

# EFEITO ANTIMICROBIANO DA INDOMETACINA NO BIOFILME PERIODONTAL: ESTUDO EM RATOS

*Antimicrobial effect of indomethacin  
on periodontal biofilm: study in rats*

Cíntia da Graça Gomes Fernandes<sup>1</sup>

Ana Cristina Távora de Albuquerque Lopes<sup>2</sup>

Mirela Anne Quartaroli Téo<sup>3</sup>

Paulo Henrique Weckwerth<sup>4</sup>

Bella Luna Colombini Ishikiriyama<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Cirurgiã-dentista (USC), Universidade do Sagrado Coração, Bauru, São Paulo, Brasil, e-mail: cintia.lucia2019@gmail.com

<sup>2</sup>Cirurgiã-dentista (UFPA), Mestre em Biologia Oral (USC), Doutoranda em Ciências Odontológicas Aplicadas/ Dentística (FOB/USP), Universidade do Sagrado Coração, Bauru, São Paulo, Brasil, e-mail: irana\_lopes@hotmail.com

<sup>3</sup>Cirurgiã-dentista (USC), Mestre em Biologia Oral (USC), Universidade do Sagrado Coração, Bauru, São Paulo, Brasil, e-mail: mirela\_quartaroli@hotmail.com

<sup>4</sup>Biólogo (USC), Mestre em Biologia Tropical (UNESP), Doutor em Doenças Tropicais (UNESP), Pós-Doutorado em Ciências Odontológicas (USP). Universidade do Sagrado Coração, Bauru, São Paulo, Brasil, e-mail: phweck@terra.com.br

<sup>5</sup>Cirurgiã-dentista (FOB/USP), especialista em Periodontia (PROFIS-HRAC-USP), Mestre e Doutora em Ciências Odontológicas Aplicadas (FOB/USP), Pós-doutoranda em Odontopediatria (FOB/USP). Faculdade de Odontologia de Bauru, São Paulo, Brasil, e-mail: bellacolombini@usp.br

Mirella Lindoso Gomes Campos<sup>6</sup>

<sup>6</sup>Cirurgiã-dentista (UFMA), especialista em Periodontia (FOP/UNICAMP), Mestre e Doutora em Clínica Odontológica com área de concentração em Periodontia (FOP/UNICAMP). Universidade do Sagrado Coração, Bauru, São Paulo, Brasil, e-mail: mirellalindoso@gmail.com

Recebido em: 23/09/2016

Aceito em: 22/11/2016

FERNANDES, Cíntia da Graça Gomes *et al.* Efeito antimicrobiano da indometacina no biofilme periodontal: estudo em ratos. *SALUSVITA*, Bauru, v. 35, n. 4, p. 505-515, 2016.

## RESUMO

**Introdução:** A doença periodontal é uma doença de caráter multifatorial que se desenvolve em decorrência da interação do biofilme bacteriano com a resposta imuno-inflamatória do hospedeiro que pode ser modulada por fatores sistêmicos e ambientais. **Objetivo:** o presente estudo teve como objetivo avaliar a ação antimicrobiana do anti-inflamatório não esteroide indometacina sobre o biofilme retido em ligaduras inseridas subgingivalmente para indução de periodontite experimental em ratos. **Método:** assim, 20 animais foram divididos aleatoriamente em um dos grupos: grupo Indometacina (n=10); grupo água destilada (n=10). Os animais receberam gavagem diária da medicação (5 mg/kg indometacina) ou de água destilada (2 ml), durante 7 dias. As ligaduras ao redor dos dentes foram coletadas e

o biofilme foi dispersado, diluído em  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ , semeado em ágar sangue e as placas foram cultivadas em anaerobiose durante 4 dias. As quantificações foram realizadas a partir da contagem das unidades formadoras de colônias (UFC) totais pelo programa Colony counter aplicativo para android, caracterizadas pela presença de bactérias aeróbias e aeróbias facultativas relacionadas ao processo de saúde, e pela contagem manual de UFC grandes, que melhor caracterizam as bactérias anaeróbias relacionadas ao processo de doença. **Resultado:** constatou-se um número significativamente maior de UFC grandes no grupo indometacina quando comparado ao grupo água ( $p=0,004$ ) e um número significativamente menor de UFC totais no grupo indometacina quando comparado ao grupo água ( $p=0,0013$ ). **Conclusão:** dentro dos limites do presente estudo pôde-se concluir que a indometacina agrava o processo infeccioso periodontal devido ao crescimento de UFC anaeróbias e redução de UFC facultativas.

