PAULA ABREU VILLELA

Ozonioterapia na terapêutica da periodontite de cães

São Paulo

2018

PAULA ABREU VILLELA

Ozonioterapia na terapêutica da periodontite de cães

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

Departamento:

Cirurgia

Área de concentração:

Clínica Cirúrgica Veterinária

Orientador:

Prof. Dr. Marco Antonio Gioso

De acordo:_____

Orientador

São Paulo
2018

Obs: A versão original encontra-se disponível na Biblioteca da FMVZ/USP

VERSÃO CORRIGIDA

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

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

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

T. 3707
FMVZ

Villela, Paula Abreu
Ozonioterapia na terapêutica da periodontite de cães / Paula Abreu Villela. – 2018.
84 f. : il.

Mestrado (Dissertação) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia, São Paulo, 2018.

Programa de Pós-Graduação: Clínica Cirúrgica Veterinária.

Área de concentração: Clínica Cirúrgica Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Marco Antonio Gioso.

1. Ozônio. 2. Óleo mineral. 3. Placa dentária. 4. Gengivite. I. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela bibliotecária Maria Aparecida Laet, CRB 5673-8, da FMVZ/USP.

São Paulo, 20 de junho de 2018
CEUA N 2093060716

Ilmo(a). Sr(a).
Responsável: Marco Antônio Gioso
Área: Clínica Cirúrgica Veterinária

Título da proposta: "Ozonioterapia na saúde oral de cães".

Parecer Consubstanciado da Comissão de Ética no Uso de Animais FMVZ (ID 003418)

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, no cumprimento das suas atribuições, analisou e **APROVOU** a Emenda (versão de 16/abril/2018) da proposta acima referenciada.

Resumo apresentado pelo pesquisador: "Conforme sugerido pela banca de qualificação: - Solicito autorização para modificar o título do atual trabalho para "Ozonioterapia na terapêutica da periodontite de cães". - Aumento do n amostral para 32 cães, entre um e 10 anos de idade, entre 5 e 35 kg de peso vivo. - Readequação dos protocolos terapêuticos. ".

Comentário da CEUA: "Houve alteração no número de animais e no tratamento terapêutico em função das sugestões apresentadas pela banca de qualificação do aluno. A alteração do título deverá ser feita pelo responsável pelo projeto na opção "alteração de cadastro", o mais breve possível. ".

Profa. Dra. Anneliese de Souza Traldi
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

Roseli da Costa Gomes
Secretária
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: ABREU-VILLELA, Paula

Título: **Ozonioterapia na terapêutica da periodontite de cães**

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

Data: _____/_____/_____

Banca Examinadora

Prof. Dr._____

Instituição:_____ Julgamento:_____

Prof. Dr._____

Instituição:_____ Julgamento:_____

Prof. Dr._____

Instituição:_____ Julgamento:_____

DEDICATÓRIA

À minha família, que é o principal exemplo do que quero me tornar a cada dia; que me fortalece nos tropeços e torce pelas minhas vitórias.

Aos colegas de profissão, que batalham diariamente pela saúde e bem-estar dos nossos pacientes de quatro patas.

AGRADECIMENTOS

Chegou o grande dia! O fim de uma etapa da minha vida - profissional e pessoal - tão desejada e temida, mas que não teria sido concluída se não fosse também pelas pessoas e anjos que cruzaram meu caminho e me ajudaram a construir a escada para essa grande vitória!

Agradeço primeira e primordialmente a Deus, por me permitir ter fé, força de vontade e saúde física e mental para dar cada passo diariamente, me protegendo e conduzindo para o caminho do bem.

Aos meus pais, Fátima e Jorge Villela, pelas palavras de apoio e incentivo durante todo meu processo educacional. Por terem me criado com tanto amor e respeito, me ensinando a respeitar, compreender e aceitar cada diferença que encontro. Sem esse amor todo eu definitivamente não alcançaria meus maiores objetivos já alcançados. Vocês sempre serão os meus maiores exemplos de vida!

À minha querida e muito amada irmã Renata Abreu Villela, a qual inúmeras vezes, mesmo fisicamente distante, me aconselhou e me orientou pelo caminho tortuoso que é a vida acadêmica. Não existem palavras suficientes para agradecer cada minuto seu investido em mim. Que estejamos sempre unidas por esse laço de carinho e confiança!

Ao meu melhor amigo, namorado, noivo, tão breve futuro esposo, Guilherme Soares, que me acompanhou e presenciou tantos momentos de incerteza e felicidade ao longo dos dois anos da vida de mestranda. Os passos dessa jornada foram definitivamente mais alegres e calmos com você ao meu lado!

Ao meu orientador oficial, Prof. Dr. Marco Antonio Gioso, o qual aceitou de prontidão me incluir como membro da equipe do Laboratório de Odontologia Comparada (LOC), lugar responsável por um grande desenvolvimento profissional, técnico e pessoal em mim. Pessoa cujo afastamento se fez de grande pesar durante essa jornada.

Às agências de fomento que aceitaram apoiar o desenvolvimento deste estudo, em diferentes situações. Inicialmente, pelo processo nº 2016/22254-2, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). Posteriormente, o presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de

Financiamento 001, e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq - 830675/1999-0).

Aos colaboradores essenciais deste estudo: Prof. Dr. Ivan Hong Jun Koh, o qual além de disponibilizar o produto básico de estudo, me acolheu com muito carinho e atenção. Suas palavras e dedicação, além de todo conhecimento a mim repassado nesses meses, foram de grande importância para o resultado final desta pesquisa! Ao seu também orientado Prof. Dr Marcos Bastos (ou Piu-Piu), médico-veterinário que me conduziu inicialmente, me posicionando e me mostrando um caminho entre a medicina veterinária e a pesquisa. Ao querido e tão dedicado colega de profissão Mario Ferraro (para muitos, Kuna), colaborador fundamental para tantas análises, com sua paciência e conhecimentos estatísticos.

Às Professoras do Departamento de Cirurgia (VCI): Profª Drª Denise Tabacchi Fantoni, a qual, além de presidir esta Banca Examinadora, esteve presente em grande parte das atividades clínicas deste estudo, e que, além de seu enorme coração, soube me orientar nas dificuldades e decisões às quais fui recorrida. Profª Drª Julia Maria Matera, a qual aceitou, durante os percalços, se responsabilizar pelas nossas atividades no LOC e Profª Drª Aline Magalhães Ambrósio, por mostrar-se flexível e compreender atrasos imprevistos, além de ceder equipamentos indispensáveis durante os procedimentos. A todas vocês, agradeço por cada aprendizado!

Aos queridos enfermeiros do VCI: José Miron Oliveira da Silva, o que seria dos meus treinamentos e suporte técnico sem sua presença? Além de ser uma pessoa de excelente índole, tive o privilégio de perceber o quão generoso você é! Obrigada por cada ajuda e cada dica que você me deu. Também com grande carinho agradeço a Jesus dos Anjos Vieira, Otávio Rodrigues dos Santos e Cledson Lelis dos Santo pela colaboração sempre que necessária e por alegrarem meus dias!

Às companheiras de pós-graduação: Naiá Carvalho de Souza e Juliana Baia Durigan, o “Team Gengiva” do LOC FMVZ - USP foi unido e forte em todos os momentos! Vocês foram minhas professoras e agradeço por me acolherem de braços abertos! À minha querida Renata Rodrigues Ramos que enfrentou dificuldades importantes junto a mim, além de ter sido a anestesista mais colaboradora! Agradeço por juntas não termos desistimos de enfrentar as

dificuldades não planejadas. Nos tornamos seres humanos e médicas-veterinárias mais bem preparadas, sem qualquer dúvida!

Às funcionárias: Helena Sayoko Matsunaga, nossa Heleninha! Você teve um papel muito importante nesses anos! Obrigada por me ajudar na logística de um caminho tão burocrático. À Lívia Gimenes, tão paciente, obrigada pela sensatez, sinceridade e ajuda sempre que foram necessárias! Sempre sorridentes, agradeço pelas amizades que tive o prazer em descobrir no caminho!

Às amigas da vida, Amanda Gomes, Isabela Gasparello, Nathália Cardoso e Tatiane Villar. Vocês foram parte base do meu caminho acadêmico. Obrigada pela confiança que construímos e por cada palavra frente às dificuldades do trajeto!

Aos queridos Professores de odontologia veterinária Prof. Dr. Daniel Giberne Ferro e Profª Drª Vanessa Graciela Gomes Carvalho, entre tantos outros nomes, que se dedicaram e ainda se dedicam para o desenvolvimento com qualidade da nossa especialidade.

A todos os clientes e responsáveis pelos cães da pesquisa, os quais tornaram o percurso mais florido pelo consentimento e colaboração, e muitos outros que, direta ou indiretamente, contribuíram para o sucesso deste estudo.

Foi uma jornada incrível!

Muito obrigada a todos!

“Pequenas vitórias são uma aplicação constante de uma pequena vantagem (...). Uma vez que uma pequena vitória foi conquistada, forças que favorecem outra pequena vitória são postas em movimento.”

Frase retirada do livro “O Poder do Hábito”, de Charles Duhigg (pág. 128)

RESUMO

ABREU-VILLELA, P. **Ozonioterapia na terapêutica da periodontite de cães**. 2018. 84 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

A alta ocorrência da doença periodontal nos cães, seu impacto na saúde sistêmica e a possibilidade de prevenção pela combinação de técnicas fazem da afecção alvo de estudos sobre novos métodos adjuvantes de tratamento que sejam isentos de efeitos colaterais. O objetivo do presente estudo foi avaliar a utilização de óleo mineral ozonizado sob apresentação de pomada em terapia preventiva à doença periodontal de cães hígidos, tendo-se em vista as características físico-químicas da molécula de ozônio, que inibem a formação da placa dentária sem causar danos teciduais por sua biocompatibilidade às células da mucosa oral. Os cães (n=32) foram avaliados quanto à presença de sinais de periodontite e submetidos ao tratamento periodontal convencional com raspagem e polimento dentário. Foram divididos em cinco grupos terapêuticos, sendo estes diferidos quanto à frequência semanal de aplicação tópica de ozônio (uma, duas, três ou seis vezes) ou aplicação de placebo. Avaliações clínicas foram realizadas após sete dias de tratamento (T7). A análise de placa foi realizada por método clínico e computadorizado. A análise computadorizada evidenciou diferenças não identificadas pela análise clínica por avaliador único. Para ambos, o tratamento periodontal convencional associado à ozonioterapia diária ou em dias alternados mostrou os melhores resultados antiplaca. Cita-se a possibilidade de ação residual da molécula em óleo mineral pelos resultados positivos obtidos em dentes de difícil acesso em domicílio. Não houve indícios de sinais de toxicidade durante o estudo. Em conclusão, os resultados mostram que a aplicação tópica de pomada de óleo mineral ozonizado atua de forma adjuvante ao tratamento periodontal convencional na prevenção da formação de placa dentária com melhores resultados após uso diário. A ozonioterapia mostrou-se como método terapêutico adjuvante atraumático, rápido e eficiente na prevenção da instalação da doença periodontal em cães hígidos.

Palavras-chave: Ozônio. Óleo mineral. Placa dentária. Gengivite.

ABSTRACT

ABREU-VILLELA, P. **Ozoniotherapy in the treatment of periodontitis in dogs**. 2018. 84 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

The high occurrence of periodontal disease in dogs, its impact on systemic health and the possibility of its prevention by the combination of techniques make this disease a target of many studies about new adjuvant treatment methods that are free of side effects. The objective of the present study was to evaluate the use of ozonized mineral oil under ointment presentation as a preventive therapy to the periodontal disease of healthy dogs, considering the physicochemical characteristics of the ozone molecule, which inhibit the formation of dental plaque without causing tissue damage due to its biocompatibility to oral mucosa cells. Dogs (n = 32) were evaluated for signs of periodontitis and submitted to conventional periodontal treatment with scaling and dental polishing. They were divided into five therapeutic groups, which were deferred to the weekly frequency of topical application of ozone (one, two, three or six times) or placebo application. Clinical evaluations were performed after seven days of treatment (T7). Plaque analysis were performed by clinical and computerized methods. The computerized analysis evidenced differences not identified by the clinical analysis by single evaluator. For both, conventional periodontal treatment associated with daily or alternate daytime ozonation showed the best antiplaque results. It is mentioned the possibility of residual action of the molecule in mineral oil by the positive results obtained in teeth that have hard access at home. There were no signs of toxicity during the study. In conclusion, the results show that the topical application of ozonated mineral oil ointment adjusts to conventional periodontal treatment in the prevention of dental plaque formation with better results after daily use. Ozone therapy has proved to be an atraumatic, fast and efficient adjuvant therapeutic method to prevent the installation of periodontal disease in healthy dogs.

Keywords: Ozone. Mineral oil. Dental plaque. Gingivitis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Linha do tempo com representação dos procedimentos realizados em ordem cronológica para todos os grupos 37

Figura 2 - Delineamento experimental com protocolos de aplicação de pomada (placebo ou ozonizada) para os grupos. 39

Figura 3 - Imagem ilustrativa do aspecto oral após aplicação da pomada no pós-operatório imediato, evidenciando cobertura completa da superfície dentária e gengival 39

Figura 4 – Representação de fotografia digitalizada das faces dentárias de cão obtida de forma padronizada para análise computadorizada, sendo os dentes avaliados identificados por setas.....42

Figura 5 – Imagens representativas da seleção de área com placa dentária em face vestibular direita de quatro cães em T7, evidenciada por traçado amarelo por programa de computador 42

Figura 6 – Diagrama de dentes superiores e inferiores com as prevalências das ausências por elemento dentário na amostra de dentes ausentes, identificadas por diferentes cores.....48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Representação da idade (anos) e peso (kg) dos cães nos diferentes grupos terapêuticos expressas em média e desvio-padrão 47

Tabela 2 – Valor de média do índice de placa por grupo dentário para dentes maxilares e mandibulares, considerando os dados totais obtidos no estudo em T7 por análise clínica de todos os dentes 51

Tabela 3 – Representação dos valores de percentual de redução médio de placa (%RM) referentes aos dados obtidos por análise clínica (%RM clínica) e computadorizada (%RM computador) dos dentes maxilares incisivo lateral, canino, segundo, terceiro e quarto pré-molares, e os mandibulares canino, segundo, terceiro e quarto pré-molares e primeiro molar, entre os grupos de mesmo número amostral 55

Tabela 4– Valores do número de dentes por índice de gengivite clínica (ausência, grau 1 à 3) para os diferentes grupos terapêuticos (GC, G1, G2, G3 e G4) em T0, na análise de todos os dentes, representados por média e desvio-padrão 55

Tabela 5 – Resposta terapêutica (inalterada, melhora ou piora) quanto à gengivite clínica de todos os dentes da boca de cada animal após diferentes protocolos terapêuticos (GC, G1, G2, G3 e G4) em T7. O número de dentes estão representados por valores de média e desvio padrão, com suas respectivas porcentagens amostrais 57

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 –Valores de índice de placa dentária por grupo terapêutico (GC, G1, G2, G3 e G4) em T7, representados por média e desvio padrão dos dados obtidos por análise clínica de todos os dentes. Os valores de p<0,05 obtidos pela comparação entre grupos estão identificados pelas mesmas letras a, b e c 50

Gráfico 2 – Representação dos valores médios de índice de placa por grupo dentário (incisivos, caninos, pré-molares e molares) de maxila em T7 por análise clínica de todos os dentes. Os valores de p<0,05 obtidos pela comparação entre grupos terapêuticos, identificados nas diferentes cores, estão representados por colchetes entre os grupos envolvidos.....51

Gráfico 3 – Representação dos valores médios de índice de placa por grupo dentário (incisivos, caninos, pré-molares e molares) de mandíbula em T7 por análise clínica de todos os dentes. Os valores de p<0,05 obtidos pela comparação entre grupos terapêuticos, identificados nas diferentes cores, estão representados por colchetes entre os grupos envolvidos.....52

