

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
ESCOLA DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

CARLOS TSUYOSHI MURAKAMI

**AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA E RADIOGRÁFICO DA LIDOCAÍNA E
SUA INFLUÊNCIA NA ENXERTIA ÓSSEA ORAL COM OSSO
LIOFILIZADO EM RATOS (*Rattus norvegicus*)**

*ANTIMICROBIAL AND EVALUATION OF RADIOGRAPHIC LIDOCAINE AND
INFLUENCE ON BONE GRAFTING ORAL WITH BONE LYOPHILIZED in rats (*Rattus
norvegicus*)*

SÃO JOSÉ DOS PINHAIS

2015

**AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA DA LIDOCAÍNA E SUA INFLUÊNCIA
NA ENXERTIA ÓSSEA ORAL COM OSSO LIOFILIZADO EM RATOS
(*Rattus norvegicus*)**

*ANTIMICROBIAL AND EVALUATION OF RADIOGRAPHIC LIDOCAINE AND
INFLUENCE ON BONE GRAFTING ORAL WITH BONE LYOPHILIZED in rats (*Rattus
norvegicus*)*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, área de concentração Saúde, Tecnologia e Produção Animal, da Escola de Ciências Agrárias e Medicina Veterinária da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. José Ademar Villanova Junior

Co-orientadora: Profa. Dra. Antonia Maria do Rocio Binder do Prado

**SÃO JOSÉ DOS PINHAIS
2015**

SUMARIO

AGRADECIMENTOS.....	vii
FORMATO DA DISSERTAÇÃO.....	viii
RESUMO GERAL.....	ix
ABSTRACT.....	x
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xi
LISTA DE TABELAS.....	xii
LISTA DE FIGURAS.....	xiii
CAPÍTULO 1.....	1
1. INTRODUÇÃO.....	1
CAPÍTULO 2.....	4
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1. ANATOMIA DENTAL DO ROEDOR.....	4
2.1.1 Componentes do Periodonto.....	4
2.2.1. Gengivite.....	7
2.2.2. Periodontite.....	7
2.2.3 Fases da enfermidade periodontal.....	8
2.2.4. Processo da reparação alveolar.....	9
2.3. ENXERTO ÓSSEO.....	9
2.4. MICROBIOTA DA CAVIDADE ORAL.....	12

2.5. ANESTÉSICOS ORAIS.....	12
2.5.1. Farmacodinâmica.....	13
2.5.2. Anestésicos tópicos na odontologia.....	14
2.5.3. Cloridrato de lidocaína.....	15
2.5.3.1. LIDOCAÍNA POAMA DERMATOLÓGICA.....	16
2.5.4. Anestésicos antimicrobianos.....	16
CAPÍTULO 3.....	18
RESUMO.....	18
ABSTRACT.....	20
3.1 INTRODUÇÃO.....	22
3.2.1. Objetivos gerais.....	23
3.2.2. Objetivos específicos.....	23
3.3.MATERIAL E MÉTODO.....	24
3.3.1. Animais.....	24
3.3.2 Anestésicos gerais.....	24
3.3.3. Grupo de estudo.....	25
3.3.4. Coleta do material supragengival.....	27
3.3.5. Anestesia loca com lidocaína tópica a 5%.....	27
3.3.6. Enxertia óssea.....	27
3.3.7. Cuidados pós-operatórios.....	29
3.3.8. Exame microbiológico.....	29
3.3.9. Teste de suscetibilidade a antibióticos e lidocaína.....	29
3.3.10. Eutanásia.....	32
3.3.11. Exame radiográfico.....	32
3.3.12. Análise estatística.....	33
3.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33

3.4.1. Resultados radiográficos.....	34
3.4.2. Contagem de colônia.....	39
3.4.3. Resultado do teste de suscetibilidade aos antibióticos.....	40
3.4.4. Avaliação antimicrobiana da lidocaína 5%.....	41
CONCLUSÃO.....	44
REFERÊNCIAS.....	45
APÊNDICES E ANEXOS.....	53

**Dedico este trabalho aos meus pais
Mauro Fugio Murakami
e Elvira Keiko Saito Murakami**

AGRADECIMENTOS

Aos meus orientadores Prof^a Dr^a Antonia Maria do Rocio Binder do Prado e Prof. Dr. José Ademar Villanova Junior pela disponibilidade, profissionalismo, carinho e apoio total à minha orientação. Agradeço pelos ensinamentos, obtive grande conhecimento humano e científico; tenho honra, admiração e respeito por vocês.

Muito obrigado!

Ao meus amigos, Samara Regina Mendes de Moraes, Daniela Romani Bonotto, Marcio Zukowski, Daiane Cabral e Robson Santos, que me acompanharam no desenvolvimento o projeto, sem vocês o projeto não teria dado certo.

À minha PIBIC, Flávia Borges, pelo auxílio aos procedimentos, cuidados e carinho com os animais.

À Clínica Veterinária Guaíra Dr. Bruno de Resende Pedroso Schmeil, Pamela Chuery Bolzon, Daniel Vicente Toniolo Bolzon, Dr. Enio Celso Heller e Dr Robson Gomes da Costa Golveia) agradeço o fornecimento dos materiais, confiança e amizade.

À secretaria do curso do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Caroline Nocera Bertton, pela cooperação e carinho.

Agradeço ao Prof. Msc. Ubirajara Iobe Tasqueti pela identificação Radiográfica e pela amizade.

Ào professor Saulo Weber pelo empenho e grande ajuda aos resultados Estatísticos.

Agradeço à PUCPR e a CAPES pela oportunidade e concessão da bolsa de mestrado.

FORMATO DA DISSERTAÇÃO

A presente dissertação é composta por capítulos.

O capítulo 1 apresenta uma introdução geral dos objetivos de estudo desta dissertação.

O capítulo 2 trata-se de revisão de literatura.

Os capítulos 3 é composto pela introdução e materiais e métodos.

O Capítulo 4 finaliza esta dissertação com conclusões gerais deste trabalho.

As referências de todos os capítulos se encontram em lista única.

RESUMO

Cerca de 85% dos cães e gatos acima de três anos de idade apresentam problemas periodontais. Esta afecção crônica começa com gengivite evoluindo para periodontite devido a influência das bactérias, gerando um processo inflamatório de retração gengival e reabsorção alveolar. A doença periodontal diminui a qualidade de vida do animal levando ao comprometimento sistêmico. Procedimentos odontológicos expõem tecidos submucosos, facilitando a penetração de microorganismos por via sistêmica gerando a bacteremia transitória. Portanto uma simples aplicação submucosa sem uma antissepsia prévia poderia carrear fragmentos do tecido gengival e microorganismos externos para submucosa, aumentando mais a contaminação. A antissepsia local é de extrema importância e o uso da lidocaína tópica a 5% demonstra, além dos efeitos ao alívio da dor em procedimentos odontológicos, função antimicrobiana e antifúngica. Devido ao ceticismo e controvérsias sobre os efeitos da lidocaína no que tange à cicatrização óssea em diferentes espécies, inclusive no homem, o presente estudo objetivou avaliar os efeitos da lidocaína na enxertia oral de osso liofilizado em ratos Wistar.

Palavras-chave: Periodontite. Osteointegração Alveolar. Lidocaína Tópica 5%. Antimicrobiano.

ABSTRACT

About 85% of dogs and cats more than three years of age have periodontal problems. This chronic disease begins with gingivitis to periodontitis evolving due to the influence of the bacteria, generating an inflammatory process of receding gums and alveolar resorption. Periodontal disease diminishes the quality of life of the animal leading to systemic involvement. Dental procedures expose submucosal tissues, facilitating the penetration of microorganisms systemically generating transient bacteremia. Therefore a simple application submucosa without prior antiseptics could adduce fragments of gum tissue and external microorganisms to submucosa, increasing more contamination. The local antiseptic is of utmost importance and use of lidocaine 5% shows, in addition to the effects of pain relief in dental procedures, antimicrobial and antifungal function. Due to skepticism and controversy about the effects of lidocaine with regard to bone healing in different species, including humans, this study aimed to evaluate the effects of lidocaine on oral grafting lyophilized bone in Wistar rats.

Keywords: Periodontitis. Alveolar bone integration. Topical lidocaine 5%. Antimicrobial.

LISTA DE ABREVIATURAS

AC – Osso alveolar
AL – Anestésico local
AMP – Ampicilina
AZI – Azitromicina
BHI – Infusão de cérebro coração bovino
BPMs – Proteínas ósseas morfogênicas
C – Canino
CIP – Ciprofloxacino
CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute
CRO – Ceftriaxona
DOX – Doxiciclina
ENO – Enrofloxacino
ERI – Eritromicina
I – Incisivo
IM – Intramuscular
IP – Intraperitoneal
Kg – Quilograma
LD – Lâmina dura
M – Molar
mEq/L – Miliequivalente
mg – Miligrama
Mm – Milímetro
mV – Milivolts
Na – Sódio
NOR – Norfloxacino
OCL – Osteoclastos
PEN - Penicilina
pH- Potencial de hidrogênio
PL – Ligamento periodontal
PM – Pré- molar

PTH – Hormônio paratormônio

PUCPR – Pontifícia Universidade Católica do Paraná

RANK – Receptores de membrana de osteoclastos

RANKL – Ligante do receptor do fator nuclear Kapa B

RC – Cimento

SC – Subcutâneo

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Comparação do efeito osteointegrativo alveolar em 4 fases: Lado esquerdo uso do enxerto ósseo liofilizado bovino; lado direito (D) não foi utilizado enxerto ósseo e sutura da borda gengival.....	38
Tabela 2. Números de colônias da coleta microbiológica da flora oral normal dos ratos imediatamente antes da extração dentária do primeiro pré-molar maxilar E e D do (grupo A). O grupo B revela os valores obtidos após o procedimento exodôntico. Nas fases 1 e 2 os animais receberam lidocaína tópica a 5% para averiguação de possível função antimicrobiana. A fase 3 e 4 são os animais que não receberam lidocaína a 5%.....	40
Tabela 3 Resultado geral do teste de suscetibilidade a nove antibióticos diferentes de cepas oriunda da cavidade oral dos ratos.....	40

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Componentes do Periodonto.....	04
Figura 2. Figura 2. Procedimento exodôntico em dente pé-molar da maxila direita em rato wistar. Nota-se o uso de sonda periosteal para luxação dentária	25
Figura 3. Coleta de material supragengival com swab estéril em ratos antes da exodontia e da aplicação da lidocaína tópica a 5%	26
Figurta 4. Osso liofilizado floculado bovino da marca Genius ^R	27
Figura 5. Osso liofilizado bovinio (seta) preenchendo alvéolo dentário de rato Wistar após extração do I PM da maxila esquerda.....	28
Figura 6. Sutura gengival recobrimdo enxerto ósseo liofilizado com ponto isolado simples e fio de poliglactina 910.....	28
Figura 7. Placa de Petri contendo meio de cultura BHI. Imagem de teste de susceptibilidade ao antibiotico em discos-difusão contendo antibióticos enrofloxacino, eritromicina, norfloxacino e penicilina. Resultados após 24 horas em temperatura da estufa de 35±2°C...	30
Figura 8. Teste de suscetibilidade em placa contendo meio BHI e discos-difusão contendo lidocaína tópica.....	31
Figura 9. Placa de Petri contendo meio BHI onde foram inoculadas cepas bacterianas. No lado direito (D) após inoculação bacteriana foi passado swab com lidocaína tópica 5%.....	32
Figura 10. (Fase 1) eutanásia 24 horas após exodontia bilateral. Imagens radiográficas de cortes sagitais de crânio de rato Wistar após extrações dos primeiros dentes pré-molares das maxilas direita e esquerda.	36

Figura 11. (Fase 2) eutanásia cinco dias após exodontia bilateral. Imagens radiográficas de cortes sagitais de crânio de rato Wistar após extrações dos primeiros dentes pré-molares das maxilas direita e esquerda.....	36
Figura 12.. (Fase 3) eutanásia 15 dias após exodontia bilateral. Imagens radiográficas de cortes sagitais de crânio de rato Wistar após extrações dos primeiros dentes pré-molares das maxilas direita e esquerda.....	37
Figura 13. (Fase 4) eutanásia 30 dias após exodontia bilateral. Imagens radiográficas de cortes sagitais de crânio de rato Wistar após extrações dos primeiros dentes pré-molares das maxilas direita e esquerda. Lado esquerdo.....	37
Figura 14 Imagens de placas com meio de BHI. Na imagem 01 há discos-difusão foram embebidos com lidocaína a 5%, enquanto que a imagem 02 mostra que há divisão da placa em E (esquerdo) e D (direito). No lado D, após inoculação de <i>E. Coli</i> foi realizada passagem de swab embebido com lidocaína 5%. Nota-se que na imagem 01 ocorre a formação de halo pequeno ao redor do disco-difusão. Na figura 02 nota-se que o crescimento de colônias bacterianas do lado (E) é visualmente inferior ao lado (D).....	41

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

A doença periodontal atinge animais a partir dos dois anos de idade, sendo 70% em gatos e 80% em cães, e ocorre em dois estágios, gengivite e a periodontite. A gengivite é a inflamação gengival, geralmente reversível. A placa bacteriana agrupada nos dentes promove inflamação, sendo resolvida através de procedimentos profiláticos odontológicos ou cuidados domésticos como a escovação dentária (BROOK, 2008).

Já a periodontite é a inflamação crônica dos tecidos periodontais associada aos microrganismos. Ela causa aprofundamento do sulco gengival, destruição do ligamento periodontal e osso alveolar. Conseqüentemente observa-se a perda da inserção dentária, que é a fixação do tecido conjuntivo e osso alveolar (HARVEY, 2005; SOUZA, 2009).

A gengivite inicia-se com infiltrado inflamatório no epitélio da margem gengival e se estende para o tecido conjuntivo abaixo do epitélio oral do sulco gengival. As alterações patológicas ocorrerão em ambos os epitélios, sucular e oral da gengiva marginal. A lesão inflamatória estará presente em toda a espessura da gengiva marginal (OZ E PULEO, 2010; EMILY et al., 1999).

