

#### MOARA MARINA BELO MATOS SILVEIRA

# USO DE FOSFATOS E VITAMINA C EM DIETAS ÚMIDAS PARA CÃES NA PREVENÇÃO DE ODONTÓLITOS

#### MOARA MARINA BELO MATOS SILVEIRA

# USODE FOSFATOS E VITAMINA C EM DIETAS ÚMIDAS PARA CÃES NA PREVENÇÃO DE ODONTÓLITOS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós- Graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição de Monogástricos, para a obtenção do título de Mestre.

Prof. Dr. Márcio Gilberto Zangeronimo
Orientador

Profa. Dra. Flávia Maria de Oliveira Borges Saad Coorientadora

**LAVRAS-MG** 

2017

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Silveira, Moara Marina Belo Matos.

Uso de fosfatos e vitamina C em dietas úmidaspara cães na prevenção de odontólitos/ Moara Marina Belo Matos Silveira. - 2017.

39p.: il.

Orientador: Márcio Gilberto Zageronimo. Coorientadora: Flávia Maria de Oliveira Borges Saad.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2017.

Bibliografia.

1. Cães. 2. Fosfatos. 3. Odontólitos. I. Zangeronimo, Márcio Gilberto. II. Saad, Flávia Maria de Oliveira Borges. III. Título.

#### MOARA MARINA BELO MATOS SILVEIRA

## USODE FOSFATOS E VITAMINA C EM DIETAS ÚMIDAS PARA CÃES NA PREVENÇÃO DE ODONTÓLITOS

## USEOF PHOSPHATES AND VITAMIN C IN MOIST DIETS FOR DOGS IN PREVENTION OF DENTAL TARTAR

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição de Monogástricos, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 27 de março de2017.

Profa. Dra. Flávia Maria de Oliveira Borges Saad UFLA

Dra. Maria Regina Cattai de Godoy University of Illinois

Prof. Dr. Márcio Gilberto Zangeronimo
Orientador

LAVRAS-MG

2017

#### **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Zootecnia (DZO), pela oportunidade concedida para realização do mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Aos professores do Departamento de Zootecnia da UFLA, pelos ensinamentos transmitidos e harmoniosa convivência.

À Professora Flávia Maria de Oliveira Borges Saad, pelos conhecimentos transmitidos desde a graduação até a conclusão do mestrado, pela orientação, confiança e por possibilitar a realização desse trabalho.

Ao Professor Márcio Gilberto Zangeronimo, pela orientação, paciência e por seus ensinamentos que foram de grande relevância para a realização desse trabalho e do meu crescimento profissional.

À Professora Maria Godoy pela disposição em participar da banca e conhecimentos que contribuíram para melhora e conclusão desse trabalho.

Ao Centro de Estudos em Nutrição de Animais de Companhia (CENAC), pelo conhecimento adquirido durante a graduação e o mestrado e por permitir a realização do meu experimento.

Aos membros do CENAC que, de alguma forma, contribuíram para essa etapa se concretizar. Principalmente, à Jéssica, Roberta, Caíque e Izadora, pela ajuda na condução do experimento e por tornar as horas de trabalho mais agradáveis. Sem vocês seria tudo muito mais difícil.

Aos animais do CENAC, por tamanha docilidade e amor, por dedicarem suas vidas à melhora de milhares de outras.

À empresa Hercosul Alimentos, por fornecer os alimentos e possibilitar a realização desse trabalho.

À minha família, especialmente aos meus pais, pelo amor e apoio incondicionais em todas as minhas decisões nas diferentes etapas da vida. Pelo incentivo e também pelas cobranças que me fizeram chegar até aqui, toda a minha gratidão!

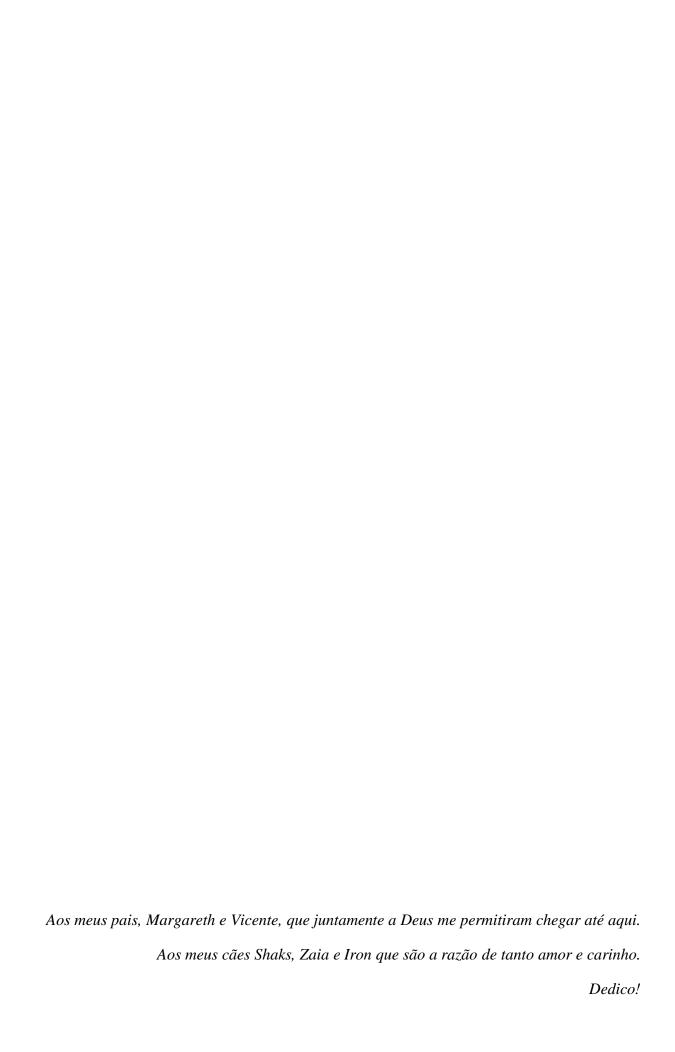
Ao meu namorado Matheus que esteve junto, diariamente, neessa caminhada, pelo apoio nas horas mais difíceis e ajuda na condução do experimento.

Ao meu Tio Marcos Fábio, por ser exemplo profissional, incentivador e pelo auxílio na conclusão desse trabalho.

A todos os familiares que torceram em orações e pensamentos para que esse trabalho se concretizasse.

Aos amigos que torceram por meu sucesso e que me fizeram feliz em tantos momentos.

A Deus.



#### **RESUMO GERAL**

Frente à relevância da boa saúde bucal de cães e seu efeito no estado da saúde geral desses animais, este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar o efeito da inclusão de dois fosfatos diferentes e vitamina C em dietas comerciais úmidas sobre o acúmulo de placa bacteriana, profundidade do sulco gengival e pH salivar em cães. O experimento foi conduzido no Centro de Estudos em Nutrição de Animais de Companhia, do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras, em Lavras-MG, Brasil. Foram utilizados 16 cães, machos e fêmeas, sendo oito da raça Beagle e oito de outras raças de porte pequeno a médio, todos com idade de 5 ± 2anos e peso de 12,26±4,65 kg. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro dietas e quatro repetições. As dietas experimentais foram: 1- ração úmida sem adição de fosfato (controle); 2- ração úmida com 0,3% de tripolifosfato de sódio; 3- ração úmida com 0,3% de hexametafosfato de sódio e 4- ração úmida com 0,3% de hexametafosfato de sódio e 0,03% de vitamina C. Antes do início do experimento, os animais passaram por uma profilaxia dentária. Após um período experimental de 75 dias, os animais foram submetidos à avaliação de placa bacteriana dentária, mensuração do sulco gengival e pH salivar. Clinicamente, foram avaliados a face vestibular dos caninos (C) e segundo (PM2), terceiro (PM3) e quarto (PM4) pré-molares da arcada completa da maxila. A mensuração da placa bacteriana foi feita através de fotos digitais pelos programas GIMP 2 e ImageJ e o pH salivar foi determinado com papel indicador de pH. O sulco gengival foi mensurado por meio de sonda periodontal milimetrada. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott. Houve redução (P<0,05) da placa bacteriana dos caninos quando o hexametafosfato, associado ou não à vitamina C, foi utilizado. Não houve diferença (P>0,05) na profundidade do sulco gengival e pH salivar. Conclui-se que a inclusão de hexametafosfato de sódio em dietas úmidas ajuda na prevenção do acúmulo de placa bacteriana em cães.

**Palvras-chave**: Canino. Placa bacteriana. Hexametafosfato de sódio. Tripolifosfato de sódio. Ácido ascórbico.

#### GENERAL ABSTRACT

Based on the importance of good oral health in dogs and its effect on the general animal health, this research trial aimed to evaluate the effect of inclusion of two different sources of phosphate and vitamin C in moist (or wet) commercial canine diets on dental plaque formation, depth gingival sulcus, and salivary pH in adult healthy dogs. The experiment was conducted at the Companion Animal Nutrition Research Center in the Department of Animal Sciences at the Federal University of Lavras, Lavras-MG, Brazil. Sixteen male and female dogs were used, of which eight were Beagles and eight were of other small to medium breeds, all of them were approximately  $5\pm2$  years old and weighed  $12,26\pm4,65$ kg. The experimental design was completely randomized, with four dietary treatments (n=4). The experimental diets were: 1 - moist diet without addition of phosphate (control); 2 - moist diet with 0.3% sodium tripolyphosphate; 3 - moist diet with 0.3% sodium hexametaphosphate and 4 - moist diet with 0.3% sodium hexametaphosphate and 0.03% vitamin C. Prior to the start of the experiment, the dogs underwent dental prophylaxis. After an experimental period of 75 days, the dogs were examined for dental plaque, gingival sulcus measurement, and salivary pH.The oral health of these dogs was evaluated based on the labial surface of the canine teeth(C) and second (PM2), third (PM3) and fourth (PM4) premolars of the maxillary arch. Bacterial plaque measurement was done through digital photos by the GIMP 2 and ImageJ programs and the salivary pH was determined with pH indicator paper. The gingival sulcus was measured by means of a periodontal millimetric probe. The data were submitted to analysis of variance and means compared by the Scott-Knott test. There was a reduction (P < 0.05) in canine bacterial plaques with dietary supplementation of hexametaphosphate, independent of vitamin C supplementation. There was no difference (P> 0.05) in gingival sulcus depth and salivary pH. It was concluded that inclusion of 0.3% hexametaphosphate in moist diets assists in the prevention of bacterial plaque accumulation in dogs.