**Palavras-chave:** Periodontite. Ratos. Inibidores de ciclo-oxigenase. Infecções bacterianas.

## ABSTRACT

**Introduction:** *Periodontal disease is a multifactorial disease that develops as a result of the interaction of the bacterial biofilm and the immune-inflammatory response of the individual, which, in its turn, is modulated by systemic and environmental factors.* **Objective:** *This study aimed to evaluate the antimicrobial effect of indomethacin, a non-steroidal anti-inflammatory, on the biofilm retained in ligatures inserted in the subgingival region to induce experimental periodontitis in rats.* **Method:** *20 animals were randomly assigned to one of the groups: Indomethacin (n = 10); distilled water (n = 10). The animals received daily gavage of drugs (5 mg / kg indomethacin) or distilled water (2 ml) for 7 days. The ligatures around the teeth were collected and the biofilm was dispersed, diluted  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  and  $10^{-3}$ , seeded in blood agar and the plates were grown anaerobically for 4 days. The measurements were carried out from the counting of total colony forming units (CFU) by Colony counter application program for android, characterized by the presence of facultative aerobic and aerobic bacteria related health process, and the manual counting of large CFU, which better characterized the anaerobic bacteria-related disease process.* **Result:** *it was found a significantly higher number of large CFU in indomethacin group compared to the*

FERNANDES, Cíntia da Graça Gomes *et al.* Efeito antimicrobiano da indometacina no biofilme periodontal: estudo em ratos. *SALUSVITA*, Bauru, v. 35, n. 4, p. 505-515, 2016.

FERNANDES, Cíntia da Graça Gomes *et al.* Efeito antimicrobiano da indometacina no biofilme periodontal: estudo em ratos. *SALUSVITA*, Bauru, v. 35, n. 4, p. 505-515, 2016.

*water group* ( $p = 0.004$ ) and a significantly lower number of total CFU in the indomethacin group compared to the water group ( $p = 0.0013$ ). **Conclusion:** *within the limits of this study it was concluded that the indomethacin worsens periodontal infectious process due to the growth of anaerobic CFU and the reduction of facultative CFU.*

*Keywords: Periodontitis. Rats. Cyclooxygenase Inhibitors. Bacterial Infections.*

## INTRODUÇÃO

A doença periodontal é uma doença de caráter multifatorial que se desenvolve em decorrência da interação do biofilme bacteriano com a resposta imuno-inflamatória do hospedeiro que pode ser modulada por fatores sistêmicos e ambientais (SHLOSSMAN *et al.*, 1990; PAGE & KORNMAN, 1997; HAFFAJEE & SOCKRANSKY, 2001). Os primeiros sinais clínicos são percebidos devido a alterações de volume, cor, forma e presença de sangramento gengival marginal no periodonto de proteção, constatando-se inflamação gengival denominada de gengivite.

Com o amadurecimento gradual do biofilme dental ocorrem sucessões bacterianas que alteram a ecologia do biofilme relacionado à saúde periodontal, primariamente constituído por bactérias gram-positivas aeróbias, para um biofilme mais complexo composto de bactérias gram-negativas anaeróbias (LÖE *et al.*, 1965; SOCKRANSKY *et al.*, 1998). Em Periodontia, esse processo marca a ruptura da simbiose do biofilme dental com a saúde tecidual frente ao novo desafio marcado pelo estabelecimento de um biofilme periodontopatogênico, culminando com o desenvolvimento das doenças periodontais (MARSH, 1994). Assim, a alteração de um biofilme dental composto por microrganismos simbióticos para outro composto por microrganismos disbióticos patogênicos é responsável pela biomodulação dos mecanismos inflamatórios do hospedeiro, contribuindo para que ocorra destruição dos tecidos periodontais e reabsorção do osso alveolar adjacente ao biofilme periodontopatogênico (DARVEAU, 2009). Tais processos estão relacionados ao aumento da severidade dos parâmetros clínicos da doença periodontal, levando, por exemplo, à constatação de maiores perdas de nível de inserção clínica (NIC), maiores profundidades de sondagem (PS) e aumento dos índices de sangramento marginal e de fun-

do de bolsa periodontal. O controle microbiológico do biofilme é, portanto, o foco da terapia periodontal no qual a cura da doença está intimamente relacionada.

