da placa supragengival de cães da raça Beagle resultaram na identificação de diversas espécies de *Streptococcus*, incluindo algumas relacionadas com a microbiota da placa dental em humanos tais como *S. mitis*, *S. constellatus*, *S. oralis* e *S. sanguis* (ROBER et al., 2009). E no estudo de Harvey, Thornsberry e Miller (1995) inclui-se ainda a bactéria *S. mutans*. Deste modo, pode-se considerar que o estudo de Menezes (2006) *in vitro*, com atividade significativa do extrato de *Kalanchoe gastonis-bonnieri* sobre as bactérias *S. mitis*, *S. mutans* e *S. oralis*, tem grande significado, dando subsídios para a realização deste estudo *in vivo*, na cavidade oral de cães da raça Beagle. O teste de identificação das bactérias foi realizado apenas para observar as bactérias mais comuns na cavidade oral desta população de cães, porém, não foi possível realizar comparação com ação *in vitro* do sumo de *Kalanchoe gastonis-bonnieri*, pois neste estudo não foram identificadas bactérias dos gêneros citados acima, pode-se supor que os meios de cultura tenham sido diferentes daqueles utilizados para identificação das bactérias mais comuns na placa supragengival de cães, além de ter sido realizada a coleta com a placa bacteriana formada em média há quatro anos (idade média dos cães utilizados).

²¹ PIERI, F. A. **Atividade antimicrobiana do óleo de copaíba (*Copaifera langsdorffii*) e seus constituintes, e avaliação do bioproduto obtido na inibição de bactérias da placa dental de cães.** 2012. 91f. Tese (Doutorado em ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2012. (informação verbal)

Atualmente diversos medicamentos foram desenvolvidos direta ou indiretamente a partir de fontes naturais (CALIXTO, 2001; RATES, 2001). Outro fator interessante na busca de um agente eficaz sem efeitos colaterais é a comprovação científica (RODRIGUES; CARVALHO, 2001; WU; DAROUT; SKAUG, 2001) da ação de plantas medicinais, pois estima-se que 80% da população nos países em desenvolvimento faz uso de fitoterápicos (EMBRAPA, 1994), e a tendência do interesse na utilização de terapias naturais é crescer (WHO, 2001; ALEXANDRE; GARCIA; SIMÕES, 2005), podendo-se realizar a inclusão social com a utilização de produtos com menores custos de fabricação (BOTELHO et al., 2007). Como foi preconizado pela Organização Mundial de Saúde em 2000 (REVILLA, 2001) e pela elaboração da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, o que foi lembrado no estudo de Moura (2006), aumentando as vendas no setor de fitoterápicos (BRASIL, 2000; KNAPP, 2001).

Diversos autores vêm pesquisando a ação de plantas medicinais na saúde geral desde 1500 a.C. (MATTOS, 1999; MACEDO; De CARVALHO; NOGUEIRA, 2002; LIMA JÚNIOR et al., 2005; COSTA et al., 2008) e na odontologia com estudos etnobotânicos (AMANN, 1969; DNUNES et al., 1999; MACEDO; PACHECO, 2001; LORENZI; MATOS, 2002; MEDEIROS; FONSECA; ANDREATA, 2004; LIMA JUNIOR et al., 2005; BORBA; MACEDO, 2006; LIMA JÚNIOR et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2007; SANTOS et al., 2009a; CAVALCANTE et al., 2010; ROSA; MAIA; GALLO, 2010; THAERI et al., 2011), estudos *in vitro* (ALMAS, 2002) com ação antimicrobiana (OSAWA et al., 1990; LOPES, 1991; MCCHESENEY; CLARK; SILVEIRA, 1991; PERES et al., 1997; GNAN; DAMELLO, 1999; TAIWO; XU; LEE, 1999; CAI et al., 2000; GUERRA et al., 2000; NASCIMENTO et al. 2000; ALMAS, 2001; BIAVATTI et al., 2001; BUFFON et al., 2001; HO et al., 2001; GROPPPO et al., 2002; ; MACHADO et al., 2002; YAMAMOTO; OGAWA, 2002; HWANG et al., 2003; KOONING; AGYARE; ENNISON, 2004; LEE; ZHANG; LI, 2004; ALMAS; SKAUG; AHMAD, 2005; ALVIANO et al., 2005; CATÃO et al., 2005; KIM et al., 2005; LOGUERCIO et al., 2005; PEREIRA et al., 2006b; PEREIRA et al., 2006c; VASCONCELOS et al., 2006; BOTELHO et al., 2007; SOUZA et al., 2007; HAFFAJEE; SOCRANSKY, 2008; ALVES et al., 2009; SANTOS et al., 2009b; PIERI et al., 2012), atividades *in vivo* (BUSSCHER; PERDOK, 1992; de MIRANDA et al., 1996; VAN DER WEIJDEN et al., 1998; ADERINOKUN; LAWYOIN; ONYEASO, 1999; TENENBAUM; DAHAN; SOELL, 1999; JAGTAP; KARKERA, 2000; DAROUT; ALBANDAR; SKAUG, 2000; GONZALEZ et al., 2001), com a ação antiplaca (VILLALOBOS; SALAZAR; SÁNCHEZ, 2001; PIERI et al., 2010; PRADEEP;

AGARWAL; NAIK, 2012), até hoje, corroborando com o referido por Schenkel et al. (2003) que a potencialidade de uso das plantas medicinais encontra-se longe de estar esgotada.

Neste estudo houve a busca de referências sobre a planta *Kalanchoe gastonis-bonnieri* (LORENZI; SOUZA, 1995), como conhecimentos sobre algumas espécies do gênero *Kalanchoe* (LUCAS; MACHADO, 1946; HAUACUJA et al., 1985; COSTA et al., 1994; COSTA; JOSSANG; BODO, 1995; Da SILVA et al., 1995; HAUACUJA et al., 1997; ROSSI-BERGMANN, 1997; MORS; RIZZINI; PEREIRA, 2000; MUZITANO et al., 2006a, b, 2009; COSTA et al., 2008; CRUZ et al., 2008), sua localização (ALLORGE-BOITEAU, 1996), estas espécies são de interesse científico para o Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Foram também pesquisados em relação à planta *Kalanchoe gastonis-bonnieri* artigos sobre indicações de uso popular (OSOSKI et al., 2002), características químicas (LIMA, 2009; CORREA, 2010), ação antimicrobiana *in vitro* (MENEZES, 2006; LEGRAMAND, 2011), *in vivo* sobre efeito tóxico com a descoberta da dose letal (BELTRÁN et al., 2003), além de outros estudos *in vitro* que foram realizados como o de Oko, Clerment (1990), Huacuja et al. (1995) e Lopes et al. (2002).

No trabalho de Cowan (1999), foi demonstrado a eficácia de plantas na ação antimicrobiana *in vitro* associada à presença de terpenóides, alcalóides e flavonóides. O que também foi demonstrado nos estudos de Correa (2010) que observou a presença de flavonóides na planta *Kalanchoe gastonis-bonnieri* e de Menezes (2006) na comprovação de sua atividade sobre algumas espécies de *Streptococcus*.

A realização de estudos *in vitro* tem sido recomendada (VAN DER BERGHE et al., 1986; SUFNESS, 1987; HOSTETTMANN, 1991; CARDELLINA et al., 1993; PERRETT; WHITFIELD, 1995; BOHLIN; BRUN, 1999; GEBHARDT, 2000; O'NEILL; LEWIS, 2002) para qualquer estudo de eficácia de um agente quando o experimento é realizado *in vivo* (MACIEL; PINTO; VEIGA JÚNIOR, 2002; TOLEDO et al., 2003).

Segundo Alexandre, Garcia e Simões (2005) é importante realizar estudos *in vivo* para suprir a carência de conhecimento sobre a eficácia real das plantas medicinais, além de seus efeitos colaterais, estes estudos devem ser realizados com processos de randomização e em duplo cego adequados, o que corrobora com o ocorrido neste estudo.

Para validação do modelo experimental para teste de agentes químicos seguiu-se os requisitos preconizados pelo VOHC (2012), no qual a diferença mínima requerida em

relação ao percentual de redução médio (%RM), comparando-se os grupos controles negativo e positivo, deve ser de 20 % em cada julgamento, além de que deve existir uma diferença estatística em cada julgamento com $p < 0,05$. Pode-se observar que houve validação em relação ao VOHC (2012) quanto aos dados de índice de cálculo dentário na avaliação visual, comparando-se os grupos controle negativo e controle positivo a diferença foi de %RM=36,79% e houve também diferença extremamente significativa, sendo $p=0,0001$.

Utilizando-se os dados de índice de placa bacteriana na avaliação visual, quando se comparou os grupos controles negativo (Figura 27) e positivo (Figura 28), na verificação do %RM e na submissão ao teste t de Student, não houve diferença estatisticamente significativa, ou seja, os valores de p foram superiores a 0,05. Supõe-se que, apesar da formação de placa e cálculo ter mostrado valores médios inferiores no grupo controle positivo em relação ao controle negativo, alguns fatores podem ter contribuído para que esta diferença não tenha gerado resultados estatisticamente significantes. Um deles pode ser a ausência de mais de um avaliador, uma vez que a análise foi visual. O outro a aplicação da Clorexidina somente uma vez ao dia, devido a limitações práticas na execução deste estudo, pois a literatura afirma que a substantividade da clorexidina confere poder residual em torno de 12 horas (ROBINSON, 1995; GIOSO, 2007).

Já na avaliação computadorizada isto não ocorreu, isto é, não houve diferença significativa para as avaliações tanto de placa bacteriana como de cálculo dentário na comparação entre os dois grupos controles negativo e positivo. Em relação a este resultado pode-se sugerir que a avaliação computadorizada sendo mais objetiva e eficaz do que a visual, de acordo com Henet (1999), Harvey (2002), Henet, Servet, Venet (2006) e Abdalla et al. (2009), talvez o experimento tenha tido alguma falha importante, como por exemplo o tipo de evidenciador de placa, ou mesmo a não utilização de índices de intensidade de cor, ou também como sugerido acima a aplicação de clorexidina uma e não duas vezes ao dia.