**Keywords:** Canine. Bacterial plaque. Sodium hexametaphosphate. Sodium tripolyphosphate. Ascorbic acid.

### SUMÁRIO

	PRIMEIRA PARTE	10
1	INTRODUÇÃO	10
2	REFERENCIAL TEÓRICO	
2.1	Anatomia e histologia dos dentes	11
2.2	Periodonto	11
2.3	Doença Periodontal	12
2.4	Etiologia da doença periodontal	13
2.5	Prevenção da doença periodontal	15
2.5.1	Consistência e textura do alimento	15
2.5.2	Uso de fosfatos	16
2.5.3	Vitamina C	18
3	CONSIDERAÇÕES GERAIS	20
	REFERÊNCIAS	21
	SEGUNDA PARTE – ARTIGO	26
	ARTIGO 1 - USO DE FOSFATOS E VITAMINA C EM DIETAS ÚMIDAS	
	PARA CÃES NA PREVENÇÃO DE ODONTÓLITOS	26
	•	

#### PRIMEIRA PARTE

#### 1 INTRODUÇÃO

A doença periodontal é a patologia bucal mais recorrente em cães, causando gengivite, periodontite, mobilidade e até perda de dentes. Diversos fatores podem favorecer o desenvolvimento da doença periodontal, porém, a placa bacteriana é o mais relevante. Dessa maneira, a prevenção da placa se faz importante para a manutenção da boa saúde bucal em cães.

Ao longo dos anos, os avanços nas pesquisas em nutrição de cães e o desenvolvimento da odontologia veterinária têm contribuído de maneira significativa com a saúde oral dos animais. Contudo, a doença periodontal continua sendo um grave problema, em razão da sua alta prevalência. Inúmeros métodos de prevenção podem ser usados no controle da placa bacteriana, como a escovação dentária dos cães, pelo menos três vezes por semana. Porém, por ser um método muito trabalhoso e com resultados controversos, pesquisas estão sendo realizadas com substâncias que possam ser adicionadas à ração como forma de prevenir a formação da placa bacteriana. Dentre essas substâncias, destacam-se os diferentes tipos de fosfatos.

Sabe-se que o hexametafosfato de sódio e o tripolifosfato de sódio possuem conhecida ação sequestrante de cálcio, podendo reduzir a mineralização da placa bacteriana em odontólito. Adicionalmente, a vitamina C pode ser um importante aditivo para o tratamento e prevenção da doença periodontal, uma vez que estimula a síntese de colágeno e previne a calcificação da placa bacteriana em tártaro. Dessa maneira, a inclusão desses aditivos poderia melhorar a saúde bucal dos cães.

No entanto, a inclusão desses aditivos em dietas úmidas tem sido pouco estudada. Essa avaliação é importante uma vez que esse tipo de alimento como, por exemplo, na forma de patês enlatados, vem sendo cada vez mais utilizado na alimentação dos *pets*, sendo um produto altamente palatável e equilibrado nutricionalmente.

Assim, objetivou-se com esse trabalho, avaliar os efeitos da inclusão de hexametafosfato de sódio, tripolifosfato de sódio e vitamina C em dietas úmidas sobre a formação de placa bacteriana, profundidade do sulco gengival e pH salivar de cães.

#### 2 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 2.1 Anatomia e histologia dos dentes

O dente é morfologicamente dividido em coroa e raiz. A região de transição entre essas duas estruturas é chamada colo dentário. A coroa dental encontra-se revestida pelo esmalte e a raiz está implantada no interior da cavidade óssea alveolar, abaixo da linha da gengiva. Sua extremidade, denominada ápice radicular, é a parte clinicamente não visível do dente, estando recoberta pelo cemento (PACHALY, 2006; PINTO, 2007; SERRANO, 2002; WIGGS; LOBPRISE, 1997).

As estruturas histológicas do dente são o esmalte, a dentina, a polpa e o cemento. O esmalte, ou revestimento externo do dente, é uma substância branca, calcificada, muito resistente, que possui um conteúdo mineral maior que o do osso. O esmalte forma a parte externa protetora da coroa anatômica e é composto por 95% de hidroxiapatita de cálcio, 4% de água e 1% de matriz do esmalte (matéria orgânica). A dentina é o tecido amarelo duro subjacente ao esmalte e ao cemento e forma o interior do dente, composta de 70% de hidroxiapatita de cálcio, 18% de matéria orgânica (fibras colágenas) e 12% de água (KOWALESKY, 2005). Normalmente, não é visível, exceto na radiografia dental, em um dente cortado ou em um dente muito desgastado (WOELFEL; SCHEID, 2000).

No interior de cada dente, está a polpa dentária, que é um tecido mole não calcificado. Formada de tecido conjuntivo, rico em vasos sanguíneos e linfáticos, apresenta fibras nervosas, substância intercelular, fibroblastos, leucócitos e células especializadas, denominadas odontoblastos. Já o cemento corresponde à superfície externa amarelo-escura da raiz anatômica e faz parte do ligamento periodontal.

#### 2.2 Periodonto

O periodonto é composto pelos tecidos que suportam e protegem os dentes. Pode ser dividido em gengiva, cemento, osso alveolar e ligamento periodontal (LOGAN, 2006). A gengiva é uma extensão da mucosa bucal e é constituída por tecido epitelial queratinizado, dividida, anatomicamente, em gengiva livre que se adapta à superfície do dente e gengiva inserida, firmemente ligada ao periósteo, subjacente ao osso alveolar. A gengiva inserida é delimitada na mucosa bucal pela junção muco gengival, exceto no palato, onde não existe essa delimitação. Os tecidos gengivais que estão nos espaços entre os dentes formam a papila interdental. Já a margem da gengiva livre é arredondada formando uma pequena invaginação ou sulco entre os dentes e a gengiva (GORREL, 2004; HARVEY; EMILY, 1993). Em um

animal saudável, a gengiva apresenta-se firme, resistente e normalmente de coloração rosada ou de acordo com a pigmentação do animal (HARVEY; EMILY, 1993).

O cemento é constituído por conteúdo inorgânico menor que o do osso, dentina e esmalte, contendo 65% de hidroxiapatita de cálcio, 23% de fibras colágenas e 12% de água (WOELFEL; SCHEID, 2000). Tem como principal função a fixação dos dentes ao osso alveolar (ROZA, 2004).

O osso alveolar desenvolve-se durante a erupção dentária e sofre atrofia quando os dentes caem. Além das três camadas existentes em todos os ossos (periósteo, osso denso e osso esponjoso), possui ainda uma quarta camada, chamada lâmina cribiforme, que reveste as cavidades alveolares, depressões nas quais estão inseridos os dentes. Vasos sanguíneos e nervos passam através do osso alveolar e atravessam a lâmina cribiforme, sendo que a maior parte desses vasos sanguíneos e nervos se dirigem ao ligamento periodontal (GORREL, 2004).

O ligamento periodontal, por sua vez, é constituído por fibras de tecido conjuntivo denso (colágeno) que unem o dente, por meio do cemento, ao osso alveolar, pelas fibras periodontais de maneira extremamente firme (GIOSO, 2007). Essa estrutura diferenciada age como um ligamento suspensor para os dentes e encontra-se em atividade fisiológica permanente (GORREL, 2004; HARVEY; EMILY, 1993).

#### 2.3 Doença Periodontal

A doença periodontal é o problema de saúde oral mais comum nos cães domésticos (LUND et al., 1999), estando relacionada a fatores predisponentes como acúmulo de placa bacteriana, tártaro, idade, raça, formato do crânio, dieta, sensibilidade individual e traumas (TELHADO et al., 2004). O termo doença periodontal refere-se às lesões inflamatórias, de caráter crônico e infeccioso, que atingem as estruturas que suportam e protegem o dente (periodonto), sendo elas a gengiva, osso alveolar, cemento e ligamento periodontal (GORREL, 2004).

Pode ser classificada em duas categorias, gengivite e periodontite. Quando o processo fica restrito à gengiva, dá-se o nome de gengivite, que é uma resposta imune direta à formação da placa microbiana sobre os dentes. Esta é caracterizada por tumefação, rubor, sensibilidade e sangramento da gengiva, podendo permanecer estável ou progredir para a periodontite, que caracteriza a fase irreversível da enfermidade (KINANE, 2001).

A partir do momento que ocorre envolvimento do periodonto de sustentação, o processo passa a ser chamado de periodontite (DUPONT, 1998; GORREL, 2004; GIOSO,

2007; HENNET, 2005; WIGGS; LOBPRISE, 1997). A patogenia da periodontite envolve dois mecanismos de agressão aos tecidos: a injúria direta causada pela placa bacteriana e a injúria indireta causada pela inflamação provocada pelos microrganismos da placa (GORREL, 2004). A periodontite é ainda subdividida, conforme a gravidade em: inicial, moderada e grave, culminando com a esfoliação do dente (FORD; MAZZAFERRO, 2007; HARVEY; EMILY, 1993; MERIN, 2006; WIGGS; LOBPRISE, 1997).

A progressão da doença vai depender da quebra do equilíbrio entre as defesas do animal e a patogenicidade das bactérias, ocorrendo em velocidade variada, mas podendo prolongar-se por anos (BROOK; NIEMIEC, 2008; GIOSO, 2007; GROVE, 1998). Dessa maneira, a doença periodontal corresponde à soma das desordens que se manifestam na gengivite e na periodontite (HYDE; FLOYD, 1997).

Vários fatores podem favorecer o aparecimento ou grau de acometimento da doença periodontal em cães. Esses fatores são classificados em extrínsecos ou intrínsecos. Como fatores extrínsecos estão: a composição e textura da dieta, a escovação dental e a higiene bucal. Já como intrínsecos estão: a genética, a raça e o tipo de crânio, e a idade. A genética está relacionada principalmente ao sistema imune, sendo importante, pois afeta a capacidade individual de desenvolver uma resposta de defesa adequada. Em muitos casos, a doença periodontal pode se instalar de maneira muito rápida (HENNET, 2005). Já a raça está relacionada ao tipo de crânio. As raças pequenas apresentam o mesmo número de dentes que as maiores, mas por possuírem um crânio menor tendem a apresentar má oclusão e apinhamento. As raças braquicefálicas tendem a ter rotação e apinhamento, o que predispõe esses animais à enfermidade periodontal, somando-se ainda o fato de serem respiradores bucais, o que pode agravar problemas periodontais (HARVEY, 1998). Com relação à idade, estudos mostram uma associação positiva desse fator com a doença periodontal (EMILY et al., 1999; EURIPIDES et al., 1996; HARVEY; EMILY, 1993; TELHADO et al., 2004). Entretanto, nem todos os animais idosos irão, necessariamente, desenvolver doença periodontal, uma vez que a placa bacteriana pode ser controlada (BEARD; BEARD, 1989).