Para reduzir a inflamação causada na doença periodontal, utilizam-se com frequência os anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs). Essas drogas possuem propriedades analgésicas, antitérmica e anti-inflamatória que inibem a ação das prostaglandinas (enzima derivada do ácido araquidônico que modula a inflamação), através da inativação da cicloxigenase 1 (COX-1, constitutiva) e 2 (COX-2, indutiva) (SALVI & LANG, 2005) e cicloxigenase 3 (COX-3), uma variação da COX-1, encontrada de maneira mais abundante no córtex cerebral e no coração (AZOUBEL, 2007).

As drogas anti-inflamatórias não-esteroidais (AINEs) têm seu principal efeito terapêutico decorrente da capacidade de inibir a produção das prostaglandinas, através da inibição das ciclooxigenases. Dentre os AINEs tradicionais, a Indometacina, um derivado do ácido acético, tem propriedades anti-inflamatórias, analgésicas e antipiréticas; ela é um inibidor não-seletivo de COX, ou seja, inibe tanto a COX-1 quanto a COX-2, além de inibir a motilidade dos leucócitos polimorfonucleares, deprimir a biossíntese de mucopolissacarídeos e apresentar possível efeito vasoconstritor direto independente de COX (Goodman & Gilman, 2012). Embora a Indometacina oral tenha excelente biodisponibilidade, ela está associada ao relato de diversos efeitos adversos, sobretudo a nível gastrointestinal, podendo inclusive ser fatais, especialmente para os idosos. Estudos têm mostrado a eficácia da administração de inibidores de COX-2 na supressão da progressão da periodontite induzida em ratos (BEZERRA *et al.*, 2000; HOLZHAUSEN *et al.*, 2002), sendo observada maior redução na reabsorção óssea alveolar quando maiores períodos de administração da droga foram utilizados (GURGEL *et al.*, 2004). Estudos em outros modelos animais também tem sido realizados mostrando a efetividade da indometacina na redução da progressão da periodontite e da reabsorção óssea alveolar experimentalmente.

Devido à ação em neutrófilos polimorfonucleares (PMNs) (BÉKÉSI *et al.*, 2001; SCHACTER *et al.*, 1991), a indometacina poderia aumentar a ação bactericida da resposta anti-inflamatória à partir da produção de radicais livres nos PMNs, aumentando sua atividade bactericida e, conseqüentemente, levando a uma alteração da microbiota. Outra hipótese que pode ser levantada sobre a atividade antimicrobiana da indometacina é devido sua ação na regulação de prostaglandinas e, indiretamente, no ecossistema do biofilme bacteriano periodontopatogênico. Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar a ação antimicrobiana da indometacina, AINE

FERNANDES, Cíntia da Graça Gomes *et al.* Efeito antimicrobiano da indometacina no biofilme periodontal: estudo em ratos. *SALUSVITA*, Bauru, v. 35, n. 4, p. 505-515, 2016.

FERNANDES, Cíntia da Graça Gomes *et al.* Efeito antimicrobiano da indometacina no biofilme periodontal: estudo em ratos. *SALUSVITA*, Bauru, v. 35, n. 4, p. 505-515, 2016.

inibidor não seletivo da COX, no biofilme retido nas ligaduras em modelo de periodontite experimental em ratos.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Animais

O presente foi aceito pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-USC) sob número de protocolo 28/3. Vinte animais foram escolhidos aleatoriamente para realização dos grupos Teste e Controle. Os animais tiveram um de seus 1<sup>os</sup> molares inferiores, escolhidos por sorteio, para inserção de ligadura no *baseline* (dia 0), com intuito de indução experimental da periodontite. Os 20 animais foram divididos aleatoriamente em 2 grupos de acordo com a medicação a ser administrada 1x/dia por intermédio de gavagem, durante 7 dias:

- G1 (n=10): Indometacina – 5mg/kg
- G2 (n=10): água destilada – 0,1ml/100g

### Indução da periodontite experimental

Os animais foram anestesiados por meio da administração intramuscular de ketamina (50-100mg/kg) (Dopalen®; Vetbrands LTDA, Jacareí, SP, Brasil) e xilasina (10 mg/Kg) (Anasedan®;Vetbrands LTDA, Jacareí, SP, Brasil). Os maxilares foram abertos por meio do aparato de Doku modificado e os dentes foram gentilmente espaçados por intermédio de uma lima endodôntica modificada. A inserção desse instrumento foi realizada entre o 1<sup>o</sup> e o 2<sup>o</sup> molar inferior para prover o espaço necessário para a inserção das ligaduras de algodão (fio de sutura de algodão 4-0). As ligaduras foram posicionadas ao redor de um dos primeiros molares inferiores dos animais pertencentes aos Grupos 1 e 2 de forma a ficarem posicionadas subgingivalmente. Foram realizados três nós simples, travando-os em sua execução. As ligaduras foram fixadas de forma que os nós ficassem posicionados na face mesial do primeiro molar inferior.

### Cultura Microbiana e Contagem de Colônias

Previamente à eutanásia dos animais, as ligaduras foram removidas e colocadas em microtubos esterilizados contendo 450µl de

solução fluida reduzida de transporte (tioglicolato). Cada eppendorf contendo a ligadura foi agitado em vórtex por 60 segundos (AP 56, Tecnalise, Piracicaba, SP, Brasil) para que o biofilme fosse removido da ligadura e dispersado na solução. Com o auxílio de um pipetador automático, foram feitas diluições seriadas de  $10^{-1}$  a  $10^{-3}$ . As diluições foram semeadas em placas de ágar Brucella sanguesangue de carneiro (Sigma ChemicalCo., St Louis, MO, EUA). Cada diluição foi semeada em uma placa e as mesmas foram incubadas em jarra de anaerobiose (BD GasPak™ Products and Accessories, New Jersey, USA) em atmosfera de 80% N<sub>2</sub>, 10% de CO<sub>2</sub> e 10% H<sub>2</sub>, com catalisador de paládio, à temperatura de 37°C, durante 4 dias.

Após desenvolvimento das colônias bacteriana em anaerobioses, foi determinado o número de unidades formadoras de colônia (UFC) em cada diluição e uma média foi realizada. A avaliação de UFC totais foi realizada através de contagem pelo programa Colony counter aplicativo para Androide. Após, foi quantificado manualmente as UFC com auxílio de um contador manual (CP 600, Phoenix Equipamentos Científicos, Araraquara, SP, Brasil).

## Eutanásia dos Animais e Coleta das Ligaduras

Os animais foram submetidos à eutanásia por aprofundamento de anestesia via intraperitoneal (tiopental 150mg/kg de peso animal em conjunto com lidocaína 10mg/kg de peso animal) após 7 dias de experimento.

## Estatística

Os dados provenientes das mensurações foram organizados em tabela em formato Excel (Microsoft Office Excel, Redmond, WA, Estados Unidos) e submetidos ao software BioEstat 5.3 (Instituto de Desenvolvimento Sustentável Marimauá, Tefê, AM, Brasil) e analisados em relação à distribuição normal (teste Shapiro-Wilk e igualdade de variância). Verificou-se distribuição normal das médias de distribuição de UFC totais e de UFC grandes, sendo adotado como pós-teste o teste t, com valores de *p* unicaudal. Adotou-se um nível de significância de 5% para as análises.

FERNANDES, Cíntia da Graça Gomes *et al.* Efeito antimicrobiano da indometacina no biofilme periodontal: estudo em ratos. *SALUSVITA*, Bauru, v. 35, n. 4, p. 505-515, 2016.

FERNANDES, Cíntia da Graça Gomes *et al.* Efeito antimicrobiano da indometacina no biofilme periodontal: estudo em ratos. *SALUSVITA*, Bauru, v. 35, n. 4, p. 505-515, 2016.

## Resultados

As quantificações foram realizadas a partir da contagem manual de unidades formadoras de colônia (UFC) e avaliaram-se o número de UFC grandes, que caracteriza melhor espécies anaeróbias estritas (BRAZIER e SMITH, 1989), e o número total de UFC de cada grupo.

UFC grandes:

O teste estatístico aplicado mostrou um poder de 0,9083 quando considerado um índice de significância  $\alpha = 5\%$ . Foi observada uma quantidade significativamente maior média de UFC grandes no grupo tratado com indometacina ( $18,5 \pm 7,3$ ) quando comparado ao grupo que recebeu gavagem com água ( $10,4 \pm 4,6$ ) ( $p = 0,004$ ) (Figura 1).