Entretanto, os resultados em relação ao grupo tratado, com sumo de *Kalanchoe gastonis-bonnieri* a 10%, foram satisfatórios, pois houve diferença significativa no julgamento para placa bacteriana, do grupo tratado (Figura 26) comparado ao controle negativo ($p=0,01$ e %RM=19,74) (Figura 24), e no julgamento para cálculo dentário, do grupo tratado (Figura 29) comparado aos dois grupos controles negativo (Figura 27) ($p=0,01$ e %RM=19,19) e positivo (Figura 28) ($p=0,026$ e %RM=21,77).

Os valores percentuais de redução médios não devem ser considerados neste estudo, pois dados de índices de placa e cálculo que utilizam %RM somam aos seus valores os índices de intensidade de cor de placa e cálculo dentários, o que não foi realizado neste estudo. Porém, mesmo este fator não tendo sido utilizado, os valores de %RM foram acima da diferença mínima requerida de 15% entre grupo tratado e controle negativo segundo VOHC (2012).

Assim como no estudo de Pieri et al. (2010), na avaliação computadorizada, o resultado do grupo tratado (aplicação tópica de sumo de *Kalanchoe gastonis-bonniieri* a 10%) quando comparado ao controle positivo (clorexidina 0,12%) no julgamento para placa bacteriana não houve diferença significativa, mas houve diferença significativa quando comparado o grupo tratado com o controle negativo (solução fisiológica) para o mesmo julgamento.

Este estudo foi realizado considerando-se o conceito dos “3Rs” (RUSSELL; BURCH, 1959; MIDTLYNG et al., 2011), eticamente aceitável segundo Kolar (2006) e produzindo dados mais confiáveis (FLECKNELL, 2002). Seguindo-se este conceito foi realizado o pré-experimento em quatro cães, utilizando-se a aplicação tópica do sumo de *Kalanchoe gastonis-bonniieri*, nos quais não foram observadas alterações indesejáveis locais como irritações de mucosa. Após este grupo, foram realizados os experimentos com avaliações computadorizadas segundo Abdalla et al. (2009), conferindo maior objetividade, com mais três grupos, o tratado, e os controles negativo e positivo, como preconizado por Wu e Savitt (2002).

Além disso, ainda dentro do conceito dos “3Rs” (RUSSELL; BURCH, 1959; MIDTLYNG et al., 2011), observou-se a importância da dose letal para a planta *Kalanchoe gastonis-bonniieri* de 10g/kg de peso corporal, descoberta no estudo de Beltrán et al. (2003) corroborando com o referido em outras espécies de *Kalanchoe* por William's e Smith (1984). Sendo que, a concentração utilizada neste estudo foi de 10%, sendo 1g de *Kalanchoe gastonis-bonniieri* para cada 10ml de administração a cada 24 horas topicamente, não se sabe o quanto dos 10ml foram realmente ingeridos por animal, deste modo não se chegou próximo ao máximo estipulado, pois cada animal pesava em média 12,5kg e a dose letal seria em média de 125g de *Kalanchoe gastonis-bonniieri* para que cada animal tivesse alguma reação indesejável.

Mesmo com esta segurança em relação à dose letal, foram realizados testes bioquímicos (JAIN, 1993; KANEKO; HARVEY; BRUSS, 1997) e hormonais sanguíneos nos cães do experimento, devido ao relato de Mylewski e Khan (2006) sobre a

toxicidade das plantas do gênero *Kalanchoe* considerado pelo *Animal Poison Control Center*.

Em relação aos testes para bioquímica sanguínea, seguindo-se o exemplo do estudo de Melo et al.(2006), não houve diferença significativa quando comparados resultados das análises bioquímicas antes e depois da administração tópica do sumo de *Kalanchoe gastonis-bonnieri* a 10%.

Deve-se levar em consideração a existência de flavonóides descobertos recentemente no estudo de Correa (2010) da *Kalanchoe gastonis-bonnieri* como um componente com ação terapêutica (MIDDLETON, 1984), porém os mesmos são relacionados em outros estudos com *K. brasiliensis* (FERREIRA; ROSENTHAL; CARVALHO, 2000) à possibilidade de desenvolvimento de hipotireoidismo (CODY; KOEHRLE; HESCH, 1989; LINDSAY; GAITAN; COOKSEY, 1989; DIVI; DOERGE, 1995; DOERGE; DIVI, 1995). Por este motivo, os animais tiveram seus soros sanguíneos testados para os hormônios tireoidianos, e também não houve diferença significativa entre os resultados antes e depois da administração do sumo de *Kalanchoe gastonis-bonnieri* a 10%, mas este estudo foi realizado em curto período de tempo, então, sugere-se a realização de novos estudos à longo prazo *in vivo*, aumentando-se assim a segurança na aplicação terapêutica da *Kalanchoe gastonis-bonnieri*.

Este estudo *in vivo* aliado à ação antimicrobiana *in vitro* comprovada por Menezes (2006) e à presença de flavonóides descrita por Correa (2010) demonstrou que a planta medicinal *Kalanchoe gastonis-bonnieri* pode ser uma coadjuvante na prevenção da doença periodontal com potencial antiplaca e cálculo dentários, como a sua adição em colutórios ou dentifrícios (WHITE, 2005). Também referido por outros autores sobre as diferentes ações contra afecções da cavidade oral de agentes como coadjuvantes (SODER; JIM; SODER, 1993; SODER, 1995; STAUDT et al., 2001; SMITH; BROOK; ELCOCK, 2001; SHARMA et al., 2002; BAUROTH et al., 2003; SANTOS, 2003; SHARMA et al., 2004; SMITH et al., 2004).

Ainda não foi descoberto o mecanismo de ação da planta *Kalanchoe gastonis-bonnieri* sobre a placa bacteriana e o cálculo dentário, pois a mesma, *in vitro*, como demonstrado no estudo de Menezes (2006), não tem ação sobre a bactéria *Staphylococcus aureus*, a qual foi encontrada neste estudo. Como o resultado mais significativo da ação do sumo de *Kalanchoe gastonis-bonnieri* a 10% foi sobre a formação do cálculo dentário, pode-se sugerir para novas pesquisas correlacionar esta ação em relação ao pH do extrato de planta e ao pH bucal dos cães (GIOSO, 2007), já

que a clorexidina possui relatos na literatura de aumentar a deposição de cálculo dentário (HULL; DAVIES, 1972; LÖE et al., 1976; LANG et al. 1982; GROSSMAN et al., 1986; YATES et al., 1993; FAIRBROTHER; HEASMAN, 2000; ADDY, 2003; SANTOS, 2003), também pode-se questionar sobre a solução fisiológica que poderia aumentar a deposição de sais sobre o biofilme dentário ou por alteração do pH bucal.

Além disso, outro mecanismo de ação da *Kalanchoe gastonis-bonnieri* que se pode supor, segundo Fairbrother e Heasman (2000) e Grases et al. (2009), seria a presença de inibidores da cristalização prevenindo ou retardando a formação da fase mineral do cálculo dentário, de acordo com o mecanismo de formação de cálculo sugerido por Mandel (1995), Grases, Costa e Garci (1998), Grases et al. (2001).

Com a ação anticálculo do sumo de *Kalanchoe gastonis-bonnieri* a 10% também pode-se supor a ação antiplaca, pois com a diminuição da superfície acometida por cálculo dentário, diminui-se a superfície rugosa que predispõe à deposição de placa bacteriana (BERCY; FRANK, 1980; DUPONT, 1997; LINDHE, 2005).

Utilizando-se um adjuvante com ação anticálculo, pode-se prevenir a formação nas áreas de saída dos ductos salivares (WHITE, 1991; PROUSE et al., 2008).

A prevenção da formação do cálculo dentário é um fator chave na prevenção da periodontite (COLMERY; FROST, 1986) e na perda dentária (ROSEMBERG; REHFELD; EMMERING, 1966; PAGE; SCHOREDER, 1981; SMITH; ZONTINE; WILLITS, 1985), além de infecções oportunistas (BRAGA et al., 2005) e complicações sistêmicas como as descritas em cães por Debowes et al. (1996) e Gioso (2007) e em humanos por Shiota et al. (2002), Léon et al. (2007) e Fisher et al. (2008).

Nos últimos anos tem-se observado que os métodos de quantificação computadorizada para avaliação das áreas das superfícies vestibulares dos dentes acometidas por placa bacteriana e cálculo dentário são cada vez mais utilizados na área de odontologia veterinária (ABDALLA et al., 2009; PIERI et al., 2010) e humana (SODER; JIN; SODER, 1993; STAUDT et al., 2001). Porém, deve-se questionar estes estudos em relação à variação que ocorre devido às imagens digitais possuírem áreas bidimensionais, o que leva à uma diminuição no valor total das áreas acometidas, mas isto não interfere na quantificação por esta variação ser a mesma entre os indivíduos avaliados. Pode-se sugerir para estudos futuros, com o avanço da tecnologia tridimensional, que novas avaliações utilizando áreas reais das superfícies dentárias devem ser realizadas. Devido a presença de características anatômicas das superfícies vestibulares dentárias (WOELFEL; SCHEID, 2000) descritas em cães no estudo de

Kowalesky (2005), como a profundidade, não observadas nas imagens bidimensionais, o que pode ser observado no dente quarto pré-molar maxilar, com a existência de uma fissura e uma fôssula entre as cúspides mesial e central, sendo este dente de grande importância neste estudo, por não sofrer influência de atrito na face vestibular na oclusão normal (Figura 6). Já no dente primeiro molar mandibular ocorre um sulco entre a cúspide central e distal o que também seria interessante em uma imagem tridimensional.

O trabalho de Haffajee e Socransky (2008) afirma que mesmo que um extrato de planta não tenha efetividade superior à clorexidina em relação à atividade antimicrobiana para bactérias da cavidade oral, é interessante a existência de um antimicrobiano natural alternativo para pacientes com intolerância ao álcool, conservantes artificiais, flavorizantes e cores artificiais.

Corroborando com o trabalho de Pieri et al. (2010) este estudo segue a tendência atual da busca por novos produtos naturais, explorando a biodiversidade da flora brasileira e substituição de medicamentos alopáticos, beneficiando a população que poderia reduzir seu gasto com medicamentos e ter acesso facilitado a estes produtos.