Gráfico 4 – Valores de índice de placa dentária por grupo terapêutico (GC, G1, G2, G3 e G4) em T7, obtidos pela análise clínica da face vestibular dos dentes maxilares incisivo lateral, canino, segundo, terceiro e quarto pré-molares, e os mandibulares canino, segundo, terceiro e quarto pré-molares e primeiro molar, representados por média e desvio padrão. Os valores de p<0,05 obtidos pela comparação entre grupos estão representados pelas mesmas letras a, b e c 53

Gráfico 5 – Percentuais de placa dentária por grupo terapêutico (GC, G1, G2, G3 e G4) em T7, obtidos pela análise computadorizada da face vestibular dos dentes maxilares incisivo lateral, canino, segundo, terceiro e quarto pré-molares, e os mandibulares canino, segundo, terceiro e quarto pré-molares e primeiro molar, são representados por média e desvio padrão . Os valores de p<0,05 obtidos pela comparação entre grupos estão representados pelas mesmas letras a, b e c.....54

Gráfico 6 – Valores médios do número de dentes classificados por índice de gengivite clínica (ausência, grau 1 e 2) para os grupos terapêuticos (GC, G1, G2, G3 e G4) nos diferentes tempos (T0 e T7). Os valores de $p<0,05$ obtidos pela comparação entre tempos para o mesmo grupo e mesmo grau de inflamação estão representados pelas letras A e B, sendo avaliados todos os dentes da boca de cada animal.....56

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Sistema de índice de placa dentária original de Logan e Boyce 40

Quadro 2 - Índice de Gengivite de Wiggs e Lobprise 43

Quadro 3 – Caracterização dos cães do estudo quanto ao grupo, gênero, raça, idade (anos) e peso (kg) 47

Quadro 4 - Caracterização dos cães com ausência(s) dentária(s) quanto ao grupo, raça e elemento dentário ausente, este também identificado por grupo dentário – pré-molar (PM) e molar (M) maxilares e mandibulares 49

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 19

2 REVISÃO DE LITERATURA 21

2.1 A DOENÇA PERIODONTAL 21
2.1.1 A placa dentária 23
2.1.2 Métodos terapêuticos e profiláticos 26
2.2 OZONIOTERAPIA NA ODONTOLOGIA 27
2.3 A MOLÉCULA DO OZÔNIO 28
2.3.1 Métodos de utilização 29
2.3.2 Óleos ozonizados 30
2.4 DIRETRIZES PARA PROTOCOLOS TERAPÊUTICOS ANTIPLACA 32
2.5 OBJETIVOS 34
2.5.1 Objetivo geral 34
2.5.2 Objetivos específicos 34

3 MATERIAL E MÉTODOS 35

3.1 ÉTICA 35
3.2 AMOSTRA 35
3.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO 36
3.4 FÁRMACOS 36
3.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL 37
3.5.1 Grupos de Estudo 38
3.5.2 Sistemas de índice 40
3.5.3 Grupos dentários 43
3.5.4 Análise do percentual de redução médio 44
3.5.5 Sinais de toxicidade 44
3.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS 44

4 RESULTADOS 46

4.1 MODELO EXPERIMENTAL 46
4.2 AUSÊNCIA DENTÁRIA AMOSTRAL 48
4.3 FORMAÇÃO DE PLACA DENTÁRIA 49

4.3.1 Avaliação por grupo dentário 50
4.3.2 Análise clínica e computadorizada de placa 52
4.3.3 Percentual de redução médio de placa 54
4.4 GENGIVITE SOB ASPECTO CLÍNICO 55
4.4.1 Gengivite inicial 55
4.4.2 Comparação entre tempos 56
4.5 SINAIS CLÍNICOS DE TOXICIDADE 58

5 DISCUSSÃO 59

6 CONCLUSÕES 71

REFERÊNCIAS 72

APÊNDICES 80

ANEXOS 83

1 INTRODUÇÃO

A doença periodontal é uma afecção comum nos cães domésticos (HARVEY, 2005; NISES et al., 2018), com acometimento maior do que 80% naqueles com mais de dois anos de idade (KLEIN, 2000). Ela tem início com o acúmulo de placa bacteriana sobre os dentes e tecidos adjacentes (HARVEY, 1998, 2005; MONTEVECCHI et al., 2013; NISES et al., 2018). Quando não tratada, pode evoluir para complicações locais como gengivite, perda dos fatores de sustentação dentária, abscessos e fraturas patológicas (PENMAN; HARVEY, 1992; HARVEY; EMILY, 1993; GIOSO, 2007; BOSTRÖM et al., 2015), além de sistêmicas, secundárias à instalação do processo inflamatório crônico (GOUVEIA, 2009; NABI et al., 2014). O poder de gravidade e o impacto em todo o organismo justificam sua prevenção e tratamento (HARVEY, 2005).

O método mais eficiente de prevenir a doença periodontal é pela redução da carga bacteriana oral (PENMAN; HARVEY, 1992; WIGGS; LOBPRISE, 1997; HARVEY, 2005; GOUVEIA, 2009). Tem-se preconizado que a escovação é o padrão ouro para prevenção da afecção por promover desorganização da placa dentária (HARVEY, 2005). A utilização de produtos com ação sinérgica e adjuvante à escovação, como aditivos alimentares e medicamentos, mostra-se de grande valia por potencializar os efeitos benéficos do método mecânico (HARVEY, 2005; LAGE-MARQUES, 2008; STRATTON, 2012; ABREU-VILLELA et al., 2017). Apesar disso, muitos desses produtos já comercializados causam também efeitos colaterais importantes, como é o caso de antibióticos e antissépticos, promovendo a seleção de bactérias resistentes e citotoxicidade, respectivamente (NAGAYOSHI et al., 2004; HUTH et al., 2006; MONTEVECCHI et al., 2013).

É relatado que combinação de técnicas para a prevenção e tratamento da doença periodontal tende a ser mais efetiva do que a utilização de um único método (HARVEY, 2005). Relatos na literatura internacional referem a utilização vantajosa da ozonioterapia em tratamentos odontológicos (VELANO et al., 2001; AZARPAZHOOH; LIMEBACK, 2008; TRAINA, 2008; OGUZ et al., 2011; PATTANAIK et al., 2011; MONTEVECCHI et al., 2013; TIWARI et al., 2016), considerando a eficiência da ação antimicrobiana às bactérias orais (SECHI et al., 2001; LEITE RODRIGUES et al., 2004; NAGAYOSHI et al., 2004).

A molécula de ozônio é referenciada como adjuvante em diversas terapias por suas ações antimicrobiana, anti-inflamatória, analgésica, neovascularizadora, imunoestimulante (VALACCHI; FORTINO; BOCCI, 2005; AZARPAZHOOH; LIMEBACK, 2008; LAGE-MARQUES, 2008; BOCCI; ZANARDI; TRAVAGLI, 2011), além da ação desintoxicante (TIWARI et al., 2016). O alto poder oxidativo, sendo a terceira molécula com maior poder oxidativo da natureza (UYSAL, 2014), 10 vezes mais potente do que o cloro, faz com que apresente efeito bactericida 3500 vezes mais rápido do que este (MEHLMAN; BOREK, 1987), permitindo rapidez e eficiência na inativação de microrganismos (LAPOLLI et al., 2005).

Empregado sob diferentes formas de aplicação, como tópica, subcutânea ou intravenosa (KIM et al., 2009; BOCCI; ZANARDI; TRAVAGLI, 2011; IORIO et al., 2016), fatores como a toxicidade do gás, a instabilidade e o curto período de efeito químico da molécula em água incentivou a difusão de pesquisas para determinar mecanismos de maior viabilidade e concentração da molécula de ozônio ativa, como por exemplo, através da ozonização de óleos (SECHI et al., 2001; LEITE RODRIGUES et al., 2004; MONTEVECCHI et al., 2013; IORIO et al., 2016).

Devido ao grande interesse e comercialização de óleos vegetais ozonizados, em especial pela internet, estudos recentes sobre seus efeitos mostram-se controversos quanto à qualidade e eficiência dos óleos vegetais (SECHI et al., 2001; UYSAL, 2014). Neste sentido, outros autores referem como a melhor forma da ozonização em óleo ser aquela realizada em óleo mineral (IORIO et al., 2016).

Suas ações já comprovadas, associadas a características tais como método atraumático, indolor, não invasivo e relativa ausência de desconforto e efeito colateral, aumentam a aceitabilidade do tratamento com ozônio, em especial de pacientes pediátricos (TIWARI et al., 2016). Sendo assim, justifica-se a realização de estudo em cães para a avaliação dos efeitos da ozonioterapia em óleo mineral na prevenção da periodontite, tendo-se em vista o efeito antimicrobiano na formação inicial de placa dentária.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A DOENÇA PERIODONTAL

Tecidos periodontais são aqueles que suportam e protegem os dentes na boca, sendo eles o osso alveolar, o cemento, o ligamento periodontal e a gengiva, associados a tecido conjuntivo e vasos sanguíneos. A doença periodontal é induzida pela presença de placa bacteriana organizada em qualquer das partes do periodonto, e pode ser classificada em gengivite e periodontite (HARVEY, 2005).

Em quadros de gengivite, o sulco gengival pode aumentar em profundidade secundariamente à edemaciação gengival (HARVEY, 1998). Considerada como reversível, a inflamação da gengiva cede com a remoção da causa inicial, ou seja, do agente etiológico da inflamação (HARVEY, 1998, 2005; GIOSO, 2007). O estudo em humanos de Löe, Theilade e Jensen (1965) referiu que a gengivite mostra-se resolvida em média sete dias após a restituição da higienização dentária.

A periodontite é a inflamação dos tecidos não gengivais, ou seja, osso alveolar e ligamento periodontal, sendo considerada também como osteomielite alveolar. Nesta, observa-se perda dos tecidos de sustentação, com possível retração gengival e exposição radicular. Quando não associada à gengivite ao exame clínico, a periodontite é considerada crônica e quiescente, e não ativa (HARVEY, 1998, 2005; GIOSO, 2007). Evidências sugerem que a periodontite é secundária a mediadores inflamatórios locais e sistêmicos (KALBURGI et al., 2014). Assim, citocinas, quimiocinas, metabólitos do ácido araquidônico e enzimas proteolíticas contribuem para a destruição do tecido periodontal (YUCEL-LINDBERG; BÅGE, 2013).

É difícil delimitar a mudança clínica entre gengivite e periodontite inicial (HARVEY, 1998; KYLLAR; WITTER, 2005). A gengivite nem sempre gera periodontite quando não tratada em cães saudáveis, estando mais vinculada à idade, estresse, estado nutricional, competência imunológica e questões individuais como composição da saliva e infecções concomitantes e outros ainda não identificados (SCHROEDER; ATTSTRÖM, 1979; HARVEY, 2005; WALLIS et al., 2018).

Na fase entre a gengivite e a perda de suporte ósseo dentário, bactérias são encontradas adjacentes aos capilares sanguíneos gerando bacteremia, a qual é frequente em pacientes com gengivite e periodontite ativa, porém rapidamente eliminada em pacientes hígidos (SILVER; MARTIN; MCBRIDE, 1975). Apesar disso, o estado inflamatório crônico com liberação de mediadores e subprodutos da degradação bacteriana, como lipopolissacarídeos, podem produzir alterações orgânicas diretas ou imunomediadas (HARVEY, 2005).

A colonização bacteriana da superfície dentária é considerada a causa primária da doença (LÖE; THEILADE; JENSEN, 1965; HARVEY, 1998, 2005; MONTEVECCHI et al., 2013; NISES et al., 2018). O volume de bactéria capaz de induzir à doença nos animais varia de sítio para sítio. Com boa higiene oral, oclusão e alinhamento dentário adequados, além de boa condição sistêmica, dieta de qualidade e alimentos abrasivos - para efeito mecânico nos dentes e exercício do ligamento periodontal e gengiva, os tecidos periodontais tendem a permanecer saudáveis durante toda a vida; entretanto, na ausência de um deles, o acúmulo de placa acontece com resposta local inflamatória e doença (HARVEY, 1998).

A doença periodontal aumenta significativamente com a idade (SCHROEDER; ATTSTRÖM, 1979; KLEIN, 2000; WALLIS et al., 2018); muitos cães com mais de cinco anos já apresentam periodontite (HARVEY, 1998). Autores que referem a prevalência da doença periodontal (KLEIN, 2000), ou que citam que é a doença mais comum em cães de meia idade e idosos, tendem a incluir gengivite como doença periodontal (HARVEY, 1998).

Aparentemente compatível com a vida por grande parte do tempo, a afecção é causa incomum de alterações graves (HARVEY, 1998). Efeitos sistêmicos em cães são pouco investigados, porém o impacto negativo na saúde é notório (PEDDLE et al., 2009). É relatado que em estágios avançados da doença periodontal podem ocorrer abscessos dentários seguidos de fístulas intra e extraorais, comunicação oronasal, lesões endo-periodontais, osteomielite de maxila e mandíbula e fraturas (PENMAN; HARVEY, 1992; HARVEY; EMILY, 1993; GIOSO, 2007), nefropatia (NABI et al., 2014), complicações oculares, além do aumento da incidência de neoplasias orais (GOUVEIA, 2009). Em humanos, a infecção e inflamação periodontal crônicas já estão correlacionadas a efeitos deletérios à saúde, entre eles alterações cardíacas, renais e hepáticas, resistência insulínica em

diabéticos, nascimento prematuro (STRATTON, 2012), além de alterações pulmonares, articulares e quadros de meningite (GOUVEIA, 2009).

2.1.1 A placa dentária

A boca é um microambiente úmido, quente e carregado de nutrientes. Os dentes constantemente estão recobertos de fluido oral disseminado pelos movimentos da língua e lábios. O fluido salivar tem propriedades antibacterianas com suas proteínas, lisozima e lactoferrina, além de glicoproteínas que atuam como anticorpos específicos. A evaporação deste líquido, fisiologicamente, permite a deposição de uma fina película invisível de glicoproteínas salivares nas coroas dentárias (WIGGS; LOBPRISE, 1997; HARVEY, 2005), também conhecida como induto mole ou biofilme dentário, que atua como matriz inicial para deposição da placa bacteriana (WIGGS; LOBPRISE, 1997).

A placa é o material viscoso e amarelado presente sobre o esmalte do dente e sulco subgengival, constituída da associação entre a película glicoprotéica com células, em sua maioria bactérias, além de células de descamação da cavidade oral, leucócitos, substrato alimentar e minerais como cálcio, fósforo e magnésio. É pouco visível a olho nu e facilmente removida por ação mecânica (PENMAN; HARVEY, 1992; WIGGS; LOBPRISE, 1997; GIOSO, 2007).

O comportamento individual da mastigação e o modo de oclusão dentária, bem como a consistência dos alimentos ingeridos, influem no processo de deposição da placa dentária, também associados a condições sistêmicas, fatores nutricionais, cuidados periodontais diários e alterações físicas, a exemplo da presença de neoplasia ou aumento gengival (KLEIN, 2000; HARVEY, 2005; KYLLAR; WITTER, 2005).

As bactérias organizam-se na placa dentária no cão entre 24 e 48 horas (HARVEY, 2005), principalmente durante o sono, quando não há ingestão de alimentos. A maturação da placa permite o crescimento de organismos anaeróbios; apenas quando sob a apresentação de biofilme organizado, as bactérias são capazes de causar lesão a tecidos periodontais (WIGGS; LOBPRISE, 1997; HARVEY, 2005).

A placa torna-se suficientemente mineralizada entre dois a três dias, permitindo a formação de cálculo dentário de difícil remoção, sendo esse o intervalo para atuação tanto em humanos quanto nos animais (HARVEY, 2005). Apesar disso, as bactérias da placa não são necessárias para depósito de cálculo; cães *germ-free* desenvolvem cálculo, porém sem inflamação gengival e perda óssea. As bactérias não devem ser consideradas causadoras de "infecções propriamente ditas" visto que há uma vasta variedade desses microrganismos na microbiota oral de animais hígidos (HARVEY, 1998).