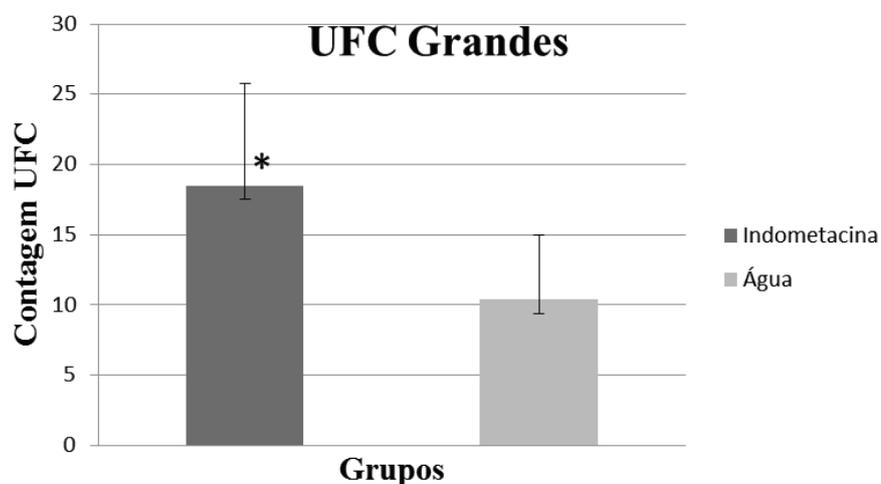


Figura 1 - Gráfico referente à média e desvios padrões do número unidades formadoras de colônias (UFC) grandes.  $*(p < 0,05)$ .

UFC Totais:

O teste estatístico aplicado mostrou um poder de 0,9662 quando considerado um índice de significância  $\alpha = 5\%$ . Foi observada uma quantidade significativamente maior de UFC grandes no grupo que recebeu gavagem com água ( $202 \pm 52,6$ ) quando comparado ao grupo tratado com indometacina ( $123,5 \pm 48,4$ ) ( $p = 0,0013$ ) (Figura 2).

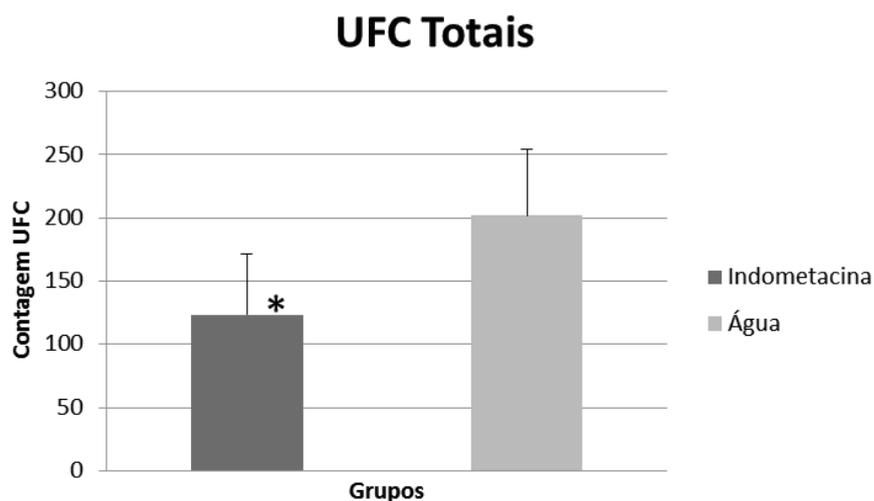


Figura 2 - Gráfico referente à média e desvios padrão do número unidades formadoras de colônias (UFC) totais.  $*(p < 0,05)$ .

## Discussão

A indometacina é um inibidor não-seletivo de cicloxigenase que pode agir aumentando a produção de radicais livres nos PMNs (BÉKÉSI *et al.*, 2001; SCHACTER *et al.*, 1991). Dessa forma, essa droga anti-inflamatória não esteroide pode atuar aumentando a atividade bactericida dos PMNs e, conseqüentemente, reduzir a infecção. No presente estudo, avaliou-se o efeito antimicrobiano da indometacina sobre o controle de infecção periodontal, avaliando-se as unidades formadoras de colônia (UFC) cultivadas a partir do biofilme colhido de ligaduras que induziram experimentalmente a periodontite em ratos.