É importante ressaltar a necessidade de novos estudos tanto na comprovação do mecanismo de ação da *Kalanchoe gastonis-bonnieri* quanto na busca por novos agentes naturais com ação antiplaca e cálculo dentários, assim como referido por Gunsolley (2006).

A avaliação cuidadosa dos dados obtidos até o presente momento indica que, embora exista este estudo clínico para a *Kalanchoe gastonis-bonnieri*, a eficácia e segurança de seu uso ainda não foram definidas por completo. Há critérios publicados para a padronização e controle de qualidade dos produtos comerciais, como por exemplo, a definição da substância ativa, compostos marcadores e o mecanismo de ação da planta sobre a placa bacteriana e o cálculo dentário, dados que ainda não foram descobertos.

Como sugerido por Netuveli e Sheiham (2004), o uso a longo prazo de agentes anticálculo poderia reduzir em termos de tempo de intervalos entre tratamento periodontais profiláticos, mas uso racional de *Kalanchoe gastonis-bonnieri* com finalidade terapêutica ainda depende do conhecimento aprofundado de suas propriedades farmacológicas, ações sistêmicas com estudos *in vivo* à longo prazo e do desenvolvimento de tecnologia de produção e controle de qualidade.

Os resultados apresentados neste trabalho demonstram a atividade do sumo de *Kalanchoe gastonis-bonnieri* a 10% sobre o biofilme bacteriano e cálculo dentários de cães, sendo o primeiro relato desta natureza. Esta atividade a ser explorada sob a forma do patenteamento de solução poderá trazer vários benefícios como a redução da formação de placa e cálculo dentários em cães e a respectiva redução na incidência da doença periodontal.

Além disso, a descrição de atividade antiplaca e anticálcio, com espécies vegetais inéditas, é uma esperança para o desenvolvimento de medicamentos com novos mecanismos de ação e, portanto, inovadores e úteis na terapêutica.

7 CONCLUSÃO

O sumo de *Kalanchoe gastonis-bonnieri* a 10% apresentou eficácia no controle da formação da placa bacteriana em relação ao grupo controle negativo (solução fisiológica), e do cálculo dentário em relação aos grupos controles negativo e positivo (solução de clorexidina 0,12%) nas faces vestibulares dentárias de cães da raça Beagle por meio da avaliação computadorizada. Portanto, este poderia ser utilizado como um coadjuvante na prevenção da doença periodontal.

São necessários estudos complementares a longo prazo para comprovação da ausência efeitos colaterais e do mecanismo de ação do sumo de *Kalanchoe gastonis-bonnieri* a 10% sobre o biofilme bacteriano e o cálculo dentário.

REFERÊNCIAS

- ABDALLA, S. L.; SILVA, M. F. A.; PEREIRA, A. R. C.; AZEVEDO, F. D.; FERNANDES, J. I.; MINONO, G. P.; BOTELHO, R. P. Quantificação computadorizada dos índices de placa e cálculo dentais da imagem digital da superfície vestibular dos dentes de cães. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 8, p. 666-672, 2009.
- ADDY, M. The use of antiseptics in periodontal therapy. In: LINDHE, J.; KARRING, T.; LANG, N. P. **Clinical Periodontology and Implant Dentistry**. Copenhagen: Blackwell Munksgaard, 2003. p. 464-493.
- ADDY, M.; MORAN, J.; DAVIES, R. M.; BEAK, A.; LEWIS, A. The effect of single morning and evening rinses of chlorhexidine on the development of tooth staining and plaque accumulation. A blind cross-over trial. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 9, n. 2, p. 134-140, 1982.
- ADERINOKUN, G. A.; LAWYOYIN, J. O.; ONYEASO, C. O. Effect of two common Nigerian chewing sticks on gingival health and oral hygiene. **Odonto-stomatologie Tropicale**, v. 22, n. 87, p. 13-18, 1999.
- ALEXANDRE, R. F.; GARCIA, F. N.; SIMÕES, C. M. O. Fitoterapia baseada em evidências. Parte 1. Medicamentos fitoterápicos elaborados com Ginkgo, Hipérico, Kava e Valeriana. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 24, n. 2, p. 300-309, 2005.
- ALLORGE-BOITEAU, L. Madagascar Centre de Spéciation et d'Origine du Genre *Kalanchoe* (Crassulaceae). In: LOURENÇO, W. R. **Biogéographie de Madagascar**. Paris: Editions de l'ORSTOM, 1996. p. 137-145.
- ALMAS, K. The antimicrobial effects of seven different types of Asian chewing sticks. **Odonto-stomatologie Tropicale**, v. 24, n. 96, p. 17-20, 2001.
- ALMAS, K. The Effect of *Salvadora Persica* Extract (Miswak) and Chlorahexidine Gluconate on human dentin: A SEM Study. **The Journal of Contemporary Dental Practice**, v. 3, n. 3, p. 27-35, 2002.
- ALMAS, K.; SKAUG, N.; AHMAD, I. An *in vitro* antimicrobial comparison of miswak extract with commercially available non-alcohol mouthrinses. **International Journal of Dental Hygiene**, v. 3, n. 1, p. 18-24, 2005.
- ALVIANO, W. S.; MENDONÇA-FILHO, R. R.; ALVIANO, D. S.; BIZZO, H. R.; SOUTO-PADRON, T.; RODRIGUES, M. L.; BOLOGNESE, A. M.; ALVIANO, C. S.; SOUZA, M. M. Antimicrobial activity of Croton cajucara Benth linalool-rich essential oil on artificial biofilms and planktonic microorganisms. **Oral Microbiology and Immunology**, v. 20, n. 2, p. 101-105, 2005.

AMANN, C. **Socorro aos doentes do sertão**. Cuiabá, Escola Técnica Federal de Mato grosso, 1969. 152p.

AMERICAN VETERINARY DENTAL COLLEGE. **Veterinary dental nomenclature**. Disponível em: <<http://www.avdc.org/Nomenclature.pdf>>. Acesso em: 29 fev. 2012.

ANDRADE, S. F. **Manual de terapêutica veterinária**. São Paulo: Roca, 2002. 697p.

AXELSSON, P.; ALBANDAR, J. M.; RAMS, T. E. Prevention and control of periodontal diseases in developing and industrialized nations. **Periodontology** 2000. v. 29, p. 235-246, 2002.

AXELSSON, P.; LINDHE, J. The significance of maintenance care in the treatment of periodontal disease. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 8, p. 281–294, 1981.

BAUROTH, K.; CHARLES, C. H.; MANKODI, S. M.; SIMMONS, K.; ZHAO, Q.; KUMAR, L. D. The efficacy of an essential oil antiseptic mouthrinse vs dental floss in controlling interproximal gingivitis: a comparative study. **The Journal of the American Dental Association**, v. 13, n. 3, p. 359-365, 2003.

BELTRÁN, M. L. M.; PÉREZ, A. M. P.; SÁNCHEZ, A. G.; RUIZ, L. H. Male rat infertility induction/spermatozoa and epididymal plasma abnormalities after oral administration of *Kalanchoe gastonis-bonniere* natural juice. **Phytotherapy Research**, v. 17, p. 315–319, 2003.

BERCY, P.; FRANK, R. M. Microscopie electronique à balayage de la surface du cément humain normal et carié. **Journal de Niologie Buccale**, v. 8, p. 331-352, 1980.

BIAVATTI, M. W.; VIEIRA, P. C.; da SILVA, M. F. G.; FERNANDES, J. B.; ALBUQUERQUE, S.; MAGALHÃES, C. M.; PAGNOCCA, F. C. Chemistry and bioactivity of *Raulinoa echinata* Cowan, an endemic Brazilian rutaceae species. **Phytomedicine**, v. 8, n. 2, p. 121-124, 2001.

BONESVOLL, P. Oral pharmacology of chlorhexidine. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 4, n. 5, p. 49–65, 1977.

BONESVOLL, P.; LÖKKEN, P.; RÖLLA, G.; PAUS, P. N. Retention of chlorhexidine in the human oral cavity after mouth rinses. **Archives of Oral Biology**, v. 19, n. 11, p. 1025-1029, 1974.

BORBA, A. M.; MACEDO, M. Plantas medicinais usadas para a saúde bucal pela comunidade do bairro Santa Cruz, Chapada dos Guimarães, MT, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n. 4, p. 771-782, 2006.

BOTELHO, M. A.; NOGUEIRA, N. A. P.; BASTOS, G. M.; FONSECA, S. G. C.; LEMOS, T. L. G.; MATOS, F. J. A.; MONTENEGRO, D.; HEUKELBACH, J.; RAO, V. S.; BRITO, G. A. C. Antimicrobial activity of the essential oil from *Lippia Sidoides*, carvacrol and thymol against oral pathogens. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 40, n. 3, p. 349-356, 2007.

BOUWSMA, O. J. The status, future, and problems of oral antiseptics. **Current Opinion in Periodontology**, v. 3, p. 78-84, 1996.

BOWERSOCK, T. L.; WU, C. C.; INSKEEP, G. A.; CHESTER, T. Prevention of bacteremia in dogs undergoing dental scaling by prior administration of oral clidamycin or chlorhexidine oral rinse. **Journal of Veterinary Dentistry**, v. 17, n. 1, p. 11-16, 2000.

BRAGA, C. A.; RESENDE, C. M. F.; PESTANA, A. C. N. R.; CARMO, L. S.; COSTA, J. E.; SILVA, L. A. F.; ASSIS, L. N.; LIMA, L. A.; FARIAS, 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.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC n.º 17, de 24 de fevereiro de 2000. **Diário Oficial da União**, Brasília, D.F., 2002.

BREX, M.; THEILADE, J. Effect of chlorhexidine rinses on the morphology of early dental plaque formed on plastic film. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 11, n. 9, p. 553-64, 1984.

BUSSCHER, H. J.; PERDOK, J. F. Bacterial growth and short-term clinical efficacy of a vegetable oil-based mouthrinse: preliminary study. **Clinical Preventive Dentistry**, v. 14, n. 3, p. 5-8, 1992.