#### 2.4 Etiologia da doença periodontal

O acometimento de cães pela doença periodontal tem como agente etiológico primário a placa bacteriana, que é a responsável pela maioria das infecções bucais. A formação da placa bacteriana ocorre logo após a erupção dos dentes, os quais ficam envolvidos naturalmente no fluido biológico da cavidade bucal, contendo mais de 400 espécies de bactérias (GIOSO, 2007; GORREL, 2004). As bactérias não são os únicos microrganismos

presentes na placa. Há também micoplasmas, um pequeno número de leveduras, protozoários e vírus, incluindo os bacteriófagos (GENÇO; COHEN; GOLDMAN, 1999). A placa bacteriana se estabelece na superfície do dente entre 24 e 48 horas após profilaxia dentária (GIOSO, 2007).

A placa dentária é um material pegajoso e amarelado, resultante da colonização e do crescimento de microrganismos (DUPONT, 1998; GIOSO, 2007; LIMA et al., 2004). Foi conceituada por Emily et al. (1999) como uma massa densa, não calcificada, estruturada e resistente, firmemente aderida à superfície dos dentes e aos odontólitos. É constituída por 80% de água e 20% de sólidos orgânicos e inorgânicos, sendo que 80% da porção sólida correspondem às bactérias (HARVEY; EMILY, 1993).

O biofilme dentário é a matriz orgânica inicial para a deposição de placa. É caracterizado como uma fina película invisível, com espessura de 0,1 a 0,8 mm, composto por restos alimentares, saliva, polissacarídeos extracelulares, células descamadas, leucócitos, macrófagos, lipídios, carboidratos, bactérias (principalmente aeróbias) e por minerais como cálcio, fósforo e magnésio (CLELAND, 2000; DUPONT, 1998; GIOSO, 2007; WIGGS; LOBPRISE, 1997). Bactérias específicas, como *Streptococcus* e *Actinomyces*, têm propriedades de aderência e colonizam rapidamente essa película (HARVEY; EMILY, 1993). Após a aderência dos colonizadores iniciais, outras bactérias se unem ao biofilme, resultando na formação da placa bacteriana (GORREL, 2004). Os microrganismos da placa alojam-se sobre toda a superfície dental e, principalmente, no sulco gengival, onde a limpeza natural promovida pelo fluxo salivar, língua, abrasão dos alimentos e lábios não proporciona ação eficiente (GORREL, 2004; EMILY; PENMAN, 1994).

A placa bacteriana pode ser encontrada nas regiões acima ou abaixo da margem da gengiva, sendo, nesses casos, denominada supragengival ou subgengival, respectivamente (GENÇO; COHEN; GOLDMAN, 1999; HARVEY; EMILY, 1993). As placas apresentam características morfológicas e microbiológicas distintas, sendo a supragengival inicialmente colonizada por bactérias aeróbias e gram-positivas. Já a população microbiana da placa subgengival compreende microrganismos mistos, como cocos gram-positivos e gram-negativos, além de formas filamentosas com pequena matriz intermicrobiana (EMILY; PENMAN, 1994; HARVEY; EMILY, 1993). Se a gengivite inicial não for tratada, a margem gengival se torna edematosa, formando sulcos gengivais e permitindo o acesso de outras bactérias, como os anaeróbios facultativos e estritos, além de espiroquetas, aos tecidos periodontais de sustentação dos dentes. Pode, ainda, haver precipitação de sais minerais provenientes da saliva, formando o odontólito dental (ou tártaro dentário) na superfície do

dente, tanto na zona supragengival quanto na subgengival (EMILY; PENMAN, 1994; PACHALY, 2006).

O odontólito é um material duro, mineralizado, de cor amarelada, marrom ou esverdeada com superfície externa rugosa, que facilita o acúmulo de mais placa bacteriana. (GIOSO, 2007). A mineralização é caracterizada pela ligação de íons de cálcio ao complexo carboidrato-proteína da matriz orgânica bacteriana e pela precipitação de sais cristalinos de fosfato de cálcio (MANDEL, 1960). Esses cristais se desenvolvem inicialmente na matriz intercelular, nas superfícies bacterianas e finalmente dentro das bactérias. O tártaro adere firmemente às superfícies dos dentes como resultado da calcificação da película abaixo da placa bacteriana, de tal forma que se estabelece uma fixação firme ao esmalte e/ou cemento (KOPCZYK; CONROY, 1968; LANG; MOMVBELLI; ATTSTRO, 2008; SELVIG, 1970).

Durante a mastigação, a movimentação do alvéolo e a rica vascularização do periodonto, pode favorecer a bacteremia, que é a invasão bacteriana e de seus metabólitos nos vasos sanguíneos e linfáticos. A doença periodontal ocorre quando a microbiota predominante no sulco gengival se altera de cocos aeróbios gram-positivos imóveis para bastonetes anaeróbios gram-negativos móveis (GIOSO, 2007; HARVEY; EMILY, 1993). Esse processo pode resultar em resposta imunológica sistêmica, com graves distúrbios secundários, tais como bronquite crônica, fibrose pulmonar, endocardiose, endocardite, nefrite intersticial, glomerulonefrite, hepatite, artrite e meningite, podendo, em casos extremos, levar o animal à morte (GIOSO, 2007; GORREL, 2004; GROVE, 1998; PACHALY, 2006; PIHLSTROM; MICHALOWICZ; JOHNSON, 2005; TONETTI et al., 2007).

#### 2.5 Prevenção da doença periodontal

A prevenção é fundamental para diminuir a alta incidência da doença periodontal em cães e, minimizar as implicações locais e sistêmicas causadas pela afecção bucal.

#### 2.5.1 Consistência e textura do alimento

A composição nutricional e a textura dos alimentos podem afetar o ambiente bucal por meio de modificações na integridade dos tecidos, na estimulação do fluxo e composição da saliva e no metabolismo da placa bacteriana (LOGAN, 2006). Além disso, a textura do alimento pode influenciar o acúmulo de depósitos dentais e, consequentemente, o desenvolvimento da doença periodontal (GORREL, 1998).

As rações comerciais completas para cães são divididas em secas, semiúmidas e úmidas. O principal fator para a determinação dessas categorias é o teor de umidade. Rações secas possuem de 10 a 12% de umidade, as semiúmidas 27 a 32%, enquanto as úmidas podem

ter de 74 a 78% de umidade (NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC, 2006). Dessa forma, a consistência do alimento é definida, sendo ele mais firme quando há menor umidade e mais macio quando a umidade é maior.

Gawor et al. (2006) avaliaram a relação entre o tipo de alimentação e a saúde oral de 29.702 cães, através de 730 veterinários na Polônia. Dentre esses animais, 22,5% recebiam apenas alimento seco, 57,7% eram alimentados com alimento seco e úmido e 19,8% recebiam apenas alimento úmido. Uma melhor saúde bucal foi verificada nos animais que se alimentavam apenas de alimento seco. Os autores atribuíram esse resultado à menor ocorrência de linfadenopatia mandibular, depósitos dentários e doença periodontal.

Em estudo semelhante, Buckley et al. (2011) avaliaram 17.148 cães de 700 clínicas veterinárias polonesas. Os autores verificaram que o fornecimento de dietas caseiras origina piores índices de saúde bucal, aumentando a probabilidade de desenvolvimento da doença periodontal.

Por outro lado, Capík (2010) avaliou a influência do tipo da dieta na formação de odontólitos e concluiu que o alimento comercial seco, em comparação com alimento úmido, não exerceu efeito significativo na prevenção da placa dentária e deposição de tártaro. Esses resultados mostram que a deposição de tártaro dental foi semelhante no mesmo indivíduo alimentado com ração comercial seca ou úmida. Adicionalmente, um estudo mostrou que somente a abrasão mecânica não é suficiente para manutenção da boa saúde bucal em cães (STOOKEY et al., 1996).

Atualmente, as indústrias de rações para cães vêm lançando diversos produtos com o intuito de melhorar a saúde oral dos animais e, para tal, buscam recursos que diminuam o desenvolvimento da placa bacteriana. O emprego da ação mecânica de raspagem para limpar os dentes é a estratégia-padrão nesses alimentos, que é obtido por modificações na textura e no tamanho do grânulo. Supõe-se que a placa e o odontólito são desagregados da superfície dos dentes enquanto o animal mastiga o alimento, porém, apenas atinge os dentes utilizados no ato da mastigação (COX; LEPINE; CAREY, 2003). Assim, essa estratégia se limita aos dentes envolvidos na mastigação, de forma que cães com pouca mastigação terão esse benefício limitado.

#### 2.5.2 Uso de fosfatos

Os polifosfatos são frequentemente chamados "fosfatos condensados", uma vez que são polímeros de ânions fosfato obtidos por condensação repetida de unidades de [PO<sub>4</sub>] (THILO, 1965; VAN WAZER; GRIFFITH; MCCULLOUGH, 1954). O termo "fosfato

condensado" corresponde a todos os compostos de fósforo nos quais vários grupos fosfato estão ligados entre si por pontes de oxigênio. De acordo com a classificação atual, os polifosfatos são divididos em três grupos: fosfatos condensados cíclicos, fosfatos condensados lineares e fosfatos condensados "cross-linked" (ou fosfatos inorgânicos ramificados) (CINI; BALL, 2014). Os três grupos de moléculas são preparados por reações de condensação em que os fosfatos tetraédricos são condensados por eliminação de água (THILO, 1965).

Alguns fosfatos, como o tripolifosfato de sódio e o hexametafosfato de sódio, são sequestrantes de cátions bivalentes (principalmente o cálcio). Essa propriedade é proporcional ao tamanho da cadeia, quanto mais longa maior a capacidade quelante, e do pH local, pois um pH alcalino favorece a precipitação de sais minerais (HENNET, 2005). Quando adicionados ao alimento, os fosfatos ajudam a prevenir a mineralização da placa bacteriana em tártaro. Além disso, possuem tempo de ação prolongado, pois permanecem na placa, até serem absorvidos pelo organismo. Uma vez que são difundidos através da saliva por toda cavidade bucal, também atuam em superfícies não envolvidas na mastigação, como a gengiva (COX; LEPINE; CAREY, 2003).