Na literatura não há relatos da ação de anti-inflamatórios não esteroidais na microbiota periodontopatogênica, havendo apenas resultados de sua ação sobre a reabsorção óssea alveolar e a redução da inflamação propriamente dita. Estudos experimentais mostraram resultados divergentes quanto à ação da indometacina na inibição da reabsorção óssea alveolar na periodontite. Azoubel *et al.* (2007) mostraram ação significativa na inibição da reabsorção óssea de ratos com periodontite experimental tratados com indometacina, enquanto Williams *et al.* (1984) não verificaram uma ação inibitória na reabsorção óssea. Essas divergências de resultados levam-nos a crer que há uma possibilidade da indometacina agir indiretamente na ecologia do biofilme periodontal, dependendo da dose e do tempo de administração. Isso poderia levar a uma seleção periodontopa-

FERNANDES, Cíntia da Graça Gomes *et al.* Efeito antimicrobiano da indometacina no biofilme periodontal: estudo em ratos. *SALUSVITA*, Bauru, v. 35, n. 4, p. 505-515, 2016.

FERNANDES, Cíntia da Graça Gomes *et al.* Efeito antimicrobiano da indometacina no biofilme periodontal: estudo em ratos. *SALUSVITA*, Bauru, v. 35, n. 4, p. 505-515, 2016.

tógenos verdadeiros e, conseqüentemente, interferir no processo da doença periodontal.

O presente estudo falhou em mostrar o controle de infecção proporcionado pela indometacina e, inclusive, foi observado um aumento significativo de colônias grandes, caracterizadas principalmente por bactérias anaeróbias relacionada à doença periodontal, e uma redução de colônias totais, aeróbias e/ou anaeróbias facultativas relacionadas à saúde quando utilizou-se a indometacina. Isso leva-nos a crer que a administração da indometacina pode influenciar aumentando o potencial periodontopatogênico do biofilme, fazendo com que haja seleção de periodontopatógenos e redução de bactérias relacionadas ao perfil de saúde do hospedeiro, levando a um agravamento da severidade da doença periodontal. Stark *et al.* (2014) verificaram que a administração sistêmica de indometacina aumentou a proporção do reisolamento de bactérias, reduziu a quantidade de proteínas séricas responsáveis pela resposta humoral e aumentou a fase aguda do processo inflamatório, mostrando também que a indometacina reduziu a resposta imuno-inflamatória e não aumentou a capacidade bactericida dos PMNs e, portanto, não controlou a infecção.

Diferentemente do que nos leva a deduzir dos resultados aqui encontrados pela quantificação de UFC, Nymanet *et al.* (1979), mostraram em cães que a administração de indometacina levava a uma diminuição da magnitude da reação inflamatória aguda e da reabsorção óssea e Bezerra *et al.* (2000), mostraram, em ratos, que a administração da indometacina e do meloxicam no tratamento de periodontite experimental, levaram a uma redução significativa de neutrofilia e linfocitose a níveis compatíveis com aqueles encontrados em ratos não submetidos à periodontite experimental, mostrando que essa droga poderia atuar de forma protetora no processo infeccioso.

## CONCLUSÃO

Mais estudos devem ser conduzidos para que melhor se elucide as espécies bacterianas sensíveis à indometacina e qual seria o melhor emprego dessa droga, pensando-se no tipo de doença periodontal e no período mais adequado para sua utilização. Dentro dos limites do presente estudo pôde-se concluir que a indometacina agrava o processo infeccioso periodontal devido ao crescimento de UFC anaeróbias e redução de UFC facultativas.