CAI, L.; WEI, G. X.; van der BIJL, P.; WU, C. D. Namibian chewing stick, *Diospyros lycioides*, contains antibacterial compounds against oral pathogens. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 3, p. 909-914, 2000.

CASE, D. E. Safety of hixitane. I. Laboratory experiments. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 4, n. 5, p. 66-72, 1977.

CIANCIO, S. Improving oral health: current considerations. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 30, p. 4-6, 2003. Supplement, 5.

CIANCIO, S.; NIEZENGARD, R. Controle e prevenção da doença periodontal In: NIEZENGARD, R.; NEWMAN, M. **Microbiologia oral e imunologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. p. 309-330.

COBB, C. M. Non-surgical pocket therapy: mechanical. **Annals Periodontology**, v. 1, p. 443-490, 1996.

CODY, V.; KOEHRLE, J.; HESCH, R. D. Structure activity relationships of flavonoids as inhibitors of iodothyronine deiodinase. In: GAITAN, E. **Environmental goitrogenesis**. Boca Raton: CRC Press, 1989. p. 57-69.

COLMERY, B.; FROST, P. Periodontal disease: etiology and pathogenesis. **Veterinary Clinics of North American: Small Animal Practice**, v. 16, n. 5, p. 817-833, 1986.

CORRÊA, H. L.; VENTURINI, M.; GIOSO, M. A. Registro do exame clínico odontológico – odontograma. **Clínica Veterinária**, v. III, n. 13, p. 23-28, 1998.

CORREA, M. F. P. ***Kalanchoe gastonis-bonnieri* R.Hamet & H.Perrier (Crassulaceae): composição flavonoídica e potencial terapêutico em hiperplasia prostática benigna**. 2010. 127f. Tese (Doutorado em Química de produtos naturais) - Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

COSTA, S. S.; JOSSANG, A.; BODO, B.; SOUZA, M. L. M.; MORAES, V. L. G. Patuletin acetylramnosides from *Kalanchoe brasiliensis* as inhibitors of human lymphocyte proliferative activity. **Journal of Natural Products**, v. 57, p. 1503-1510, 1994.

COSTA, S. S.; JOSSANG, A.; BODO, B. Propriétés biologiques et phytochimie des *Kalanchoe*. In: BOITEAU, P.; ALLORGE-BOITEAU, L. ***Kalanchoe (Crassulacées) de Madagascar, systématique, écophysiologie et phytochimie***. Paris: Karthala. 1995. p. 219-235.

COSTA, S. S.; MUZITANO, M. F.; CAMARGO, L. M. M.; COUTINHO, M. A. S. Therapeutical potential of *Kalanchoe* species: flavonoids and other secondary metabolites. **Natural Product Communications**, v. 3, p. 2151-2164, 2008.

CRUZ, E. A.; DA-SILVA, S. A. G.; MUZITANO, M. F.; SILVA, P. M. R.; COSTA, S. S.; ROSSI-BERGMANN, B. Immunomodulatory pretreatment with *Kalanchoe pinnata* extract and its quercitrin flavonoid effectively protects mice against fatal anaphylactic shock. **International Immunopharmacology**, v. 8, n. 12, p. 1616-1621, 2008.

Da SILVA, S. A. G.; COSTA, S. S.; MENDONÇA, S. C. F.; SILVA, E. M.; MORAES, V. L. G.; ROSSI-BERGMANN, B. Therapeutic effect of oral *Kalanchoe pinnata* leaf extract in murine leishmaniasis. **Acta Tropica**, v. 60, p. 201-210, 1995.

DAROUT, I. A.; ALBANDAR, J. M.; SKAUG, N. Periodontal status os adult Sudanese habitual users of miswak chewing sticks or toothbrushes. **Acta Odontologica Scandinavica**, v. 58, n. 1, p. 25-30, 2000.

De MARCO, V.; GIOSO, M. A. Doença periodontal em cães e gatos: profilaxia e manejo dietético. **Revista Clínica Veterinária**, n. 8, p. 24-28, 1997.

De MIRANDA, C. M.; van WYK, C. K.; van der BIJL, P.; BASSON, N. J. The effect of areca nut on salivary and selected oral microorganisms. **International Dental Journal**, v. 46, n. 4, p. 350-356, 1996.

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.

DENT, V. E.; MARSH, P. D. Evidence for a basic plaque microbial community on the tooth surface in animals. **Archive of Oral Biology**, v. 26, n. 3, p. 171-179, 1981.

DEPAOLA, L. G.; OVERHOLSER, C. D.; MEILLER, T. F.; MINAH, G. E.; NIEHAUS, C. Chemotherapeutic inhibition of supragingival dental plaque and gingivitis development. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 16, p. 311-315, 1989.

DIVI, R. L.; DOERGE, D. R. Inhibition of thyroid peroxidase by dietary flavonoids. **Chemical Research in Toxicology**, v. 9, p. 16-23, 1995.

DOERGE, D. R.; DIVI, R. L. Porphyrin p-cation and protein radicals in peroxidase catalysis and inhibition by anti-thyroid chemicals. **Xenobiotica**, v. 25, p. 761-767, 1995.

DUPONT, G. A. Prevention of periodontal disease. **Veterinary Clinics of North American: Small Animal Practice**, v. 28, n. 5, p. 1129-1145, 1998.

DUPONT, G. A. Understanding dental plaque; biofilm dynamics. **Journal of Veterinary Dentistry**, v. 14, n. 3, p. 91-93, 1997.

DRUMOND, M. R.; CASTRO, R. D.; ALMEIDA, R. V.; PEREIRA, M. S.; PADILHA, W. W. Comparative study in vitro of the antibacterial activity from 83 phytotherapeutic products against cariogenic bacteria. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, v. 4, n. 1, p. 33-38, 2004.

ELLINGSEN, J. E.; ROLLA, G.; ERIKSEN, H. M. Extrinsic dental stain caused by chlorhexidine and other denaturing agents. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 9, n. 4, p. 317-322, 1982.

EMBRAPA. **Atlas do meio ambiente do Brasil**. Brasília: EMBRAPA-SPI: Terra Viva, 1996. 160p.

FAIRBROTHER, K. J.; HEASMAN, P. A. Anticalculus agents. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 27, p. 285-301, 2000.

FANTONI, D. T.; CORTOPASSI, S. R. G. Protocolos Anestésicos. In:_____. **Anestesia em Cães e Gatos**. São Paulo: ROCA, 2002. p. 209.
FECCHIO, R. S.; PETRI, B. S. S.; ZANCO, N. A.; GIOSO, M. A. Prevalência de afecções orais em cães na casuística cirúrgica do Hospital Veterinário da Universidade metodista de São Paulo. **Revista Conselho Federal de Medicina Veterinária**, v. 15, n. 48, p. 26 – 31, 2009.

FERREIRA, A. C. F.; ROSENTHAL, D.; CARVALHO, D. P. Thyroid peroxidase by *Kalanchoe brasiliensis* aqueous extract. **Food and Chemical Toxicology**, v. 38, p. 417-421, 2000.

FISHER, M. A.; TAYLOR, G. W.; PAPAPANOU, P. N.; RAHMAN, M.; DEBANNE, S. M. Clinical and serologic markers of periodontal infection and chronic kidney disease. **Journal of Periodontology**, v. 79, n. 9, p. 1670-1678, 2008.

FITZGERALD, R. J.; MCDANIEL, E. G. Dental calculus in the germ-free rat.

Archives of Oral Biology, v. 2, p. 239–240, 1960.

FLECKNELL, P. Replacement, reduction and refinement. **Alternatives to Animal Experimentation**, v. 19, n. 2, p. 73-78, 2002.

FLOYD, M. R. The modified Triadan system: nomenclature for veterinary dentistry. **Journal of Veterinary Dentistry**, v. 8, n. 4, p. 18-19, 1991.

FROST, P.; WILLIAMS, C. A. Feline dental disease. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 16, n. 5, p. 851-862, 1986.

GARMYN, P.; VAN STEENBERGHE, D.; QUIRYNEN, M. Efficacy of plaque control in the maintenance of gingival health: plaque control in primary and secondary prevention. In: LANG, N. P.; ATTSTROM, R.; LOE, H. **Proceedings of the European Workshop on mechanical plaque control**. Berlin: Quintessenz Verlag. 1998. p. 107-120.

GIOSO, M. A. **Odontologia veterinária: para o clínico de pequenos animais**. São Paulo: Manole, 2007. 145p.

GNAN, S. O.; DAMELLO, M. T. Inhibition of *Staphylococcus aureus* by aqueous goiaba extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 15, n. 68, p. 103-108, 1999.

GONZALEZ, M.; YSLAS, N.; REYES, E.; QUIROZ, V.; SANTANA, J.; JIMENEZ, G. Clinical effects of a Mexican sanguinaria extract (*Polyconum aviculare* L.) on gingivitis. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 74, n. 1, p. 45-51, 2001.

GRASES, F.; COSTA-BAUZA, A.; GARCIÁ-FERRAGUT, L. Biopathological crystallization: a general view about the mechanisms of renal stone formation. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 74, p. 169–194, 1998.

GRASES, F.; SÖHNEL, O.; COSTA-BAUZA, A.; RAMIS, M.; WANG, Z. Study on concretions developed around urinary catheters and mechanisms of renal calculi development. **Nephron**, v. 88, p. 320–328, 2001.

GRASES, F.; PERELLO, J.; SANCHIS, P.; ISERN, B.; PRIETO, R. M.; COSTA-BAUZA, A.; SANTIAGO, C.; FERRAGUT, M. L.; FRONTERA, G. Anticalculus effect of a triclosan mouthwash containing phytate: a double-blind, randomized, three-period crossover trial. **Journal of Periodontal Research**, v. 44, p. 616–621, 2009.

GREENSTEIN, G.; BERMAN, C.; JAFFIN, R. Chlorhexidine – an adjunct to periodontal therapy. **Journal of Periodontology**, v. 57, n. 6, p. 370-376, 1986.

GROPPO, F. C.; RAMACCIATO, J. C.; SIMOES, R. P.; FLORIO, F. M.; SARTORATTO, A. Antimicrobial activity of garlic, tea tree oil, and chlorhexidine against oral microorganisms. **International Dental Journal**, v. 52, n. 6, p. 433-437, 2002.