Polifosfatos de sódio (Nan + 2PnO3n + 1; n = 3 a 75) são capazes de inibir o crescimento de várias bactérias gram-positivas, tais como *Staphylococcus aureus* (KNABEL; WALKER; HARMAN, 1991; LEE et al., 1994; POST; KRISHNAMURTY; FLANAGAN, 1963; ZAIKA; KIM, 1993), *Listeria monocytogenes* (ZAIKA; KIM, 1993), *Sarcinalutea* (POST; KRISHNAMURTY; FLANAGAN, 1963), *Bacillus cereus* e *Lactobacillus* e de fungos, tais como *Aspergillus flavus* (KNABEL; WALKER; HARMAN, 1991; MAIER; SCHERER; LOESSNER, 1999). Devido a essas características, o hexametafosfato de sódio tem sido muito utilizado na indústria como um agente antimicrobiano, pela sua capacidade de aumentar a permeabilidade da membrana bacteriana externa (VAARA; JAAKKOLA, 1989) e dispersar o biofilme microbiano (KHAMMAR et al., 2004; VAN DER MEI et al., 2002).

De uma forma geral, os polifosfatos têm atividade antibacteriana contra várias bactérias gram-positivas. Em contraste, as bactérias gram-negativas são geralmente resistentes a esses compostos. A capacidade dos polifosfatos em "sequestrar" cátions divalentes (como o ferro, por exemplo) é considerada relevante para seus efeitos antibacterianos, contribuindo para a inibição da divisão celular e perda da integridade da parede celular das bactérias (KNABEL; WALKER; HARMAN, 1991; LEE et al., 1994; MAIER; SCHERER; LOESSNER, 1999; POST; KRISHNAMURTY; FLANAGAN, 1963).

Em um estudo, Moon, Park e Lee (2011) verificaram que pirofosfato e polifosfatos de sódio com cadeias de diversos tamanhos (Nan+2PnO3n+1; n=3 a 75) inibiram o crescimento de *Porphyromonas gingivalis*, uma bactéria gram-negativa associada à doença periodontal. A concentração inibitória mínima de agentes antibacterianos (MIC) foi de 0,06% para todos os polifosfatos de sódio e de 0,12% para o pirofosfato. Esse resultado indica que os polifosfatos de sódio foram mais eficientes na inibição da bactéria, uma vez que mostraram efetividade em concentração mais baixa. Adicionalmente, houve maior expressão dos genes relacionados ao armazenamento de ferro e ao estresse oxidativo e menor expressão dos genes relacionados à produção de energia e replicação de cromossomos pelo polifosfato de sódio com maior número de unidades de fosfatos (75).

Esses fosfatos são convertidos a ortofosfatos por ação de ácidos no estômago e, posteriormente, são assimilados metabolicamente como fosfatos dietéticos. Portanto, seu uso em dietas para cães é seguro (STOOKEY et al., 1996).

Contudo, os benefícios da utilização de fosfatos não se restringem à sua capacidade quelante, o que garante a prevenção da mineralização da placa bacteriana em tártaro, nem ao seu efeito antimicrobiano. Usui et al. (2010) utilizaram oito *Beagles* machos de oito meses para avaliar a regeneração óssea em defeitos induzidos na mandíbula. Injetou-se nas injúrias ósseas um gel de alginato de sódio como controle ou um gel de alginato de sódio que continha 30% de inclusão de polifosfatos. Após 12 semanas, as áreas médias de reparação óssea observadas em cães com gel controle foram de  $8,6 \pm 2,6 \text{ mm}^2$  contra  $17,4 \pm 3,2 \text{ mm}^2$  no grupo tratado com gel com inclusão de polifosfatos. Esses resultados sugerem que os polifosfatos induzem a diferenciação osteoblástica e mineralização óssea.

O hexametafosfato de sódio e o tripolifosfato de sódio são bastante estudados como aditivos para cães no intuito de prevenir a ocorrência de odontólitos e, consequentemente, a doença periodontal, de forma a garantir boa saúde bucal aos animais (COX; LEPINE, 2002; HENNET; SERVETE; SOULARD, 2007; PAIVA; SAAD; LEITE, 2007; PINTO et al., 2008; STOOKEY et al., 1996; STOOKEY; WARRING; MILLER, 1995). Entretanto, os estudos de inclusão desses fosfatos se restringem a alimentos secos ou biscoitos do tipo *snack* e, portanto, seus resultados são pouco conhecidos em dietas úmidas para cães.

#### 2.5.3 Vitamina C

A vitamina C é uma importante vitamina hidrossolúvel que possui funções antioxidantes, anticarcinogênicas e imunomoduladoras no organismo (FREI; STOCKER; AMES, 1988; VILLACORTA; AZZI; ZINGG, 2007). Contudo, não é uma vitamina essencial

na dieta de cães, uma vez que essa pode ser sintetizada a partir de glicose no fígado (NRC, 2006), embora a capacidade de síntese seja inferior quando comparados a outras espécies (CHATTERJEE et al., 1975).

A vitamina C está envolvida na síntese e manutenção do colágeno, além de promover resistência a infecções e ajudar em processos de cicatrização (COOKE; MOXON, 1981). Estudos indicam uma associação negativa entre o nível plasmático de vitamina C e a gravidade da periodontite em humanos (AMALIYA et al., 2007; AMARASENA et al., 2005). Entretanto, não está claro como a ingestão dessa vitamina afeta o estresse oxidativo na gengiva, a expressão gênica que codifica a inflamação e o comportamento celular em lesões periodontais, embora alguns estudos sugiram que a vitamina C aumenta o número de feixes de colágeno no tecido periodontal (AURER-KOZELJ et al., 1982).

Usando um análogo da vitamina C como enxaguante bucal em humanos, Turesky, Gilmore e Glickman (1970) concluíram que houve redução de placa bacteriana durante um período experimental de três dias. Além disso, houve redução na formação de odontólitos *in vivo* no 8° e no 21° dias de experimento.

Em estudo realizado por Tomofuji et al. (2009), a inclusão de vitamina C na água de bebida de ratos com periodontite induzida melhorou a infiltração de leucócitos, diminuiu o dano oxidativo no DNA e aumentou a quantidade de glutationa reduzida na inflamação gengival. Do mesmo modo, o nível de metabólitos reativos ao oxigênio no plasma foi diminuído pela ingestão de vitamina C. Isso sugere que a vitamina C possa diminuir o estresse oxidativo induzido pela periodontite. Além disso, a ingestão de vitamina C suprimiu a expressão de genes que codificam citocinas inflamatórias, como as interleucinas-1α (IL-1α), IL-1β, IL-6, na lesão periodontal e a enzima óxido nítrico sintase, inferindo em uma ação imunomoduladora nos ratos com periodontite.

Apesar de demonstrar efeito positivo no tratamento e prevenção da doença periodontal, a vitamina C ainda é pouco estudada como aditivo na alimentação de cães.

#### **3 CONSIDERAÇÕES GERAIS**

Em decorrência da importância de uma boa saúde bucal em cães, diversos métodos de prevenção da placa bacteriana e, consequentemente, odontólitos vêm sendo estudados. A inclusão de fosfatos em dietas secas para cães tem sido bastante estudada, mostrando resultados satisfatórios. Já a vitamina C é pouco pesquisada como aditivo para promover boa saúde bucal em cães, sendo que as pesquisas se concentram em humanos e os resultados ainda são conflitantes. Visto que o uso desses aditivos em dietas úmidas ainda é muito recente e que esse tipo de alimento vem ganhando espaço no mercado *pet*, faz-se importante o desenvolvimento de novas pesquisas.

#### REFERÊNCIAS

AMALIYA, A. et al. Java project on periodontal diseases: the relationship between vitamin C and the severity of periodontitis. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhagen, v. 34, n. 4, p. 299-304, June 2007.

AMARASENA, N. et al. Serum vitamin C-periodontal relationship in community-dwelling elderly Japanese. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhagen, v. 32, n. 1, p. 93-97, Jan. 2005.

AURER-KOZELJ, J. et al. The effect of ascorbic acid supplementation on periodontal tissue ultrastructure in subjects with progressive periodontitis. **International Journal of Vitamin and Nutrition Research**, Bern, v. 52, n. 3, p. 333-341, Feb. 1982.

BEARD, G. B.; BEARD, D. M. Geriatric dentistry. **Veterinary Clinics of North America**, Philadelphia, v. 19, n. 1, p. 49-74, Jan. 1989.

BROOK, A.; NIEMIEC, D. V. M. Periodontal disease. **Topics in Companion Animal Medicine**, Santa Bárbara, v. 23, n. 2, p.72-80, May 2008.

BUCKLEY, C. et al. The impact of home-prepared diets and home oral hygiene on oral health in cats and dogs. **British Journal of Nutrition**, London, v. 106, p. 124-127, Oct. 2011. Supplement 1.

CAPÍK, I. Periodontal health vs. various preventive means in toy dog breeds. **Acta Veterinária Brunensis**, Koice, v. 79, n. 4, p. 637-645, June 2010.

CHATTERJEE, I. B. et al. Synthesis and some major functions of vitamin C in animals. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 258, p. 24-47, Sept. 1975.

CINI, N.; BALL, V. Polyphosphates as inorganic polyelectrolytes interacting with oppositely charged ions, polymers and deposited on surfaces: fundamentals and applications. **Advances in Colloid and Interface Science**, Amsterdam, v. 209, p. 84-97, July 2014.

CLELAND, W. P. Nonsurgical periodontal therapy. Clinical Techniques in Small Animal Practice, Philadelphia, v. 15, n. 4, p. 221-225, Nov. 2000.

COOKE, J. R.; MOXON, R. E. D. The detection and measurement of vitamin C. In: COUNSELL, J. N.; HORNING, D. H. (Ed.). **Vitamin C**: ascorbic acid. London: Applied Science, 1981. p. 167-169.

COX, E. R.; LEPINE, A. J. Use of polyphosphate in canine diets to control tartar. In: GENERAL SESSION & EXHIBITION OF THE INTERNATIONAL ASSOCIATION FOR DENTAL RESEARCH, 80., 2002, San Diego. **Proceedings...** San Diego, 2002. Disponível em:<a href="http://www.dentalcare.co.uk/media/en\_GB/journals/pgresrch/posters/iadr02/pdfs/2793.p">http://www.dentalcare.co.uk/media/en\_GB/journals/pgresrch/posters/iadr02/pdfs/2793.p</a> df>. Acesso em: 08 dez. 2016.