Para avaliação clínica da área dentária com depósito de placa organizada, são empregados índices de placa previamente descritos em literatura, porém recomenda-se treinamento e padronização quando utilizados para estudos científicos (HENNET et al., 2006). A utilização de corantes evidenciadores de placa, como a solução de eosina aquosa a 2%, permite a identificação do material pouco visível a olho nu, associado à facilidade de sua remoção da superfície dentária e à ausência de ação antimicrobiana (ABDALLA, 2008). Visto a subjetividade da avaliação visual e suas diferentes modificações já descritas (LÖE; THEILADE; JENSEN, 1965; GORREL; WARRICK; BIERER, 1999; HENNET et al., 2006), a análise computadorizada de placa dentária mostra-se como método de maior precisão de identificação da área diferenciada pelo evidenciador (ABDALLA et al., 2009).

2.1.1.1 Microrganismos envolvidos

O processo de formação de placa é complexo e envolve uma variedade de bactérias e componentes (HAMADA; SLADE, 1980). A organização da placa em um biofilme tem início nas primeiras horas após o tratamento da superfície dentária com a colonização da película glicoprotéica por bactérias gram-positivas, aeróbias e sem motilidade, formando o glicocálix, o qual agrega novas bactérias progressivamente (WIGGS; LOBPRISE, 1997; HARVEY, 1998; GIOSO, 2007). Enzimas e toxinas ali produzidas predispõem ao processo inflamatório da gengiva, ocorrendo consumo de oxigênio e tornando o ambiente favorável ao crescimento de bactérias anaeróbias, gram-negativas, filamentosas e com motilidade, consideradas patogênicas (GIOSO,

2007; GORREL, 2010). Este evento também permite condição anaeróbia para crescimento de microrganismos específicos, como espiroquetas.

Sob a forma de colônias bacterianas envolvidas pela matriz extracelular, aumenta-se a adesão de microrganismos à superfície dentária; mais espessa e complexa, esta conformação apresenta muitas vantagens à célula individual, como maior resistência ao sistema imune de defesa natural do hospedeiro além da proteção contra microrganismos competidores e agentes antimicrobianos, a exemplo dos antibióticos e antissépticos, nas camadas mais profundas da placa (WIGGS; LOBPRISE, 1997; HARVEY, 2005; MONTEVECCHI et al., 2013).

A composição da microbiota subgengival dos cães varia com a saúde oral e a literatura diverge quanto à prevalência e nomenclatura (ELLIOTT et al., 2005). Em animais com doença periodontal, a incidência de bactérias orais anaeróbias é de 95%, mantendo-se também ainda presentes as aeróbias (WIGGS; LOBPRISE, 1997; HARVEY, 1998, 2005) sendo as primeiras as responsáveis pela destruição dos tecidos periodontais (GIOSO, 2007).

As bactérias mais citadas em cães são *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp (WIGGS; LOBPRISE, 1997); *Porphyromonas* spp*, Neisseria* spp e espécies de *Actinomyces* mostraram-se mais abundantes na placa*,* além de serem observadas *Corynebacterium* spp*, Bacteroides* spp*, Prevotella* spp*, Fusobacterium* spp*, Pasteurella* spp, *Peptostreptococcus* spp (BRAGA et al., 2005; ELLIOTT et al., 2005; CARVALHO; CABRAL, 2007). Não foram identificadas *Staphylococcus* no estudo de Elliott et al. (2005). Espiroquetas tornam-se parte do fluido gengival com a progressão da inflamação e contribuem para o agravamento do quadro com a liberação local dos seus fatores de virulência (HARVEY, 1998, 2005).

Os estágios iniciais do desenvolvimento da placa em superfícies limpas requerem adesão de diferentes espécies bacterianas à película glicoproteica para promover resistência local a força dos movimentos musculares e do fluxo salivar. A síntese de polissacarídeos extracelulares pelo *Streptococcus* é considerada fator crucial na formação inicial da placa dentária, visto serem compostos insolúveis em água e que promovem alta aderência quando sintetizados em diferentes superfícies. Além disso, a segunda fase da formação do biofilme também pode ser correlacionada à multiplicação da cepa, com produção adicional de polissacarídeos que permitem também adesão intercelular (HAMADA; SLADE, 1980).

Com o epitélio sulcular ulcerado, o tecido conjuntivo torna-se mais vulnerável à invasão bacteriana e o processo infecto-inflamatório auxilia na promoção de periodontite ou osteomielite alveolar. Os periodontopatógenos são bactérias que causam gengivite e periodontite; eles agem de forma conjunta para causar efeitos inflamatórios, pela degradação de produtos e efeitos deletérios aos tecidos periodontais (HARVEY, 2005).

A microbiota oral de carnívoros e humanos tem similaridades e diferenças importantes. A bactéria anaeróbia gram-negativa *Porphyromonas gingivalis* é considerada a chave da periodontopatogenia em humanos, enquanto em cães e gatos, a forma catalase-positiva da *P. gingivalis,* atualmente conhecida como *P. gulae*, é mais comum em tecido periodontal (ELLIOTT et al., 2005). Outros autores referem as espécies *P. gulae*, *P. salivosa* e *P. denticanis* como sendo de maior relevância na iniciação e progressão da periodontite (HARDHAM et al., 2005), além de outras espécies do gênero também serem citadas como presentes na microbiota da placa de cães (HARVEY, 1998).

2.1.2 Métodos terapêuticos e profiláticos

A melhor forma de controlar a doença periodontal é atuar na sua prevenção, com a redução da formação da placa dentária e progressão da gengivite (HARVEY, 2005; GOUVEIA, 2009; MONTEVECCHI et al., 2013). Em quadros graves, o cão deve ser submetido ao tratamento periodontal sob anestesia geral, associado a múltiplas extrações dentárias, quando necessárias. O tratamento da superfície dentária com polimento, quando realizado imediatamente após a raspagem profissional, aumenta o benefício desta (GORREL; WARRICK; BIERER, 1999; HARVEY, 2005).

A combinação de técnicas para a prevenção e tratamento da doença periodontal tende a ser mais efetiva do que a utilização de uma única técnica (HARVEY, 2005). A prevenção da placa dentária pode ocorrer por métodos mecânicos e químicos, sendo o cuidado em domicílio de grande importância (HARVEY; EMILY, 1993). A escovação dentária diária, por sua ação mecânica, é considerada o padrão ouro para redução de microrganismos da placa e formação de

cálculo dentário (PENMAN; HARVEY, 1992; WIGGS; LOBPRISE, 1997; GORREL; WARRICK; BIERER, 1999; HARVEY, 2005; STRATTON, 2012).

Efeitos químicos antiplaca são referidos com a utilização de antibióticos, antissépticos, enzimas, quelantes e aditivos alimentares (WALLIS et al., 2018), porém não previnem o acúmulo gradual de cálculo caso não sejam acompanhados do movimento mecânico (HARVEY; EMILY, 1993). A indução da reação à anticorpos contra periodontopatógenos específicos nos fluidos orais por vacinas específicas também já foi relatada (HARVEY, 2005). Além deles, o uso adjuvante da terapia fotodinâmica em tecidos orais inflamados já foi relatado como benéfico em cães (ABREU-VILLELA et al., 2017).

A redução dos efeitos patogênicos das bactérias presentes na placa dentária podem ser promovidos pela inibição da agregação ou adesão bacteriana, o que ocorre com antibióticos, por exemplo, por retardar a formação do glicocálice por ação direta do efeito antimicrobiano; pela supressão do crescimento das bactérias; também, deve-se considerar a supressão da reação inflamatória local e seus eventos correlacionados, bem como da reabsorção osteoclástica com sua utilização (HARVEY, 2005).Tem-se relatado que a utilização de drogas antibióticas em alta concentração em tecidos subgengivais promove efeitos benéficos locais (HARVEY, 2005). Apesar disso, avaliações com os principais agentes químicos utilizados em quadros de periodontite de cães, como gluconato de clorexidina (2 e 0,12%) e metronidazol, demonstraram citotoxicidade e redução na atividade metabólica das células epiteliais e fibroblastos (HUTH et al., 2006).

Visto a elevada resistência bacteriana identificada em testes microbiológicos à diferentes espécies da cavidade oral de cães, incluindo cepas de *Staphylococcus* e *Streptococcus*, novas opções terapêuticas são referidas em literatura (ZAMBORI et al., 2016).

2.2 OZONIOTERAPIA NA ODONTOLOGIA

A utilização da ozonioterapia atualmente é correlacionada a grandes vantagens quando em associação a tratamentos odontológicos (PATTANAIK et al., 2011; TIWARI et al., 2016). É referida à técnica que emprega a molécula de ozônio

como agente terapêutico e tem sido alvo de diversos estudos em ramos da medicina e odontologia devido às propriedades benéficas da molécula. Seu alto poder oxidativo permite rápida ação contra bactérias, fungos, vírus e protozoários, permitindo ação desinfetante e esterilizante (MEHLMAN; BOREK, 1987; NAGAYOSHI et al., 2004; AZARPAZHOOH; LIMEBACK, 2008; LAGE-MARQUES, 2008; IORIO et al., 2016) , além de apresentar baixo índice mutagênico (MEHLMAN; BOREK, 1987).

A utilização do ozônio já é descrita para prevenção, controle e tratamento de infecção em diferentes procedimentos, incluindo quadros de periodontite e infecção oral, pela biocompatibilidade da molécula com células epiteliais e periodontais da mucosa oral (MONTEVECCHI et al., 2013), isolado ou associado a outros métodos terapêuticos (AZARPAZHOOH; LIMEBACK, 2008; TRAINA, 2008; OGUZ et al., 2011). Também é referido como método de tratamento de cáries, alveolite, osteomielite, osteonecrose e feridas mucocutâneas, sendo utilizado na higienização e antissepsia de materiais odontológicos e na água da cadeira odontológica, inibindo a formação do biofilme dentário à aspersão (VELANO et al., 2001; TIWARI et al., 2016).

Referido como potente antisséptico, mostrou as melhores características de biocompatibilidade às células orais quando em água (HUTH et al., 2006). A molécula é capaz de reagir imediatamente com compostos orgânicos e inorgânicos (UYSAL, 2014). Sendo altamente eficiente contra microrganismos gram-positivos e gram-negativos da mucosa oral, mostrou completa ação contra bactérias formadoras de placa dentária em humanos *in vitro.* Alguns trabalhos mostram seu efeito em *Streptococcus* sp., *Porphyromonas gingivalis, P. endodontalis, Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (NAGAYOSHI et al., 2004)*, Staphylococcus* sp*., Enterococcus* sp*., E. coli e Pseudomonas aeruginosa* (SECHI et al., 2001; LEITE RODRIGUES et al., 2004). Não há relatos de resistência microbiana ao ozônio, sendo comprovada em coelhos e ratos experimentais (SECHI et al., 2001).

2.3 A MOLÉCULA DO OZÔNIO

Ozônio, oxigênio triatômico ou ainda trioxigênio é a molécula composta por três átomos de oxigênio (O_3) encontrada na natureza sob a forma gasosa na atmosfera, continuamente formada e desintegrada em oxigênio molecular (O_2) por radiação ultravioleta ou durante descargas elétricas, não sendo um gás poluente (LAPOLLI et al., 2005; UYSAL, 2014). O estresse físico intenso em água, como no caso de cachoeiras e ondas em contato com rochas, também resulta na produção de ozônio na natureza (HOLLAND, 2010). Para a ozonioterapia medicinal, o ozônio é produzido por geradores, a partir da conversão de oxigênio de cilindros médicos a 100% (CARDOSO et al., 2008; UYSAL, 2014; TIWARI et al., 2016).

Inicialmente utilizado pelo “Pai da ozonioterapia”, o químico alemão Christian Friedrich Schönbein em 1840 (TIWARI et al., 2016), foi descrito como método de desinfecção no tratamento de água e esgoto em torno de 1873 e utilizado durante a Primeira Guerra Mundial para tratamento de feridas infeccionadas (AZARPAZHOOH; LIMEBACK, 2008). Mesmo em baixas concentrações, o ozônio apresenta à temperatura ambiente odor pungente característico que também é exalado dos produtos em contato com o gás. Este fato justifica o nome da molécula, visto que a palavra “ozônio” é originada da palavra grega *ozein* que significa “odor” (UYSAL, 2014; TIWARI et al., 2016).

2.3.1 Métodos de utilização

Diversos são os métodos de aplicação do ozônio, que incluem via oral, retal, vaginal, tópico (IORIO et al., 2016), subcutânea, intramuscular, intradiscal, intracavitária, intraneural, intravesical, além da auto-hemoterapia ozonizada (BOCCI; ZANARDI; TRAVAGLI, 2011). Entre eles, a forma tópica permite a neutralização de mediadores neuroquímicos, facilitando a metabolização e eliminação de mediadores inflamatórios como histamina e bradicinina e, por isso, minimizam edema e dor (KIM et al., 2009). Esta via, devido a sua baixa periculosidade, tem sido bastante utilizada com aplicação de água ou óleo ozonizados (IORIO et al., 2016).

Sob a forma de gás, tem alta instabilidade em água e transforma-se em oxigênio após determinado tempo (LAPOLLI et al., 2005); quando diluído em água, ocorre reação entre a molécula do ozônio com a da água, sendo curto seu efeito

químico. Na presença de água, há formação de radicais oxidativos que penetram e atuam nas membranas celulares, oxida aminoácidos, ácidos nucléicos, alterando a estabilidade osmótica o que provoca lise celular na dependência da extensão da reação (VELANO et al., 2001). Quando em óleo, diferentemente da água, não há interação entre as moléculas, ocorrendo apenas sua diluição e sendo, portanto, desnecessária a reozonização precoce (IORIO et al., 2016).

A toxicidade é principalmente relacionada à inalação direta do ozônio sob a forma de gás (BOCCI, 2006), sendo o único efeito tóxico descrito por lesionar o trato respiratório superior e provocar irritação dessas vias (NAKAO et al., 2009). As contraindicações de seu uso são específicos, como na associação à solução salina pela formação de ácido hipocloroso, que provoca inflamação local, e em humanos com hipertireoidismo por aumentar o metabolismo celular (BOCCI, 2006). Autores mostram que a ação tóxica ou terapêutica do ozônio depende da dose, frequência e da capacidade antioxidante do tecido tratado (VALACCHI; FORTINO; BOCCI, 2005).

2.3.2 Óleos ozonizados

Todo tipo de óleo insaturado permite ozonização, visto a presença neles de ácidos graxos insaturados com duplas ligações (UYSAL, 2014). A reação química entre ácidos graxos dos óleos e a molécula do ozônio resulta em antissépticos estáveis e eficientes (VALACCHI; FORTINO; BOCCI, 2005; TRAVAGLI et al., 2010; MONTEVECCHI et al., 2013), pela estabilidade da molécula como ozonídeo entre as duplas ligações do ácido graxo (VALACCHI; FORTINO; BOCCI, 2005). As composições de ozonídeos têm a capacidade de entregar oxigênio nascente em lesões profundas sem causar irritação tecidual, o que é ideal para o tratamento tópico em infecções cutâneas e mucosas (VALACCHI; FORTINO; BOCCI, 2005; KIM et al., 2009).

Um dos métodos mais utilizados de ozonioterapia é pela ozonização de óleos vegetais (TRAVAGLI et al., 2010; MONTEVECCHI et al., 2013; UYSAL, 2014). O mecanismo de ação desses óleos ainda é incerto (TRAVAGLI et al., 2010). Sabe-se que as duplas ligações dos triglicerídeos insaturados presentes em óleos vegetais durante o tratamento com ozônio produzem diferentes compostos

oxigenados como hiperperóxidos, ozonídeos, aldeídos, peróxidos, os quais são responsáveis pela ação antimicrobiana (SECHI et al., 2001; MONTEVECCHI et al., 2013). Acredita-se que quando a molécula entra em contato com exsudato das feridas, decompõe-se nesses diferentes compostos oxigenados, os quais rapidamente dissolvem-se em água gerando peróxido de hidrogênio, o que mantém ação desinfetante e estimulante da molécula (TRAVAGLI et al., 2010).