Na periodontite a reabsorção alveolar se inicia na bifurcação dos segundos pré-molares e também ao redor dos primeiros molares. Com o avanço da enfermidade a perda óssea envolve o terceiro e o quarto pré-molares e pode atingir também o primeiro pré-molar. O primeiro e o segundo pré-molares são os dentes frequentemente perdidos nesta doença, sendo esta ocorrência bilateral (EMILY et al; 1999).

A reabsorção alveolar óssea prejudica tratamentos estéticos para um futuro implante e posterior a uma prótese devido a não existência de suporte ósseo, sendo necessário o uso de enxerto ósseo (SCHALLHORN, 1970; MORSCZECK et al; 2008). A perda óssea mais significativa ocorre durante o primeiro mês após a extração do dente e pode-se calcular em média de 3 a 5mm de largura nos seis primeiros meses (NEVINS et al., 2006; TAN et al., 2012).

A escovação dental é a maneira mais efetiva de controle da placa bacteriana e das doenças que acometem o sistema bucal, porém são poucos proprietários que mantêm a higienização oral diária de seus cães (MILLER; HARVEY, 1994).

Dessa forma quando a higienização não foi realizado adequadamente, os distúrbios odontológicos podem ocasionar a exposição de tecidos submucosos e a penetração de microrganismos para o interior do tecido. Este processo faz com que ocorra a invasão das bactérias na corrente sanguínea e bacteremia transitória, que pode atingir outros órgãos.

A ocorrência de bacteremia está associada, principalmente com a extensão da ferida e com o número de microrganismos que penetram na lesão. Há relatos de que após procedimentos odontológicos exodônticos, a ocorrência de bacteremias transitórias pode chegar a 60%. Diversos autores comprovaram a interação entre bacteremias transitórias durante aplicação injetável anestésica oral em procedimentos odontológicos, tais como: cirurgias periodontais e profilaxia odontológica (FORTUNATO, 1990; MELANCHAUSKI, 2011). Embora a incidência da bacteremia transitória possa ser alta em cirurgias periodontais e exodontias, ela também pode ocorrer durante a escovação dental (DURAK, 1994; VILLORIA e COSTINHA, 2013).

Considerando a grande importância da antissepsia antes de qualquer procedimento odontológico, Fortunato et al. (1990) avaliaram o uso prévio de antisséptico à aplicação de anestésico oral por 666 cirurgiões dentistas, sendo que destes 47,6% não faziam uso de antissépticos orais, e apenas 1,7% utilizavam ocasionalmente. Estes autores relataram que anestésicos injetáveis quando aplicados na mucosa oral com uso de agulha hipodérmica podem transportar fragmentos do tecido e microrganismos para o interior da submucosa, demonstrando a necessidade da antissepsia oral.

Portanto a falta dos cuidados antissépticos prévios eleva o percentual da contaminação da mucosa oral (FORTUNATO, 1990).

Fortunato et al. (1990) entretanto, destacaram que o uso de alguns anestésicos tópicos podem apresentar duplo efeito, pois além de evitar a dor, apresentam efeito bactericida.

Aydin (2001) avaliou o efeito bactericida da ropivacaína, bupivacaina, lidocaína e prilocaína em diferentes concentrações sobre *Escherichia coli*, *Staphylococcus*

aureus, *Pseudomonas aeruginosa* e *Cândida albicans*, e concluiu que o uso da lidocaína a 2% e 5% e da prilocaína apresentaram redução de todos os microrganismos testados. Entretanto há uma lacuna no uso e divulgação destes fármacos na rotina odontológica com o perfil antimicrobiano.

A presente dissertação tem o objetivo de avaliar a capacidade antimicrobiana *in vitro* da lidocaína tópica a 5%, e o seu efeito sobre a osteointegração de osso liofilizado bovino em alvéolos de ratos Wistar após exodontia.

CAPÍTULO 2

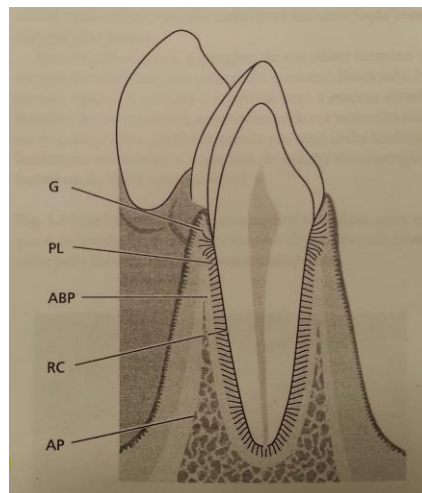
2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1. ANATOMIA DENTAL DO ROEDOR

As cobaias são roedores que apresentam movimento mastigatório que se caracteriza pelo deslocamento mandibular para frente e para atrás, além de adução e abdução. O músculo masseter é bem desenvolvido pela grande força que promove. A dentição é escassa e adaptada para este mecanismo. A fórmula dentária destes animais são: 2x [I(incisivo): 1/1; C(canino) 0/0; PM(pré-molar): 1/1 M(molar): 3/3] totalizando 20 dentes (MARÍN et al; 2014).

2.1.1- Componentes do periodonto

O periodonto (Figura 1) é composto por tecidos que fornecem suporte dentário: gengiva, ligamento periodontal, cemento e osso alveolar (HARVEY e EMILY, 1993; EMILY, 1999; DENTINO et al, 2013., GORREL, 2015).



Fonte: ROMÁN, 1999

Figura 1. Componentes do periodonto: (G) gengiva; (PL) Ligamento periodontal; (RC) Cemento; (AP) Osso alveolar

O processo alveolar consiste em osso formado pelas células do folículo dentário (osso alveolar). As paredes dos alvéolos são revestidas por osso compacto e áreas entre alvéolos preenchidos por osso esponjoso que por sua vez contém trabéculas ósseas (LINDHE et al., 2009). O processo alveolar fornece suporte ao alvéolo dentário e desenvolve-se em associação com a erupção dos dentes, sendo reabsorvido quando os dentes são perdidos.

Já a placa cribiforme de osso cortical que cobre o alvéolo e parte do processo alveolar (HARVEY e EMILY, 1993; EMILY, 1999; Radiograficamente a placa cribiforme possui uma linha radiopaca, chamada de lâmina dura (LD), adjacente e paralelamente ao ligamento periodontal que é radioluscente (HARVEY e EMILY, 1993).

A LD que reveste o alvéolo é perfurada por numerosos canais de Volkman, e através deles passam vasos sanguíneos, linfáticos, fibras nervosas e ligamentos periodontais (LINDHE et al; 2009).

A camada óssea onde estão inseridos os feixes e fibras de Sharpey é chamada de osso fasciculado (osso alveolar propriamente dito), situando-se na parte interna da parede óssea do alvéolo (LINDHE et al; 2009).

A unidade estrutural do osso cortical são os ósteons ou sistema Havers, estruturas cilíndricas que se formam ao redor de canais vasculares ou canalículos. Toda área de formação óssea ativa na superfície externa é revestida por zona de tecido não mineralizado. Já o perióstio contém fibras colágenas e osteoblastos. O osso alveolar renova-se constantemente, em respostas a demandas funcionais. Os osteoclastos (OCL), são células multinucleadas responsáveis pela reabsorção óssea e especializada na destruição da matriz mineralizadora (osso dentina e cimento). Os OCL absorvem substâncias orgânicas e inorgânicas, liberam ácido láctico no meio, no qual os sais minerais dos tecidos ósseos são dissolvidos gerando fagocitose osteoclástica (LINDHE et al; 2009).

2.1.2 Matriz óssea

Os osteoblastos são células que formam a matriz óssea, promovem a calcificação, se localizam lado a lado na superfície óssea e tem a capacidade de produzir prolongamentos citoplasmáticos (canalículos) que permitem a união com osteoblastos vizinhos. Esta anastomose intercelular óssea permite a troca de oxigênio e nutrientes através do sangue e removendo os resíduos. Um osteoblasto em sua membrana possui receptores de Paratormônio (PTH). Quando ocorre a ligação de osteoblastos e PTH há a secreção de (RANKL) Ligante do receptor do fator nuclear Kapa B que por sua vez estimulam mais osteoclastos desencadeando o processo de remodelação óssea (GARTNER, 2012; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013). Os osteoblastos apresentam alta afinidade com a RANKL. Grandes quantidades de Osteoprotegerina (OPG) no organismo impedem ativação RANKL-RANK que resulta em inativação da ação osteoclástica. (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013; GARTNER, 2012).

Os osteoblastos sintetizam o colágeno tipo I, proteoglicanos e glicoproteínas, concentram fosfato de cálcio participando a mineralização da matriz. Quando os osteoblastos se apresentam em intensa atividade sintética, apresentam morfologia cuboide e citoplasma basofílico. Porém em pouca atividade a morfologia torna-se achatada e a basofilia diminui (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013).

Osteoclastos são células grandes multinucleadas que tem como principais funções a remoção e remodelação do tecido ósseo. Para ativação do osteoclasto é necessário que o osteoblasto secrete proteína RANKL. Esta proteína tem afinidade aos receptores da membrana de um osteoclastos RANK. Quando ocorre a ligação RANKL-RANK inicia-se a verdadeira ativação dos osteoclastos (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013).

2.2 DOENÇA PERIODONTAL

A doença periodontal é definida como uma doença induzida pela placa, podendo ser dividida em gengivite e periodontite (ARAÚJO E LINDHE, 2010; HARVEY, 2005).

2.2.1 Gengivite

A gengivite é a inflamação gengival, porém reversível, pois uma vez que se remove a causa da resposta inflamatória ocorre o seu desaparecimento (HARVEY, 2005).

Na gengivite, a inflamação provocada pela placa bacteriana, limita-se aos tecidos moles da gengiva. Normalmente a profundidade do sulco gengival dos animais varia de 1-3mm e no gato 0,5-1mm. Quando ocorre a periodontite, a destruição inflamatória do ligamento periodontal promove migração do epitélio juncional e formação de bolsa periodontal, levando o aumento da profundidade do sulco gengival. Se a inflamação prossegue, a margem da crista alveolar começa a ser reabsorvida acompanhada de retração gengival e o que pode culminar na perda dental (GORREL, 2010).

A gengivite sempre precede a periodontite e a periodontite sempre acompanha a gengivite. A gengivite torna-se mais grave quando o tecido gengival perde a sua integridade resultando em ulceração do sulco gengival, permitindo que as bactérias e os seus derivados invadam as estruturas periodontais mais profundas. Se o sistema imunológico está suprimido, esta progressão da gengivite para periodontite se torna mais rápida, podendo ocorrer também em animais jovens. Já a gengivoestomatite pode estar relacionada com a presença de doença periodontal e lesões por reabsorção (LYON et al; 2005)

2.2.2 Periodontite

A periodontite é a inflamação dos tecidos periodontais (ligamento periodontal e osso alveolar), que pode causar osteomielite. A periodontite provoca a perda da inserção dentária, que é a fixação do tecido conjuntivo e osso alveolar (HARVEY, 2005; GORREL, 2015).

Esta inflamação inicia-se com um infiltrado inflamatório no epitélio da margem gengival e se estende para o tecido conectivo abaixo do epitélio oral sulcular. As alterações patológicas ocorrerão em ambos os epitélios, sulcular e oral da gengiva marginal. A lesão inflamatória estará presente em toda a espessura da gengiva marginal (EMILY, 1993).

A reabsorção alveolar se inicia na bifurcação dos segundos pré-molares e também ao redor dos primeiros molares. Com o avanço da enfermidade a perda óssea envolve o terceiro e o quarto pré-molares podendo atingir o primeiro pré-molar. Por sua vez o primeiro e o segundo pré-molares são os dentes frequentemente perdidos na periodontite; esta ocorrência é de maneira bilateral (EMILY et al, 1999).

Após o tratamento periodontal ou exodontia, o processo de cicatrização é marcado por uma invasão celular de modo a ocupar os espaços existentes. Nessas circunstâncias, materiais biocompatíveis passam a ser boa opção e têm sido estudados, especialmente em relação ao osso alveolar, por induzir, promover ou tornar mais rápida sua reparação (JUNG et al; 2003).

2.2.3. Fases da enfermidade periodontal

Holmstron (2012) dividiu a enfermidade periodontal em 5 graus: (Grau I) Gengivite marginal devido a falta de higiene dental, levando o acúmulo de placa. Reversível em procedimento simples de polimento dental. (Grau II) Início de edema, inflamação da gengiva aderida; fase ainda considerada como gengivite, e reversível com profilaxia total. Perda de 25% de inserção dentária. (Grau III) – Edema associado a gengivite, presença de bolsa periodontal. Nessa fase já é considerado como periodontite; processo reversível com profilaxia total e raspagem subgengival e tratamento de raízes. Perda de 25% - 50% de inserção dentária. (Grau IV) Resposta inflamatória severa, presença de bolsas profundas, pus, início de perda óssea e mobilidade dental (periodontite verdadeira). Periodontite avançada, lesionando mais de 50% da inserção dentária. (Grau V) Avançada perda alveolar, bolsa periodontal e mobilidade dental.

2.2.4. Processo da reparação alveolar

Os processo de remodelação do tecido após a extração dentária têm sido bem documentada tanto animais (ARAÚJO e LINDHE; 2005) quanto em humanos (PIETROKOVSKI, 1967; CUSTÓDIO, 2015).

Nas primeiras 24 horas após a extração dentária ocorrem A formação do coágulo sanguíneo e início da hemólise. Dois a três dias após a extração dentária ocorrem a retração do coágulo sendo substituído por tecido de granulação, fibras colágenas e neovasos. O início da remodelação e reabsorção óssea ocorre dentro de quatro dias. Nesta fase também ocorre o aumento da densidade de fibroblastos e proliferação do epitélio para margem da ferida. Uma semana após a extração, o tecido de granulação apresenta redes vasculares, formação de osteoide e tecido conjuntivo. Três semanas após a extração o tecido conjuntivo se torna mais denso e recobre o alvéolo remanescente que acaba sendo preenchido por tecido de granulação. E finalmente dois meses após extração, a formação alveolar é completa, a altura original do osso não foi alcançada e o padrão trabecular está em fase de remodelação (CARDAROPOLI et al, 2005; CUSTÓDIO, 2015).