- COX, L. P.; LEPINE, A. J.; CAREY, D. P. Influencias nutricionales en la salud dental del perro. **Revista de Medicina Veterinária de Buenos Aires**, Buenos Aires, v. 83, n. 4, p. 265-272, 2003.
- DUPONT, G. A. Prevention of periodontal disease. **The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, Philadelphia, v. 28, n. 5, p. 1129-1145, Sept. 1998.
- EMILY, P. et al. Periodontia -enfermidade periodontal. In: ROMÁN, F. S. Atlas de odontologia de pequenos animais. São Paulo: Manole, 1999. cap. 7, p. 111-125.
- EMILY, P. P.; PENMAN, S. **Handbook of small animal dentistry**. Oxford: Pergamon, 1994. p. 35-53.
- EURIPEDES, D. et al. Placa bacteriana dentária em cães. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 26, n. 3, p. 419-422, jun. 1996.
- FORD, R. B.; MAZZAFERRO, E. M. Manual de procedimentos veterinários e tratamento emergencial segundo Kirk e Bistner. 8. ed. São Paulo: Roca, 2007. 760 p.
- FREI, B.; STOCKER, R.; AMES, B. N. Antioxidant defenses and lipid peroxidation in human blood plasma. **Proceedings of the National Academy of Science**, Washington, v. 85, n. 24, p. 9748-9752, Dec. 1988.
- GAWOR, J. P. et al. Influence of diet on oral health in cats and dogs. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 136, n. 7, p. 2021-2023, July 2006. Supplement.
- GENÇO, R. J.; COHEN, D. W.; GOLDMAN, H. M. **Periodontia contemporânea**. 3. ed. São Paulo: Santos, 1999. 726 p.
- GIOSO, M. A. **Odontologia veterinária para o clínico de pequenos animais**. 2. ed. São Paulo: Manole, 2007. p. 1-23.
- GORREL, C. Periodontal disease and diet in domestic pets. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 128, p. 2712-2714, Dec. 1998. Supplement 1.
- GORREL, C. **Veterinary dentistry for the general practitioner**. Philadelphia: W. B. Saunders, 2004. 224 p.
- GROVE, T. K. Afecção periodontal. In: SLATTER, D. **Manual de cirurgia de pequenos animais**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1998. v. 2, p. 2752-2760.
- HARVEY, C. E.; EMILY, P. P. **Small animal dentistry**. St. Louis: Mosby Year Book, 1993. 413 p.
- HARVEY, C. E. Periodontal disease in dogs. Etiopathogenesis, prevalence and significance. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, Philadelphia, v. 28, n. 5, p. 1111-1126, Sept. 1998.
- HENNET, P. R. **Understanding periodontal disease**: periodontal disease in dogs. Gard: Royal Canin, 2005. p. 9-15.

- HENNET, P.; SERVETE, E.; SOULARD, Y. Effects of a two kibbles size and two differences phosphate salts in preventing calculus accumulation in dogs. **Journal of Veterinary Dentistry**, Boise, v. 24, n. 4, p. 236-239, Dec. 2007.
- HYDE, W. L.; FLOYD, M. Odontologia. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Tratado de medicina interna veterinária**. 4. ed. São Paulo: Manole, 1997. v. 2, cap. 101, p. 1517-1556.
- KHAMMAR, N. et al. Evaluation of dispersion methods for enumeration of microorganisms from peat and activated carbons biofilters treating volatile organic compounds (VOCs). **Chemosphere**, Oxford, v. 54, n. 3, p. 243-254, Jan. 2004.
- KINANE, D. F. Causation and pathogenesis of periodontal disease. **Periodontology 2000**, Copenhagen, v. 25, n. 1, p. 8-20, Feb. 2001.
- KNABEL, S.; WALKER, H.; HARMAN, P. Inhibition of *Aspergillus flavus* and selected gram-positive bacteria by chelation of essential metal cations by polyphosphates. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 54, n. 5, p. 360-365, May 1991.
- KOPCZYK, R. A.; CONROY, C. W. The attachment of calculus to root-planed surfaces. **American Society of Periodontics**, Chicago, v. 6, n. 2, p. 78-83, Apr. 1968.
- KOWALESKY, J. Anatomia dental de cães (Canis familiaris) e gatos (Feliscatus). Considerações cirúrgicas. 2005. 128 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- LANG, N. P.; MOMBELLI, A.; ATTSTRO, M. R. Oral biofilms and calculus. In: LINDHE, J.; LANG, N. P.; KARRING, T. (Ed.). Clinical periodontology and implant dentistry, Oxford: Blackwell Scientific, 2008. p. 183-206.
- LEE, R. M. et al. Antibacterial mechanism of long-chain polyphosphates in *Staphylococcusaureus*. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 57, n. 4, p. 289-294, Apr. 1994.
- LIMA, T. B. F. et al. Escova dental e dedeira na remoção da placa bacteriana em cães. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 1, p. 155-158, mar./abr. 2004.
- LOGAN, E. I. Dietary influences on periodontal health in dogs and cats. **Veterinary Clinics Small Animal Practice**, Manhattan, v. 36, n. 6, p. 1385-1401, Nov. 2006.
- LUND, E. M. et al. Health status and population characteristics of dogs and cats examined at private veterinary practice in the United States. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 214, n. 9, p. 1336-1341, May 1999.
- MAIER, S. K.; SCHERER, S.; LOESSNER, M. J. Long-chain polyphosphate causes cell lysis and inhibits *Bacillus cereus* septum formation, which is dependent on divalent cations. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 65, n. 9, p. 3942-3949, Sept. 1999.

- MANDEL, I. Calculus formation: the role of bacteria and mucoprotein. **Dental Clinics of North America**, Philadelphia, v. 4, p. 731-738, 1960.
- MERIN, R. L. Results of periodontal treatment. **Carranza's clinical periodontology**. St. Louis: WB Saunders, 2006. p. 1206-1214.
- MOON, J. H.; PARK, J. H.; LEE, J. Y. Antibacterial action of polyphosphate on *Porphyromonas gingivalis*. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, Washington, v. 55, n. 2, p. 806-812, Feb. 2011.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dogs and cats**. Washington, DC: National Academy, 2006. 398 p.
- PACHALY, J. R. Odontoestomatologia. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. (Ed.). **Tratado de animais selvagens**: medicina veterinária. São Paulo: Roca, 2006. p. 1068-1091.
- PAIVA, A. C.; SAAD, F. M. O. B.; LEITE, C. A. L. Eficácia dos coadjuvantes de higiene bucal utilizados na alimentação de cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 59, n. 5, p. 1177-1183, out. 2007.
- PIHLSTROM, B. L.; MICHALOWICZ, B. S.; JOHNSON, N. W. Periodontal diseases. **The Lancet**, London, v. 366, n. 9499, p. 1809-1820, Nov. 2005.
- PINTO, A. B. F. et al. Tripolifosfato de sódio e hexametafosfato de sódio na prevenção do cálculo dentário em cães. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 6, p. 1426-1431, dez. 2008.
- PINTO, A. B. F. **Tripolifosfato de sódio e hexametafosfato de sódio na prevenção de odontólitos em cães**. 2007. 79 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- POST, F.; KRISHNAMURTY, G. B.; FLANAGAN, M. D. Influence of sodium hexametaphosphate on selected bacteria. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 11, p. 430-435, Oct. 963.
- ROZA, M. R. **Odontologia em pequenos animais**. Rio de Janeiro: L. F. Livros de veterinária, 2004. 352 p.
- SELVIG, K. A. Attachment of plaque and calculus to tooth surfaces. **Journal of Periodontal Research**, Copenhagen, v. 5, n. 1, p. 8-18, Feb. 1970.
- SERRANO, O. R. **Odonttove**t: minicurso básico de odontologia medicina veterinária em evidência. Recife, 2002. 16 p. Disponível em: <a href="http://pt.scribd.com/doc/49225225/Medicina-Veterinaria-Curso-de Odontologia-Veterinaria">http://pt.scribd.com/doc/49225225/Medicina-Veterinaria-Curso-de Odontologia-Veterinaria</a>. Acesso em: 04 abr. 2016.
- STOOKEY, G. K, et al. Hexametaphosphate-coated snacks biscuits significantly reduce calculus formation in dogs. **Journal of Veterinary Dentistry**, Boise, v.13, n. 1, p. 27-30, Mar. 1996.

- STOOKEY, G. K.; WARRING, J. M.; MILLER L. L. Sodium hexametaphosphate reduces calculus formation in dogs. **American Journal Veterinary Research**, Schaumburg, v. 56, n. 7, p. 913-918, July 1995.
- TELHADO, J. et al. Incidência de cálculo dentário e doença periodontal em cães da raça pastor alemão. **Ciência Animal Brasileira**, Goiania, v. 5, n. 2, p. 99-103, 2004. abr./jun. 2004.
- THILO, E. The structural chemistry of condensed inorganic phosphates. **Angewandte Chemie & Angewandte Chemie International Edition in English**, Weinheim, v. 4, n. 12, p. 1061-1071, Dec. 1965
- TOMOFUJI, T. et al. Effects of obesity on gingival oxidative stress in a rat model. **Journal of Periodontology**, Indianapolis, v. 80, n. 8, p. 1324-132, Aug. 2009.
- TONETTI, M. S. et al. Treatment of periodontitis and endothelial function. **New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 356, n. 9, p. 911-920, Mar. 2007.
- TURESKY, S.; GILMORE, N.; GLICKMAN, L. Reduced plaque formation by the chloromethyl analogue of vitamin C. **Journal of Periodontology**, Indianapolis, v. 41, n. 1, p. 41-43, Jan. 1970.
- USUI, Y. et al. Inorganic polyphosphate induces osteoblastic differentiation. **Journal of Dentistry Research**, Thousand Oaks, v. 89, n. 5, p. 504-509, May 2010. VAARA, M.; JAAKKOLA, J. Sodium hexametaphosphate sensitizes Pseudomonas aeruginosa, several other species of Pseudomonas, and Escherichia coli to hydrophobic drugs. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 3, n. 10, p. 1741-1747, Oct. 1989.
- VAN DER MEI, H. C. et al. Bacterial detachment from salivary conditioning films by dentifrice supernates. **Journal of Clinical Dentistry**, Yardley, v. 13, n. 1, p. 44-49, Jan. 2002.
- VAN WAZER, J. R.; GRIFFITH, E. J; MCCULLOUGH, J. F. Analysis of phosphorus compounds. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 26, n. 11, p. 1755-1759, Nov. 1954.
- VILLACORTA, L.; AZZI, A.; ZINGG, J. M. Regulatory role of vitamins E and C on extracellular matrix components of the vascular system. **Molecular Aspects of Medicine**, Elmsford, v. 28, n. 5/6, p. 507-573, Oct./Dec. 2007.
- WIGGS, R. B.; LOBPRISE, H. B. Exotic animal oral disease and dentistry. In: \_\_\_\_\_\_. (Ed.). **Veterinary dentistry**: principles and practice. New York: Lippincott- Raven, 1997. chap. 6, p. 538-545.
- WOELFEL, J. B.; SCHEID, R. C. **Anatomia dental**: sua relevância para a odontologia. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 319 p.
- ZAIK, A. L. L; KIM, A. H. Effect of sodium polyphosphates on growth of Listeria monocytogenes. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 56, n. 7, p. 577-580, July 1993.