Assim, estudos de Montevecchi et al. (2013) compararam a efetividade microbicida do óleo de oliva ozonizado comercial ao gluconato de clorexidina a 0,2%, apresentando significativamente melhores resultados (MONTEVECCHI et al., 2013).

Apesar disso, em estudo com o já comercializado óleo vegetal de girassol ozonizado[1], referiu-se sua ação antimicrobiana à presença dos compostos oxigenados, como ozonídeos, aldeídos e peróxidos e, portanto, não necessariamente ao ozônio (TRAVAGLI et al., 2010). Também, no estudo de Guinesi et al. (2011), todos os diferentes tipos de óleos vegetais, sendo eles óleo de girassol, rícino, oliva e amêndoa, submetidos à ozonização e testados quali-quantitativamente, não apresentavam ozônio na sua composição final mas, sim, a molécula resultante da reação de lipídeos com ozônio, o formaldeído, o qual justificaria por conta própria a ação antimicrobiana, porém tóxica (GUINESI et al., 2011).

Referente à ozonização do óleo mineral, Iorio et al. (2016) citam características de biocompatibilidade entre as moléculas, ausência de toxicidade e volatilidade. Foi descrita alta estabilidade química e presença da molécula de ozônio livre por pelo menos 40 dias após ozonização, além da nula ação antimicrobiana por demais componentes ou reações moleculares que não pelo ozônio. A máxima concentração de ozônio alcançada foi 350 vezes maior do que a concentração possível em água, aumentando seu potencial desinfetante a diferentes microrganismos. O óleo mineral apresenta também como vantagem a ausência de rancificação e permite seu uso em estado líquido e semissólido, permitindo ação terapêutica e preventiva em superfícies (IORIO et al., 2016).

Até a presente data, não há relatos de estudos sobre a utilização do óleo mineral ozonizado em afecções periodontais de cães, denotando a importância e

---

[1] Oleozon®, Maxbrands Comércio de Multimarcas, São Paulo, SP, Brasil.

interesse pelo desenvolvimento de terapias efetivas e alternativas. Assim, a utilização da molécula de ozônio mostra-se como uma opção para otimizar a prevenção ou tratamento da afecção, minimizando efeitos colaterais.

2.4 DIRETRIZES PARA PROTOCOLOS TERAPÊUTICOS ANTIPLACA

O Conselho de Saúde Oral Veterinária, ou *Veterinary Oral Health Council* – VOHC – reconhece produtos que retardam a formação de placa e cálculo dentário através do selo de aprovação concedido após estudos que seguem diretrizes preconizadas por ele. O primeiro selo foi concedido em 1998 (VOHC, 2018a), sendo os estudos realizados de forma voluntária por parte do interessado (VOHC, 2018b).

Para o ínicio do estudo “antiplaca”, recomenda-se a avaliação oral com o paciente acordado como forma de garantir os critérios de inclusão e exclusão pela inspeção das superfícies de dentes específicos, ou seja, “dentes VOHC”, sendo eles, para cães, os maxilares terceiro incisivo, canino, terceiro e quarto pré-molares e primeiro molar; e os mandibulares, canino, terceiro e quarto pré-molares e primeiro molar. A avaliação da superfície vestibular desses dentes deve ser realizada de ambos os lados da boca (VOHC, 2018c).

Como critérios de inclusão, os animais devem estar em bom estado de saúde sistêmica, comprovados por exame físico e exames laboratoriais como contagem de células sanguíneas e painel bioquímico, com “dentes VOHC” presentes e intactos em ambos os lados da boca, com oclusão normal para a espécie e formato de crânio. São critérios de exclusão a presença de doença periodontal grave com defeito de furca completo em dentes multiradiculares, perda dos tecidos de sustentação maior que 50% e mobilidade maior ou igual a 2, na escala 0-3. Além deles, inflamação gengival grave com sangramento espontâneo e inflamação não-gengival, ulceração e laceração de mucosa também devem ser evitadas (VOHC, 2018c).

Para a certificação de produtos quimicamente ativos, sem o interesse de efeito mecânico na formação de placa dentária, recomenda-se que o produto seja adicionado à água de beber, borrifado à superfície dentária ou aplicação na superfície dos dentes sem a intenção de gerar efeito mecânico, ou seja, com

movimentos suaves na superfície vestibular dos dentes, sem a utilização de dispositivos mecânicos auxiliares. Essas informações devem ser fornecidas ao responsável pela aplicação (VOHC, 2018c).

O Conselho recomenda dois grupos de estudo: o primeiro, grupo controle, em cujo os cães são apenas alimentados com ração seca, e o segundo, grupo teste, com a mesma ração fornecida seca e a aplicação do produto quimicamente ativo. A utilização de cães domiciliados é permitida. Para isso, devem ser alimentados com a mesma dieta controle (ração comercial seca, fornecida seca) com consentimento do responsável para participação do estudo. Medicamentos antibióticos ou anti-inflamatórios não devem ser utilizados em até sete dias prévios ao início do protocolo, bem como durante ele. Antissépticos locais orais não devem ser aplicados em até 24 horas do dia zero ou durante o estudo. Demais medicamentos de uso contínuo ou vacinas podem ser realizados normalmente (VOHC, 2018c).

Os “dentes VOHC” devem ser tratados inicialmente com raspagem e polimento dentário no dia zero, com os animais sob anestesia geral, para que não haja placa ao início do protocolo, o que deve ser confirmado com métodos de evidenciação de possíveis resquícios de placa. O tempo entre a última aplicação do produto até o momento de avaliação final deve estar entre +/- 3 horas da próxima aplicação caso esta fosse realizada. Ou seja, em protocolos de aplicação diária, a avaliação final deve ocorrer 24 horas +/- 3 horas quando o produto deveria ser aplicado novamente. Já em protocolos de aplicação a cada três dias, a avaliação seria realizada em três dias +/- 3 horas da próxima aplicação (VOHC, 2018c).

O período mínimo de análise para formação de placa dentária passou de sete dias (VOHC, 2016) para 28 dias (VOHC, 2018c), atualmente. O índice de placa deve ser realizado no dia zero e ao final do protocolo, a ser realizado sob sedação ou anestesia geral de curta duração, com a utilização de corante e posterior enxágue do excesso da superfície dentária. Para isso, o avaliador deve desconhecer o grupo avaliado, e o mesmo avaliador deve ser responsável pelo último dia de avaliação de todos os grupos. A divisão da coroa em segmentos horizontais para identificação do índice de placa é permitida. Para isso, referências anatômicas devem ser identificadas para realizar o “traçado horizontal” e apenas a margem gengival deve ser analisada. Para avaliação da gengivite, o índice deve ser obtido no dia zero e no final do protocolo para evidenciar a segurança do produto. Apesar disso, o índice de gengivite não deve ser necessariamente menor no grupo teste,

apesar de que, caso seja maior, há necessidade de explicação da anormalidade (VOHC, 2018c).

Análises estatísticas devem ser realizadas e o grupo teste deve alcançar a redução mínima de 15% da formação de placa com relação ao grupo controle (VOHC, 2018c). Assim, a mínima diferença entre “a média de índices por boca” (média de todos os índices de todos os “dentes VOHC” para todos os cães do mesmo grupo) entre o grupo teste e o grupo controle é de 15%, o que também é obtido pela fórmula: Redução (% de Eficácia da VOHC) =

$$= \frac{\text{(Média do grupo controle) – (média do grupo teste) x 100}}{\text{(média do grupo controle)}}$$

Todos os grupos de estudo devem conter o mesmo número amostral de objetos avaliados no início do protocolo, e os animais devem ser distribuídos de forma aleatória entre os grupos. Similaridade de peso corporal deve ser certificada para validação estatística (VOHC, 2018c).

2.5 OBJETIVOS

2.5.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito preventivo à doença periodontal pela utilização de pomada ozonizada.

2.5.2 Objetivos específicos

I. Avaliar o efeito do ozônio na formação de placa dentária como método adjuvante ao tratamento periodontal convencional;
II. Determinar a relação entre a frequência de aplicação do ozônio com a mínima formação de placa dentária.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ÉTICA

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo sob processo de número 2093060716. Todos os responsáveis pelos cães incluídos no estudo assinaram o “Termo de Consentimento Livre e Esclarecido” (Apêndice A).

3.2 AMOSTRA

Foram selecionados cães domiciliados, machos e fêmeas, atendidos pelo Laboratório de Odontologia Comparada da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (LOC FMVZ - USP), durante 18 meses. Os animais deveriam apresentar similaridade anatômica quanto à conformação de crânio, oclusão e disposição dentária.

Seguindo diretrizes pré-estabelecidas pelo VOHC (2018c), os cães foram mantidos sob condições de manejo semelhantes, com padronização da alimentação – administração de ração comercial[2] seca fornecida seca, em quantidade pré-determinada para manutenção de peso corporal e água fresca *ad libitum*, sem presença de petiscos ou demais exercícios periodontais pelo tempo de estudo. Para tal, foi fornecida a quantidade necessária de ração para o período de estudo, com cálculo prévio da necessidade energética para manutenção de peso corporal, individualmente. O alimento foi fracionado, embalado e acondicionado em ambiente seco e protegido de luz, disponibilizado de forma individual no início de cada protocolo no volume suficiente para os sete dias de estudo.

[2] Golden® Fórmula Arroz e Frango minibits, PremieRpet®, São Paulo, SP, Brasil.

3.3CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Foram incluídos cães mesocefálicos, hígidos e de temperamento dócil que permitissem manipulação da cavidade oral, e sem sinais odontológicos que, à inspeção, justificassem a extração dentária.

Os animais incluídos deveriam apresentar padrão de normalidade quanto a exames hematológicos com contagem sérica de células vermelhas e brancas, plaquetas, além da dosagem enzimática de ureia, creatinina, fosfatase alcalina, alanina aminotransferase (A.L.T.) em até 10 dias pré-operatório.

Os animais não poderiam ter sido submetidos a qualquer tipo de tratamento medicamentoso antibiótico ou anti-inflamatório em até sete dias previamente ao início, ou no decorrer do protocolo terapêutico, bem como antissépticos orais em até 24 horas ao início do protocolo. Caso contrário, o cão seria excluído do estudo.

Segundo o VOHC (2018c), cães que apresentavam doença periodontal avançada com exposição de furca completa, mobilidade dentária maior que 2 (na escala de 0-3), perda do tecido de sustentação óssea maior que 50%, ou presença de fratura dentária com exposição pulpar, inflamação não gengival, ulceração ou laceração de mucosa seriam excluídos do estudo.

3.4 FÁRMACOS

O medicamento[3] utilizado neste estudo foi desenvolvido e fornecido em quantidade necessária, sob apresentação de pomada oral a base de óleo mineral e com testes microbiológicos e determinação iodométrica da concentração da molécula de ozônio previamente realizados pela empresa[4] responsável por seu desenvolvimento. A mesma forneceu o mesmo substrato em apresentação de pomada não ozonizada para tratamento placebo.

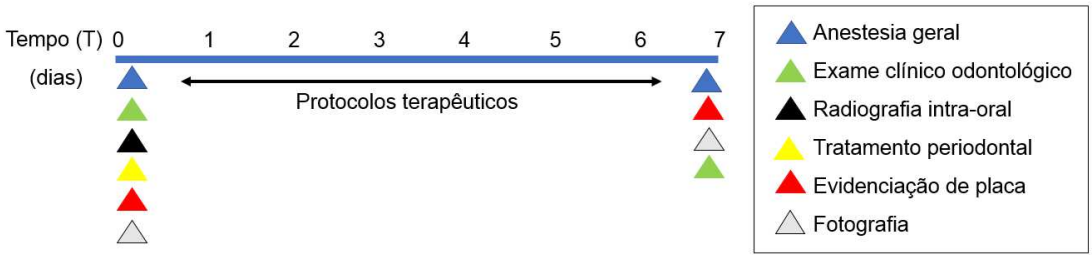
---

[3] Pomada de óleo mineral ozonizado a 30%.
[4] Biotecnovale® Pesquisa e Desenvolvimento Ltda, São José dos Campos, SP, Brasil.

3.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O período de estudo teve a duração de sete dias, conforme delineamento demonstrado na figura 1.

Figura 1 - Linha do tempo com representação dos procedimentos realizados em ordem cronológica para todos os grupos



Fonte: Abreu-Villela (2018).

No momento T0, os cães foram anestesiados pela Equipe de Anestesiologia da FMVZ – USP, sendo a medicação pré-anestésica acepromazina 0,02 - 0,04 mg kg^{-1} e petidina 2,0 – 3,0 mg kg^{-1} (intramuscular), indução com propofol a 5,0 mg kg^{-1} (intravenoso) e manutenção anestésica com isoflurano, para realização do exame clínico odontológico de forma padronizada pelo mesmo operador: preenchimento do odontograma com índice de gengivite, cálculo, retração e aumento gengival, furca, bolsa periodontal e mobilidade dentária (Anexo A). Foram realizadas radiografias intra-orais digitais[5] de toda a cavidade oral para identificação de possíveis alterações radiculares e alveolares.

O tratamento convencional foi realizado conforme preconizado pela literatura (WIGGS; LOBPRISE, 1997; VOHC, 2018c), com raspagem dentária com ultrassom cirúrgico piezoelétrico[6] e polimento dentário com taça de borracha[7] em aparelho micromotor[8] à baixa rotação e pasta de polimento[9]. Após estas etapas, foi aplicada solução evidenciadora de placa à base de eosina aquosa a 2% com algodão estéril e enxágue do excesso com a seringa tríplice do equipo odontológico[8] com água filtrada para a comprovação da ausência de possíveis resquícios de placa dentária.

---

[5] Emissor Dabi Atlante, Ribeirão Preto, SP, Brasil. Sensor digital Micro Imagem, Acteon, Indaiatuba, SP, Brasil
[6] Dabi Atlante, Profi Neo, Ribeirão Preto, SP, Brasil.
[7] Microdont Micro Usinagem de Precisão Ltda, São Paulo, SP, Brasil.
[8] Equipo FlexVet do Brasil Ltda, Umuarama, PR, Brasil.
[9] Herjos-F ®, Coltene Vigodent S/A Ind. e Com, Bonsucesso, RJ, Brasil.

Os cães foram submetidos à terapêutica conforme a designação dos grupos a serem descritos no item 3.5.1.

Após sete dias de pós-operatório (T7), os cães foram novamente anestesiados, seguindo o mesmo protocolo anestésico, e submetidos à análise clínica quanto aos índices de placa e gengivite. Foi realizada documentação fotográfica de ambas as faces vestibulares por cão, após evidenciação de placa com corante em T0 e T7. Todos os procedimentos foram realizados pelo mesmo operador, a pós-graduanda responsável por este projeto e dissertação, sendo padronizado o horário das avaliações clínicas para o período matutino.

3.5.1 Grupos de Estudo

Os cães (n=32) foram distribuídos em 5 grupos, segundo diferentes protocolos terapêuticos, de forma aleatória por sorteio realizado no período pré-operatório, sendo eles:

Grupo controle (GC): cães submetidos a uma aplicação da pomada não ozonizada (placebo) imediatamente após o tratamento periodontal (n=10).

Grupo 1 (G1): cães submetidos a uma aplicação da pomada ozonizada imediatamente após o tratamento periodontal (n=4).