A reparação alveolar se completa quando o alvéolo se encontra totalmente preenchido por tecido ósseo neoformado e crista alveolar remodelada. Esse processo pode ocorrer por volta dos 21 dias no rato, 48 dias no cão e 64 dias no homem (CARVALHO e OKAMOTO, 1987).

A força inapropriada na exodontia deve ser cauteloso em se evitar fraturas radiculares, formação de fístulas oronasais, fraturas mandibulares e alveolite (HOMSTROM, 2012; SILVA, 2002).

2.3. Enxertos Ósseos

O enxerto ósseo é um tecido transplantado para outro local no mesmo indivíduo ou indivíduos diferentes, cuja principal finalidade é reparar defeitos ósseos. O enxerto ósseo é um procedimento cirúrgico com finalidade em aumentar a capacidade regenerativa óssea em procedimentos ortopédicos e odontológicos (DIMITRIOU et al, 2011).

A osteogênese é a formação óssea pela ação dos osteoblastos juntamente ao enxerto. A osteoindução promove a transformação de células mesenquimais indiferenciadas em osteoblastos, assim aumentando seu crescimento ósseo ou formação do osso em áreas extra óssea. A osteocondução é definida como uma neoformação óssea por união ou justaposição do osso enxertado (LEITE, 2005).

O enxerto ósseo pode ser cortical ou esponjoso. Os ossos transplantados de um local para outro no mesmo animal são chamados de autoenxertos. Estes enxertos são histocompatíveis e não iniciarão resposta de rejeição. Já os ossos transplantados de um animal para outro são chamados de aloenxertos, antígenos celulares podem reconhecer como não próprio resultando em rejeição. Os aloimplantes são ossos tratados por meio de congelamento, autoclavagem, preservação química ou irradiação, de forma que fiquem sem atividade celular. Os ossos transplantados entre espécies diferentes, são chamados de xenoenxertos (JHONSON, 2013). Um enxerto ósseo autógeno foi utilizado pela primeira vez com sucesso em 1875, por Nussbaum. Foi coletado parte da ulna para corrigir um defeito esquelético. Nos EUA, enxertos ósseos autógenos são realizados em torno de 200.000 casos cirúrgicos em humanos por ano (VAN HESST E SWIONTKOWSKI, 1999).

O enxerto autógeno é considerado como o padrão ouro para enxerto ósseo obtido da crista ilíaca ou extremidade distal do rádio, sendo estas as fontes mais comuns. No entanto, existem várias desvantagens do enxerto autógeno como a alta taxa de complicações graves, infecção, drenagem de feridas, hematomas, reoperação, dor prolongada, perda sensorial e queloides. Outra desvantagem é que faz com que o paciente se submeta a uma segunda incisão de pele nas quais existem os custos de longo tempo além da possibilidade anestésica e hospitalar (VAN HESST e SWIONTKOWSKI, 1999; DIMITRIOU et al., 2011) além da possibilidade da transmissão de doenças. (BHATT et al., 2012).

Os aloenxertos podem ser adquiridos na forma fresca, congelada ou liofilizada. Os aloenxertos frescos não são usados rotineiramente, porque eles podem ser imunogênicos e há maior risco de transmissão de doenças além disto, possuem menor tempo de armazenamento. Os aloenxertos congelados possuem vida útil mais curta do que o liofilizado, de até cinco anos quando armazenado apropriadamente, contra um tempo de vida indefinido para a forma liofilizada. Além disso os aloenxertos liofilizados

são preparadas por congelamento, seguido de desidratação para cerca de 5% de água. Para fazer estes biomateriais, o enxerto deve ser tratado por meio de óxido de etileno ou radiação gama, desta forma há eliminação de reação imunogênica e de partículas virais, bactérias e células malignas (BHATT et al., 2012).

O enxerto ósseo xenógeno é o tecido ósseo retirado de uma espécie e implantado em outra. Os xenoenxertos de origem bovina orgânico apresentam 95% de colágeno tipo I, fatores de crescimento e proteínas ósseas morfogênicas (BMPs) (LEITE, 2005; MOREIRA, 2013). Os enxertos bovinos de origem inorgânica são constituídos de hidroxiapatita e carbonato, apresentando uma estrutura cristalina, praticamente idêntica ao osso. Os ossos bovinos apresentam excelente biocompatibilidade, o material pode ser encontrado com facilidade e altamente seguro devido a desproteinização, desmineralização e liofilização que minimizam os riscos de transmissão de zoonoses e antigenicidade (HERCULIANI et al., 2000).

O enxerto ósseo aloplástico são implantes sintéticos ou inorgânicos com pouca ou nenhuma atividade osteoindutora. Dentre eles, destacam-se os compostos por hidroxiapatita, beta-fosfato- tricálcico, vidros bioativos e metais (DANTAS et al., 2014)

Algumas vantagens dos enxertos liofilizados bovinos são a disponibilidade quase ilimitada e grande semelhança física e química ao osso humano e animal (GALIA et al., 2008). Apresentam capacidade de osteocondução e, dependendo do processamento empregado, de osteoindução (MAUNEY et al., 2004).

O osso liofilizado possui menor força estrutural e baixa resistência (BHATT et al., 2012). Foi realizado uma pesquisa na qual comparou-se a compressão e a resistência de osso liofilizado e osso congelado. O resultado demonstrou que não houve diferenças em sua resistência e compressão (DUARTE et al., 2000).

Os enxertos ósseos atuam por meio de três mecanismos: osteogênese, osteoindução e osteocondução (LEITE, 2005)

2.4. Microbiota da cavidade oral

Comparado com outras superfícies exteriores, o dente é considerado o mais complexo e diferente. São duros e as células não se destacam na sua superfície, assim permitindo o acúmulo de massas de microorganismos e seus produtos. Este acúmulo é

chamado de placa dentária, e é considerado um tipo de biofilme. (TORTORA, 2012). O biofilme é um agregado de microorganismos onde as células unem as outras em uma superfície sólida (ALLAKER, 2010).

A microbiota da cavidade oral apresenta uma das populações mais diversificadas e concentradas do organismo (TAKARADA, 2004; TORTORA; 2012; FOREAUX, 2015) Chamamos de microbiota normal quando os microorganismos vivem em seres saudáveis habitando em mucosas e pele sem desenvolverem patogenia (YE et al., 2008).

Os microorganismos encontrados na cavidade oral de animais podem ser comensais ou patogênicos. A proporção de diferentes espécies de bactérias varia de acordo com a inflamação ou processo infeccioso (CHOW, 2000).

2.5 Anestésicos locais (AL)

Os anestésicos locais promovem o bloqueio da condução nervosa de maneira reversível, resistem as esterilizações, possuem preço razoável, são solúveis em água, não são apresentam toxicidade e não são irritantes para a pele (FANTONI E CORTOPASSI, 2002).

Os procedimentos cirúrgicos são a causa principal do uso dos anestésicos locais. O emprego desses medicamentos além de terem ação antinociceptiva, tem ação anticonvulsivante e antiarrítmica. A aplicação desses medicamentos é realizada em regiões próximas ao seu local de ação e podem ser feitas de diversas maneiras (SPINOSA et al, 1999).

O uso de anestésicos locais é cada vez mais utilizados na analgesia pós-operatória devido a facilidade da aplicação e efeitos colaterais baixos. O uso de AL pós- operatório reduz o consumo de opióides e suas complicações relacionadas ao tempo de permanência hospitalar e diminui os custos (HANCI; et al 2012). Quando um anestésico local é aplicado previamente a cirurgia, aumenta seu efeito analgésico preempitivo durante e depois do procedimento cirúrgico, assim evitando o aparecimento da dor crônica (DERE K et al., 2009; VIGNEAU et al., 2011)

Dentre elas, pode-se citar a anestesia tópica é aplicada sobre as mucosas oculares, nasais e orais sendo extremamente eficientes por promoverem o bloqueio de terminações nervosas que causam a perda da sensibilidade dolorosa. Porém não muito eficientes quando aplicado sobre a pele íntegra, pois a sua camada mais externa (derme) dificulta sua absorção. O efeito do anestésico tópico promove adormecimento local e alívio da dor (SPINOSA et al., 1999).

A epiderme exerce extrema importância na penetração de medicamentos tópicos, incluindo anestésicos. A camada epidérmica é avascular, sendo a camada córnea constituído por água e lipídeos a qual dificulta a passagem do anestésico em direção a derme. A capacidade do anestésico local penetrar na córnea depende da concentração do pH nas formas ionizadas e não ionizadas. Quanto mais próximo a concentração do pH do anestésico e da camada córnea melhor a penetração do anestésico da pele. A ausência da córnea nas mucosas a ação analgésica é imediata e amplifica a absorção do anestésico. Em contrapartida em coxins e palmoplantares devido sua espessura da camada córnea a anestesia tópica é ineficaz (FROEZ et al., 2010).

2.5.1. Farmacodinâmica

A excitação e condução de um nervo é promovida por diversos fenômenos eletroquímicos. Uma célula nervosa em repouso apresenta cerca de -60 a -90 mV (milivolts) de energia. Nesta fase a membrana do axoplasma é totalmente permeável ao potássio e impermeável ao sódio; a concentração de sódio extracelular deve ser maior que a intracelular (140 mEq/L e 5-10 mEq/L), de forma contrária deve ocorrer ao potássio onde o meio extracelular varia de 3-5 mEq/L e o meio intracelular é mais alta variando de 110 a 170mEq/L. Portanto, o potencial em repouso da célula é dado pelas altas concentrações de potássio no interior da célula e pela sua atração de cargas negativas. Se acaso ocorrer um estímulo físico, químico ou elétrico a permeabilidade de sódio é ativada, o que desencadeia o potencial de ação no qual moléculas de sódio atravessam a membrana chegando ao meio intracelular que muda a carga que antes era negativa devido ao potássio e se transforma em positiva pela entrada do sódio (CARVALHO, 1994).

Quando o anestésico local é aplicado no local específico, ocorre a interrupção do estímulo nervoso pelo bloqueio dos canais de sódio que acabam impedindo a passagem de sódio para o meio intracelular e a deflagração do potencial de ação (CARVALHO, 1994).

2.5.2 Anestesia tópica na odontologia

De acordo com Moore e Elliot (2010) terapias anestésicas locais odontológicas provaram sua eficácia e segurança por mais de 50 anos de história. A lidocaína e mepivacaína (grupo amida) são os anestésicos mais utilizados na odontologia por mais de 20 anos. As principais características destes fármacos são: raras reações alérgicas, rápida ação, adequada duração da anestesia, ser completamente reversível, apresentam mínima toxicidade sistêmica e não ser arritmogênico.

Os anestésicos locais bloqueiam de forma reversível os canais de Na⁺ dos nervos e o transporte de íons por essa abertura. Quando os anestésicos são aplicados localmente nos tecidos nervosos em adequadas concentrações, atuam em qualquer parte do sistema nervoso e qualquer fibra nervosa, bloqueando os potenciais de ação responsáveis pela condução nervosa. Assim pode-se causar paralisia sensorial e motora da área inervada (CATERALL e MACKIE, 1996).

O tempo de ação de um anestésico local é proporcionado ao tempo do contato ao nervo. As manobras para conservar o fármaco no nervo prolongam a duração da anestesia. O agente vasoconstritor geralmente epinefrina é associado aos anestésicos locais. O vasoconstritor apresenta duas funções, reduz a taxa de absorção, retém o anestésico local desejado e permite a taxa com que ele é destruído no corpo acompanhe a taxa que ele é absorvido na circulação; impedindo os efeitos tóxicos sistêmicos. Outros efeitos do uso de anestésicos locais associados à vasoconstritores são retardo da cicatrização de feridas, edema de tecidos e necrose. O efeito vasoconstritor aumentam o consumo de oxigênio causando hipóxia local e lesão tecidual. Regiões anatômicas com pouca circulação pode-se causar uma lesão hipoxêmica irreversível, necrose tecidual e gangrena; e por esta razão o seu uso associado não é indicado (CATERALL e MACKIE, 1996).

A microbiota oral é uma das mais diversificadas e concentradas do organismo; anti-sépticos tópicos deveriam ser utilizados para preparar os tecidos no local da punção antes da penetração inicial da agulha ou qualquer procedimento oral, causando a diminuição transitória da população bacteriana local e minimizando infecção (GROOPO et al., 2003). Segundo Groopo et al, 2003; Malamed, 2001 a necessidade do uso de anti-sépticos antes de procedimentos cirúrgicos é de extrema importância e somente 7,9% dos profissionais seguem o protocolo.

2.5.3 Cloridratos de lidocaína

O uso da lidocaína em práticas odontológicas se iniciou em 1950 pela sua excelente eficácia e segurança. Menos de 20 casos foram relatados nos Estados Unidos sobre fatos alérgicos e reações anafiláticas nos últimos 50 anos. (MOORE e ELLIOT, 2010).

A lidocaína é uma amina encontrada sob forma de cloridrato, com dez vezes mais potência que a cocaína, alto poder de penetração, pouca ação vasodilatadora. Quando utilizado topicamente tem melhor eficácia em maiores concentrações (igual ou acima de 4%) (FANTONI e CORTOPASSI, 2002).

A lidocaína promove uma anestesia rápida, intensa, prolongada e ampla. Absorvida rapidamente depois de administração parenteral, tratos respiratórios e gastrointestinal. Este anestésico torna-se eficaz quando associado a peinefri na, reduz a taxa de absorção, diminui os efeitos tóxicos e aumentam o efeito da duração anestésica. A lidocaína pode ser encontrada na forma tópica, oftálmico, mucosas e transdérmico (CATERALL e MACKIE, 1996).

Os efeitos colaterais observados são sonolência, tinido, disgeusia, vertigem e tremores. A medida que a dose é aumentada os efeitos iniciam com convulsão, coma, depressão e parada respiratória (CATERALL e MACKIE, 1996).

2.5.3.1 Lidocaína pomada dermatológica

A lidocaína sabor laranja é um anestésico local, causa perda temporária da sensibilidade na área aplicada. Seu período de latência pode variar de 30 segundos até 5 minutos após aplicação. Quando o fármaco aplicado via oral deve-se tomar cautela em prejudicar a deglutição e possível aspiração. O entopercimento da língua ou mucosa oral pode aumentar o perigo de trauma por mordida. Evitar interações medicamentosas com cimetidina, antiarrítmicos e outros anestésicos locais. O uso da pomada é exclusivamente destinada à aplicação tópica oral, na odontologia deve-se secar a mucosa oral antes da aplicação (ANVISA S/A, 2014).