#### **SEGUNDA PARTE – ARTIGO**

### ARTIGO 1 - USO DE FOSFATOS E VITAMINA C EM DIETAS ÚMIDAS PARA CÃES NA PREVENÇÃO DE ODONTÓLITOS

Use of phosphates and vitamin C in moist diets for dogs in prevention of dental tartar

Silveira, M.M.B.M; Zangeronimo, M.G; Saad, F.M.O. B. et al.

Universidade Federal de Lavras - Lavras, MG

Artigo redigido conforme normas da revista

Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia – versão preliminar

#### INTRODUÇÃO

A doença periodontal tem alta prevalência em cães. Aproximadamente 85% dos animais apresentam algum tipo de afecção oral e dessas, 60% correspondem à periodontite (Kyllar e Witter, 2005). Trata-se, portanto, de uma enfermidade de grande importância, pois, dependendo do grau de acometimento, pode ocasionar distúrbios sistêmicos graves como artrite, glomerulonefrite, meningite, endocardite e até mesmo a morte do animal (Pachaly, 2006). As bactérias causadoras da placa bacteriana são os principais agentes etiológicos para o desenvolvimento da doença periodontal (Domingues *et al.*, 1999). Dessa forma, a prevenção do acúmulo da placa bacteriana é uma maneira de assegurar a boa saúde bucal.

Entretanto, a prevenção da doença periodontal muitas vezes é negligenciada, pois os cuidados diários recomendados, como a escovação dos dentes, demandam tempo e paciência por parte dos proprietários, além da colaboração do animal (Murray *et al.*, 2003). No intuito de prevenir o aparecimento dessa doença, diversos aditivos são adicionados nos alimentos para cães, como por exemplo, os fosfatos de sódio (Cox e Lepine, 2002; Hennet *et al.*, 2007; Pinto *et al.*, 2008). O tripolifosfato de sódio ((NaPO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>) e o hexametafosfato de sódio ((NaPO<sub>3</sub>)<sub>6</sub>) são fosfatos sequestrantes de cátions bivalentes, como o cálcio, e com isso, ajudam a prevenir a mineralização da placa bacteriana e consequente desenvolvimento de odontólitos (Hennet *et al.*, 2007). Além disso, o hexametafosfato de sódio é considerado um agente antimicrobiano devido à sua capacidade de aumentar a permeabilidade da membrana externa dos microrganismos (Vaara e Jaakola, 1989) e dispersar o biofilme microbiano (Van Der Mei *et al.*, 2002; Khammar *et al.*, 2004). A principal diferença entre esses dois fosfatos está na estrutura química e na quantidade de unidades de fosfato (Rashchi e Finchi, 2000). O hexametafosfato de sódio possui estrutura cíclica e seis unidades fosfato, enquanto o tripolifosfato de sódio possui estrutura linear e apenas três unidades fosfato.

Além dos fosfatos, a vitamina C (ácido ascórbico) parece ter alguma relação com a periodontite (Amarasena *et al.*, 2005). Estudos epidemiológicos indicam uma associação negativa entre o nível de vitamina C no plasma e a gravidade dessa doença em humanos (Amalyia *et al.*, 2007). Além de ter função antioxidante e imunoestimuladora, a vitamina C também está relacionada com a produção de colágeno (Villacorta *et al.*, 2007), um componente essencial dos tecidos periodontais. Adicionalmente, a cicatrização de feridas bem como a regeneração periodontal e a manutenção da integridade da vasculatura gengival estão diretamente relacionadas com a síntese de colágeno (Berg *et al.*, 1983). Sabe-se que a gengivite está associada à produção de espécies reativas ao oxigênio (ROS) e ao estresse

oxidativo (Battino *et al.*, 1999). Nesse caso, a vitamina C, por sua ação antioxidante, poderia reduzir o estresse oxidativo gerado pela doença periodontal. Assim, a suplementação de vitamina C via dieta poderia representar uma maneira de aumentar os níveis plasmáticos e melhorar a ação antioxidante.

A utilização de fosfatos e da vitamina C pode ter efeitos benéficos na prevenção da placa bacteriana e, consequentemente, da doença periodontal em cães, contribuindo para a boa saúde dos animais. Contudo, os estudos apresentam resultados divergentes (Paiva *et al.*, 2007; Pinto *et al.*, 2008). A inclusão desses aditivos em alimentos úmidos ainda é pouco conhecida, uma vez que a utilização de fosfatos de sódio é mais comum em alimentos secos. Conhecendo a importância e os benefícios de uma boa saúde bucal dos cães e a dificuldade de controle da higiene dentária, objetiva-se, com esse experimento, avaliar o efeito da inclusão de dois diferentes fosfatos de sódio e de vitamina C em dietas úmidas na ocorrência de placa bacteriana, na profundidade do sulco gengival e no pH salivar de cães.

#### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Centro de Estudos em Nutrição de Animais de Companhia, do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras, em Lavras-MG, Brasil. Toda metodologia experimental teve a aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Lavras, sob o protocolo número 028/15.

Ao todo, foram utilizados 16 cães, oito machos e oito fêmeas, com idade de 5±2 anos e peso de 12,26±4,65kg, sendo oito cães da raça *Beagle* e os demais de raças pequenas e médias (dois *Pinscher*, um *Cocker Spaniel*, dois *Schnauzer*, um *Poodle*, um *Shih-tzu* e um mestiço de pequeno porte), pertencentes a proprietários que consentiram a participação de seus animais no experimento. Esses últimos permaneceram na casa dos proprietários (avaliação *indoor*), recebendo apenas o alimento teste e água. Todos os animais estavam clinicamente saudáveis e passaram por um período de 10 dias de adaptação às dietas experimentais antes do início do experimento. A quantidade de alimento foi calculada de pela fórmula 110 x (PV)<sup>0.75</sup>, de acordo com as recomendações do *National Research Council* (NRC, 2006), para cada animal (incluindo os animais *indoor*), com média de 0,843±0,286 kg/dia, porcionado em duas refeições ao dia, pela manhã e à tarde. As dietas experimentais foram: ração úmida sem adição de fosfato e vitamina C (controle); ração úmida com 0,3% de tripolifosfato de sódio (TPS) (Hubei Xingfa Chemicals Group Co, Ltd, Yichang, China); ração úmida com 0,3% de hexametafosfato de sódio (HMS) (Hubei Xingfa Chemicals Group

Co, Ltd, Yichang, China); e ração úmida com 0,3% de hexametafosfato de sódio + 0,03% de vitamina C (Quali<sup>®</sup>-C, Koninklijke DSM N.V., Heerlen, Holanda) (HMS + VIT C). Os aditivos utilizados foram adicionados durante o processamento, antes da autoclavagem das dietas. A composição da ração úmida está apresentada na Tab.1.

Tabela 1. Níveis de garantia na matéria natural (MN)<sup>1</sup> e na matéria seca (MS)<sup>2</sup> da dieta úmida utilizada no experimento<sup>3</sup>

Nutriente	g/kg na MN¹	g/kg na MS <sup>2</sup>
Umidade (máx.)	810	190
Proteína bruta (mín.)	80	42
Extrato etéreo (mín.)	60	32
Matéria Fibrosa (máx.)	20	11
Matéria Mineral (máx.)	30	16
Cálcio (máx.)	4	2,1
Cálcio (mín.)	2	1,1
Fósforo (mín.)	3	1,6
Relação Ca: P	1,33: 1	1,31: 1
Energia metabolizável (mín.)	950 kcal/kg	5000 kcal/kg

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup>Composição nutricional básica: Carne bovina, miúdos bovinos, miúdos de suínos, carne de frango, miúdos de frango, água, plasma em pó, cloreto de sódio (sal comum), cloreto de colina, palatabilizante, vitaminas (A, B1, B2, B3, B5, B6, B9, B12, C, D3, E, K3 e biotina) e minerais (complexo zinco aminoácido quelato, sulfato de zinco, cloreto de potássio, carbonato de cálcio, selenito de sódio, sulfato de cobalto, sulfato de cobre, sulfato de manganês, sulfato ferroso, iodato de cálcio)

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e quatro repetições. No último dia de adaptação, os cães foram submetidos ao procedimento de profilaxia dental completa (Gioso, 2007). Para isso, os animais foram anestesiados com zoletil (tiletamina + zolazepam) por via endovenosa (0,03 mg/kg), tendo como medicação pré-anestésica o sulfato de atropina (0,040 mg/kg) e xilazina (1,1 mg/kg), ambos pela via intramuscular (Lorenzo *et al.*, 2014). A remoção do tártaro foi realizada com auxílio de aparelho de ultrassom (Ultrassom Dentário, Alt Sonic Cerâmic-II, ALT Equipamentos Odontológicos, Ribeirão Preto-SP, Brasil) e curetas dentárias de Gracey números 12 e 13. Em seguida, foi realizado o polimento dentário usando pasta de pedra pomes e escova com cerdas do tipo Robinson, seguido de aplicação de clorexidina 0,12% sobre os dentes.

No dia seguinte à profilaxia dental, teve início o período experimental e após 75 dias consumindo as dietas, os animais foram novamente submetidos ao mesmo protocolo

anestésico para avaliação da cobertura de placa bacteriana e da profundidade do sulco gengival na face vestibular dos dentes canino (C) e segundo (PM2), terceiro (PM3) e quarto (PM4) pré-molares da arcada completa da maxila. Para tanto, fotos digitais foram registradas da arcada completa da maxila com o auxílio de equipamento "abre boca" em inox, a distância da câmera em relação aos dentes foi proporcional ao campo visual desejado e padronizado. As fotos foram utilizadas para determinação da área total de cada dente. O sulco gengival foi mensurado individualmente, em cada dente, avaliado por meio de sonda periodontal milimetrada introduzida no sulco gengival, paralelamente ao dente, até sua profundidade máxima. Também foi realizada a mensuração do pH salivar com papel indicador de pH (Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha), colocando a fita em contato direto com a saliva do animal. Já a placa bacteriana foi analisada através de corante líquido (fucsina), previamente diluído a 2%, aplicado sobre a superfície de cada dente avaliado (Paiva et al., 2007). Em seguida, fotos digitais foram novamente registradas para a mensuração da área de placa bacteriana formada. Com auxílio dos programas GIMP 2 (versão 2.8.8) e Image J (versão 1.48) foram obtidas as porcentagens das áreas das superfícies vestibulares dos dentes acometidos por placa bacteriana em relação à área total de cada dente (Abdalla et al., 2009).