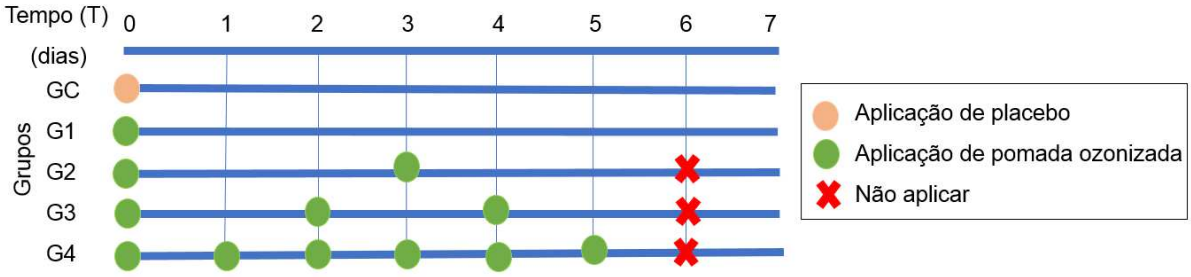
Grupo 2 (G2): cães submetidos a duas aplicações da pomada ozonizada, imediatamente após o tratamento periodontal e outra após 72 horas (n=4).

Grupo 3 (G3): cães submetidos a três aplicações da pomada ozonizada, imediatamente após o tratamento periodontal e outras (duas) a cada 48 horas (n=4).

Grupo 4 (G4): cães submetidos a seis aplicações da pomada ozonizada, imediatamente após o tratamento periodontal e outras (cinco) a cada 24 (n=10).

A figura 2 ilustra os períodos de aplicação dos diferentes tipos de pomada entre os grupos.

Figura 2 - Delineamento experimental com protocolos de aplicação de pomada (placebo ou ozonizada) para os grupos.



Fonte: Abreu-Villela (2018).

Com exceção à aplicação de pomada no pós-operatório imediato, a qual era realizada sob anestesia geral (figura 3), a(s) aplicação(ões) era(m) realizada(s) em domicílio seguindo protocolo de aplicação entregue ao responsável (Apêndice B).

Figura 3 - Imagem ilustrativa do aspecto oral após aplicação da pomada no pós-operatório imediato, evidenciando cobertura completa da superfície dentária e gengival

Fonte: Abreu-Villela (2018).

Ainda, cada tutor foi orientado a aplicar a pomada de forma padronizada, sendo ela após a última refeição do dia, realizada digitalmente e com movimentos suaves e circulares, até a cobertura completa da superfície de todos os dentes. Além disso, orientou-se jejum hídrico mínimo de 30 minutos após a aplicação. A pomada deveria ser armazenada em local arejado e protegido de luz, umidade e calor.

O responsável deveria notificar o grupo pesquisador na necessidade de qualquer tratamento medicamentoso durante o protocolo de estudo, independentemente da classe do medicamento – antisséptico, antibiótico ou anti-inflamatório tópicos ou sistêmicos.

3.5.2 Sistemas de índice

3.5.2.1 Índice de placa

A classificação do índice de placa dentária foi realizada conforme preconizado pelo “sistema de índice de placa dentária original de Logan e Boyce”, com divisão mental da coroa dentária e classificação da placa nas duas metades (coronal e gengival) (HENNET et al., 2006).

Neste sistema, o índice de cada dente é obtido pela multiplicação do índice da área dentária de placa corada (por eosina aquosa a 2%) pelo índice de espessura ou intensidade de cor do evidenciador (quadro 1).

Quadro 1 - Sistema de índice de placa dentária original de Logan e Boyce

Índice de cobertura	**% da área de superfície dentária acometida**	
0	Placa não evidenciada	
1	1-24	
2	25 - 49	
3	50 - 74	
4	75 – 100	
Índice de espessura	**Intensidade**	**Cor**
1	Leve	Rosa
2	Média	Vermelho
3	Forte	Vermelho escuro

Fonte: Hennet et al. (2006).

A média do índice de placa da boca por cão foi obtida pela soma dos índices de cada dente, dividida pelo número de dentes avaliados. Esta classificação foi realizada na face vestibular de todos os dentes.

3.5.2.2 Área de placa por análise computadorizada

A área de placa dentária corada em T7 por elemento dentário representada em porcentagem foi calculada por programa de computador[10] pela análise de imagens fotográficas.

As fotografias foram obtidas por iPhone[11] em formato JPEG/H.264 HDR em tamanho 3024x4032 pixels, resolução entre 72-96 dpi, ISO-40, com *flash* desativado, mantendo-se desligado o refletor cirúrgico durante a captura da imagem, com o dispositivo perpendicular à superfície vestibular dos dentes.

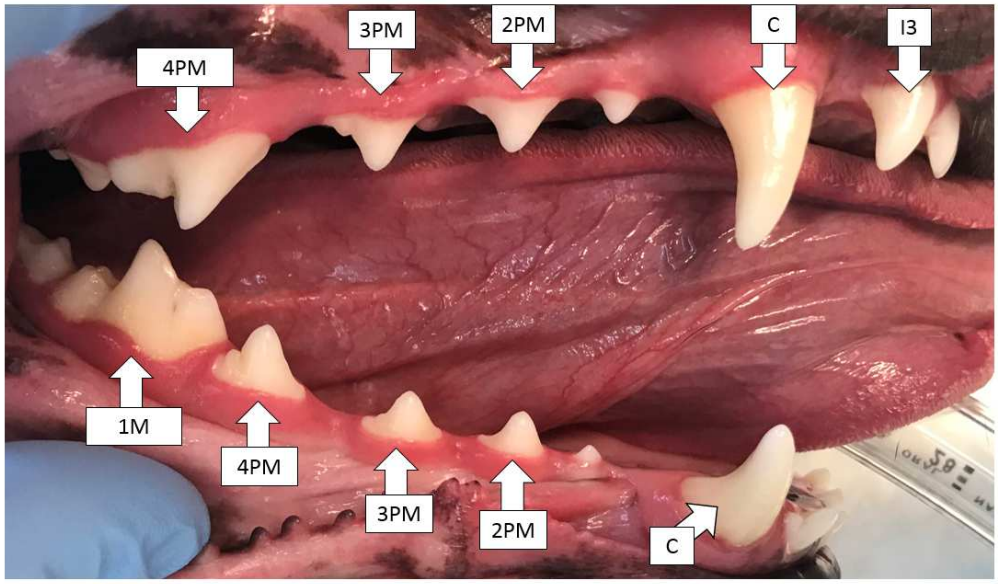
As fotografias foram realizadas em distância proporcional ao campo visual, incluindo desde o dente incisivo lateral maxilar (I3) até o primeiro molar mandibular (1M), preservando-se todas as cúspides (figura 4). Para esta análise, foram avaliados apenas os dentes identificados neste campo.

---

[10] ImageJ©, programa de computador gratuito para processamento e análise de imagens, obtido em 13/03/17 pelo website *https://imagej.net/Welcome.*

[11] Iphone 7, Apple Inc., São Paulo, SP, Brasil

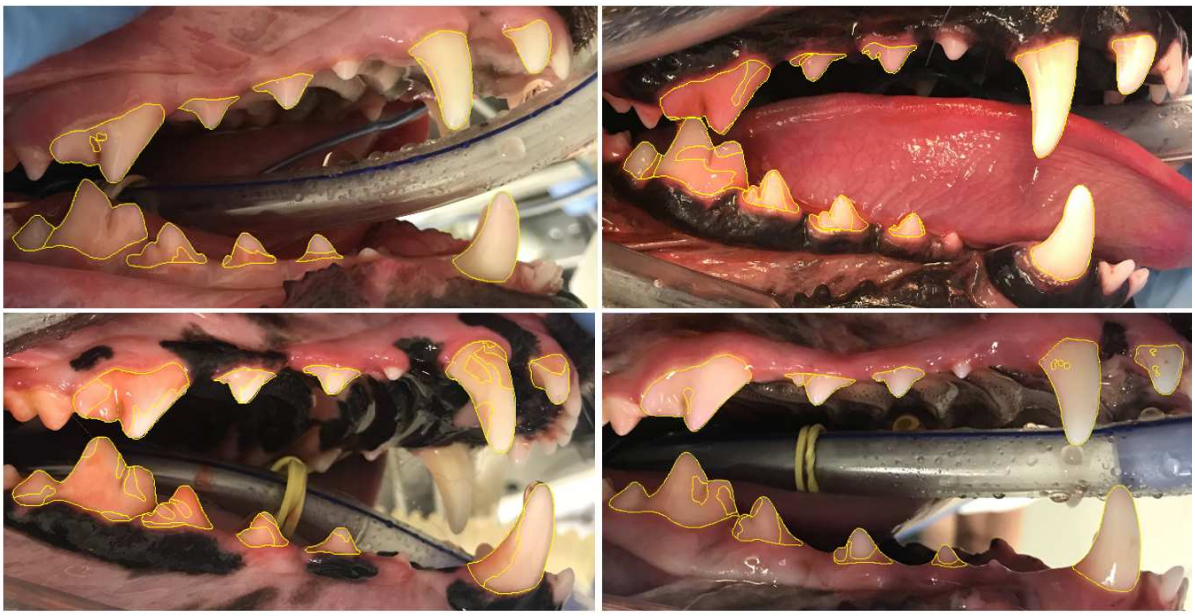
Figura 4 – Representação de fotografia digitalizada das faces dentárias de cão obtida de forma padronizada para análise computadorizada, sendo os dentes avaliados identificados por setas



Fonte: Abreu-Villela (2018).
Legenda: I3 = incisivo lateral maxilar, C=canino; 2PM=segundo pré-molar; 3PM= terceiro pré-molar; 4PM= quarto pré-molar; 1M=primeiro molar mandibular.

Para gerar o percentual de área corada por dente pelo programa de computador, selecionou-se manualmente a área total da face vestibular de cada dente, com a consecutiva seleção da área corada pelo evidenciador (figura 5).

Figura 5 – Imagens representativas da seleção de área com placa dentária em face vestibular direita de quatro cães em T7, evidenciada por traçado amarelo por programa de computador



Fonte: Abreu-Villela (2018).

3.5.2.3 Índice de gengivite

A classificação do índice de gengivite foi realizada pela avaliação clínica macroscópica da gengiva pela identificação de sinais clínicos à sondagem periodontal segundo o "índice de Gengivite de Wiggs e Lobprise" (1997), representado no quadro 2.

Quadro 2 - Índice de Gengivite de Wiggs e Lobprise

Grau	Sinais clínicos
Grau 0	Gengiva clinicamente saudável e normal.
Grau 1	Inflamação gengival leve: discretos edema e eritema da margem gengival; ausência de hemorragia à sondagem periodontal.
Grau 2	Inflamação gengival moderada: margem gengival eritematosa e edemaciada; hemorragia à sondagem periodontal.
Grau 3	Inflamação gengival grave: margem gengival muito edemaciada com coloração vermelha ou vermelho-escura; hemorragia espontânea ou ulceração da margem gengival.

Fonte: Wiggs e Lobprise (1997).

Para esta classificação, a sondagem de sulco gengival foi realizada com o suave deslizamento da sonda pelo sulco, e o grau da gengivite considerado foi o maior grau encontrado por dente.

A média do índice de gengivite da boca por cão foi obtida pela soma dos índices de cada dente, dividida pelo número de dentes avaliados.

3.5.3 Grupos dentários

Foram realizadas avaliações por grupo dentário – incisivos, caninos, pré-molares e molares, para maxila e mandíbula, por animal de cada protocolo terapêutico.

A média do índice de placa e de gengivite para cada grupo dentário foi obtida pela soma dos índices de cada dente, dividida pelo número de dentes do

mesmo grupo. Esta análise foi realizada para todos os animais em todos os protocolos terapêuticos.

3.5.4 Análise do percentual de redução médio

Seguindo diretrizes do VOHC (2018c), para o cálculo do percentual de redução médio (%RM) de placa dentária, os dados médios de índice obtidos foram aplicados na fórmula: %RM = $100 \times (A - B) \div A$, sendo A o índice médio de placa de todos os dentes do grupo controle e B, o índice médio de placa de todos os dentes do grupo teste. Para esta análise, foram comparados apenas os grupos controle e G4, de mesmo tamanho amostral, para os dados obtidos tanto pela avaliação clínica quanto pela computadorizada.

3.5.5 Sinais de toxicidade

Os responsáveis foram questionados durante o período de estudo sobre a identificação de possíveis sinais clínicos de toxicidade em domicílio, como a presença de episódios eméticos, diarreicos, desconforto ou sangramento oral após a o início do protocolo terapêutico (T0) até T7.

3.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Primeiramente os dados foram analisados pelo teste de Shapiro-Wilk, para averiguar se apresentavam normalidade, e pelo teste de Bartlett, para averiguar se os grupos apresentavam variâncias iguais (homocedasticidade).

Para os dados que apresentaram distribuição normal e homocedasticidade, foi utilizado o teste ANOVA uma via para verificar diferenças entre os grupos para cada variável, e o teste ANOVA para medidas repetidas para a comparação entre os grupos dentários dentro do mesmo protocolo terapêutico, seguidos do teste *post hoc*

de Tukey. Para as comparações entre tempos (T0 e T7), foi utilizado o teste T de Student pareado.

Para os dados que não apresentavam as premissas de normalidade e homocedasticidade, foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis seguido do *post hoc* de Dunn para verificar as diferenças entre protocolos, e o teste Friedman seguido do *post hoc* de Nemenyi entre grupos dentários dentro do mesmo protocolo terapêutico. Nessas condições, para as comparações entre tempos (T0 e T7), foi utilizado o teste Wilcoxon pareado.

O grau de significância estabelecido para os testes estatísticos foi de 5% ($p<0,05$), realizados em programa de computador[12].

[12] RStudio, Version 0.99.903 – © 2009-2016 RStudio, Inc.

4 RESULTADOS

4.1MODELO EXPERIMENTAL

Foram selecionados 37 cães domiciliados, sendo 25 machos e 12 fêmeas. A idade variou entre 1 e 10 anos, peso corporal entre 5,0 e 30,0 kg e que respeitaram os critérios e inclusão propostos inicialmente. Em dois cães ocorreu dupla participação, com intervalo mínimo de seis meses do primeiro tratamento, testados para diferentes grupos terapêuticos. Do número total, sete cães foram excluídos no decorrer do estudo. Assim, foram selecionados 32 cães com as características quanto ao grupo, gênero, raça, idade e peso descritos no quadro 3.

Quadro 3 – Caracterização dos cães do estudo quanto ao grupo, gênero, raça, idade (anos) e peso (kg)

Identificação	Grupo	Gênero	Raça	Idade	Peso
251207	GC	M	Schnauzer	6	7,0
257761	GC	M	S.R.D.	3	19,5
258737	GC	M	Maltês	4	6,0
251034	GC	F	S.R.D.	3	17,5
26542	GC	M	Bichon Frisé	8	9,25
208659	GC	F	Golden Retriever	9	30,0
257715	GC	M	Cocker Spaniel	7	15,5
253747	GC	F	S.R.D.	6	18,7
263929	GC	F	S.R.D.	6	10,8
262469 [a]	GC	M	Border Colie	5	19,0
243594	G1	M	S.R.D.	6	27,0
226533	G1	M	S.R.D.	7	8,0
237970	G1	M	Poodle	6	9,5
257770	G1	M	S.R.D.	6	5,0
224228 [b]	G2	F	S.R.D.	6	12,5
237864	G2	M	Spitz Alemão	6	11,5
260255	G2	M	S.R.D.	7	30,0
224503	G2	M	S.R.D.	7	13,0
262469 [a]	G3	M	Border Colie	4	18,5
245508	G3	M	S.R.D.	3	18,8
263384	G3	F	S.R.D.	6	10,0
263385	G3	F	S.R.D.	7	12,2
261935	G4	F	S.R.D.	2	16,0
261934	G4	M	S.R.D.	3	12,0
241873	G4	M	Jack Russel	8	7,7
247931	G4	F	S.R.D.	3	15,0
262409	G4	M	S.R.D.	2	27,0
260256	G4	M	Beagle	8	15,8
242617	G4	M	S.R.D.	6	16,0
263382	G4	M	S.R.D.	1	13,0
251804	G4	M	S.R.D.	4	22,1
224228 [b]	G4	F	S.R.D.	7	12,4

Fonte: Abreu-Villela (2018).
Legenda: M = macho; F = fêmea; S.R.D.= sem raça definida; Letras sobrescritas ([a, b]) iguais indicam mesmo cão com dupla participação.