As reações adversas sistêmicas são raras, resultando em níveis sanguíneos elevados ao excesso da dose. Reações ao sistema nervoso central incluem ao nervosismo, tontura, convulsões, inconsciência e possivelmente parada respiratória. Reação cardiovascular como hipotensão, bradicardia e possivelmente parada cardíaca. Produtos tópicos que contêm propilenoglicol podem causar irritação da mucosa, reações alérgicas são casos mais raros de ocorrer, mas em casos graves o choque anafilático podem ocorrer (ANVISA S/A, 2014).

2.5.4 Anestésicos antimicrobianos

Segundo Jhonson et al. (2008) há muitos estudos realizados nos últimos anos que demonstram que a lidocaína e bupivacaina apresentam ação bactericida, bacteriostática, anti fúngicas e fungicidas em diversos tipos de microorganismos.

No sítio cirúrgico ocorre vasoconstrição local que promove baixa perfusão de oxigênio que acarreta em hipóxia tecidual e a cicatrização das feridas são interferidas pela diminuição da formação de fibroblastos, colágeno e angiogênese capilar. A hipóxia tecidual facilita o crescimento de microorganismos anaeróbios dificultando ainda mais a cicatrização e há conseqüente aumento do risco de infecção. A baixa perfusão de oxigênio tecidual também prejudica a ação das células de defesa como neutrófilos, linfócitos, macrófagos e fibroblastos; o que dificulta o ataque das células de defesas sobre os microorganismos. O papel principal do AL além de diminuir a dor do sítio cirúrgico, atua também sobre os vasos sanguíneos; com excessão da cocaina e ropivacaína, o AL promove vasodilatação periférica (relaxamento do músculo liso

vascular), o que aumenta a perfusão do oxigênio e conseqüentemente há melhora da oxigenação tecidual (JHONSON et al., 2008).

Parr et al. (1999) utilizaram lidocaína com e sem a epinefrina no combate às bactérias (*E. faecalis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*) comumente observadas em infecções cirúrgicas e ambas inibiram o crescimento de todas as bactérias.

Wachowski et al. (1999) avaliaram se a associação de propofol e lidocaína na mesma solução poderia ter efeito sobre Estafilococos, Escherichia coli e Cândida albicans. Concluíram que a associação não tem efeito bactericida ou fungicida.

CAPÍTULO 3

AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA E RADIOGRÁFICO DA LIDOCAÍNA E SUA INFLUÊNCIA NA ENXERTIA ÓSSEA ORAL COM OSSO LIOFILIZADO EM RATOS (*Rattus norvegicus*)

ANTIMICROBIAL AND EVALUATION OF RADIOGRAPHIC LIDOCAINE AND INFLUENCE ON BONE GRAFTING ORAL WITH BONE LYOPHILIZED in rats (Rattus norvegicus)

RESUMO

A cavidade oral pode ser afetada por uma grande variedade de microorganismos. É de extrema importância a necessidade da higienização oral dos animais e profilaxia profissional regular para prevenção da doença periodontal, pois sabe-se que ela é progressiva; a gengivite não tratada promove a formação de placas bacterianas, destruindo os tecidos periodontais (cimento, ligamento periodontal e osso alveolar). A identificação clínica veterinária é realizada pelos sinais clínicos: halitose, cálculo dental, sialorreia, sangramento oral, anorexia e mobilidade dental. É de extrema importância um protocolo preemptivo de antibioticoterapia em qualquer procedimento odontológico veterinário bem como uma boa antissepsia oral. O fenômeno da anacorese pode-se ocorrer em uma simples escovação dentária, mastigação e procedimentos odontológicos; bactérias presentes penetram na corrente sanguínea as vias sistêmicas renais, hepáticas, cardíacas e articulações. A periodontite acomete o osso perialveolar e anexos, uma osteomielite desencadeada através da periodontite promove reabsorção alveolar, consequentemente fraturas mandibulares. É comum a ocorrência em animais de companhia fraturas mandibulares durante a alimentação, quedas ou simples avaliação odontológica de rotina. O processo da reparação alveolar ocorre de maneira completa quando o alvéolo se encontra totalmente preenchido por tecido ósseo. Esse processo pode demorar até 48 dias em cães. A medida que o animal envelhece o processo da reparação alveolar é dificultada, assim aumentando o tempo do reparo ou a ocorrência incompleta da formação alveolar. O uso dos biomateriais em reparos ósseos vem sendo bem utilizados na rotina, o osso liofilizado bovino além de ser biocompatível, é encontrado com facilidade e não existem riscos de transmissão de zoonoses. A antissepsia local é de extrema importância e o uso da lidocaína tópica a 5% demonstra além dos efeitos ao alívio da dor em procedimentos odontológicos, função antimicrobiana e antifúngica. O propósito deste trabalho foi avaliar o uso do biomaterial liofilizado bovino, como enxerto alveolar orgânico de ambos os pré-molares

superiores em ratos. O pré-molar superior esquerdo foi enxertado com o biomaterial intra-alveolar (grupo tratado; enquanto o pré molar direito foi utilizado como o (grupo controle). Associado aos procedimentos exodônticos, foi utilizado a lidocaína tópica a 5% a fim de se obter o efeito antimicrobiano. A análise radiográfica permitiu concluir que o uso do enxerto ósseo acelerou o processo de osteointegração alveolar em 15 dias, enquanto o grupo controle apresentou o crescimento em 30 dias. A avaliação antimicrobiana da lidocaína comprovou nos exames microbiológicos in vitro o efeito bacteriostático.

Palavras-chave: Anacorese. Reabsorção alveolar. Biomaterial. Anestésico local bacteriostático.

ABSTRACT

The oral cavity can be affected by a variety of microorganisms. It is of utmost importance the need for oral hygiene of animals and regular professional prophylaxis for prevention of periodontal disease because it is known that it is progressive; untreated gingivitis promotes the formation of bacterial plaque, destroying periodontal tissues (cementum, periodontal ligament and alveolar bone). The veterinary clinic identification is performed by clinical signs: halitosis, dental calculus, drooling, oral bleeding, anorexia and dental mobility. It is of utmost importance a preemptive protocol antibiotic therapy in

any veterinary dental procedure as well as good oral antiseptic. The anacorese phenomenon can occur in a simple tooth brushing, chewing and dental procedures; bacteria enter the bloodstream systemic routes kidney, liver, heart and joints. Periodontitis affects the perialveolar and attachments bone, osteomyelitis triggered by periodontitis promotes alveolar resorption, consequently mandibular fractures. It is a common occurrence in the company of animals mandibular fractures during feeding, falls or simple routine dental evaluation. The process of alveolar repair occurs in a complete manner when the socket is completely filled with bone tissue. This process can take up to 48 days in dogs. As the animal ages alveolar repair process is complicated, thereby increasing repair time or the occurrence of incomplete honeycomb formation. The use of biomaterials for bone repair has been well utilized in the routine, the lyophilized bovine bone as well as being biocompatible, it is easily found and no risk of transmission of zoonoses. The local antiseptics is of utmost importance and the use of topical 5% lidocaine demonstrates beyond the effects on pain relief in dental procedures, antimicrobial and antifungal function. The purpose of this study was to evaluate the use of lyophilized bovine biomaterial, such as organic alveolar graft both premolars in rats. The left premolar was grafted with intra-alveolar biomaterial (treated group); While the pre right molar was used as the (control group) Associated with exodontic procedures, topical lidocaine was used at 5% to obtain the antimicrobial effect. Radiographic analysis concluded that the use of bone graft accelerated alveolar osseointegration process in 15 days, while the control group showed growth in 30 days. The antimicrobial evaluation of lidocaine proved the microbiological tests in vitro bacteriostatic effect .

Keywords: Anacorese. Alveolar resorption. Biomaterial. Local anesthetic bacteriostatic.

3.1 INTRODUÇÃO

O periodonto é o conjunto de tecidos moles e duros que suportam as raízes dentais. Quatro componentes principais formam o periodonto: a gengiva, o cemento, o ligamento periodontal e o osso alveolar (GIOSO, 2007; ABDALLA, 2012). A regeneração óssea tem sido historicamente um desafio, já que a falta de suprimento vascular muitas vezes leva à necrose avascular e pseudoartrose.

Enquanto o padrão-ouro continua sendo o auto-enxerto, essa abordagem é limitada para grandes defeitos ósseos. O enxerto ósseo é muitas vezes necessário para os defeitos de tamanho crítico, embora um alto índice de complicações é diretamente atribuível à capacidade limitada de revitalizar, revascularizar e

remodelação óssea resultando em necrose.

Descobertas emergentes sobre os mecanismos de cicatrização óssea continuam a expandir as opções de tratamento para os defeitos ósseos e incluir materiais sintéticos e fatores de crescimento (GRIFFIN et al., 2015).

A doença periodontal é um problema comum em animais de companhia, e além do exame clínico, a radiografia dentária é fundamental para o seu diagnóstico e tratamento. Em um estudo radiográfico em dentes clinicamente normais de cães, foi demonstrado que até 41,7% apresentavam doença periodontal (GORREL, 2015; BANNON, 2013).

O controle de infecções orais em periodontia, cirurgia oral e maxilofacial, principalmente no âmbito da implantodontia é fundamental para promover e acelerar a reparação, minimizar o desconforto pós-operatório do paciente em relação à dor e edema, e viabilizar técnicas de enxertia (MARIANO et al., 2015).

Os distúrbios odontológicos expõem tecidos submucosos, facilitando a penetração de microrganismos para o interior do tecido. Este processo faz com que ocorra bacteremia transitória, o qual é proporcional a extensão da ferida e com o número de microrganismos que penetram na lesão.

Em procedimentos odontológicos exodônticos, a ocorrência de bacteremias transitórias podem chegar a 60% quando há presença de estreptococo (Fortunato et al, 1990). Inúmeros autores comprovaram a interação entre bacteremias transitórias em procedimentos odontológicos, tais como: operações periodontais, profilaxia odontológica e aplicação anestésica oral (Fortunato et al, 1990; MELANCHAUSKI, 2011). Embora a incidência da bacteremia transitória possa ser alta em operações periodontais e exodontias, ela também pode ocorrer durante a escovação dental (Durak, 1994; VILLORIA; COSTINHA, 2014).

A busca pelo interesse no controle de infecções orais em periodontia e cirurgia oral e maxilofacial, principalmente no âmbito da implantodontia, o uso de agentes antimicrobianos para evitar a contaminação das feridas orais, é importante para promover e acelerar a reparação. Isto faz com que seja possível minimizar o desconforto pós-operatório do paciente em relação à dor e edema. Isto torna-se

especialmente importante nos casos em que as técnicas de enxerto são utilizadas (MARIANO et al., 2015)

A administração antimicrobiana tópica ou local é considerado ter baixo potencial de risco de toxicidade sistêmica e reduzida capacidade de induzir resistência antimicrobiana (BOOTHE; HARRY, 2015; Garcia et al .,2008).

3.2.1 Objetivo geral

No presente estudo visou avaliar o efeito da lidocaína tópica oral na osteointegração alveolar .

3.2.2 Objetivos específicos

Avaliar a ação osteointegrativa do enxerto ósseo liofilizado em alvéolo dentário de *Rattus norvegicus* sob o efeito antibacteriano da lidocaína tópica oral.

3.3. MATERIAL E MÉTODOS

3.3.1 Animais

O experimento foi realizados seguindo as normas e princípios éticos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal, tendo sido aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais – CEUA da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (Protocolo 929 - Anexo A).

Foram utilizados 32 ratos Wistar hígdios machos com média de 20 semanas de idade e peso variando de 250 a 270 g.

Os animais foram mantidos no biotério da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR) em gaiolas coletivas com dois ou três animais, água e ração *ad libitum* em temperatura controlada ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$), umidade ($45 \pm 15\%$), ventilação

(exaustores superiores e inferiores) e de ciclos luminosos de 12/12h, com lâmpada fluorescente.

3.3.2 Anestésicos gerais

Todos os animais, antecedendo aos procedimentos odontológicos, foram submetidos à analgesia com cloridrato de tramadol a cada 12 horas, (5mg/kg) por via intramuscular, e anestesiados com cloridrato de cetamina (70mg/Kg/IM), cloridrato de xilazina (10mg/kg/IM) e sulfato de atropina (0,05mg/kg/IP). A manutenção anestésica foi realizada com isoflurano em circuito anestésico com oxigênio 100%.

Foram utilizados colchões térmicos para manter a temperatura ideal, evitando hipotermia para promover melhor retorno anestésico.

3.3.3 Grupos de estudo

Os animais foram identificados e aleatorizados em quatro grupos:

Grupo A – formado por oito animais, os quais foram submetidos à suave raspagem com *swab* estéril na mucosa gengival da região maxilar, para obtenção de saliva e material supragengival.

Quatro destes animais, logo após a raspagem gengival, tiveram a região periférica do primeiro dente pré-molar (I PM) da maxila esquerda anestesiada com lidocaína tópica 5%, enquanto que os outros quatro animais deste grupo não tiveram a região anestesiada. Em seguida, foram realizadas extrações dos I PM das maxilas esquerda e direita, conforme técnica de Dym e Weiss (2012) (FIGURA 1).



Figura 2. Procedimento exodôntico em dente pé-molar da maxila direita em rato wistar. Nota-se o uso de sonda periosteal para luxação dentária

O alvéolo da maxila esquerda exposto após exodontia foi preenchido com osso liofilizado floculado bovino, enquanto que o alvéolo da maxila direita não foi preenchido, servindo, portanto, como controle no tocante a osteointegração do osso liofilizado enxertado no lado esquerdo.

Após as extrações dentárias, nova raspagem gengival foi realizada em todos os animais. Após 24 horas, todos os animais pertencentes a este grupo foram radiografados e submetidos à eutanásia para coleta de material para avaliação histológica das maxilas esquerda e direita.