GROSSMAN, E.; REITER, G.; STURZENBERGER, O. P.; DE LA ROSA, M.; DICKINSON, T. D.; FERRETTI, G. A.; LUDLAN, G. E.; MECKEL, A. H. Six-month study of effects of a chlorhexidine mouthrinse on gingivitis in adults. **Journal of Periodontal Research Supplement**, v. 21, n. 16, p. 33-43, 1986.

GROVE, T. K. Treatment of periodontal disease. **Veterinary Clinics of North American: Small Animal Practice**, v. 28, n. 5, p. 1147-1164, 1998.

GROVE, T. K. **Recent advances in small animal dentistry**. 2000. Disponível em: www.ivis.org. Acesso em: 20 jan. 2008.

GRUET, P.; GAILLARD, C.; BOISRAMÉ, B.; DUFFAUT, D.; GRIMOUD, A. M.; CAMY, G. Use of an oral antiseptic bioadhesive tablet in dogs. **Journal of Veterinary Dentistry**, v. 12, n. 3, p. 87-91, 1995.

GUNSOLLEY, J. C. A meta-analysis of six-month studies of antiplaque and antigingivitis agents. **The Journal of the American Dental Association**, v. 137, n. 12, p. 649-57, 2006.

HAFFAJEE, A. D.; SOCRANSKY, Y. T. S. S. Chlorhexidine mouthrinse compared with an essential oil antimicrobial effectiveness of an herbal **The Journal of the American Dental Association**, v. 139, p. 606-611, 2008.

HANCOCK, E. B.; NEWELL, D. H. Preventive strategies and supportive treatment. **Periodontology 2000**, v. 25, p. 59-76, 2001.

HARVEY, C. E. **Veterinary dentistry**. Philadelphia: Saunders Company, 1985. 327p.

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

HARVEY, C. E. Shape and size of teeth of dogs and cats – relevance to studies of plaque and calculus accumulation. **Journal of Veterinary Dentistry**, v. 19, n. 4, p. 186-195, 2002.

HARVEY, C. E.; EMILY, P. P. **Small Animal Dentistry**. Missouri: Mosby, 1993. 413 p.

HARVEY, C. E.; THORNSBERRY, C.; MILLER, B. R. Subgingival bacteria – comparison of culture results in dogs and cats with gingivitis. **Journal of Veterinary Dentistry**, v. 12, n. 4, p. 147-150. 1995.

HEDLUND, C. S. Cirurgia da cavidade oral e da orofaringe, In: FOSSUM, T.W. **Cirurgia de Pequenos Animais**, São Paulo: Roca, 2002. p. 222-256.

HELLSTROM, M. K.; RAMBERG, P.; KROK, L.; LINDHE, J. The effect of supragingival plaque control on the subgingival microflora in human periodontitis. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 23, p. 934–940, 1996.

HENNESSEY, T. D. Some antibacterial properties of chlorhexidine. **Journal of Periodontal Research**, v. 8, p. 61–67, 1973. Supplement, 12.

HENNESSEY, T. D. Antibacterial properties of hibitane. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 4, p. 36–48, 1977.

HENNET, P. Dental Anatomy and physiology of small carnivores. In: CROSSLEY, D. A.; PENMANN, S. **Manual of small animal dentistry**. British Small Animal Assoc. UK, 1995, p. 93-113.

HENNET, P. Review of studies assessing plaque accumulation and gingival inflammation in dogs. **Journal of Veterinary Dentistry**, v. 16, n. 1, p. 23-29, 1999.

HENNET, P. Effectiveness of a dental gel to reduce plaque in beagle dogs. **Journal of Veterinary Dentistry**, v. 19, n. 1, p. 11-14, 2002.

HENNET, P.; SERVET, E.; VENET, C. Effectiveness of an oral hygiene chew to reduce dental deposits in small breed dogs. **Journal of Veterinary Dentistry**, v. 23, n. 1, p. 6-12, 2006.

HO, K. Y.; TSAI, C. C.; CHEN, C. P.; HUANG, J. S.; LIN, C. C. Antimicrobial activity of honokiol and magnolol isolated from *Magnolia officinalis*. **Phytotherapy Research**, v. 15, n. 2, p. 139-41, 2001.

HULL, P. S.; DAVIES, R. M. The effect of chlorhexidine gel on tooth deposits in beagle dogs. **Journal of Small Animal Practice**, v. 13, p. 207-212, 1972.

HWANG, B. Y.; ROBERTS, S. K.; CHADWICK, L. R.; WU, C. D.; KINGHORN, A. D. Antimicrobial constituents from goldenseal (the Rhizomes of *Hydrastis canadensis*) against selected oral pathogens. **Planta Médica**, v. 69, n. 7, p. 623-7, 2003.

JAGTAP, A. G.; KARKERA, S. G. Extract of *Junglandaceae* regia inhibits growth, in-vitro adherence, acid production and aggregation of *Streptococcus mutans*. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 2, n. 52, p. 235-42, 2000.

JAIN, N. C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea Febiger. 1993. 417p.

JENSEN, L.; LOGAN, E.; FINNEY, O.; LOWRY, S.; SMITH, M.; HEFFEREN, J.; SIMONE, A.; RICHARDSON, D. Reduction in accumulation of plaque, stain, and calculus in dogs by dietary means. **Journal of Veterinary Dentistry**, v. 12, n. 4, p. 161-163, 1995.

JIN, Y.; YIP, H. K. Supragingival calculus:formation and control. **Critical Reviews in**

Oral Biology & Medicine, v. 13, p. 426–441, 2002.

JONES, C. G. Chlorhexidine: is it still the gold standard? **Periodontology** 2000, v. 15, p. 55-62, 1997.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. New York: Academic Press, 1997. 932p.

KATSURA, H.; TSUKIYAMA, R. I.; SUZUKI, A.; KOBAYASHI, M. In vitro antimicrobial activities of bakuchiol against oral microorganisms. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 45, n. 11, p. 3009-3013, 2001.

KIM, K. J.; YU, H. H.; CHA, J. D.; SEO, S. J.; CHOI, N. Y.; YOU, Y. O. Antibacterial activity of *Curcuma longa* L. against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Phytotherapy Research**, v. 19, n. 7, p. 599-604, 2005.

KOLAR, R. Animal experimentation. **Science and Engineering Ethics**, v. 12, n. 1, p. 111-122, 2006.

KOWALESKY, J. **Anatomia dental de cães (Canis familiares) e gatos (Felis catus)**. 2005. 182 f. Dissertação (Mestrado em Anatomia Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

KYLLAR, M.; WITTER, K. Prevalence of dental disorders in pet dogs. **Veterinary Medicine**, v. 50, n. 11, p. 496-505, 2005.

LANG, N. P.; HOTZ, P.; GRAF, H.; GEERING, A. H.; SAXER, V. P.; STURZENBERGER, O. P.; MECHEL, A. H. Effects of supervised chlorhexidine mouthrinses in children. **Journal of Periodontal Research**, v. 17, p. 101– 111, 1982.

LEE, S. S.; ZHANG, W.; LI, Y. The antimicrobial potential of 14 natural herbal dentifrices: results of an in vitro diffusion method study. **The Journal of the American Dental Association**, v. 135, p. 1133-41, 2004.

LEGRAMANDI, V. H. P. **Kalanchoe gastonis-bonnieri Raym-Hamet & H. Perrier e Kalanchoe pinnata Pers. (Crassulaceae): atividade antifúngica e estudo farmacognóstico comparativo**. 2011. 62 f. Dissertação (Mestrado), Faculdade de Ciências farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista. “Julio de Mesquita Filho”, São Paulo, 2011.

LÉON, R.; SILVA, N.; OVALLE, A.; CHAPARRO, A.; AHUMADA, A.; GAJARDO, M.; MARTINEZ, M.; GAMONAL, J. Detection of *Porphyromonas gingivalis* in the amniotic fluid in pregnant women with a diagnosis of threatened premature labor. **Journal of Periodontology**, v. 78, n. 7, p. 1249-1255, 2007.

LIMA, P. C.; MENDES, L. A. S.; SILVA, D. S.; CHAVES, A. L. F.; SANTOS, M. G. Comparação histoquímica da planta *Kalanchoe gastonis* Bonnierii cultivada no sol e na sombra. In: XII Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal, 12., 2009, Fortaleza. **Anais do XII Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal**. Fortaleza: Universidade Estadual Norte Fluminense, 2009. p. 446.

LIMA JÚNIOR, J. F.; VIEIRA, L. B.; LEITE, M. J. V. F.; LIMA, K. C. O uso de fitoterápicos e a saúde bucal. **Revista Saúde**, v. 7, n. 16, p. 11-17, 2005.

LINDHE, J.; HAMP, S. E.; LÖE, H. Plaque induced periodontal disease in beagle dogs: a 4-year clinical, roentgenographical and histometrical study. **Journal of Periodontal Research**, v. 10, p. 243-255, 1975.

LINDHE, J.; NEWMAN, S. The effect of plaque control and surgical pocket elimination on the establishment and maintenance of periodontal health. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 2, p. 80-86, 1975.

LINDHE, J. **Tratado de periodontia clínica e implantologia oral**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. 1048 p.

LINDSAY, R. H.; GAITAN, E.; COOKSEY, R. C. Pharmacokinetics and intrathyroidal effects of flavonoids. In: GAITAN, E. **Environmental goitrogenesis**. Boca Raton: CRC Press, 1989. p. 43-56.

LÖE, H. The gingival index, the plaque index and the retention index systems. **Journal of Periodontology**, v. 38, p. 610-616, 1967.

LÖE, H.; SCHIÖUTT, C. R. The effect of mouthrinses and topical application of chlorhexidine on the development of dental plaque and gingivitis in man. **Journal of Periodontal Research**, v. 5, n. 2, p. 79-83, 1970.

LÖE, H.; SCHIÖUTT, C. R.; GLAVIND, L.; KARRING, T. Two years oral use of chlorhexidine in man. General design and clinical effects. **Journal of Periodontal Research**, v. 11, n. 3, p. 135-144, 1976.