A tabela 1 representa os valores de média e desvio padrão quanto à idade (anos) e peso (quilogramas) dos cães nos diferentes grupos do estudo.

Tabela 1 – Representação da idade (anos) e peso (kg) dos cães nos diferentes grupos terapêuticos expressas em média e desvio-padrão

	GC	G1	G2	G3	G4	Geral
Idade	5,7 ± 2	6,25 ± 0,5	6,5 ± 0,6	5 ± 1,8	4,4 ± 2,6	5,37 ± 2,04
Peso	15,43 ± 7,52	12,37 ± 9,93	16,75 ± 8,85	14,87 ± 4,45	15,7 ± 5,43	15,23 ± 6,74

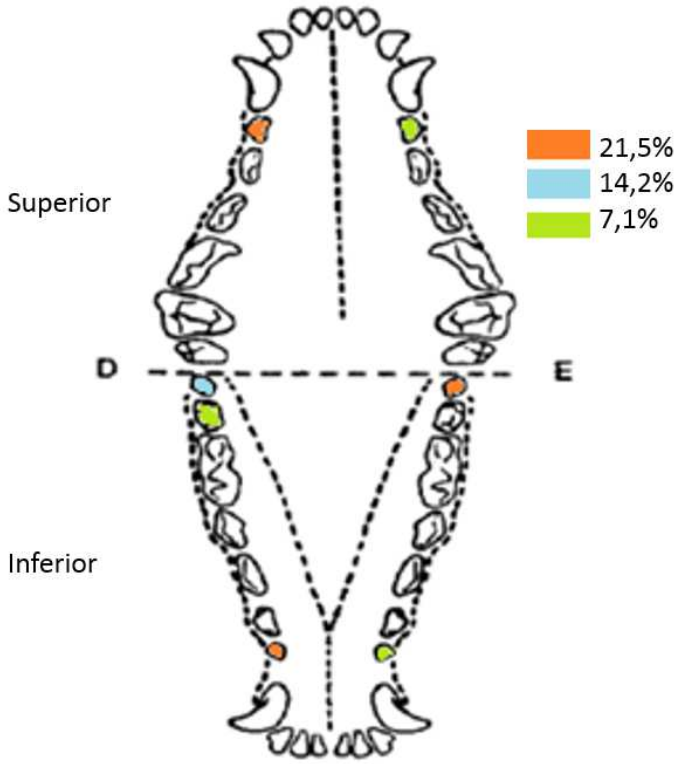
Fonte: Abreu-Villela (2018).

Não houve diferença estatística entre os grupos em relação à idade (p=0,5208) e peso (p= 0,7635) dos cães.

4.2 AUSÊNCIA DENTÁRIA AMOSTRAL

Um ou mais cães por grupo apresentaram ausência(s) dentária(s), na incidência amostral de 28% (9/32 cães). Quanto ao número de dentes ausentes, 0,01% (14/1330 dentes) foram identificados à análise clínica e confirmados por radiografia intra-oral. Os locais de ausência restringiram-se aos primeiros pré-molares, bilateralmente (105, 205, 305, 405), segundo molar mandibular direito (410) e terceiro molar mandibular, bilateralmente (311 e 411). As prevalências das ausências dentárias identificadas estão descritas na figura 6.

Figura 6 – Diagrama de dentes superiores e inferiores com as prevalências das ausências por elemento dentário na amostra de dentes ausentes, identificadas por diferentes cores



Fonte: Abreu-Villela (2018).

Com relação ao tipo e número de dentes ausentes, para primeiro pré-molar maxilar e mandibular direitos e terceiro molar mandibular esquerdo, foi identificada a prevalência amostral de 21,5% (3/14). O terceiro molar mandibular direito apresentou prevalência de 14,2% (2/14), enquanto que o primeiro pré-molar maxilar esquerdo e segundo molar mandibular direito apresentaram a prevalência de 7,1% (1/14).

A distribuição das ausências dentárias identificadas entre os grupos está representada no quadro 4.

Quadro 4 - Caracterização dos cães com ausência(s) dentária(s) quanto ao grupo, raça e elemento dentário ausente, este também identificado por grupo dentário – pré-molar (PM) e molar (M) maxilares e mandibulares

Identificação	**Grupo**	**Raça**	**Dente(s) ausente(s)**		
			Maxilares	Mandibulares	
			PM	PM	M
258737	GC	Maltês	205	305, 405	411
226533	G1	S.R.D.		405	
237970	G1	Poodle			410
257770	G1	S.R.D.			311, 411
237864	G2	Spitz Alemão	105		311
224503	G2	S.R.D.		405	
263384	G3	S.R.D.			311
241873	G4	Jack Russel	105		
242617	G4	S.R.D.	105		

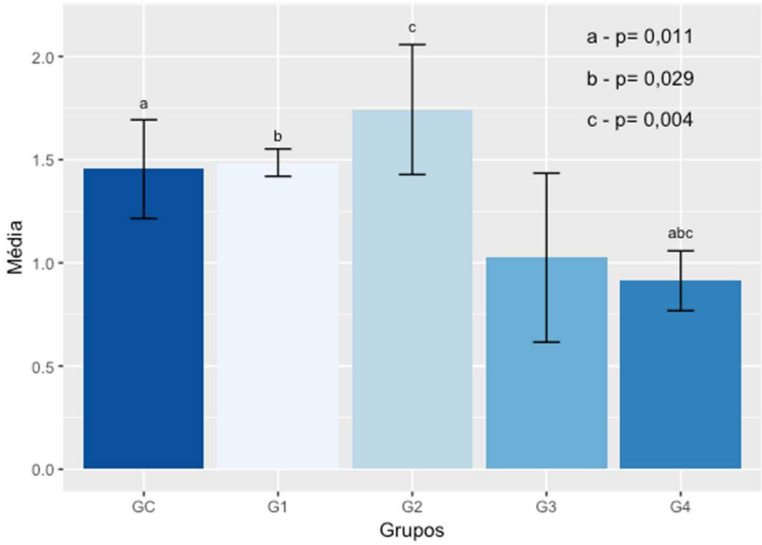
Fonte: Abreu-Villela (2018).

Pela distribuição de ausências dentárias demonstradas, houve menor amostra de dentes molares mandibulares em G1.

4.3 FORMAÇÃO DE PLACA DENTÁRIA

O índice de placa dentária foi avaliado em T7 e está representado pelos valores de média e desvio-padrão por grupo terapêutico no gráfico 1.

Gráfico 1 –Valores de índice de placa dentária por grupo terapêutico (GC, G1, G2, G3 e G4) em T7, representados por média e desvio padrão dos dados obtidos por análise clínica de todos os dentes. Os valores de p<0,05 obtidos pela comparação entre grupos estão identificados pelas mesmas letras a, b e c



Fonte: Abreu-Villela (2018).

Observa-se que a média de G4 diferiu de forma significante dos resultados de GC, G1 e G2. Também foram realizadas análises pareadas do índice de placa em T7 excluindo-se os dentes ausentes (105, 205, 305, 311, 405, 410 e 411) de todos os grupos, com o mesmo padrão de resposta antiplaca. Nesta, os valores de p identificados, considerando-se os mesmos grupos demonstrados no gráfico acima, foram a=0,012, b=0,039 e c=0,003.

4.3.1 Avaliação por grupo dentário

Foram realizadas avaliações por grupo dentário – incisivos, caninos, pré-molares e molares, e calculadas as médias de placa em T7 para todos os grupos terapêuticos associados, representadas na tabela 2.

Tabela 2 – Valor de média do índice de placa por grupo dentário para dentes maxilares e mandibulares, considerando os dados totais obtidos no estudo em T7 por análise clínica de todos os dentes

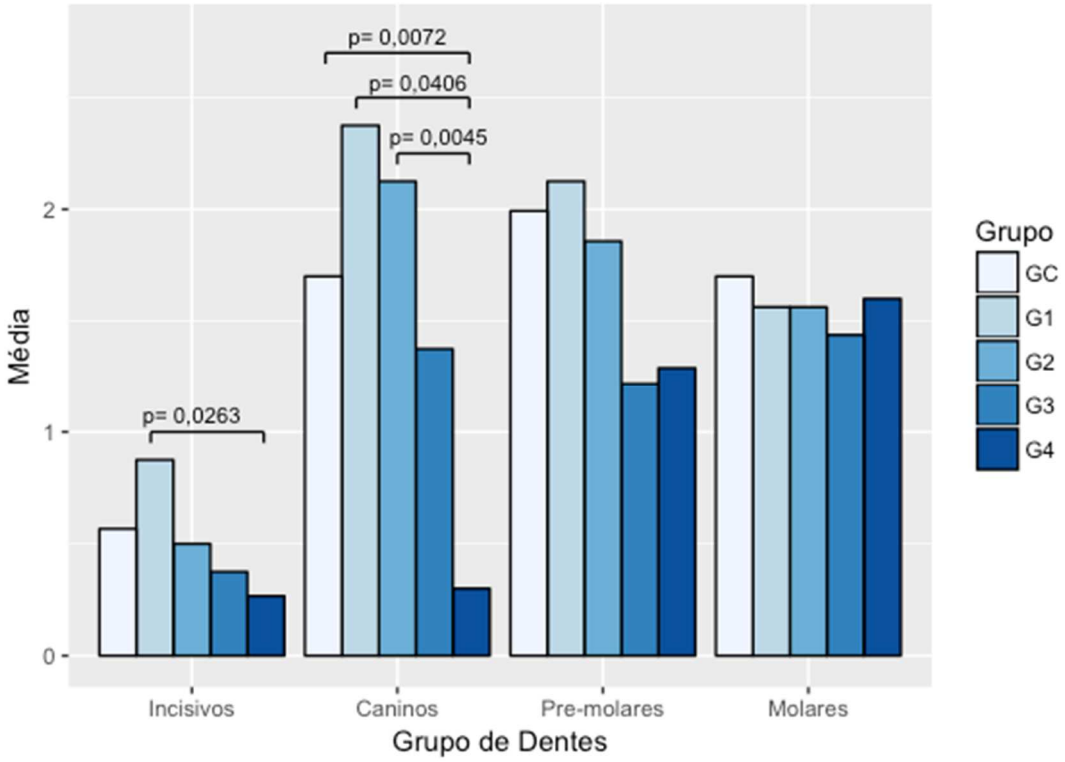
Grupo dentário	Maxilares	Mandibulares
Incisivos	0,56	0,29
Caninos	1,58	1,09
Pré-molares	1,68	2,19
Molares	1,57	1,37

Fonte: Abreu-Villela (2018).

Observa-se que os incisivos apresentaram as menores médias de formação de placa, enquanto os pré-molares mandibulares a maior média.

Pela análise do índice de placa entre os grupos terapêuticos, estão representados os valores de média e desvio padrão nos gráficos 2 e 3 para grupos dentários de maxila e mandíbula, respectivamente.

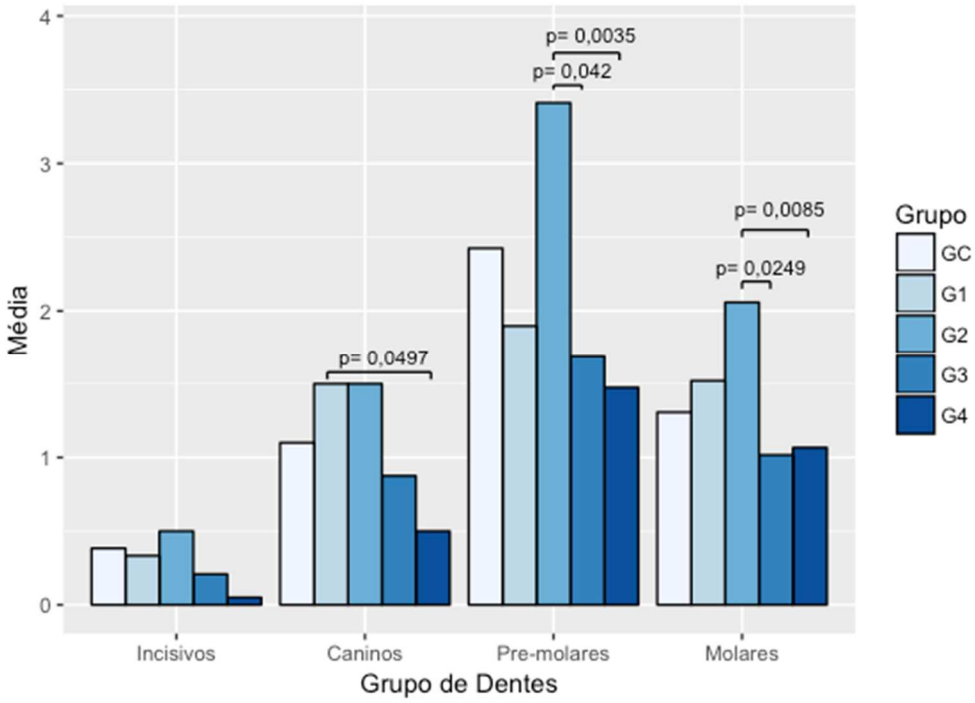
Gráfico 2 – Representação dos valores médios de índice de placa por grupo dentário (incisivos, caninos, pré-molares e molares) de maxila em T7 por análise clínica de todos os dentes. Os valores de p<0,05 obtidos pela comparação entre grupos terapêuticos, identificados nas diferentes cores, estão representados por colchetes entre os grupos envolvidos



Fonte: Abreu-Villela (2018).

Observa-se que para incisivos e caninos maxilares, a maior frequência de aplicação da pomada ozonizada está correlacionada à menor formação de placa, mais evidenciado em caninos. Excluindo-se os pré-molares ausentes de todos os grupos, não houve alteração do padrão de resposta.

Gráfico 3 – Representação dos valores médios de índice de placa por grupo dentário (incisivos, caninos, pré-molares e molares) de mandíbula em T7 por análise clínica de todos os dentes. Os valores de p<0,05 obtidos pela comparação entre grupos terapêuticos, identificados nas diferentes cores, estão representados por colchetes entre os grupos envolvidos



Fonte: Abreu-Villela (2018).

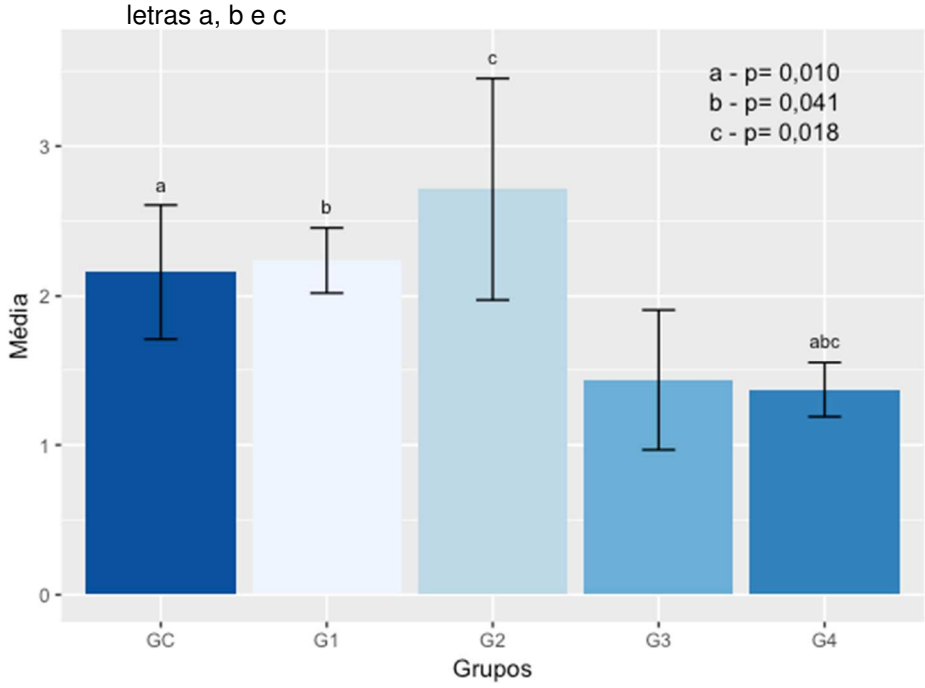
Discrepância de valores médios foi observada em pré-molares e molares de G2, permitindo a identificação de valor de p<0,05 entre os protocolos ozonizados. Excluindo-se os dentes pré-molares e molares ausentes de todos os grupos, evidenciou-se padrão de resposta similar.