Grupo B – formado por oito ratos submetidos aos mesmos procedimentos dos animais pertencentes ao Grupo A, exceto que foram avaliados radiograficamente e submetidos à eutanásia após cinco dias.

Grupo C – formado por oito ratos submetidos aos mesmos procedimentos dos animais pertencentes ao Grupo A, exceto que foram avaliados radiograficamente e submetidos à eutanásia após 15 dias.

Grupo D – formado por oito ratos submetidos aos mesmos procedimentos dos animais pertencentes ao Grupo A, exceto que foram avaliados radiograficamente e submetidos à eutanásia após 30 dias.

3.3.4 Coleta de material supragengival.

Após anestesia geral, em todos os animais, foi realizada suave raspagem com swab estéril na mucosa gengival dos I PM das regiões maxilares esquerda e direita, para a obtenção de saliva e material supragengival (Figura 2).

Após exodontia, nova coleta de material foi realizada para cultura, contagem de colônias e antibiograma. Todo o conteúdo foi armazenado em tubo plástico contendo o meio Stuart.



Figura 3. Coleta de material supragengival com swab estéril em ratos antes da exodontia e da aplicação da lidocaína tópica a 5%

3.3.5 Anestesia local com lidocaína tópica a 5%

Em quatro animais dos grupos A, B, C e D foi realizada anestesia local com lidocaína tópica a 5% na região periférica do I PM esquerdo da maxila, e após cinco minutos, coleta de material supragengival com swab estéril, antes da extração.

3.3.6 Enxertia óssea

Em quatro animais de cada grupo, após extração do I PM esquerdo da maxila, realizou-se o preenchimento do alvéolo exposto com osso liofilizado floculado bovino marca Genius® (Figuras 3 a 5). Já o alvéolo da maxila direita não foi preenchido, servindo, portanto, como controle no tocante à osteointegração do osso liofilizado enxertado no lado esquerdo.

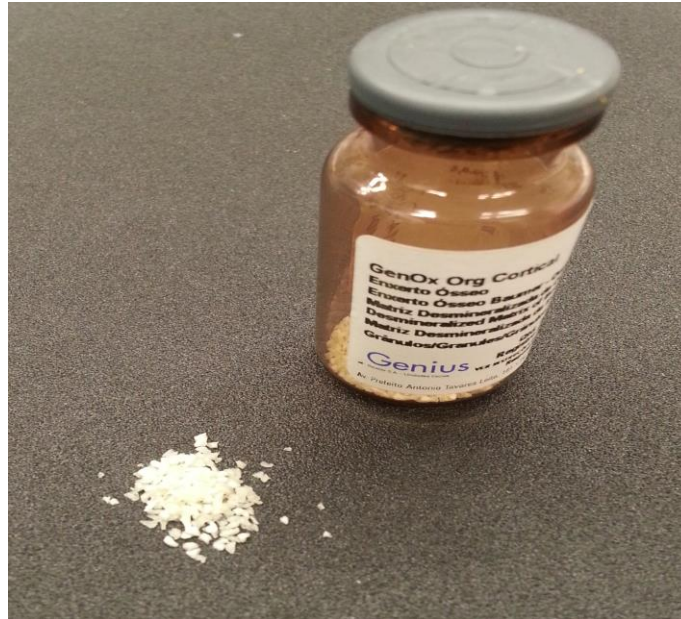


Figura 4. Osso liofilizado floculado bovino (Genius®)

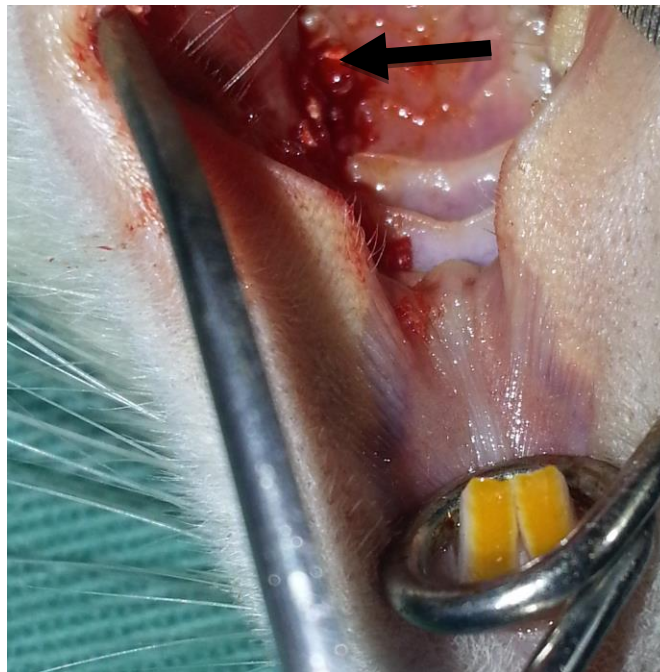


Figura 5. Osso liofilizado bovino (seta) preenchendo alveólo dentário de rato Wistar após extração do I PM da maxila esquerda

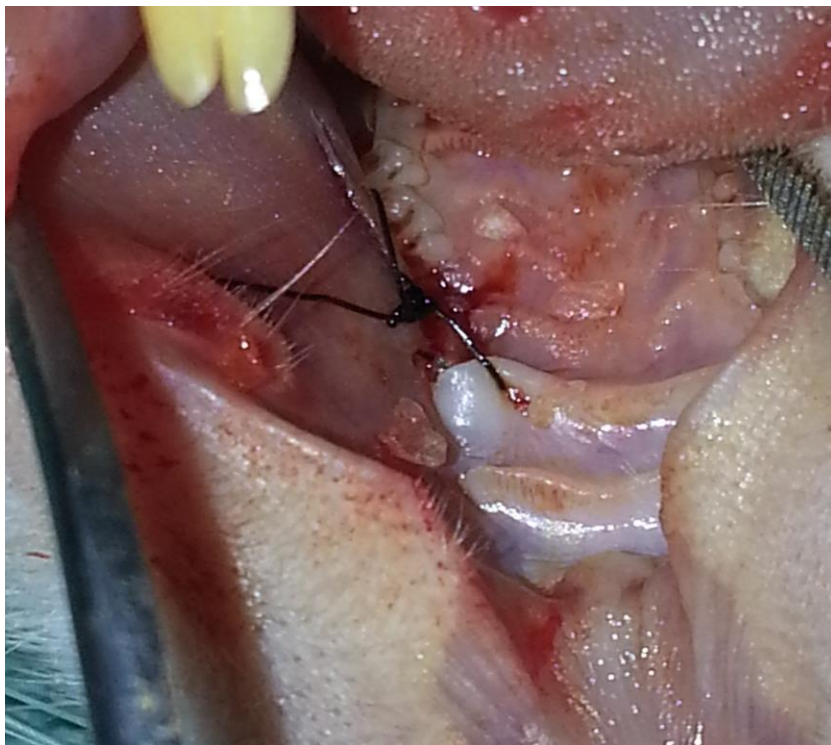


Figura 6. Sutura gengival recobrando enxerto ósseo liofilizado com ponto isolado simples e fio de poliglactina 910 em rato Wistar

3.3.7 Cuidados pós-operatórios

Ao término do procedimento cirúrgico, e por mais seis dias, foi administrada enrofloxacina a cada 24 horas (10mg/Kg) por via subcutânea. Após a recuperação anestésica, e por mais três dias, foi realizada analgesia com cloridrato de tramadol a cada 12 horas (5mg/Kg) por via intramuscular.

O meloxicam foi utilizado como antiinflamatório a cada 24 horas, na dose de (0,1 mg/kg) por via subcutânea durante quatro dias consecutivos.

3.3.8 Exames microbiológico

Para a análise microbiológica da lidocaína foram coletadas amostras da mucosa gengival com swab estéril antes do procedimento e após o procedimento, armazenados em meio de transporte Stuart e encaminhados ao laboratório multiuso 1 da PUCPR onde foram realizadas as análises microbiológicas. Os swabs foram inoculados em placas com meio de cultura BHI - infusão cérebro-coração bovino ágar, e colocados em estufa bacteriológica de crescimento a 35 ± 2 °C por 48 horas. Após o cultivo em estufa,

foi realizada a contagem de unidades formadoras de colônia por placa. Para a identificação das bactérias foi realizada para triagem de bactérias gram-negativas e gram-positivas com coloração de Gram. As bactérias gram-negativas foram submetidas ao teste colorimétrico para identificação de enterobactérias (marca NewProv). As gram-positivas foram submetidas ao teste de catalase e análise de morfologia de Gram.

3.3.9 Teste de suscetibilidade a antibióticos e lidocaína

Para análise do perfil de sensibilidade antimicrobiana das bactérias isoladas da superfície gengival dos ratos, foram selecionadas colônias que apresentaram morfologias diferentes, inoculadas em tubos de ensaio de vidro contendo 5ml caldo BHI e colocadas na estufa a 35 ± 2 °C por 24 horas. Após o crescimento foi realizado o antibiograma pela técnica conhecida como disco-difusão ou Kirby-Bauer, seguindo os padrões do manual internacional CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) do ano de 2013, documento M123 (CLSI, 2013).

Os antibióticos testados foram: amoxicilina associado a ácido clavulânico 30µg, azitromicina 15µg, ceftriaxona 30µg, ciprofloxacina 5µg, doxiciclina 30µg, enrofloxacinina 5µg, eritromicina 15µg, norfloxacina 10µg, e penicilina 10µg (Figura 6) e solução tópica de lidocaína. Como a lidocaína não é vendida para testes de antibiograma por ser uma solução anestésica, foi realizado método diferente da análise para este fármaco.

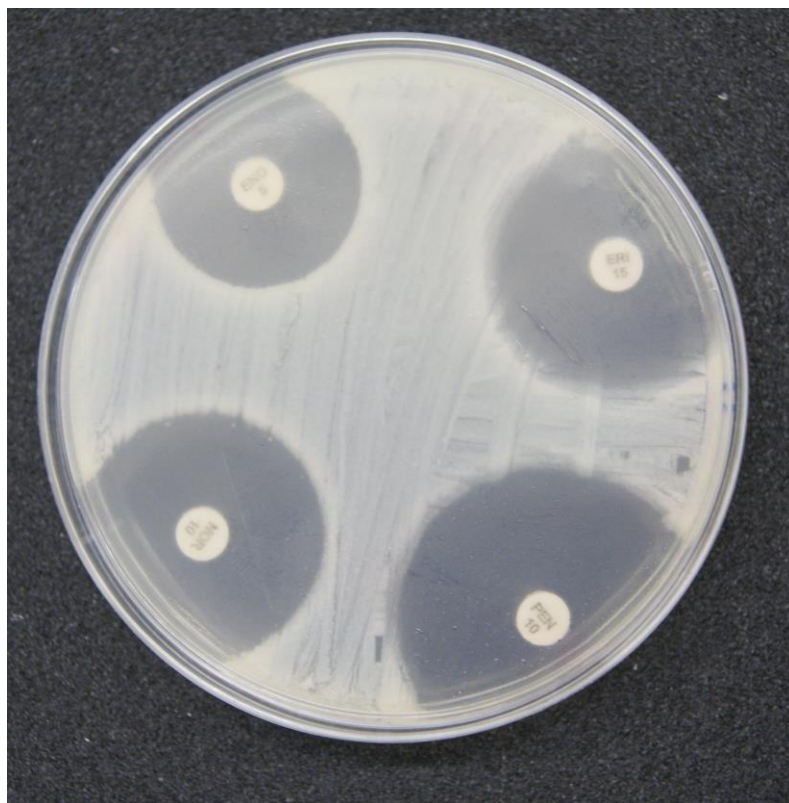


Figura 7. Placa de Petri contendo meio de cultura BHI. Imagem de teste de susceptibilidade ao antibiótico em discos-difusão contendo antibióticos enrofloxacino, eritromicina, norfloxacino e penicilina. Resultados após 24 horas em temperatura da estufa de $35\pm 2^{\circ}\text{C}$

Para a leitura dos halos de inibição do antibiograma foi utilizado paquímetro analógico e digital, e os resultados numéricos encontrados foram classificados em bactérias sensíveis intermediárias (entre sensível e resistente e resistentes aos antibióticos).

Para a suscetibilidade da lidocaína foram realizados dois testes – Teste A: bactérias isoladas foram inoculadas em placa contendo o meio BHI; foi inoculada a lidocaína tópica em discos-difusão estéril, aplicados sobre o meio de cultura na forma quadruplicada e colocadas na estufa a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24 horas (Figura 7). Teste B: consiste em inocular a bactéria isolada em placas com meio BHI e, logo na sequência, inocular novamente utilizando swab estéril a lidocaína tópica em 50% da placa. Assim foi possível comparar na mesma placa o efeito do crescimento bacteriano em relação ao efeito do anestésico sobre a bactéria isolada (Figura 8).