LOESCHE, W.; GROSSMAN, N. Periodontal disease as a specific, albeit chronic, infection: diagnosis and treatment. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 14, n. 4, p. 727-752, 2001.

LOGAN, E. I.; BOYCE, E. N. Oral health assessment in dogs: parameters and methods. **Journal of Veterinary Dentistry**, v. 11, n. 2, p. 58-63. 1994.

LOGAN, E. I. Dietary influences on periodontal health in dogs and cats. **The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 36, n. 6, p. 1385-1401, 2006.

LOPES, J. L. Sesquiterpene lactones from Vernonia. **Memorial Instituto Oswaldo Cruz**, n. 86, p. 227-30, 1991. Supplement, 2.

LOPES, L. C.; PAULINO, P. C.; PRADO, K. G.; PALAURO, V. A. P.; GÂNDARA, M. L. Atividade antiinflamatória e analgésica do extrato hidroalcoólico da espécie *Kalanchoe gastonis bonnierii*. In: XVII Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, 1., 2002, Cuiabá. **Anais do XVII Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil**. Cuiabá: SBOE, 2002. p. 108.

LOPES, F. M. **Avaliação do sistema estomatognático e de sínclônios de lobo guará (*Chrysocymus brachyurus*) em vida livre e cativo**. 2009. 151f. Dissertação (Mestrado em ciências). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas ornamentais no Brasil** – arbustivas, herbáceas e trepadeiras. São Paulo: Editora Plantarum LTDA., 1995. p. 322.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil**: nativas e exóticas cultivadas. São Paulo: Instituto Plantarum, 2002. 576p.

LUCAS, V.; MACHADO, O. Contribuição ao estudo das plantas medicinais brasileiras: Saião. **Revista da Flora Medicinal**, v. 77, p. 1-39, 1946.

LUND, E. M.; ARMSTRONG, J.; KIRK, C.; KOLAR, L. M.; KLAUSNER, J. S. Health status and population characteristics of dogs and cats examined at private veterinary practices in the United States. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 214, n. 9, p. 1336-1341, 1999.

LYON, K. F. Dental home care. **Journal of Veterinary Dentistry**, v. 8, n. 2, p. 26-30, 1991.

MACEDO, M.; PACHECO, I. B. Uso odontológico de plantas medicinais por idosos em Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. **Cadernos de Saúde - Cuiabá, UNIC – CPG**, n. 2, p. 63-73, 2001.

MACEDO, M.; De CARVALHO, J. M. K.; NOGUEIRA, F. L. **Plantas medicinais e ornamentais da área do aproveitamento múltiplo em manso, Chapada dos Guimarães, Mato Grosso**. Cuiabá: UFMT, 2002. 188p.

MAGNUSSON, B.; HEYDEN, G. Autoradiographic studies of ¹⁴C-chlorhexidine given orally in mice. **Journal of Periodontal Research**, v. 8, p.49–54, 1973. Supplement, 12.

MANDEL, I. D. Calculus update: prevalence, pathogenicity and prevention. **Journal of American Dental Association**, v. 126, p. 573-580, 1995.

MANDEL, I. D. Dental plaque: nature, formation and effects. **Journal of Periodontology**, v. 37, p. 357-367, 1966.

MASSONE, F. **Anestesiologia veterinária**: farmacologia e técnicas. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994. p. 117-36.

MATOS, F. J. A. **Plantas da medicina popular do nordeste: propriedades atribuídas e confirmadas**. Fortaleza: UFC, 1999. 164p.

MCCHESENEY, J. D.; CLARK, A. M.; SILVEIRA, E. R. Antimicrobial diterpenes of *Croton sonderianus*. II. Ent-Beyer-15-en-18-oic acid. **Pharmaceutical Research**, v. 8, n. 10, p. 1243-7, 1991.

MCNABB, H.; MOMBELLI, A.; LANG, N. P. Supragingival cleaning three times a week: the microbiological effects in moderately deep pockets. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 19, p. 348–356, 1992.

MEDEIROS, M. F. T.; FONSECA, V. S.; ANDREATA, R. H. P. Plantas medicinais e seus usos pelos sítiantes da Reserva Rio das Pedras, Mangaratiba, RJ, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, n. 2, p. 391-399, 2004.

MENEZES, M. C. **Avaliação “in vitro” da atividade antimicrobiana de extratos de plantas sobre a microbiota da cavidade oral de cães**. 2006. 42p. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária) – Instituto de Veterinária, Universidade Federal rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2006.

MICHELL, P. Q. **Odontologia de pequenos animais**. São Paulo: Roca, 2005. 175p.

MIDDLETON, R. H. The flavonoids. **Trends in Pharmacological Science**, v. 5, p. 335-338, 1984.

MIDTLYNG, P. J.; HENDRIKSEN, C.; BALKS, E.; BRUCKNER, L.; ELSKEN, L.; EVENSEN, O.; FYRAND, K.; GUY, A.; HALDER, M.; HAWKINS, P.; KISEN, G.; ROMSTAD, A. B.; SALONIUS, K.; SMITH, P.; SNEDDON, L. U. Three Rs Approaches in the production and quality control of fish vaccines. **Biologicals**, v. 39, n. 2, p. 117-28, 2011.

MILLER, B. R.; HARVEY, C. E. Compliance with oral hygiene recommendations following periodontal treatment in client-owned dogs. **Journal of Veterinary Dentistry**, v. 11, n. 1, p. 18-19, 1994.

MORS, W. B.; RIZZINI, C. T.; PEREIRA, N. A. **Medicinal plants of Brazil**. De FILIPPS, R.A. (Ed). Algonac: Reference Publications, Inc., 2000. 501p.

MUZITANO, M. F.; CRUZ, E. A.; ALMEIDA, A. P.; DA SILVA, S. A. G.; KAISER, C. G. C.; ROSSI-BERGMANN, B.; COSTA, S. S. Quercitrin: an anti-leishmanial flavonoid glycoside from *Kalanchoe pinnata*. **Planta Medica**, v. 72, p. 81-83, 2006a.

MUZITANO, M. F.; FALCÃO, C. A. B.; CRUZ, E. A.; BERGONZI, M. C.; BILIA, A.; VINCIERI, F. F.; ROSSI-BERGMANN, B.; COSTA, S. S. Oral Metabolism and Efficacy of *Kalanchoe pinnata* flavonoids in a murine model of cutaneous leishmaniasis. **Planta Medica**, v. 75, n. 4, p. 307-311, 2009.

MUZITANO, M. F.; TINOCO, L. W.; GUETTE, C.; KAISER, C. R.; ROSSI-BERGMANN, B.; COSTA, S. S. Assessment of antileishmanial activity of new and

unusual flavonoids from *Kalanchoe pinnata*. **Phytochemistry**, v. 67, p. 2071-2077, 2006b.

NETUVELI, G. S.; SHEIHAM, A. A. Systematic review of the effectiveness of anticalculus dentifrices. **Oral Health and Preventive Dentistry**, v. 2, p. 49-58, 2004.

NEWMAN, P. S.; ADDY, M. Comparison of hypertonic saline and chlorhexidine mouthrinses after the inverse bevel flap procedure. **Journal of Periodontology**, v. 53, p. 315-318, 1982.

NIEVES, M. A.; HARTWIG, P.; KINYON, I. M.; RIEDESEL, D. H. Bacterial isolates from plaque and from blood during and after routine dental procedures in dogs. **Veterinary Surgery**, v. 26, n. 1, p. 26-32, 1997.

NOGUEIRA FILHO, G. R.; TOLEDO, S.; CURY, J. A. Effect of 3 dentifrices containing triclosan and various additives: an experimental gingivitis study. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 27, p. 494-498, 2000.

OSOSKI, A. L.; LOHR, P.; REIFF, M.; BALICK, M. J.; KRONENBERG, F.; FUGHERMAN, A.; O'CONNOR, B. Ethnobotanical literature survey of medicinal plants in the Dominican Republic used for women's health conditions. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 79, n. 3, p. 285-298, 2002.

PAGE, R. C.; SCHROEDER, H. E. Current status of the host response in chronic marginal periodontitis. **Journal of Periodontology**, v. 52, p. 477, 1981.

PALOMO, F.; WANTLAND, L.; SANCHEZ, A.; VOLPE, A. R.; MCCOOL, J.; DEVIZIO, W. The effect of three commercially available dentifrices containing triclosan on supragingival plaque formation and gingivitis: a six month clinical study. **International Dental Journal**, v. 44, p. 75-81, 1994.

PELLAT, B. P.; GRAND, M. Inorganic pyrophosphatase activity in a plaque calcifying microorganism: *Bacterionema matruchotii*. **Journal of Biology Buccale**, v. 14, n. 3, p. 223-228, 1986.

PERES, M. T.; MONACHE, F. D.; CRUS, A. B.; PIZZOLATTI, M. G.; YUNES, R. A. Chemical composition and antimicrobial activity of *Croton urucurana* Baillon (Euphorbiaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 56, n. 8, p. 223-6, 1997.

PIERI, F. A.; MUSSI, M. C.; FIORINI, J. E.; SCHNEEDORF, J. M. Efeitos clínicos e microbiológicos do óleo de copaíba (*Copaifera officinalis*) sobre bactérias formadoras de placa dental em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 3, p. 578-585, 2010.

PIERI, F. A.; SILVA, V. O.; SOUZA, C. F.; COSTA, J. C. M.; SANTOS, L. F.; MOREIRA, M. A. S. Communication: Antimicrobial profile screening of two oils of *Copaifera* genus. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n. 1, p. 241-244, 2012.

PRADEEP, A. R.; AGARWAL, E.; NAIK, S. B. Clinical and microbiological effects of commercially available dentifrice containing Aloe vera: a randomized controlled clinical trial. **Journal of Periodontology**, v. 83, n. 6, p. 797-804, 2012.

PROWSE, T. L.; SAUNDERS, S. R.; SCHWARCZ, H. P.; GARNSEY, P.; MACCHIARELLI, R.; BONDIOLI, L. Isotopic and dental evidence for infant and young child feeding practices in an imperial roman skeletal sample. **American Journal of Physical Anthropology**, v. 137, n. 3, p. 294-308, 2008.