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade pelo teste de Shapiro Wilk, homocedasticidade de variâncias pelo teste de Breusch Pagan e independência dos erros pelo teste de Durbin-Watson. Quando atendidas todas as condições (P>0,05), a análise de variância (ANAVA) foi realizada e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5%. Do contrário, análise não paramétrica foi realizada e as médias comparadas pelo teste Friedman. Toda análise estatística foi realizada utilizando o pacote estatístico Action 3.1.

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A inclusão de hexametafosfato de sódio, associado ou não à vitamina C, reduziu (P<0,05) a cobertura de placa bacteriana somente no dente canino da maxila (Tab. 2 e Fig.1). Não foi verificada diferença (P>0,05) na profundidade do sulco gengival e no pH salivar (Tab. 2).

Diversos estudos comprovam os benefícios do uso de fosfatos de sódio em alimentos secos para cães (Cox e Lepine, 2002; Hennet *et al.*, 2007; Pinto *et al.*, 2008). Porém, a inclusão desses aditivos em dietas úmidas ainda é pouco estudada.

Tabela 2. Cobertura de placa bacteriana (porcentagem da face vestibular do dente), profundidade do sulco gengival e pH salivar de cães recebendo dietas com 0,3% de inclusão de diferentes fosfatos e 0,03% de vitamina C

	Controle	TPS	HMF	HMF + vitamina C	P =	CV (%)
Placa bacteriana (%)						
Dente canino	53,2a	42,5a	24,3b	24,4b	< 0,01	26,7
2° pré-molar	55,4	32,2	48,3	54,0	0,10	26,7
3° pré-molar	55,7	66,7	57,0	67,9	0,68	28,5
4° pré-molar	86,6	64,3	85,1	72,3	0,22	20,8
Profundidade do sulco gengival (mm)						
Dente canino	2,08	2,00	2,63	2,38	0,31	-
2° pré-molar	1,75	1,50	1,38	1,63	0,48	-
3° pré-molar	1,83	1,78	1,75	1,50	0,95	-
4° pré-molar	1,95	1,75	1,88	1,58	0,89	-
pH salivar	9,25	9,00	9,00	9,00	0,39	-

a,b Médias seguidas por diferentes letras diferem pelo teste Tukey a 5%.



Figura 1. Cobertura de placa bacteriana de um animal do grupo controle (A) e do grupo com inclusão de 0,3% de hexametafosfato de sódio (B), em contraste com fucsina diluída a 2%.

Dentes caninos têm função de agarrar, e dentes incisivos são usados para rasgar pequenos pedaços de carne da presa (Hennet *et al.*, 2007). Da mesma forma, esses dentes são utilizados para apreender o alimento úmido, que não possui consistência rígida e nem forma definida. Para que o hexametafosfato de sódio e o tripolifosfato de sódio tenham ação efetiva

na cavidade oral, é preciso que eles se desprendam do alimento durante a mastigação. Como a apreensão do alimento foi exercida principalmente pelo dente canino, este apresentou resultados expressivos na redução da placa bacteriana (P<0,01). Assim, sugere-se que a inclusão dos fosfatos seria mais eficaz em alimentos secos ou que promovam a mastigação, pois facilitaria a liberação dos polifosfatos, promovendo benefícioes em todos os dentes envolvidos na mastigação.

No presente estudo, a eficácia do hexametafosfato de sódio foi superior ao tripolifosfato de sódio, pois o complexo iônico do hexametafosfato de sódio lhe confere maior capacidade quelante (White e Gerlach, 2000). Assim menos cálcio fica disponível para mineralização da placa bacteriana em tártaro. Resultados semelhantes foram encontrados por Cox e Lepine (2002) que, ao avaliarem a inclusão de hexametafosfato de sódio em uma ração comercial seca para cães, observaram redução de 59% em odontólitos e de 9% na placa bacteriana em relação ao grupo controle. Já em um experimento conduzido por Hennet *et al.* (2007), houve redução de 36% e 55% do tártaro dental, quando foi utilizado o hexametafosfato de sódio e o tripolifosfato de sódio, respectivamente.

Pinto *et al.* (2008) estudaram o efeito da inclusão de hexametafosfato de sódio e de tripolifosfato de sódio na cobertura ou na massa de uma ração comercial seca para cães. A inclusão dos dois fosfatos, tanto na massa como na cobertura, foi eficiente na redução do acúmulo de tártaro nos dentes caninos maxilares, porém apenas o hexametafosfato de sódio adicionado na cobertura causou redução no terceiro pré-molar maxilar. Não havendo resultado significativo para o segundo e quarto pré-molares e primeiro molar maxilar. No entanto, o hexametafosfato de sódio, quando adicionado na cobertura do *kibble*, apresentou redução de 34,2% do tártaro formado, enquanto o tripolifosfato de sódio reduziu em 24,2%, considerando-se os dentes maxilares e mandibulares.

No presente trabalho não houve efeito (P>0,05) dos fosfatos sobre o acúmulo de placa bacteriana no segundo, terceiro e quarto pré- molares, uma vez que o alimento úmido exige pouca ou nenhuma mastigação, fato que pode ter influenciado a liberação e ação dos fosfatos na cavidade bucal. Nesse caso, a inclusão de fosfatos não foi eficiente na prevenção desse tipo de problema. Hennet *et al.* (2007) também não verificaram diferença na formação de tártaro no terceiro pré-molar quando houve inclusão de hexamefosato de sódio em dietas secas para cães. Da mesma forma, Paiva *et al.* (2007), comparando os efeitos do fornecimento de *snacks* com inclusão de tripolifosfato de sódio e hexametafosfato de sódio na prevenção da placa bacteriana em cães, não verificaram, após 21 dias de fornecimento das dietas, diferenças entre os grupos experimentais na cobertura de placa bacteriana no canino, segundo, terceiro e

quarto pré-molares, e primeiro molar da hemiarcada direita da maxila. No entanto, a espessura da placa foi menor nos grupos que receberam *snacks* com inclusão de hexametafosfato de sódio e tripolifosfato de sódio em relação ao grupo controle, não havendo diferenças entre os fosfatos.

Entretanto, a comparação com resultados encontrados na literatura deve levar em consideração fatores como o tipo de alimento utilizado, o nível de inclusão dos fosfatos, e o tempo de duração do estudo. Nesse trabalho, o período experimental foi de 75 dias, tempo superior ao recomendado pelo *Veterinary Oral Healthy Council (VOHC)*, que preconiza 28 dias para avaliação de aditivos que promovam melhor saúde bucal. Contudo, o aumento no tempo experimental é estimulado. Além disso, é importante ressaltar que a inclusão de fosfatos (na matéria seca) no presente estudo foi de 1,5%, inclusão superior aos trabalhos encontrados na literatura. No entanto, a pouca mastigação promovida pela alimentação com dietas úmidas prejudicou a ação dos fosfatos nos dentes, exceto nos caninos. Pode ter havido maior acúmulo de alimento nos dentes terceiro e quarto pré-molares, uma vez que a cobertura de placa nesses dentes foi bem superior aos demais, mesmo com a inclusão dos fosfatos.

Recentemente, estudos com humanos demonstraram que os benefícios dos fosfatos não estão limitados a ação sequestrante de cálcio, o que garante a prevenção de odontólitos. Bae *et al.* (2016) demonstraram que o tripolifosfato de sódio e o hexametafosfato de sódio aumentam a proliferação e o potencial de diferenciação osteogênica de células do ligamento periodontal e de osteoblastos, fato que foi confirmado pelo aumento da atividade da fosfatase alcalina, deposição de cálcio e expressão de RNAm de osteopontina e osteocalcina. Sabe-se ainda que as células do ligamento periodontal possuem a capacidade de se diferenciar tanto em cementoblasto quanto em osteoblasto e desempenham papel importante na regeneração periodontal (Shimono *et al.*, 2003). Assim, esses fosfatos, além de prevenirem o aparecimento da doença periodontal, poderiam ajudar na recuperação dos pacientes após a instalação desse processo.

Com relação à profundidade do sulco gengival, não foram observadas diferenças entre as dietas experimentais. O espaço existente entre a gengiva livre e a coroa do dente é denominado sulco gengival e sua mensuração é um importante parâmetro na avaliação da saúde bucal, indicando principalmente o grau de periodontite (Gioso, 2007). A profundidade normal em cães varia entre 0 a 3 mm, sendo que valores acima desse parâmetro implicam em periodontite com formação de bolsa ou hiperplasia gengival (Gorrel, 2004). O tecido gengival, que está aderido ao dente, aumenta de tamanho na região coronal e ao redor do dente em respota à placa bacteriana e esse processo provoca aumento da profundidade do

sulco entre o dente e a gengiva (Gioso, 2007). No presente estudo, embora todos os animais tenham apresentado cobertura de placa bacteriana nos dentes, os valores médios da profundidade do sulco gengival ficaram dentro dos parâmetros normais, inferindo que os tecidos mais profundos do periodonto estavam saudáveis. Resultados semelhantes foram encontrados por Paiva *et al.* (2007), que obtiveram índices de profundidade do sulco gengival entre 1,0 a 2,5 mm em cães que receberam dietas com tripolifosfato de sódio e hexametafosfato de sódio.

Além de possuírem atividade antibacteriana contra *Porphyromonas gingivalis* e *Streptococcus mutans*, bactérias que contribuem para o desenvolvimento da doença periodontal, os fosfatos de sódio podem estimular o crescimento de fibroblastos (Shiba *et al.*, 2004), que são as principais células do periodonto e que estão envolvidos na renovação do colágeno. Assim, esses fatores podem ter contribuído para a manutenção dos bons índices de profundidade do sulco gengival dos animais desse estudo.

No presente estudo, a associação da vitamina C ao hexametafosfato de sódio não influenciou os resultados. Perdas de vitamina podem ter ocorrido durante o processo de autoclavagem do alimento úmido (Oey et al., 2006), mesmo se tratando de uma vitamina termoestável. Mais estudos devem ser conduzidos com cães para verificar os efeitos da suplementação de vitamina C na prevenção de periodontite.