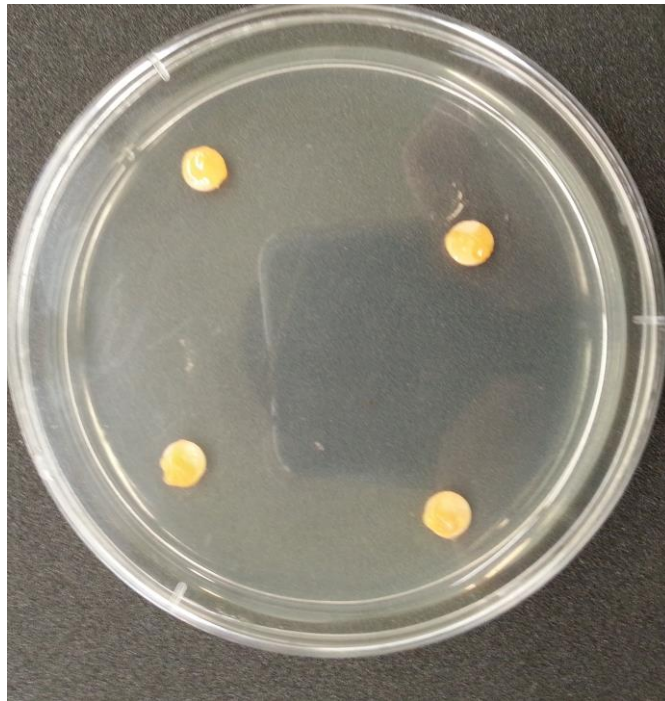


Figura 8. Teste de suscetibilidade em placa contendo meio BHI e discos-difusão contendo lidocaína tópica

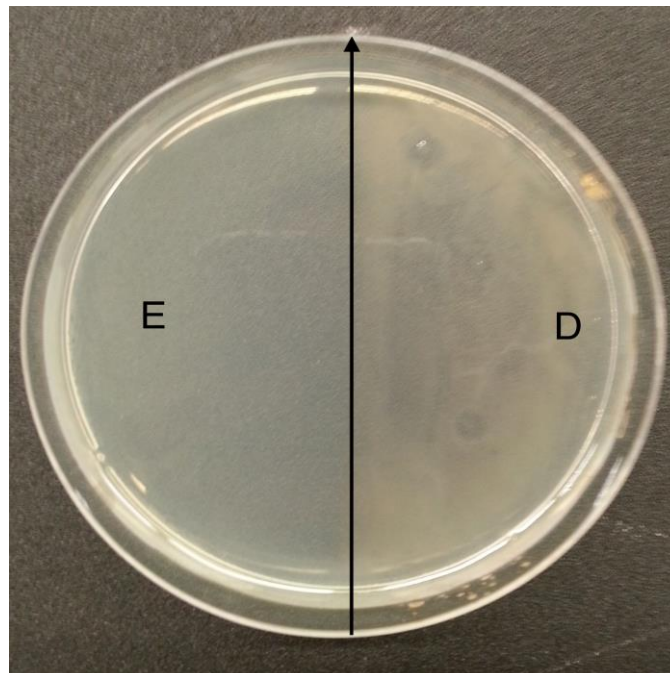


Figura 09. Placa de Petri contendo meio BHI onde foram inoculadas cepas bacterianas. No lado direito (D) após inoculação bacteriana foi passado swab com lidocaína tópica a 5%

3.3.10. Eutanásia

Para eutanásia dos animais foram utilizados os agentes anestésicos cloridrato de quetamina e cloridrato de xilazina em superdosagem (quatro vezes maior que a recomendada para a anestesia geral). Pela dificuldade na obtenção do acesso venoso, foi realizada aplicação intraperitoneal, assim promove a ação do anestésico de forma rápida a parada cardíaca e sem presença da dor ao animal.

3.3.11 Exame radiográfico

Após os procedimentos exodônticos e a coleta do material oral para exames microbiológicos; os animais foram eutanasiados em 24 horas, 5, 15 e 30 dias. Após a eutanásia, os animais eram posicionados em decúbito dorsal e colocados em freezer na temperatura de -20°C durante 24 horas.

Para que não ocorresse a sobreposição maxilar e mandibular dos roedores durante as radiografias, foi necessário realizar corte sagital dividindo o crânio em duas partes (esquerda e direita).

3.3.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados para contagem de colônia foram analisados estatisticamente para definir se existe diferença entre os grupos teste, avaliado a quantidade de bactérias pós exodontia e o grupo controle observado a quantificação de colônias da flora normal. Para a análise foi utilizado o teste ANOVA + Tukey ($P= 0,05$). Para o teste de suscetibilidade foram utilizados 9 tipos de antibióticos diferentes em três cepas encontradas na cavidade oral dos ratos. Para análise estatística foi utilizado o teste de Komogorov- Smirnov. O teste de Komogorov-Smirnov especifica a distribuição da frequência acumulada e compara com a frequência acumulada observada. Este teste é o mais indicado devido ao fato de realizar testes de observações individuais e

separadamente. Portanto quando temos amostras pequenas o teste de Komogorov-Smirnov fornece valores exatos (SIEGEL e JHON, 2006).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os estudos que envolvem modelos experimentais são fundamentais para a compreensão dos mecanismos primários e secundários da cicatrização óssea com ou sem enxertia. Dados de estudos experimentais mostraram que distúrbios ocorridos em cobaias podem ser extrapolados a seres humanos se as suas devidas proporções anatômicas, fisiológicas e metabólicas forem respeitadas (MEYER et al., 2003; RODRIGUES et al., 2010).

No presente estudo foram avaliados os efeitos da lidocaína na osteointegração de osso liofilizado bovino e sua ação antimicrobiana na mucosa oral.

Roedores são os animais mais utilizados em estudos envolvendo patogenias periodontais. Os custos de criação e alojamento são relativamente baixos o que torna possível a realização de estudos com número suficiente para análise estatística (STRUILLOU, 2010).

Os preceitos de padronização da genética, estado sanitário e do ambiente da espécie analisada, a observação de condições adequadas no transporte, aclimatação, enriquecimento do ambiente, treinamento de técnicos em experimentação animal, gestão de informação, biossegurança, dieta, anestesia, cuidados pós-operatórios, analgesia e eutanásia foram seguidos neste estudo. Estas etapas fundamentais visaram à obtenção de resultados com alto grau de acuidade, alto nível de reprodutibilidade e precisão. Os preceitos seguidos neste estudo foram baseados em Damy et al. (2010), que com o objetivo de contribuir à pesquisa em cirurgia experimental, apresentaram uma análise dos principais parâmetros exigidos a serem observados pelos comitês nacionais e internacionais de ética e bem-estar animal, cujo cumprimento é pré-requisito para publicação em periódicos de circulação internacional.

O modelo experimental de enxertia óssea foi similar a pesquisa de Leite(2005) avaliou histologicamente e radiograficamente região alveolar e incisivos inferiores direitos de 21 ratos. Após remoção cirúrgica de segmento medial alveolar e odontossecação dos dentes incisivos. O resultado demonstrou, mesmo após

odontosseção houve crescimento pulpar e remodelação alveolar entre 15 – 45 dias após cirurgia. Em um outro estudo realizado por Filho (2015) avaliou-se a eficácia do uso do enxerto ósseo liofilizado bovino pós-exodontias. Realizou-se a avaliação histológica após 4 meses de reparo. Os resultados demonstraram histologicamente que ambos os grupos tratados e controle apresentaram remodelação óssea, mas o grupo tratado com enxerto ósseo o resultado foi mais evidente. Além disso observou-se a neoformação de partículas ao redor do enxerto ósseo.

A cavidade oral dos roedores é extremamente pequena, dificultando seu manuseio e extração dentária. Devido a isto, a técnica foi adaptada para melhor processo da exodontia. A cureta de alvéolo teve a mesma função de sindesmótomo, o que permitiu a separação da gengiva do osso periodontal. Os PM dos ratos apresentam quatro raízes dentais e o uso da broca para odontosseção seria grande para seccionar totalmente a coroa dental. Novamente, a cureta de alvéolo foi usada como elevador periostial com a finalidade de luxar o dente e uma pinça odontológica promoveu força interdental, e esta estava localizada entre o primeiro pré-molar e o primeiro molar. Nessa fase foi tomada cautela para que não ocorresse fratura apical ou lesão a estruturas ao redor do periodonto. Após o dente apresentar boa maleabilidade, foi utilizado fórceps para tracionar levemente o dente para o seu exterior realizando uma leve rotação e assim foi finalizado o procedimento da exodontia.

3.3.1 Resultados radiográficos

Em todos os animais foram realizadas as extrações de ambos os pré-molares maxilares. Nesta avaliação foi comparado o efeito osteointegrativo e estatístico de uma área enxertada utilizando o osso liofilizado bovino no lado E e a outra serviu de controle, no qual não foi aplicado nenhum tipo de enxerto ósseo e suturas. Foi comparado a reação após exodontia em quatro fases

Na avaliação macroscópica, foi realizado uma análise focal de ambos os dentes pré-molares maxilares. Os exames radiográficos foram realizados em posição lateral, sendo possível demonstrar a presença do espaço alveolar, osso liofilizado implantado, reação inflamatória e neoformação óssea (Figura 9).

Sob o ponto de vista radiográfico foi possível observar a presença de osso liofilizado em todos os grupos.

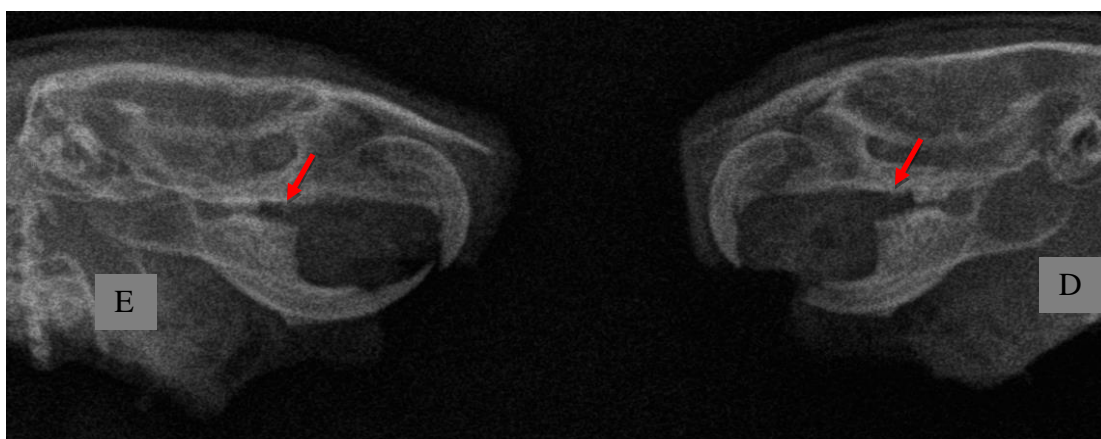


Figura 10. (Fase 1) eutanásia 24 horas após exodontia bilateral. Imagens radiográficas de cortes sagitais de crânio de rato Wistar após extrações dos primeiros dentes pré-molares das maxilas direita e esquerda. O lado D (direito) demonstra a destruição da crista alveolar. Lado (E) superfície regular com projeção extra alveolar de material radiopaco (osso liofilizado).

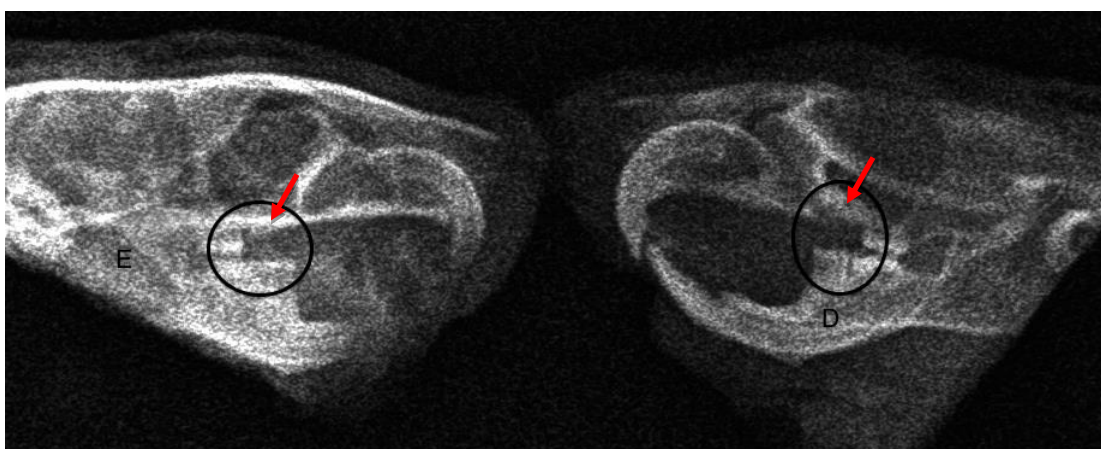


Figura 11. (Fase 2) eutanásia cinco dias após exodontia bilateral. Imagens radiográficas de cortes sagitais de crânio de rato Wistar após extrações dos primeiros dentes pré-molares das maxilas direita e esquerda. Lado E: Ausência de áreas radioluscentes em alvéolo correspondente em área alveolar, proliferação óssea e projeção de osso liofilizado extra alveolar; Lado D: Presença de radioluscência, sem preenchimento ósseo intra-alveolar, defeito contrario irregular.

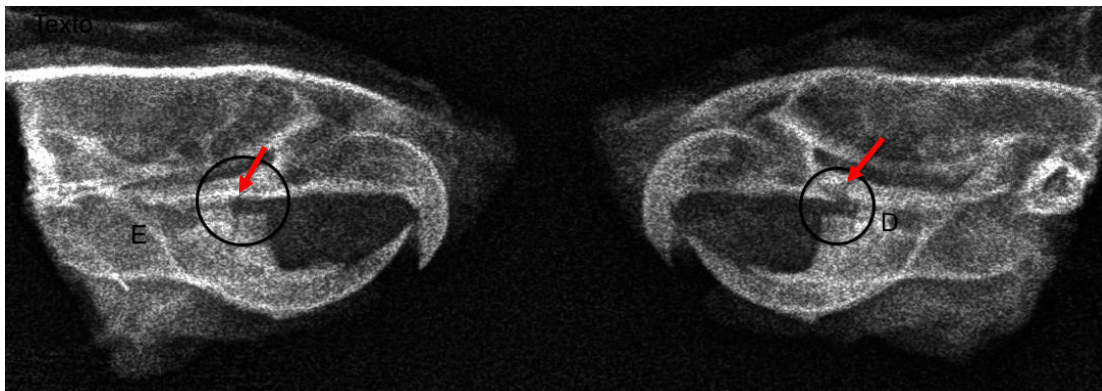


Figura 12. (Fase 3) eutanásia 15 dias após exodontia bilateral. Imagens radiográficas de cortes sagitais de crânio de rato Wistar após extrações dos primeiros dentes pré-molares das maxilas direita e esquerda. Lado E: Presença de radiopacidade alveolar e sinais de proliferação óssea mais evidente; Lado D: Foco radioluscente, com início de proliferação óssea extra alveolar.