QUIGLEY, G. A.; HEIN, J. W. Comparative cleansing efficiency of manual and power brushing. **The Journal of the American Dental Association**, v. 65, p. 26-29, 1962.

RAWLINGS, J. M.; GORREL, C.; MARKWELL, P. J. Effect on canine oral health of adding chlorhexidine to a dental hygiene chew. **Journal of Veterinary Dentistry**, v. 15, n. 3, p. 129-134, 1998.

REVILLA, J. **Cultivando a saúde em hortas caseiras e medicinais**. Manaus, AM: Sebrae: Inpa, 2001. 102 p.

RODRIGUES, V. E. G.; CARVALHO, D. A. **Plantas medicinais no domínio dos Cerrados**. Lavras: UFLA, 2001. 180 p.

RÖLLA, G.; MELSEN, B. On the mechanism of the plaque inhibition by chlorhexidine. **Journal of Dental Research**, v. 54, p. 57-62, 1975.

ROSA, P. C. A.; MAIA, L. A.; GALLO, S. M. Prevenção e tratamento da saúde bucal com planta medicinal da Amazônia. In: XIX Jornada de Iniciação Científica, 2010, Manaus. **Anais da XIX Jornada de Iniciação Científica PIBIC** Manaus: INPA - CNPq/FAPEAM, 2010.

ROSEMBERG, H. M.; REHFELD, C. E.; EMMERING, T. E. A method for the epidemiologic assessment of periodontal health disease state in a Beagle Hound colony. **Journal of Periodontology**, v. 37, p. 208-213, 1966.

ROUDEBOUSH, P.; LOGAN, E.; HALE, F. A. Evidence-based Veterinary Dentistry: a systematic review of homecare for prevention of periodontal disease in dogs and cats. **Journal of Veterinary Dentistry**, v. 22, n. 1, p. 6-15, 2005.

RUSSELL, W. M. S.; BURCH, R. L., **The principles of humane experimental technique**. Methuen: London, 1959. 238 p.

SALGADO, A. D. Y.; MAIA, J. L.; PEREIRA, S. L. S.; LEMOS, T. L. G.; MOTA, O. M. L. Antiplaque and antigingivitis effects of a gel containing Punica Granatum Linn extract: a double-blind clinical study in humans. **Journal of Applied Oral Science**, v. 14, p. 162-166, 2006.

SANTOS, A. Evidence-based control of plaque and gingivitis. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 30, p. 13-16, 2003. Supplement, 5.

SANTOS, E. B.; DANTAS, G. S.; SANTOS, H. B.; DINIZ, M. F. F. M.; SAMPAIO, F. C. Estudo etnobotânico de plantas medicinais para problemas bucais no município de João Pessoa, Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 1B, p. 321-324, 2009a.

SANTOS, V. R.; GOMES, R. T.; OLIVEIRA, R. R.; CORTÉS, M. E.; BRANDÃO, M. G. L. Susceptibility of oral pathogenic microorganisms to aqueous and ethanolic extracts of *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão). **International Journal of Dentistry**, v. 8, n. 1, p. 1-5, 2009b.

SANZ, M.; HERRERA, D. Role of oral hygiene during the healing phase of periodontal therapy. In: LANG, N. P.; ATTSTROM, R.; LOE, H. **Proceedings of the european workshop on mechanical plaque control**. Berlin: Quintessenz Verlag, 1998. p. 248-267.

SANZ, M.; NEWMAN, M. G.; ANDERSON, L.; MATOSKA, W.; CORGEL, O. J.; SALTINI, C. Clinical enhancement os post-periodontal surgical therapy by 0,12% chlorexidine gluconate mouthrinse. **Journal of Periodontology**, v. 60, p. 570-576, 1989.

SCHIÖUTT, C. R.; LÖE, H.; BRINER, W. W. Two year oral use of chlorhexidine in man. IV. Effect on various medical parameters. **Journal of Periodontal Research**, v. 11, n. 3, p. 158–164, 1976.

SCHROEDER, H. E. **Formation and inhibition and dental calculus**. Berne: Hans Huber Publishers, 1969. 212 p.

SCHWARTZ, R. S.; MASSLER, M. Tooth accumulated materials: a review and classification. **Journal of Periodontology**, v. 40, n. 7, p. 407-413, 1969.

SCHWARTZ, R. S.; MASSLER, M.; LE BEAU, L. J. Gingival reactions to different types of tooth accumulated materials. **Journal of Periodontology**, v. 42, n. 3, p. 144-51, 1971.

SHARMA, N.; CHARLES, C. H.; LYNCH, M. C.; QAQISH, J.; MCGUIRE, J. A.; GALUSTIANS, J. G.; KUMAR, L. D. Adjunctive benefit of anessential oil–containing mouthrinse in reducing plaque and gingivitisin patients who brush and floss regularly: a six-month study. **The Journal of the American Dental Association**, v. 135, n. 4, p. 496-504, 2004.

SHARMA, N. C.; CHARLES, C. H.; QAQISH, J. G.; GALUSTIANS, H. J.; ZHAO, Q.; KUMAR, L. D. Comparative effectiveness of an essential oil mouthrinse and dental floss in controlling interproximal gingivitis and plaque. **The American Journal of Dentistry**, v. 15, n. 6, p. 351-355, 2002.

SHIOTA, Y.; ARIKITA, H.; HIYAMA, J.; ONO, T.; OHKAWA, S.; YAMAKIDO, M. Septic pulmonary embolism associated with periodontal disease: reports of two cases and review of the literature. **Chest**, v. 121, n. 2, p. 652-654, 2002.

SILVA, C. H. L.; PARANHOS, H. F. O.; ITO, I. Y. Evidenciadores de biofilme em prótese total: avaliação clínica e antimicrobiana. **Pesquisa Odontológica Brasileira**, v. 16, n. 3, p. 270-275, 2002.

SMITH, M. M.; ZONTINE, W. J.; WILLITS, N. H. A correlative study of the clinical and radiographic signs of periodontal disease in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 186, n. 12, p. 1286-1290, 1985.

SMITH, R. N.; BROOK, A. H.; ELCOCK, C. The quantification of dental plaque using an image analysis system: Reliability and validation. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 28, p. 1158-1162, 2001.

SMITH, R. N.; RAWLINSON, A.; LATH, D.; ELCOCK, C.; WALSH, T. F.; BROOK, A. H. Quantification of dental plaque on lingual tooth surfaces using image analysis: reliability and validation. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 31, n. 7, p. 569-573, 2004.

SÖDER, B.; JIN, L. J.; LUNDQUIST, G., SÖDER, P. Ö. A longitudinal investigation of the individual consistency of plaque levels in adults. **Acta Odontologica Scandinavica**, v. 53, p. 72-74, 1995.

SÖDER, P. Ö.; JIN, L. J.; SÖDER, B. Computerized planimetric method for clinical plaque measurement. **Scandinavian Journal of Dental Research**, v. 101, p. 21-25, 1993.

STAUDT, C. B.; KINZEL, S.; HASSFELD, S.; STEIN, W.; STAEHLE, H. J.; DORFER, C. E. Computer-based intraoral image analysis of the clinical plaque removing capacity of 3 manual toothbrushes **Journal of Clinical Periodontology**, v. 28, p. 746-752, 2001.

THAERI, J. B.; AZIMI, S.; RAFIEIAN, N.; ZANJANI, H. A. Herbs in dentistry. **International Dental Journal**, v. 61, p. 287-296, 2011.

TAIWO, O.; XU, H. X.; LEE, S. F. Antibacterial activities of extracts from Nigerian chewing sticks. **Phytotherapy Research**, v. 13, n. 8, p. 675-9, 1999.

TEN CATE, A. R. **Histologia bucal**: desenvolvimento, estrutura e função. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988. 395 p.

TENENBAUM, H.; DAHAN, M.; SOELL, M. Effectiveness of a sanguinarine regimen after scaling and root planing. **Journal of Periodontology**, v. 70, n. 3, p. 307-311, 1999.

Van der WEIJDEN, G. A.; TIMMER, C. J.; TIMMERMAN, M. F.; REIJERSE, E.; MANTEL, M. S. S. The effect of herbal extracts in an experimental mouthrinse on

established plaque and gingivitis. **Journal of Periodontology**, v 25, n. 5, p. 399-403, 1998.

VENTURINI, M. A. F. A. **Estudo retrospectivo de 3055 animais atendidos no ODONTOVET® (Centro Odontológico Veterinário) durante 44 meses.** São Paulo, 2006. 103p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

VILLALOBOS, O. J.; SALAZAR, C. R.; SÁNCHEZ, G. R. Effect of a mouthwash made of *Aloe vera* on plaque and gingival inflammation. **Acta Odontológica Venezolana**, v. 39, p. 16-24, 2001.

VOHC - VETERINARY ORAL HEALTH COUNCIL. **The VOHC Seal of Acceptance.** Disponível em: < <http://www.vohc.org> >. Acessado em: 22 jan. 2012.

WESFELT, E.; NYMAN, S.; LINDHE, J.; SOCRANSKY, S. Use of chlorhexidine as a plaque control measure following surgical treatment of periodontal disease. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 10, p. 10-22, 1983.

WHITE, D. J. Processes contributing to the formation of dental calculus. **Biofouling** v. 7, p. 209-218, 1991.

WHITE, D. J. An alcohol-free therapeutic mouthrinse with cetylpyridinium chloride (CPC) - The latest advance in preventive care: Crest Pro-Health Rinse. **American Journal of Dentistry**, v. 18, p. 3-8, 2005.

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

WOELFEL, J. B.; SCHEID, R. C., **Anatomia dental:** sua relevância para a odontologia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000, 432p.

WOLFF, L. F. Chemotherapeutic agents in the prevention and treatment of periodontal disease. **Northwest Dent**, v. 64, p. 15-24, 1985.

WU, C. D.; DAROUT, I. A.; SKAUG, N. Chewing sticks: timeless natural toothbrushes for oral cleansing. **Journal of Periodontology Research**, v. 36, n. 5, p. 275-284, 2001.