4.3.2 Análise clínica e computadorizada de placa

4.3.2.1 Avaliação clínica de dentes específicos

Pela análise dos índices de placa de dentes específicos obtidos pela análise clínica em T7, o gráfico 4 representa os valores de média e desvio padrão. Os valores de p<0,05 identificados por letras (a, b, c).

Gráfico 4 – Valores de índice de placa dentária por grupo terapêutico (GC, G1, G2, G3 e G4) em T7, obtidos pela análise clínica da face vestibular dos dentes maxilares incisivo lateral, canino, segundo, terceiro e quarto pré-molares, e os mandibulares canino, segundo, terceiro e quarto pré-molares e primeiro molar, representados por média e desvio padrão. Os valores de p<0,05 obtidos pela comparação entre grupos estão representados pelas mesmas letras a, b e c



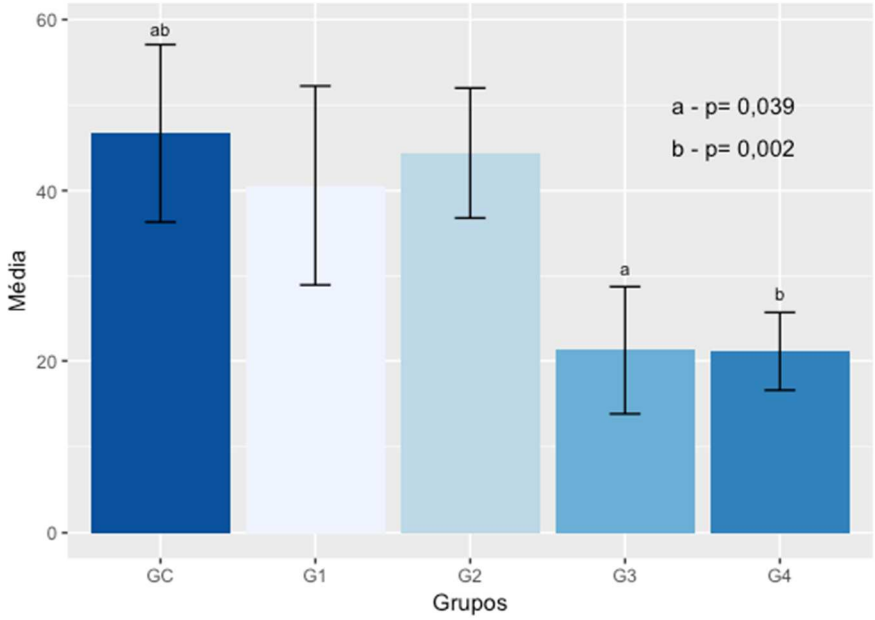
Fonte: Abreu-Villela (2018).

Sendo excluídos primeiro e segundo incisivos maxilares, e primeiro e segundo molares maxilares, além de incisivos mandibulares e segundo e terceiro molares mandibulares da avalição representada pelo gráfico 1, observam-se as mesmas diferenças entre grupos previamente identificadas. A grande variação de valores demonstrados pelo desvio padrão em G2 pode ser influenciado pelo baixo número amostral.

4.3.2.2 Análise computadorizada

Pela análise dos percentuais de área corada de dentes específicos obtidos por programa de computador em T7, o gráfico 5 representa os valores de média e desvio padrão em T7. Os valores de p<0,05 identificados por letras (a, b, c).

Gráfico 5 – Percentuais de placa dentária por grupo terapêutico (GC, G1, G2, G3 e G4) em T7, obtidos pela análise computadorizada da face vestibular dos dentes maxilares incisivo lateral, canino, segundo, terceiro e quarto pré-molares, e os mandibulares canino, segundo, terceiro e quarto pré-molares e primeiro molar, são representados por média e desvio padrão . Os valores de p<0,05 obtidos pela comparação entre grupos estão representados pelas mesmas letras a, b e c



Fonte: Abreu-Villela (2018).

Para esta análise, diferente das demais, G4 apenas foi significativamente diferente de GC, enquanto identificou-se também diferença entre G3 e GC.

4.3.3 Percentual de redução médio de placa

Foram realizados cálculos entre os valores obtidos por análise clínica e computadorizada para grupos de mesmo número amostral, com os valores de %RM demonstrados na tabela 3.

Tabela 3 – Representação dos valores de percentual de redução médio de placa (%RM) referentes aos dados obtidos por análise clínica (%RM clínica) e computadorizada (%RM computador) dos dentes maxilares incisivo lateral, canino, segundo, terceiro e quarto pré-molares, e os mandibulares canino, segundo, terceiro e quarto pré-molares e primeiro molar, entre os grupos de mesmo número amostral

Grupo	%RM clínica	%RM computador
GC vs. G4	36,574	54,781

Fonte: Abreu-Villela (2018).

Observa-se que os valores obtidos são maiores do que o mínimo de 15% preconizado pelo VOHC (2018c).

4.4 GENGIVITE SOB ASPECTO CLÍNICO

4.4.1 Gengivite inicial

O número de dentes classificados por índice de gengivite em T0 foi representada pelos valores de média e desvio-padrão por grupo terapêutico na tabela 4.

Tabela 4– Valores do número de dentes por índice de gengivite clínica (ausência, grau 1 à 3) para os diferentes grupos terapêuticos (GC, G1, G2, G3 e G4) em T0, na análise de todos os dentes, representados por média e desvio-padrão

Grupo	Alteração	Ausência de gengivite	Grau 1	Grau 2	Grau 3
GC	Gengivite T0	10,9 ± 10,96	9,7 ± 5,67	20,9 ± 12,19	0 ± 0
G1	Gengivite T0	14,5 ± 9,18	9,25 ± 6,65	17,25 ± 10,44	0,25 ± 0,5
G2	Gengivite T0	15,5 ± 8,66	10,25 ± 5,44	15,5 ± 4,36	0 ± 0
G3	Gengivite T0	9,25 ± 8,18	12 ± 6,97	20,5 ± 14,7	0 ± 0
G4	Gengivite T0	17,5 ± 12,39	13,2 ± 8,09	11 ± 8,78	0,1 ± 0,32

Fonte: Abreu-Villela (2018).

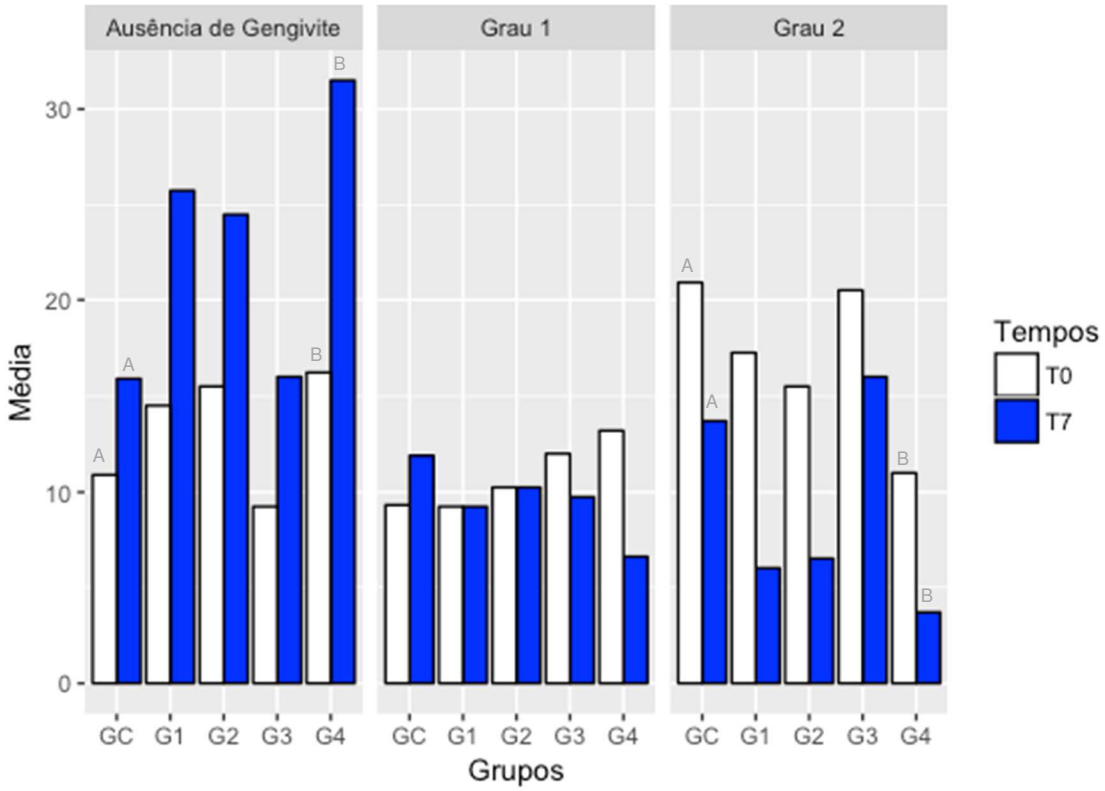
Também foram realizadas análises pareadas do índice de gengivite em T0 excluindo-se os dentes ausentes (105, 205, 305, 311, 405, 410 e 411) de todos os

grupos, com o mesmo padrão de média. Assim, não foi identificada diferença significativa entre os grupos terapêuticos para os diferentes índices em T0, tanto para análise total quanto parcial.

4.4.2 Comparação entre tempos

Pela análise comparativa entre tempos (T0 e T7) e protocolos terapêuticos, o gráfico 6 representa os valores médios do número de dentes classificados por índice de gengivite para os grupos. O índice máximo de gengivite (grau 3) não foi considerado para esta avaliação visto a baixa ocorrência amostral inicial evidenciada na tabela anterior.

Gráfico 6 – Valores médios do número de dentes classificados por índice de gengivite clínica (ausência, grau 1 e 2) para os grupos terapêuticos (GC, G1, G2, G3 e G4) nos diferentes tempos (T0 e T7). Os valores de p<0,05 obtidos pela comparação entre tempos para o mesmo grupo e mesmo grau de inflamação estão representados pelas letras A e B, sendo avaliados todos os dentes da boca de cada animal



Fonte: Abreu-Villela (2018).

Observa-se que diferença estatisticamente significante foi identificada entre os tempos para GC e G4, em diferentes índices de gengivite. Na comparação entre grupos, valor estatístico foi encontrado entre médias de GC e G4 em T7 (p=0,0266331).

4.4.2.1 Tipo de resposta terapêutica

A resposta terapêutica para inflamação gengival, comparando-se os índices de gengivite nos tempos T0 e T7, após sete dias sob diferentes protocolos terapêuticos (GC, G1, G2, G3 e G4) está representada na tabela 5 pelos valores de média e desvio padrão do número de dentes por tipo de resposta (inalterada, melhora ou piora).

Tabela 5 – Resposta terapêutica (inalterada, melhora ou piora) quanto à gengivite clínica de todos os dentes da boca de cada animal após diferentes protocolos terapêuticos (GC, G1, G2, G3 e G4) em T7. O número de dentes estão representados por valores de média e desvio padrão, com suas respectivas porcentagens amostrais

Resposta	GC	G1	G2	G3	G4
Inalterada	20,7 ± 5,54 (59%)	15,5 ± 11,68 (54%)	18,5 ± 2,64 (53%)	16,5 ± 4,04 (47%)	16,9 ± 8,77 (48%)
Melhora	11,5 ± 5,04 (33%)	14,5 ± 7,89 (41%)	14,25 ± 2,22 (40%)	12,25 ± 6,65 (35%)	15,9 ± 7,9 (45%)
Piora	2,8 ± 1,98 (8%)	1,75 ± 2,22 (5%)	2,5 ± 1,73 (7%)	6,25 ± 5,62 (18%)	2,2 ± 1,87 (6%)

Fonte: Abreu-Villela (2018).

Não foi identificada diferença significativa para a mesma resposta entre os diferentes protocolos terapêuticos. Manutenção do índice de gengivite foi observada em todos os grupos. Identificou-se acréscimo do grau inflamatório em T7 em todos os grupos, porém em menor percentagem quando comparados aos demais resultados. O menor número amostral em G1, G2, e G3 pode ter influenciado a homogeneidade e os resultados obtidos quando comparados à GC e G4, positiva ou negativamente.

4.5 SINAIS CLÍNICOS DE TOXICIDADE

Um cão do G2 apresentou um episódio emético em 12 horas de pós-operatório, coincidente à 12 horas após a primeira aplicação da pomada ozonizada. Assim, 95,5% (21/22) cães do presente estudo não demonstraram qualquer sinal de toxicidade gastrointestinal, como êmese, diarreia, ou intolerância ao produto, como desconforto ou sangramento oral após a utilização de pomada oral de ozônio em diferentes frequências de aplicação em sete dias.

5 DISCUSSÃO

Neste estudo com base na atuação do ozônio na formação de placa dentária, confirmou-se a hipótese de que a molécula empregada sob a forma de pomada em óleo mineral a cada 24 e 48 horas atua de forma mais eficiente na sua prevenção, quando associada ao tratamento periodontal convencional prévio, se comparada a não utilização da molécula. Pelo conhecimento do grupo pesquisador, não há relatos da utilização de óleo mineral ozonizado em cães, na literatura nacional e internacional em inglês, até a presente data, o que evidenciou lacunas sobre o uso adjuvante da molécula do ozônio como método preventivo e terapêutico de afecções orais nesta espécie.

A utilização de cães como modelo experimental para estudos sobre o tratamento da doença periodontal de humanos já é descrita na literatura como controverso devido à diferença entre microbiotas (ELLIOTT et al., 2005). Entretanto, a crescente domesticação da espécie incentiva o desenvolvimento de pesquisas nas especialidades dentro da medicina veterinária, como é o caso da odontologia veterinária.

Diante a elevada frequência de acometimento da doença periodontal em cães (KLEIN, 2000; NISES et al., 2018), a sua correlação com a idade (SCHROEDER; ATTSTRÖM, 1979; KLEIN, 2000; WALLIS et al., 2018) e o aumento da expectativa de vida desta espécie observada na rotina veterinária, a prevenção da afecção mostra-se de grande importância para manutenção da saúde e qualidade de vida, evitando-se as complicações citadas em literatura (PEDDLE et al., 2009; NABI et al., 2014; BOSTRÖM et al., 2015).

A redução do volume de microrganismos da cavidade oral é definido como o método mais eficiente de prevenir a instalação da doença periodontal (PENMAN; HARVEY, 1992; WIGGS; LOBPRISE, 1997; GORREL; WARRICK; BIERER, 1999; HARVEY, 2005; GOUVEIA, 2009), porém acredita-se que a desorganização destes microrganismos na placa seja o que permite a prevenção dos efeitos deletérios por eles induzidos. A avaliação de um novo método adjuvante de rápido efeito antimicrobiano (LAPOLLI et al., 2005), baixo índice mutagênico (MEHLMAN; BOREK, 1987) e que não apresenta sinais de toxicidade (BOCCI, 2006) foi foco de pesquisa do presente estudo. Para tanto, foi utilizado um composto de ozônio devido

aos relevantes resultados relatados na odontologia (VELANO et al., 2001; TRAINA, 2008; OGUZ et al., 2011; PATTANAIK et al., 2011).

Para reduzir o viés do tratamento por influências na saúde oral, foram aceitos apenas cães clinicamente hígidos e que se enquadravam em características previamente descritas. Muitos cães triados no Hospital Veterinário da FMVZ - USP não foram incluídos por causas diversas como grau de doença periodontal e idade avançadas, maloclusão com apinhamento dentário, retro ou prognatia, doença sistêmica concomitante como diabetes, cardiopatia grave, atopia, e peso fora do padrão pré-estabelecido. Essas características poderiam interferir nos resultados, em concordância à literatura (KLEIN, 2000; HARVEY, 2005; VOHC, 2018c).