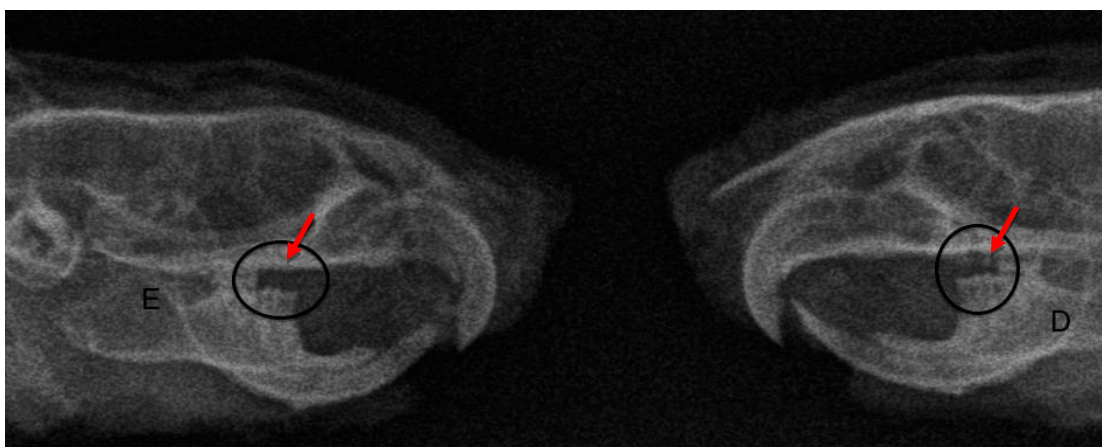


Figura 13. (Fase 4) eutanásia 30 dias após exodontia bilateral. Imagens radiográficas de cortes sagitais de crânio de rato Wistar após extrações dos primeiros dentes pré-molares das maxilas direita e esquerda. Lado esquerdo (E): Ausência de pré-molar superior, sem alterações de radiopacidade. Osso preenchido total em área alveolar; Lado D: Ausência do dente pré-molar superior direito, foco radioluscente semicircular em área de alvéolo correspondente com sinais de proliferação óssea alveolar.

Tabela 01: Comparação do efeito osteointegrativo alveolar em 4 fases: Lado esquerdo uso do enxerto ósseo liofilizado bovino; lado direito (D) não foi utilizado enxerto ósseo e sutura da borda gengival.

FASE	LADO ESQUERDO (E)	LADO DIREITO (D)
01	0	0
02	2	2
03	4	2
04	4	4

Fase 01: Radiografia em 24 horas após o pós-cirúrgico; Fase 02: 5 dias após as exodontias; Fase 03: 15 dias após as exodontias e enxerto ósseo; Fase 04: 30 dias após exodontia e enxerto ósseo.

A tabela acima demonstra o resultado radiográfico dos 32 animais que apresentaram o efeito da osteointegração alveolar em 4 fases com 8 ratos em cada momento. A fase 01 não houve crescimento ósseo. Fase 2 – Dois ratos do lado esquerdo e dois animais do lado direito apresentaram crescimento alveolar. Fase 3 – O resultado do lado esquerdo foi superior; apresentando quatro animais com osteointegração alveolar em comparação ao lado direito, dois animais obtiveram crescimento ósseo. Fase 4 – Todos os animais (oito), apresentaram osteointegração alveolar.

O modelo experimental de enxertia óssea foi similar a pesquisa de Leite (2005) que avaliou histologicamente e radiograficamente região alveolar e incisivos inferiores direitos de 21 ratos, após a remoção cirúrgica de segmento medial alveolar e odontossecação dos dentes incisivos.

O resultado demonstrou, mesmo após odontossecação, que houve crescimento pulpar e remodelação alveolar entre 15 – 45 dias após cirurgia. Em um outro estudo realizado por Filho (2015) avaliou-se a eficácia do uso do enxerto ósseo liofilizado bovino pós-exodontias. Realizou-se a avaliação histológica após quatro meses de reparo. Os resultados demonstraram histologicamente que ambos os grupos tratados e controle apresentaram remodelação óssea, mas o grupo tratado com enxerto ósseo o

resultado foi mais evidente. Além disso observou-se a neoformação de partículas ao redor do enxerto ósseo.

3.4.2 Contagem de colônias

As análises microbianas revelaram a presença das bactérias *Escherichia coli*, *Streptococcus sp* e *Staphylococcus sp* (Tabela 1).

Tabela 02. Números de colônias da coleta microbiológica da flora oral normal dos ratos imediatamente antes da extração dentária do primeiro pré-molar maxilar E e D do (grupo A). O grupo B revela os valores obtidos após o procedimento exodôntico. Nas fases 1 e 2 os animais receberam lidocaína tópica a 5% para averiguação de possível função antimicrobiana. A fase 3 e 4 são os animais que não receberam lidocaína a 5%

Fase	GRUPOS	
	A	B
1	584,9±448,8 ^{aA}	472,1±452,9 ^{aA}
2	575,1±401,0 ^{aA}	789,4±575,8 ^{aA}
3	298,6±255,0 ^{aA}	678,4±325,0 ^{aB}
4	715,6±571,7 ^{aA}	1329,1±433,3 ^{bB}

Média ± desvio padrão. Letras minúsculas comparam as fases (em cada lado). Letras maiúsculas comparam os lados (em cada fase). Teste de Levene, comprovando que há homocedasticidade. ANOVA + Tukey ($P \leq 0,05$).

Não houve diferença no número de colônias entre as fases, tanto para o grupo A quanto para o grupo B. Nas fases 1 e 2 não houve diferença no número de colônias entre os grupos. Nas fases 3 e 4 a quantidade de colônias do grupo B foi maior que do grupo A.

Nas fases 1 e 2 não houve crescimento bacteriano, pois não ocorreu diferença de números de colônia entre os grupos A e B. Pode-se considerar que a lidocaína tópica 5% teve efeito bacteriostático, pois impediu proliferação e deteve o crescimento bacteriano.

Já efeito bactericida ocorre não apenas na contenção da multiplicação, mas ocorre a diminuição do número de colônias. Resultados diferentes foram observados por (GARROTE,2013) avaliou o efeito bactericida de três antissépticos orais (Cloridrato de Cetilpiridínio 0,07%, Cetilpiridínio 0,07% , Clorexidina 0,12% e Lidocaína 0,13%) sobre cepas de (*Streptococcus mutans*, *Enterococcus faecalis* e *Pseudomonas*

aeruginosa); dois testes foram realizados: teste de difusão e de exposição. O resultado obtido concluiu que todas as soluções antissépticas testadas apresentaram efeito bactericida em contato direto com as três cepas. O halo de inibição foram maior que 10mm em todos os microorganismos

Segundo Groppo et al (2003), avaliou a atividade antimicrobiana de anestésicos tópicos comerciais, lidocaína a 5%, 6% e 10%, benzocaína a 10% e 20%. Como representantes da mucosa oral, foi utilizado bactérias isoladas de *Stafilococcus sanguis*, *Stafilococcus mutans*, *Stafilococcus salivaris* e *Stafilococcus oralis*. Todos os anestésicos locais mostraram atividade bactericida com excessão a lidocaína a 5%.

3.4.3 Resultados dos testes suscetibilidade aos antibióticos

A tabela 2 mostra os resultados dos antibiogramas (sensível, intermediário e resistente) de nove tipos de antibióticos em 35 cepas testadas.

Tabela 3. Resultado geral do teste de suscetibilidade a nove antibióticos diferentes de cepas oriunda da cavidade oral dos ratos.

		SENSÍVEL	INTERMEDIÁRIO	RESISTENTE
AMP=	AMP	33	01	01
ampicili	AZI	20	01	14
na,	CRO	26	4	05
AZI=	CIP	34	0	01
Azitrom	DOX	31	01	03
icina,	ENO	34	0	01
CRO=	ERI	20	05	10
Ceftria	NOR	32	02	02
	PEN	24	0	11

xona, CIP= Ciprofloxacino, DOX= Doxiciclina, ENO= Enrofloxacino, ERI= Eritromicina, NOR= Norfloxacino, PEN= Penicilina.

Em relação aos antibiogramas pode-se considerar que as bactérias avaliadas foram sensíveis à ampicilina, ciprofloxacino, doxiciclina, enrofloxacino e norfloxacino; tiveram sensibilidade intermediária à penicilina e as bactérias avaliadas foram resistentes à azitromicina, ceftriaxona e eritromicina.

3.4.4 Avaliação antimicrobiana da lidocaína a 5%

A figura 14.1 mostra a redução de colônias bacterianas na região aonde há a presença de lidocaína tópica a 5%. Foi realizada a inoculação de *E. coli* nas placas com meio BHI, adicionado discos-difusão de forma quadruplicada. A figura 14.2 mostra que o local com *E.coli* seguido da passagem de swab com lidocaína tópica a 5% (lado direito – D) está com maior número de colônias.

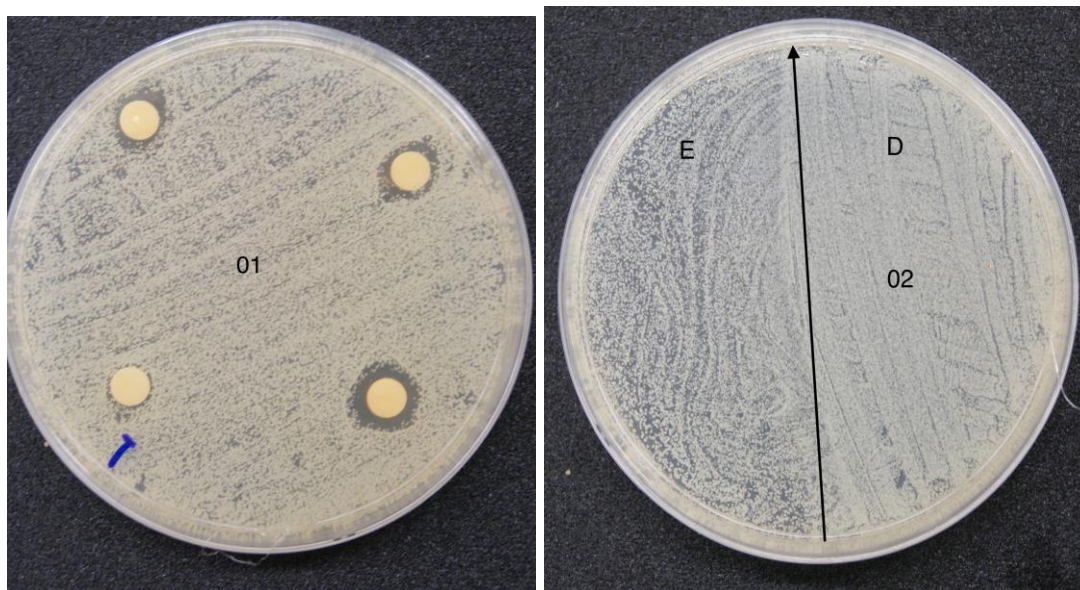


Figura 14. Imagens de placas com meio de BHI. Na imagem 01 há discos-difusão foram embebidos com lidocaína a 5%, enquanto que a imagem 02 mostra que há divisão da placa em E (esquerdo) e D (direito). No lado D, após inoculação de *E. Coli* foi realizada passagem de swab embebido com lidocaína 5%. Nota-se que na imagem 01 ocorre a formação de halo pequeno ao redor do disco-difusão. Na figura 02 nota-se que o crescimento de colônias bacterianas do lado (E) é visualmente inferior ao lado (D).

É possível verificar, em ambas as imagens a não ocorrência de ação antimicrobiana intensa sobre as colônias de *E. coli*, descaracterizando a ação bactericida da lidocaína tópica a 5%. Entretanto, a presença da lidocaína impediu a proliferação bacteriana, o que revela sua ação bacteriostática.

Esses resultados diferem de Souza et al. (2009) que observaram em seus estudos ação bactericida deste anestésico local. Estes autores avaliaram ações antimicrobianas da lidocaína a 5% mas aplicada por via injetável. Sendo assim acredita-se que os anestésicos tópicos por não serem vasoconstritores, possuem efeito vasodilatador, é por isso que eles apresentam absorção sanguínea rápida com níveis semelhantes aos observados na aplicação intravenosa.

É sabido que os resultados variaram de acordo com a substância anestésica e o microrganismo, mas o estudo *in vitro* apoia a investigação do estudo *in vivo*, mostrando um efeito antimicrobiano definitivo de anestésicos tópicos em espécies selecionadas da microbiota.

O mesmo estudo apontou que esta ação antimicrobiana depende da dimensão da área que recebeu o gel anestésico, do tempo de contato do anestésico com os microrganismos, da concentração, do tipo do sal de anestésico e o tempo de contacto dos microrganismos com a substância (AYDIN et al., 2001; HOLMSTRON et al., 2012).

De acordo com um estudo realizado por Salas et al., (2011) foi demonstrado que a aplicação da lidocaína a 2% na forma subcutânea em feridas cirúrgicas limpas e contaminadas significativa na infecção de feridas cirúrgicas limpas e contaminadas quando aplicado lidocaína a 2%.

Confirmado a presença de microrganismos no cultivo de material nas feridas cirúrgicas após aplicação do anestésico local nas áreas infectadas com desenvolvimento de *Pseudomonas* sp e *Staphylococcus haemolyticus*. Os resultados coincidem com a literatura demonstrando a presença de resistência da lidocaína não apresentando o efeito bactericida.

Artizi (1997) realizou o estudo experimental em hamster onde utilizou a lidocaína a 1% em feridas cirúrgicas contaminadas. O efeito da lidocaína demonstrou a diminuição da presença de infecção das feridas cirúrgicas contaminadas assim também a diminuição das unidades formadoras de colônias apresentando efeito bacteriostático.

Segundo Kose, (2010) realizou sua pesquisa em ratos, onde analisou o efeito antibacteriano da prilocaína a 2%, prilocaína a 0,5% pomada e lidocaína a 0,5% pomada em *Staphylococcus aureus* isolados de ratos. Todos os anestésicos locais foram aplicados dez minutos antes do procedimento na pele do rato. Após a incisão, foi inoculado 0,2ml bactéria *Staphylococcus aureus*. Após 4 dias do pós cirúrgico, os animais foram eutanasiados e coletado o material para exame de cultura. O resultado obtido nas culturas tecidual demonstraram que nenhum dos anestésicos locais utilizados no estudo mostrou qualquer atividade inibidora ou bactericida sobre *S. Aureus*.