Com relação ao pH salivar, todos os animais do presente estudo obtiveram médias entre 9 e 9,25, resultados semelhantes aos encontrados por Paiva *et al.* (2007) e Pinto *et al.* (2008), que avaliarem a inclusão de hexametafosfato de sódio e tripolifosfato de sódio em dietas secas para cães. Sabe-se que os odontólitos são formados quando os minerais solúveis da saliva, como o carbonato de cálcio e o fosfato de cálcio, se tornam supersaturados dentro dos espaços intersticiais entre as bactérias, principalmente, quando o pH é alcalino, como ocorre nos cães, fato que favorece o aparecimento de odontólitos (Mandel, 1960). Em estudo feito por Bezerra *et al.* (2010) foi demonstrado que parâmetros clínicos de indivíduos com doença periodontal, como sangramento gengival, placa bacteriana e bolsa periodontal, não indicam necessariamente alterações no pH salivar.

Os resultados desse estudo contribuem para nortear novas pesquisas sobre a inclusão de fosfatos e vitamina C em dietas úmidas na prevenção de odontólitos, uma vez que estudos com esse tipo de dieta são escassos. Dessa forma, outras dosagens poderiam ser avaliadas a fim de verificar seu potencial na redução dos odontólitos, o que contribuiria para a determinação de um nível ótimo de inclusão, assim como para a redução dos custos de

produção dos alimentos. Além disso, parâmetros ligados ao estado de saúde geral do animal, podem ser estudados para que se estabeleça a função e efetividade desses aditivos.

#### CONCLUSÃO

A inclusão de hexametafosfato de sódio em dietas úmidas para cães ajuda a prevenir a ocorrência de placa bacteriana dentária. O hexametafosfato de sódio tem melhor ação em relação ao tripolifosfato de sódio, enquanto que a suplementação de 0,03% de vitamina C no alimento úmido não exerce efeito adicional quando utilizada junto ao hexametafosfato de sódio.

#### **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e à Hercosul alimentos.

#### REFERÊNCIAS

ABDALLA, S.L.; SILVA, M.F.A.; PEREIRA, A.R.C. Computer quantification for the evaluation of dental plaque and dental calculus index in the digital image of vestibular surface of the teeth of dogs. *Pesqui. Ve.t Bras.*, v.29, p.666–672, 2009.

AMALIYA, A.; TIMMERMAN, M.F.; ABBAS, F. et al. Java project on periodontal diseases: the relationship between vitamin C and the severity of periodontitis. *J Clin Periodontol.*, v.34, p.299 –304, 2007.

AMARASENA, N.; OGAWA, H.; YOSHIHARA, A. et al. Serum vitamin C–periodontal relationship in community-dwelling elderly Japanese. *J Clin Periodontol.*,v.32, p.93–97, 2005.

BERG, R.A.; STEINMANN, B.; RENNARD, S.I. et al. Ascorbate deficiency results in decreased collagen production: unhydroxylation of proline leads to increased intercellular degradation. *Arch Biochem Biophys.*, v.226, p. 681–686, 1983.

BEZERRA JUNIOR, A.L.; PALLOS, D.; CORTELLI, J.R. et al. Evaluation of organic and inorganic compounds in the saliva of patients with chronic periodontal disease. Revista Odonto Ciência (Online), Porto Alegre, v.25, n.3, p.234-238,2010. Disponível em: <a href="http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S1980-65232010000300003">http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\_arttext&pid=S1980-65232010000300003</a>. Acesso em: 21.Ago.2016.

BAE, W.J.; Q-SCHICKAU, GYU, T.; et al. Effects of sodiumtri-and hexameta-phosphate in vitro osteoblastic differentiation in Periodontal Ligament and Osteoblasts, and in vivo bone regeneration. *Differentiation.*, v.92, p.257-269, 2016.

BATTINO, M.; BULLON, P.; WILSON,M. et al. Oxidative injury and inflammatory periodontal diseases: the challenge of anti-oxidants to free radicals and reactive oxygen species. *Crit. Rev. Oral. Biol. Med.*,v.10, p.458-76, 1999.

COX, E.R.; LEPINE, A.J. Use of polyphosphate in canine diets to control tartar. In: GENERAL SESSION & EXHIBITION OF THE IADR, 80. *Proceedings...* San Diego, 2002.

DOMINGUES, L.M.; LESSI, A.C.; SCHOKEN-ITURRINO, R.P. et al. Microbiota saprófita associada à doença periodontal em cães. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 51, n. 4, p.329-332, 1999.

GIOSO, M.A. Odontologia veterinária para o clínico de pequenos animais. 2. ed. São Paulo: Manole. 160p., 2007.

GORREL, C. Veterinary dentistry for the general practitioner. Philadelphia: Elsevier Saunders., cp.9, p.87-110, 2004.

HENNET, P.; SERVETE, E.; SOULARD, Y.; et al. Effects of a two kibbles size and two differentes phosphate salts in preventing calculus accumulation in dogs. *J Vet Dent.*, v. 24, n. 4, p. 236-239, 2007.

KHAMMAR, N.; MALHAUTIER, L.; DEGRANGE, V. et al. Evaluation of dispersion methods for enumeration of microorganisms from peat and activated carbons biofiltres treating volatile organic compounds (VOCs). *Chemosphere.*, v.54, p. 243–254, 2004.

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

LORENZO, M.A.; BELLO, L.F.C.O.; ROTHSTEIN, J.M.J. Incidência de cálculo dentário e doença periodontal por grupo dentário, arcada dentária e faixa etária em cães da raça Beagle. *Rev. Ciên. Agron.*, v.13, n.3, p.275-283, 2014.

MANDEL, I. Calculus formation: the role of bacteria and mucoprotein. *Dent Clin North.*, v.4, p. 731–738,1960.

MURRAY, S.; COX, B.S.; LEPINE, A.; SUNVOLD, G. Clinical Advancements in Nutritional Management of Oral Health. In: World Small Animal Veterinary Association World Congress, Lewisburg, USA, 2003.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient Requirements of Dogs and Cats. Washington, DC: National Academy Press, 2006.

OEY, I.; VERLINDE, P.; HENDRICKX, M. Temperature and pressure stability of L-ascorbic acid and/or [6s] 5-methyltetrahydrofolic acid: A kinetic study. *Eur.Food. Res. Technol.*, v. 223, p. 71-77, 2006.

PACHALY, J. Odontoestomatologia em animais selvagens. In: CUBAS, Z.S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO DIAS, Z. S. Tratado de animais selvagens. São Paulo: Roca., cap.64, p.1068-1091, 2006.

PAIVA, A.C.; SAAD, F.M.O.B.; LEITE, C.A.L. et al. Eficácia dos coadjuvantes de higiene bucal utilizados na alimentação de cães. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.59, p.1177-1183, 2007.

PINTO, A.B.F.; SAAD, F.M.O.B.; LEITE, C.A.L. et al. Tripolifosfato de sódio e hexametafosfato de sódio na prevenção do cálculo dentário em cães. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 60, n. 6, p. 1426-1431, 2008.

RASHCHI, F.; FINCH, J.A. Polyphosphates: a review their chemistry and application with particular reference to mineral processing. *Miner. Eng.*, v. 13, n. 10-11, p. 1019-1035, 2000.

SHIBA, T.; TAKAHASHI, Y.; UEMATSU, T. et al. Effect of inorganic poly- phosphate on periodontal regeneration. *Key. Eng. Mater.*, v. 254, p: 1119–1122, 2004.

SHIMONO, M.; ISHIKAWA, T.; ISHIKAWA,H. et al. Regulatory mechanisms of periodontal regeneration. *Microsc. Res. Tech.*, v.60, p.491–502, 2003.

VAARA, M.; JAAKKOLA, J.Sodium-hexametaphosphate sensitizes Pseudomonas aeruginosa, several other species of Pseudomonas, and E.colitohydrophobic drugs. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, v.3, p.1741–1747, 1989.

VAN DER MEI, H.C.; WHITE, D.; GEERTSEMA-DOORNBUSCH, G. et al. Bacterial detachment from salivar conditioning films by dentifrice supernates. *J Clin Dent.*, v.13, p.44 – 49, 2002.

VILLACORTA, L; AZZI, A; ZINGG, J.M. Regulatory role of vitamins E and C on extracellular matrix components of the vascular system. *Mol. Aspects. Med.*, v.28, n. 5-6, p. 507-537, 2007.

WHITE, D.J.; GERLACH, R.W. Anticalculus effects of a novel, dual-phase polypyrophosphate dentifrice: chemical basis, mechanism, and clinical response. *J. Contemp. Dent. Pract.*, v.1, p.1-19, 2000.

#### **ANEXO**

#### Anexo 1- Certificado da Comissão de ética no uso de animais

#### UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS PRÓ-REITORIA DE PESQUISA

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS Cx.P.3037 - Lavras - MG - 37200-000 - (35) 3829-5182 cba@nintec.ufla.br

#### **CERTIFICADO**

Certificamos que o projeto intitulado " Uso de fosfatos em dietas úmidas e seus efeitos na saúde bucal em cães", protocolo nº 028/15, sob a responsabilidade de Flávia Maria de Oliveira Borges Saad, Moara Marina Belo Matos Silveira, Luiz Eduardo Duarte de Oliveira, Roberta Freitas Lacerda, Karen Guttenkunst Lisenko e Tatiana Godinho Pádua, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto homem), para fins de ensino e/ou pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas edificadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação (MCTI), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Pró-Reitoria de Pesquisa/UFLA, em reunião de 01/10/2015.

Início do projeto: 10/10/2015 Término do projeto: 22/12/2016

Espécie/linhagem: cão/beagle, Schnauzer, SRD

Número de animais aprovados: 20

Peso/Idade: beagle: 12-20kg/5-9 anos; Schnauzer: 3-5kg/2-3 anos; SRD: 3-9kg/3-5

anos

Sexo: macho e fêmea

Origem dos animais (documento apresentado pelo pesquisador responsável e arquivado pela CEUA): Centro de Estudos em Nutrição de Animais de Companhia (CENAC), do Departamento de Zootecnia (DZO) da UFLA - Coordenadora: Flávia Maria de Oliveira Borges Saad. Animal de Criação com Termo de Consentimento do Proprietário.

Prof<sup>a</sup>, Gabriela Rodrigues Sampaio Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA

> Universidade Federal de Lavras Pró-Reitoria de Pesquisa /Comissões Permanentes Campus Universitário -Caixa Postal 3037 / CEP 37200 000 – Lavras, MG - Brasil Tel.: +55 (35) 3829 5182 cba@nintec.ufla.br - www.prp.ufla.br