WU, C. D.; SAVITT, E. D. Evaluation of the safety and efficacy of over the counter oral hygiene products for the reduction and control of plaque and gingivitis. **Periodontology 2000**, v. 28, p. 91-105, 2002.

YAMAMOTO, H.; OGAWA, T. Antimicrobial activity of perilla seed polyphenols against oral pathogenic bacteria. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 66, n. 4, p. 921-924, 2002.

YATES, R.; JENKINS, S.; NEWCOMBE, R. G.; WADE, W. G.; MORAN, J.; ADDY, M. A 6-month usage trial of a 1% chlorhexidine toothpaste (1): effects on plaque, gingivitis, calculus and tooth staining. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 20, p. 130-138, 1993.

ZETNER, K.; THIEMANN, G. The antimicrobial effectiveness of clindamycin in diseases of the oral cavity. **Journal of Veterinary Dentistry**, v. 10, n. 2, p. 6-9, 1993.

APÊNDICES

APÊNDICE A - Ficha para anotações de observações na avaliação visual de acordo com a seleção de dentes segundo Logan e Boyce (1994) e numeração segundo Floyd (1991)

data					Número do animal							
COR												
CD												
COR												
PB												
SG												
G												
	4PM	3PM	2PM	1PM	C	3I	3I	C	1PM	2PM	3PM	4PM
	108	107	106	105	104	103	203	204	205	206	207	208

	409	408	407	406	404	304	306	307	308	309	
	1M	4PM	3PM	2PM	C	C	2PM	3PM	4PM	1M	
G											
SG											
PB											
COR											
CD											
COR											

CD=cálculo dentário, PB= placa bacteriana, SG=sulco gengival, G=grau de gengivite

APÊNDICE B

Índices obtidos com as avaliações computadorizada e visual nos três grupos

Tabela 11 – Resultados de IAPB e IAC obtidos a partir da avaliação computadorizada e IPB e IC da avaliação visual do grupo controle negativo (CN) nos dias zero, sete e 28

AVALIAÇÃO COMPUTADORIZADA					AVALIAÇÃO VISUAL			
animais CN	IAPB dia zero	IAPB dia sete	IAC dia zero	IAC dia 28	IPB dia zero	IPB dia sete	IC dia zero	IC dia 28
15	3,18	1,45	2,73	1,41	3,27	1,62	2,82	2,23
16	3,55	1,77	2,91	1,95	3,59	2,09	3,32	3,05
17	3,18	2,32	2,77	2,14	3,36	2,81	3,09	2,05
18	3,41	2,64	3,32	2,55	3,50	1,09	3,36	3,05
19	3,55	2,91	2,86	2,55	3,41	2,05	2,91	3,18
20	3,23	3,14	2,86	2,09	2,95	2,36	2,73	2,77
21	3,27	2,64	2,32	2,64	3,50	3,45	3,14	2,82
22	3,23	2,41	2,27	1,64	3,54	2,09	3,00	2,32
23	3,36	2,54	2,45	1,86	3,45	2,91	2,77	2,32
24	3,18	2,54	3,14	2,95	3,59	2,59	3,54	2,95

IAPB= índice de área de placa bacteriana, IAC= índice de área de cálculo, IPB= índice de placa bacteriana, IC= índice de cálculo, CN= controle negativo

Tabela 12 – Resultados de IAPB e IAC obtidos a partir da avaliação computadorizada e IPB e IC da avaliação visual do grupo controle positivo (CP) nos dias zero, sete e 28

AVALIAÇÃO COMPUTADORIZADA					AVALIAÇÃO VISUAL			
animais CP	IAPB dia zero	IAPB dia sete	IAC dia zero	IAC dia 28	IPB dia zero	IPB dia sete	IC dia zero	IC dia 28
25	3,36	1,50	3,00	2,68	3,36	1,41	3,09	1,86
26	2,77	2,64	2,68	2,77	3,04	2,45	2,18	1,32
27	3,27	2,77	3,23	2,91	3,14	2,73	2,45	1,54
28	3,41	2,41	3,32	2,55	5,09	2,73	2,86	2,00
29	3,09	2,05	3,05	2,95	3,14	2,05	2,45	0,73
30	3,00	1,45	2,64	2,00	3,36	1,27	3,05	1,86
31	3,55	2,00	3,36	1,27	3,23	1,91	3,14	1,91
32	3,45	2,00	3,14	2,32	3,29	2,64	3,09	2,36
33	2,68	2,59	2,27	1,14	3,27	2,55	2,86	1,73
34	3,18	1,41	3,09	1,91	3,36	1,27	3,09	1,59

IAPB= Índice de Área de Placa Bacteriana, IAC= Índice de Área de Cálculo, IPB= índice de placa bacteriana, IC= índice de cálculo, CP= controle positivo

APÊNDICE B

Tabela 13 – Resultados de IAPB e IAC obtidos a partir da avaliação computadorizada e IPB e IC da avaliação visual do grupo tratado (GT) nos dias zero, sete e 28

AVALIAÇÃO COMPUTADORIZADA					AVALIAÇÃO VISUAL			
animais	IAPB	IAPB	IAC	IAC	IPB	IPB	IC	IC
GT	dia zero	dia sete	dia zero	dia 28	dia zero	dia sete	dia zero	dia 28
1	3,36	1,41	3,18	1,45	3,23	1,95	2,23	0,68
2	3,14	2,18	3,23	1,55	2,95	2,04	2,50	0,59
3	3,18	2,23	3,18	1,91	3,23	2,82	2,32	0,68
4	3,32	1,77	3,05	1,91	3,45	1,82	2,23	0,68
5	3,27	2,00	2,73	1,41	3,27	2,32	2,73	0,36
6	3,14	2,27	3,27	2,18	3,27	2,59	2,72	0,86
7	3,09	1,82	2,91	1,36	3,10	3,23	2,59	0,77
8	3,36	2,41	3,23	2,05	3,18	1,95	2,45	0,77
9	3,45	1,91	3,18	1,86	3,32	2,13	2,10	0,54
10	3,18	1,55	2,50	1,95	3,36	2,40	2,09	1,00

IAPB= índice de área de placa bacteriana, IAC= índice de área de cálculo, IPB= índice de placa bacteriana, IC= índice de cálculo, GT= grupo tratado

APÊNDICE C

Tabela 14 – Resultados das análises laboratoriais, para o TSH, realizadas com amostras de soro sanguíneo, dos dias zero e 28, de 14 cães tratados com sumo de *Kalanchoe gastonis-bonnieri*, pelo B.E.T. laboratoires

RESULTADOS DOS EXAMES: TSH (ng/ml)		
Animais	Dia zero	Dia 28
1	1,20	0,37
2	0,07	0,15
3	0,63	0,41
4	0,06	0,23
5	0,10	0,43
6	0,78	0,85
7	0,12	0,34
8	3,46	3,98
9	0,68	0,73
10	0,49	0,25
11	1,07	1,29
12	0,03	0,05
13	4,29	6,09
14	0,26	0,89

APÊNDICE C

Tabela 15 – Resultados das análises laboratoriais, para o T4 livre básico, realizadas com amostras de soro sanguíneo, dos dias zero e 28, de 14 cães tratados com sumo de *Kalanchoe gastonis-bonnieri*, pelo B.E.T. laboratoires

RESULTADOS DOS EXAMES: T4 livre bifásico (ng/dl)		
Animal	Dia zero	Dia 28
1	0,48	1,54
2	1,84	2,12
3	0,34	0,79
4	0,11	0,13
5	1,86	1,84
6	0,76	1,69
7	0,34	0,43
8	0,38	0,32
9	1,38	1,10
10	0,89	1,84
11	0,41	1,29
12	1,61	1,84
13	1,24	0,55
14	0,68	0,81

APÊNDICE C

Tabela 16 – Resultados das análises laboratoriais, para o T4 total, realizadas com amostras de soro sanguíneo, dos dias zero e 28, de 14 cães tratados com sumo de *Kalanchoe gastonis-bonnieri*, pelo B.E.T. laboratoires

RESULTADOS DOS EXAMES: T4 Total (ng/ml)		
Animais	Dia zero	Dia 28
1	7,0	7,9
2	8,2	8,6
3	7,5	7,2
4	7,4	5,5
5	8,9	5,6
6	7,2	6,5
7	7,0	7,3
8	6,9	6,6
9	5,9	4,7
10	6,4	9,1
11	9,9	9,1
12	5,9	5,8
13	9,5	4,7
14	7,3	10,0

APÊNDICE D

Tabela 17 – Resultados das análises laboratoriais, para funções renal e hepática, realizadas com amostras de soro sanguíneo, do dia zero, de 10 cães tratados com sumo de *Kalanchoe gastonis-bonnieri*, pelo Laboratório de Desenvolvimento de Produtos Parasiticidas da UFRRJ

Animais	ALP-AMP	ALT	AST	Creatinina	Ureia
1	150	129	22	0,8	17
2	16	14	22	1,0	48
3	206	146	37	0,7	16
4	41	31	24	0,7	16
5	42	24	18	1,3	48
6	40	56	14	0,9	31
7	61	27	19	0,7	36
8	32	37	27	0,6	24
9	66	26	18	0,7	25
10	30	119	21	1,0	45

ALP-AMP – fosfatase alcalina; ALT –alanina aminotransferas; AST – aspartatoaminotransferase

Tabela 18 – Resultados das análises laboratoriais, para funções renal e hepática, realizadas com amostras de soro sanguíneo, do dia 28, de 10 cães tratados com sumo de *Kalanchoe gastonis-bonnieri*, pelo Laboratório de Desenvolvimento de Produtos Parasiticidas da UFRRJ

Animais	ALP-AMP	ALT	AST	Creatinina	Ureia
1	68	44	26	0,6	18
2	13	14	21	1,1	75
3	241	292	49	0,7	18
4	35	27	19	0,6	15
5	31	27	17	1,2	68
6	40	55	15	0,8	32
7	43	27	16	0,8	15
8	33	86	31	0,6	31
9	60	87	41	0,7	24
10	28	82	32	1,0	49

ALP-AMP – fosfatase alcalina; ALT –alanina aminotransferase; AST – aspartatoaminotransferase