Não houve diferença estatística na contagem bacteriana entre as feridas do grupo tratado com anestésico e de controle, Os resultados do presente estudo não

mostraram qualquer atividade antimicrobiana dos anestésicos locais em feridas criadas cirurgicamente em ratos.

CONCLUSÃO

O uso de lidocaína a 5% na forma de gel, possui ação bacteriostática: na mucosa gengival, e sob o ponto de vista radiográfico não impede a osteointegração de osso liofilizado bovino.

REFERÊNCIAS

ABDALLA, S. L. *Eficácia in vivo do sumo de Kalanchoe gastonis-bonnieri no controle do biofilme bacteriano e cálculo dentário de cães*. Diss. Universidade de São Paulo.

ALJATEELI, M.; HOM-Lay Wang. "Implant Microdesigns and Their Impact on Osseointegration." *Implant dentistry*, 2013.

ALLAKER, R. P.; "The use of nanoparticles to control oral biofilm formation." *Journal of dental research*. v. 89, p.1175 -1186, 2010

ARAÚJO, M. G.; LINDHE, J. Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. *Journal of clinical periodontology*, v. 32, n. 2, p. 212-218, 2005.

ARAÚJO, M. G.; LILJENBERG, B.; LINDHE, J. Dynamics of Bio-Oss® Collagen incorporation in fresh extraction wounds: an experimental study in the dog. **Clinical oral implants research**, v. 21, n. 1, p. 55-64, 2010.

ARITZI, G. P. "Aplicación de lidocaína en el tejido celular subcutáneo para la prevención de infección de la herida quirúrgica en un modelo experimental." *Cir Gen* n.19.2: p.120-123, 1999

AYDIN O, EYGOR M, AYDIN, N. Antimicrobial activity of ropivacaine and other local anesthetics. *Eur. J. Anesthesiol.*, Oxford; n.18, p. 687-694. 2007.

BANNON, K, M. "Clinical canine dental radiography." *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* n.43, p.507-532. 2013

BHATT, R, A.; TAMARA D. R. "Bone graft substitutes." *Hand clinics* n. 28.4 p. 457-468. 2012

BOOTHE, D. M.; HARRY W. B. "Antimicrobial Considerations in the Perioperative Patient." *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* n.45.3: v.585-608. 2015

CARBONARI, M; LUDTKE, J; SANTOS, P. C. V; Carvalho, NARA, T. A; GEHRKE, S. A. "Caracterização físico-química e biológica de enxerto ósseo bovino, Bonefill, em bioensaios-Parte 1; Characterization physical-chemical and biological the bovine Characterization physical-chemical and biological the bovine bone graft, Bonefill in biological assays-Part 1." *ImplantNews* v.7.1 : p.103-110. 2010

CARDAROPOLI, G.; ARAUJO, M.; LINDHE, J. Dynamics of bone tissue formation in tooth extraction sites. **Journal of clinical periodontology**, v. 30, n. 9, p. 809-818, 2003.

CARVALHO, A. C. P, TEUTO O. "Reparação do alvéolo dental." *Cirurgia bucal: fundamentos experimentais aplicados à clínica*. Panamericana, p. 55-80.1987

CARVALHO J. C. A. "Farmacologia dos anestésicos locais." **Revista Brasileira de Anestesiologia**; 44: 75-82. 1994

CARVALHO, A. C. P de; OKAMOTO, Tetuo. Reparação do alvéolo dental. In: **Cirurgia bucal: fundamentos experimentais aplicados à clínica**. Panamericana. p. 55-80. 1987

CATTERALL, W; MACKIE. Anestésicos locais. Hardman J, Limbird L, Molinoff P, Ruddon R, Gilman A. Las bases farmacológicas de la terapéutica: México: Edit. **McGraw-Hill Interamericana**, p. 353-60, 1996.

CUSTÓDIO, L. C. **INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE FUNORTE / SOEBRÁS**
"REGENERAÇÃO ÓSSEA GUIADA NA IMPLANTODONTIA–REVISÃO DE LITERATURA." 2015

DAMY, S. B; ROBERTO, S. C, ROBER, C, LUIZ, F. P. Aspectos fundamentais da experimentação animal-aplicações em cirurgia experimental. **Rev Assoc Med Bras**, v. 56, n. 1, p. 103-11, 2010.

DANTAS, T. S, et al. "Materiais de Enxerto Ósseo e suas Aplicações na Odontologia." **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde** 13.2 (2014)

KAMER, D; HUSEYIN, S; ERTAN, T; SEZAI, O; GUNER, D; ALI, I. F; OSMAN, M. I; ZAFER, K – The comparison of the effects of different doses of levobupivacaine infiltration on wound healing. **J InvestSurg**; V.22: P.112-116. 2009

ozalia Dimitriou^{12†}, Elena Jones^{3†}, Dennis McGonagle^{3†} and Peter V Giannoudis

DIMITRIOU, R; JONES, E; MCGONALE, D; GIANNOUDIS, V. P "Bone regeneration: current concepts and future directions." **BMC medicine** V.9.1, n. 66. 2011

DUARTE, L. S; LIRIO S. "Comparação da resistência à compressão de ossos bovinos congelados e liofilizados." **Revista brasileira de engenharia biomédica= Brazilian journal of biomedical engineering. Rio de Janeiro. v. 16, n. 2, p. 89-93. 2000.**

DURACK, D.T. Prophylaxis of infective endocarditis. In: MANDELL, G. L. et al. Principles in practice of infections of diseases. 4th ed. New York: **Churchill Livingstone**,. p.793. 1994.

EMILY, P., et al. "Atlas de odontologia de pequenos animais." *Atlas de odontologia de pequenos animais.Exposures.* *Circulation* n.102.23, p.2842-2848, 2000

FANTONI, D. T; SILVA R, G. C. *Anestesia em cães e gatos.* Roca, 2002.

FORTUNATO, RX. Avaliação da atividade antimicrobiana de soluções anestésicas tópicas comerciais. Estudo "in vitro" e "in vivo". Piracicaba: UEC, 1990. Tese (Mestrado em Ciências – Área de Farmacologia), Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, 1990.

FOUREAUX, R de Ca. "Efeitos da terapia probiótica (*Bacillus subtilis*) sobre parâmetros metabólicos e inflamatórios em ratos com periodontite induzida por ligadura associada ou não ao estresse crônico." (2015).

FOSSUM, T. W. *Cirurgia de pequenos animais*. Elsevier Brasil, 2002. Galia Roberto C. Biocompatibilidade, osso bovino. "**Investigação fundamental**" *Clínicas* 63,6 p.801-806. 2008.

FROES, G. C; DE ASSIS, O. F; GONTIJO, G. Anestésicos tópicos. **Surgical & Cosmetic Dermatology**, v. 2, n. 2, p. 111-116, 2010.

Garrote, M. da S. "Efeito antibacteriano de antissépticos bucais frente ao *S. mutans*, *E. faecalis* e *P. aeruginosa*. 2013.

GIOSO, M. A. "Doença Periodontal." *Gioso, MA Odontologia Veterinária: para o clínico de pequenos animais 3º cap.–2. Ed.–Barueri, São Paulo: Minha Editora. 2007.*

GRIFFIN, K, S., et al. "Evolution of Bone Grafting: Bone Grafts and Tissue Engineering Strategies for Vascularized Bone Regeneration." **Clinical Reviews in Bone and Mineral Metabolism** v. 1-13. 2015.

HANCI, V, et al. "Comparação dos efeitos da infiltração com bupivacaína, lidocaína e tramadol na cicatrização de feridas em ratos." **Rev Bras Anesthesiol** : p. 804-810. 2012

HARVEY, C. E., and PETER, E. **Small animal dentistry**. Mosby, 1993.

HARVEY, C E "Gestão da doença periodontal compreender as opções." *As clínicas veterinárias da América do Norte. Prática de pequenos animais. N.35, v. 4 : 819. 2005*

HERCULANI, P P, et al. "Tratamento de defeito ósseo perene em calvária de cobaia com membrana de cortical óssea bovina liofilizada associada ou não a enxerto ósseo bovino desmineralizado." **Rev. bras. Implant 6.2** , v. 7-14. 2000

HOLMSTROM, Steven E. Veterinary dentistry in senior canines and felines. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, v. 42, n. 4, p. 793, 2012.

JOHNSON, S M., BARBARA E. S , and ALAN P. D. "Local anesthetics as antimicrobial agents: a review." **Surgical infections** 9.2 : 205-213. 2008

JUNG, R. E., et al. Effect of rhBMP-2 on guided bone regenerations in humans. A randomized, controlled clinical and histomorphometric study. **Clinical Oral Implants Research**, v. 14, n. 5, p. 556-568, 2003.

JUNQUEIRA, L. C. U; CARNEIRO, Junqueira. **Histologia Básica (Texto e Atlas)**. Guanabara-Koogan, 2013. 13 ed.

KOSE, A. AYDAN et al. Do local anesthetics have antibacterial effect on Staphylococcus aureus under in vivo conditions? An experimental study. **Dermatologic Surgery**, v. 36, n. 6, p. 848-852, 2010.

LEITE, M, G T. "Avaliação radiográfica e histológica do efeito de osso alógeno liofilizado enxertado em área dentada em crescimento: estudo experimental em ratos." 2005.

LINDHE, J; LANG, N. P.; KARRING, T. Periodontologia Clínica e Implantologia Odontológica. 5a edicion. **Ed. Médica Panamericana**, 2009.

LUNA, S. P. Loureiro. "Dor, senciência e bem-estar em animais." **Ciência veterinária nos trópicos** v. 11. N.1: p.17-21. 2008

LYON, k F. et al. Gingivostomatitis. **The Veterinary clinics of North America. Small animal practice**, v. 35, n. 4, p. 891, 2005.

MARIANO, R. C, et al. "Effect of topical application of chlorhexidine and metronidazole on the tissue repair of palatal wounds of rats: a clinical and histomorphometric study." **Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology** v. 119. n. 5 p.505-513. 2015

MARÍN, P, ROSARIO, O, and JUNCAL, G. S. **Atlas de Anatomía de Animales exóticos**. Masson, 2004.

MASSONE, Flavio. "Anestesiologia veterinária." **Farmacologia e técnicas** 5 (2003).

MOORE, P. A., and ELLIOT V. H. "Local anesthetics: pharmacology and toxicity." **Dental Clinics of North America** 54.4 : 587-599. 2010

MORSCZECK, C. et al. Somatic stem cells for regenerative dentistry. *Clinical oral investigations*, v. 12, n. 2, p. 113-118, 2008.

NEVINS, M, CAMELO M, De PAOLI S, FRIENDLAND B, SCHENK R. K, Parma-Benfenati S, et al. A study of the fate of the buccal wall of extraction sockets of teeth with prominent roots. *Int J Periodontics Restorative Dent*; ,n. 26 p.19-29.2006

OZ, S., and PULEO, A. D. "Animal models for periodontal disease." **BioMed Research International**. 2011

PARR, A.M, ZOUTMANN, D. E, DAVIDSON, J. S. Antimicrobial activity of lidocaine against bacteria associated with nosocomial wound infection. **Ann Plast Surg** ; 43:239–245. 1999.

PIETROKOVSKI, J et al. Alveolar ridge resorption following tooth extraction. *The Journal of prosthetic dentistry*, v. 17, n. 1, p. 21, 1967.

SCHALLHORN, R. G.; HIATT, W. H.; BOYCE, W. transplants in periodontal therapy. **Journal of periodontology**, v. 41, n. 10, p. 566-580, 1970.

SIEGEL, S, and CASTELLAN, N. Jr. "John.." **Estatística não-paramétrica para ciências do comportamento** 2. 2006

SPINOSA, H. de S., SILVANA, L. G, and MARIA M. B. "**Farmacologia aplicada à medicina veterinária**." *Rio de Janeiro*. 1999.

STRUILLLOU, X, et al. "Experimental animal models in periodontology: a review." **The open dentistry journal** v.4: n.37. 2010

TAKARADA, K., KIMIZUKA, R., TAKAHASHI, N., HONMA, K., OKUDA, K; KATO, T. , A comparison of the antibacterial efficacies of essential oils against oral pathogens. **Oral Microbiology and Immunology**, n.19: p.61–64. 2004

TAN W. L, WONG, T. L. T, WONG, M. C. M; LANG, N. P. A systematic review of post-extractonal alveolar hard and soft tissue dimensional changes in humans. **Clin Oral Impl Res**;23(Suppl5):1–21. 2012

TORTORA, G J., BERDELL, R. F; CHRISTINE, L. **Case. Microbiologia**. Artmed, 2012.

VAN, H. A; SWIONTKOWSKI, Marc. Bone-graft substitutes. **The Lancet**, v. 353, p. S28-S29, 1999.

VIGNEAU A, S. A. B. J et al. – A double blind randomizedtrial of wound infiltration with ropivacaine after breast cancer surgerywith axillary nodes dissection. **BMC Anesthesiol**, ;11:23. 2011.

VILLORIA, G; COSTINHA, L. H. C. Antissépticos bucais no controle da bacteremia de origem oral. **Revista HUPE**; 12:76-83. 2013

WACHOWSKI, et al. "The growth of microorganisms in propofol and mixtures of propofol and lidocaine." **Anesthesia & Analgesia** v. 88.1: p. 209-212. 1999

WIIGS, R B; HEIDI B. *Veterinary dentistry: principles and practice*. **Lippincott-Raven Publishers**. 1997.

Ye, P., et al. "Streptococci and Actinomyces induce antibodies which cross react with epithelial antigens in periodontitis." **Clinical & Experimental Immunology** 131.3 : 468-476. 2003

YOUNG, S. E. A Etiology and epidemiology of infective endocarditis in England and Wales. **J Antimicrob Chemother**, v. 20, Suppl A, p. 7-14, Sep. 1987.

ZAIDI, S.; HEALYT. E. J."A comparison of the antibacterial properties of six local analgesic agents." Anaesthesia 32.1: 69-70. 1977

LINDHE J, L N. P. K. T. **Tratado de periodontia clínica e implantologia oral.** Guanabara Koogan, CAPÍTULO 1 PÁGINA 02 A 47. 2010

APÊNDICES E ANEXOS

Anexo A: Parecer do protocolo de pesquisa (929) – 16 de outubro de 2014