## REFERÊNCIAS

- AZOUBEL, M. C. F.; MENEZES, A. M. A.; BEZERRA, D. Comparison of etoricoxib and indomethacin for the treatment of experimental periodontitis in rats. **Braz J Med Biol Res**, Ribeirão Preto, v. 40, n. 1, p. 117-125, Jan. 2007.
- BÉKÉSI G.; KAKUCS R.; SÁNDOR J.; SÁRVÁRY E.; KOC-SIS I.; SPRINTZ D.; VÁRBÍRÓ S.; MAGYAR Z.; HRABÁK A.; FEHÉR J.; SZÉKÁCS B. Plasma concentration of myeloperoxidase enzyme in pre- and post-climacterial people: related superoxide anion generation. **Exp Gerontol**, Tarrytown, v. 37, n. 1, p. 137-148, Dec. 2001.
- BEZERRA, M. M.; DE LIMA, V.; ALENCAR, V. B. M. et al. Selective cyclooxygenase-2 inhibition prevents alveolar bone loss in experimental periodontitis in rats. **J Periodontol**, Chicago, v. 71, n. 6, p. 1009-1014, Jun. 2002.
- BRAZIER J. S.; SMITH S. A. Evaluation of the Anoxomat: a new technique for anaerobic and microaerophilic clinical bacteriology. **J Clin Pathol.**, London, vol. 42, n. 6, p. 640-644, Jun. 1989.
- DARVEAU R. P. The oral microbial consortium's interaction with the periodontal innate defense system. **DNA Cell Biol**, Larchmont, v. 28, n. 8, p. 389-395, Aug. 2009.
- GOODMAN; GILMAN. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 12ª ed. Brunton, LL. Porto Alegre (RS): AMGH Editora Ltda, 2012.
- GURGEL B. C.; DUARTE P. M.; NOCITI F. H. JR.; SALLUM E. A.; CASATI M. Z.; SALLUM A. W.; DE TOLEDO S. Impact of an anti-inflammatory therapy and its withdrawal on the progression of experimental periodontitis in rats. **J Periodontol**, Chicago, v. 75, n. 12, p. 1613-1618, Dec. 2004.
- HAFFAJEE A. D.; SOCRANSKY S. S. Relationship of cigarette smoking to attachment level profiles. **J Clin Periodontol**, Malden, v. 28, n. 4, p. 283-295, Apr. 2001.
- HOLZHAUSEN, M.; ROSSA, C. JR.; MARCANTONIO, E. JR. et al. Effect of selective cyclooxygenase-2 inhibition on the development of ligature- induced periodontitis in rats. **J Periodontol**, Chicago, v. 73, n. 9, p. 1030-1036, Sep. 2002.
- LÖE H.; THEILADE E.; JENSEN S. B. Experimental gingivitis in man. **J Periodontol**, Chicago, v. 36, p. 177-187, May-Jun.1965.
- FERNANDES, Cíntia da Graça Gomes *et al.* Efeito antimicrobiano da indometacina no biofilme periodontal: estudo em ratos. **SALUSVITA**, Bauru, v. 35, n. 4, p. 505-515, 2016.

FERNANDES, Cíntia da Graça Gomes *et al.* Efeito antimicrobiano da indometacina no biofilme periodontal: estudo em ratos. *SALUSVITA*, Bauru, v. 35, n. 4, p. 505-515, 2016.

MARSH P. D. Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. **Adv Dent Res**, Washington, v. 8, n. 2, p. 263-271, Jul. 1994.

PAGE R. C.; KORNMAN K. S. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. **Periodontol 2000**, Copenhagen, v. 14, p. 9-11, Jun.1997.

SALVI G. E.; LANG N. P. The effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs (selective and non-selective) on the treatment of periodontal diseases. **Curr Pharm Des**, Schiphol, v. 11, n. 14, p. 1757-1769.2005.

SHACTER E.; LOPEZ R. L.; PATI S. Inhibition of the myeloperoxidase-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Cl system of neutrophils by indomethacin and other non-steroidal anti-inflammatory drugs. **Biochem Pharmacol**, Los Angeles, v. 41, n. 6-7, p. 975-984, Mar 15-Apr 1. 1991.

SHLOSSMAN M.; KNOWLER W. C.; PETTITT D. J.; GENCO R. *et al.* Type 2 diabetes mellitus and periodontal disease. **J Am Dent Assoc.**, London, v. 121, n.4, p.532-536, Oct. 1990.

SOCRANSKY S. S.; HAFFAJEE A. D.; CUGINI M. A.; SMITH C.; KENT R. L. JR. Microbial complexes in subgingival plaque. **J Clin Periodontol**, Malden, v. 25, n. 2, p. 134-144, Feb. 1998.

WILLIAMS R. C.; JEFFCOAT M. K.; WECHTER W. J.; JOHNSON H. G.; KAPLAN M. L.; GOLDHABER P. Non-steroidal anti-inflammatory drug treatment of periodontitis in beagles. **J. Periodontal Res**, Malden, v. 19, n. 6, p. 633-637, Nov. 1984.