A necessidade de anestesia geral para o completo exame da cavidade oral é fator limitador na pesquisa em odontologia veterinária, como já referido em estudo anterior (WALLIS et al., 2018). Para dentes sem mobilidade, a radiografia intraoral e a sondagem periodontal são as únicas formas acuradas de determinar o grau da periodontite (HARVEY, 2005). Assim, a difícil identificação clínica entre gengivite e periodontite foi evidenciada, conforme preconizado pela literatura (KYLLAR; WITTER, 2005).

Todos os cães selecionados tiveram padronização da alimentação durante o protocolo. Sabe-se que há interferência à formação de placa dentária pela ação mecânica ou química do alimento na dependência de sua consistência, tamanho e composição (KLEIN, 2000; HARVEY, 2005; KYLLAR; WITTER, 2005; VOHC, 2018c; WALLIS et al., 2018). Assim, foi fornecida quantidade específica da ração com dosagem específica do volume diário fornecido por animal, além da exigência em fornecê-la seca, sem qualquer outro alimento durante sete dias.

Dos 37 cães previamente selecionados, os quais se enquadravam em todos os critérios de inclusão pré-estabelecidos, sete foram excluídos no decorrer do estudo, sendo três deles por alteração à radiografia intra-oral transoperatória, com reabsorção óssea alveolar por periodontite ou presença de dente incluso, sendo todos com indicação de extração dentária. As demais exclusões do estudo foram secundárias à má-formação amelodentinária em dente canino maxilar, nefropatia aguda no pré-operatório, indisciplina de tutor por fornecer alimentação diversificada ao cão durante a semana de tratamento e indisciplina do cão por apresentar agressividade à aplicação do material terapêutico.

Dois dos 32 cães foram testados em diferentes protocolos, com intervalo de seis meses entre eles, o que vai ao encontro das diretrizes preconizadas pelo VOHC, nas quais o período mínimo entre protocolos para avaliação de produtos quimicamente ativos é de sete dias (VOHC, 2018c). Ou seja, foram selecionados 30 cães para 32 protocolos terapêuticos.

O medicamento em apresentação de pomada ozonizada previamente, foi disponibilizado em recipientes individuais e armazenados protegidos de luz e calor, conforme preconizado pela literatura (IORIO et al., 2016). A pomada mostrou suas características físicas inalteradas a olho nu, bem como ausência de rancificação até o final do período de avaliação, pelo uso do óleo mineral. Não foram observadas mudanças organolépticas da amostra, estando de acordo com Iorio et al. (2016). Apesar disso, para correlacionar definitivamente os resultados obtidos à molécula de ozônio na composição final da pomada, a realização de estudos laboratoriais como testes microbiológicos e determinação iodométrica da concentração da molécula de ozônio confirmariam a presença da molécula ativa, diferente do que ocorre em ozonizações de óleos vegetais como preconiza estudos de Guinezi et al. (2011) e Travagli et al. (TRAVAGLI et al., 2010).

As características da pomada ozonizada permitiram boa tolerância dos cães, em concordância com a literatura (TIWARI et al., 2016). Descrito como de odor pungente (UYSAL, 2014; TIWARI et al., 2016), é correlacionado à limitação de seu uso em pacientes sensíveis (UYSAL, 2014). Apenas um cão durante o protocolo apresentou-se indócil durante a aplicação do material terapêutico, não sendo possível correlacionar o fato às características físico-químicas do ozônio ou à abordagem à cavidade oral do cão pelo responsável.

As avaliações clínicas foram realizadas de forma padronizada pelo mesmo operador, sendo mantido o intervalo de tempo para todas as análises. Visando inicialmente a identificação de placa dentária, o estudo foi conduzido com avaliação em sete dias segundo recomendações do VOHC (2016). Considerando-se a análise de placa pareada entre avaliação clínica e computadorizada, optou-se pela utilização do “índice de placa original de Logan e Boyce” para toda a superfície dentária corada. A utilização da solução evidenciadora de placa à base de eosina aquosa a 2% mostrou-se adequada para o presente estudo, em concordância com a literatura (ABDALLA, 2008). Segundo Löe; Theilade e Jensen (1965), há menor prevalência

de formação de placa dentária nas superfícies lingual e palatina, o que justificou a exclusão da avaliação dessas faces para o índice de placa no presente estudo.

O estudo piloto incluindo quatro cães por grupo não permitiu avaliação estatística significante. Foram adicionados seis cães aos grupos GC e G4, enquanto nos demais (G1, G2 e G3), foram mantidos apenas quatro cães por grupo. Optou-se pelo maior número amostral em GC e G4 visto serem os grupos de protocolos extremos. Análises foram conduzidas de forma a permitir a máxima comparação das variáveis, mesmo em grupos com diferentes números amostrais. Assim, análises de G1, G2 e G3 podem justificar resultados discrepantes. O tempo de estudo foi limitador para o recrutamento dos modelos experimentais, inviabilizando maiores conclusões referentes à comparação entre os diferentes protocolos terapêuticos.

A única aplicação de placebo no pós-operatório imediato no grupo controle foi incluída visto a intenção inicial de se comparar a utilização de placebo ao material terapêutico em todos os protocolos, o que seria justificado pela possibilidade de a aplicação digital intervir na deposição de placa dentária. Entretanto, pela reduzida amostragem de cães e tendo-se a hipótese de que uma única aplicação do placebo poderia ser mencionada como tratamento periodontal convencional, os cães foram mantidos na pesquisa. Pressupõe-se que a utilização de pomada poderia aumentar a retentividade da superfície à placa dentária se comparada às condições fisiológicas da superfície dentária pela rugosidade do excipiente à superfície. Neste sentido, a utilização da pomada, seja placebo ou ozonizada, em todos os grupos permitiu a padronização da superfície em 7 dias. Corroborando o fato, as diferenças de resultados observadas entre GC e G4 poderiam estar subestimadas caso GC apresentasse condições de superfície fisiológicas, sem qualquer aplicação de material retentivo. Além disso, também pode-se ressaltar a atuação da molécula de ozônio nessa possível ação negativa de retentividade induzida pelo produto.

A utilização de cães domiciliados e a frequência de aplicação do material terapêutico nos diferentes protocolos inviabilizaram a padronização de aplicação pelo mesmo operador. Durante os dias de tratamento, a necessidade da colaboração do responsável pelo cão foi de grande valor, o que incluiu o contato diário com o mesmo para validação da metodologia aplicada em domicílio. O Hospital Veterinário da FMVZ - USP, localizado em um grande centro metropolitano como a cidade de São Paulo, atende a clientes de diversas zonas da cidade, e restringir a participação de cães oriundos da mesma região reduziria ainda mais a

amostragem da pesquisa. Este viés poderia ser evitado com a utilização de cães residentes em um mesmo local, como organizações não governamentais, por exemplo.

Dentre as orientações ao responsável no início do protocolo terapêutico, evidenciou-se a não utilização de dispositivos mecânicos para a aplicação do produto, sendo aplicado digitalmente por movimento suave nas superfícies vestibulares dos dentes, sem a intenção de ação mecânica, conforme preconizada na literatura (VOHC, 2018c). Movimentos circulares foram indicados para a promoção da infiltração do material em espaço subgengival, além da cobertura completa da superfície dentária com o óleo. Porém, não foi possível correlacionar a suave aplicação digital à possível ação mecânica na desorganização de placa dentária. Outra opção seria a de realizar o controle negativo apenas com a padronização da dieta, segundo diretrizes do VOHC (2018c). Entende-se como viés de metodologia a força de aplicação digital a qual pode ter sido variada entre os diferentes grupos. Apesar disso, o próprio VOHC (2018c) autoriza aplicação em domicílio para produtos em teste.

Também foi orientado ao responsável não realizar a aplicação do material terapêutico quando coincidente ao período de pré-operatório para segunda sessão (T7), como demonstrado pela figura 2; o preparo pré-anestésico com jejum alimentar e hídrico em cães poderia influenciar os resultados pela possível manutenção da molécula em contato com o tecido oral no momento da avaliação, mascarando sinais clínicos avaliados. As avaliações clínicas em T7 vão de encontro ao preconizado pelas diretrizes do VOHC (2018c) por inviabilidade de realização de procedimento anestésico em determinados dias e horários da semana no HOVET FMVZ-USP. Apesar disso, houve padronização em todos os grupos visando minimizar diferenças clinicamente detectáveis.

A epidemiologia da presença de placa e cálculo previamente a T0 não foi analisada. Sabe-se que a presença de cálculo dentário aumenta a deposição de placa - e induz a consecutiva inflamação gengival - por promover rugosidade de superfície, o que aumenta a retenção de bactérias (HARVEY; EMILY, 1993). Por essa razão, o índice de placa dentária em T0 foi considerado “grau zero” após o tratamento periodontal convencional em todos os cães, de acordo com o preconizado pelo VOHC (2018c), confirmada com a utilização do corante no pós-operatório imediato. Assim, foi realizada avaliação de placa dentária apenas em T7,

diferentemente da gengivite, a qual foi analisada de forma comparativa entre os tempos (T0 e T7), visando analisar a ação adjuvante anti-inflamatória da molécula de ozônio em sete dias.

Apesar disso, a homogeneidade entre os grupos dos diferentes protocolos foi garantida por análises estatísticas de peso, idade e índice médio de gengivite em T0 para todos os cães, demonstradas respectivamente nas tabelas 1 e 4. Com isso, pode-se influir que o benefício terapêutico não foi comprometido por características clínicas iniciais dos diferentes grupos.

Ausências dentárias foram identificadas em dentes pré-molares e molares, de acordo com relatos na literatura (HARVEY, 1992; LACERDA; OLIVEIRA; QUEIROZ, 2000), e foram consideradas congênitas visto a ausência de sinais evidentes de periodontite e histórico de tratamento periodontal nos cães acometidos. O maior acometimento de cães sem raça definida pode ser justificado pelo grande volume de atendimento desses cães no HOVET FMVZ – USP. Apesar de identificadas, a baixa ocorrência amostral de dentes ausentes não interferiu nos resultados comparativos entre análises que incluíam ou não todos os dentes. Isso vai ao encontro das diretrizes do VOHC (2018c) as quais já direcionam também a análise para dentes específicos, possivelmente pelo maior acúmulo de placa nos mesmos ou ainda pela maior frequência de agenesia em pré-molares se comparada aos demais elementos dentários.

Os resultados apresentados no gráfico 1 evidenciam que a média de índice de placa mostrou-se menor com a aplicação de ozônio a cada 24 horas (G4) se comparada a todos os grupos, porém sem diferença significativa quanto à sua aplicação a cada 48 horas (G3). Harvey (2005) preconiza que a escovação dentária em dias alternados também permite resposta adequada para manutenção da saúde periodontal, o que está de acordo com os achados.

A análise dos diferentes grupos dentários avaliados seguiu preceitos da literatura (LÖE; THEILADE; JENSEN, 1965; WALLIS et al., 2018). Conforme os dados demonstrados na tabela 2, os dentes incisivos apresentaram a menor média de formação de placa, o que também foi evidenciado pelos gráficos 2 e 3. Apesar disso, no estudo de Wallis et al. (2018), os primeiros dentes a desenvolver periodontite são incisivos. Acredita-se que esta análise não esteja relacionada tão somente à deposição de placa, mas também à anatomia, visto os incisivos serem

dentes uniradiculares inseridos em região com menor densidade óssea, possibilitando perda de tecido de sustentação de forma mais pronunciada.

Pela análise entre os diferentes protocolos, para todos os grupos de dentes maxilares (gráfico 2), melhor efeito antiplaca foi observado após a aplicação diária da pomada (G4) quando comparada à sua não aplicação (GC). Este resultado evidencia o efeito positivo da molécula de ozônio em toda a extensão de dentes maxilares, mesmo naqueles de mais difícil acesso. Apesar disso, resultado estatístico foi observado apenas em caninos e incisivos, o que também pode ser justificado pela facilidade de acesso de aplicação do produto. Para eles, evidenciou-se que a aplicação diária foi mais eficiente do que a cada 72 horas e do que sua única aplicação semanal.

Pela distribuição de ausências dentárias demonstradas no quadro 4, a avaliação de molares mandibulares de G1 poderia apresentar resultados pouco homogêneos, influenciando respostas terapêuticas comparativas entre os protocolos, o que não foi observado pela análise do gráfico 3. Além disso, o mesmo gráfico mostrou que a aplicação diária de ozônio (G4) permitiu melhor efeito antiplaca em todos os grupos dentários mandibulares quando comparados a sua não aplicação (GC), com exceção de molares para o protocolo de ozônio a cada 48 horas (G3). Acredita-se que o baixo número amostral deste grupo possa ter influenciado a homogeneidade amostral, bem como os resultados obtidos.

Pela análise computadorizada, obteve-se dados referentes às proporções entre medidas de área total e de placa das faces vestibulares. Entretanto, não foi realizada a calibração para mensuração da área real de cada dente, sendo as áreas calculadas fictícias, porém passíveis de comparação. O posicionamento de uma régua milimetrada no plano dos dentes à documentação fotográfica permitiria a obtenção da real área dentária, como referido por Abdalla (ABDALLA et al., 2009).

Além disso, limita-se a avaliação para dentes específicos, conforme identificados pela figura 4. Assim, os gráficos 4 e 5 evidenciam que, para ambos os métodos de avaliação, a aplicação de ozônio a cada 24 horas (G4) mostrou menor formação de placa com relação aos demais grupos. Este resultado também está em concordância com dados do gráfico 1, ou seja, a exclusão de determinados elementos dentários não interferiu nos resultados entre protocolos. Para os três, protocolos diários e em dias alternados evidenciaram respostas similares no efeito antiplaca.

A maior diferença observada entre os métodos de avaliação de placa foi que, para análise computadorizada (gráfico 5), animais do grupo controle apresentaram média de placa superior a todos os grupos, o que pode identificar maior acurácia na identificação de placa pelo computador, também relatado no estudo de Abdalla et al. (2009). Como dito anteriormente, o índice de placa original de Logan e Boyce permite a divisão mental da superfície da coroa em duas metades, sem a identificação de referências anatômicas específicas, o que pode subestimar o total da superfície coronária evidenciada pelo corante; dessa forma, preconiza-se para estudos de placa a utilização do índice de placa de Logan e Boyce modificado (HENNET et al., 2006).

Outras diferenças também poderiam ser relacionadas ao método computadorizado utilizado por este considerar apenas a área corada, independentemente da intensidade de cor do evidenciador, conforme também citado por Abdalla (2008). Além disso, a análise clínica ocorre de forma tridimensional, enquanto a computadorizada, pela análise fotográfica, de forma bidimensional. Dentes como o incisivo lateral maxilar tendem a apresentar distorção rotacional à documentação fotográfica, devido ao posicionamento do arco dentário dos dentes rostrais ser em plano diferente dos dentes caudais. Para avaliação da superfície vestibular desse dente, a foto deveria ser realizada por abordagem frontal, diferente do que ocorre na avaliação clínica, a qual permite total avaliação da face vestibular desses elementos dentários. (ABDALLA et al., 2009). Apesar disso, a utilização pareada dos dois métodos de avalição para formação de placa dentária evidenciaram resultados similares para estudo com único avaliador.

A análise do percentual de redução médio de placa dentária foi realizada objetivando-se avaliar a efetividade da molécula terapêutica no modelo experimental, sendo este um dos pré-requisitos para obtenção do selo de aprovação de produtos antiplaca por órgão internacional (VOHC, 2018c). A diferença mínima requerida entre “médias de índices” dos dentes de todos os cães do grupo teste, comparando-se ao grupo controle, deve ser de 15%. Para determinar esta possível redução, foram confrontados grupos de mesmo tamanho amostral, sendo eles GC e G4. Para os dados obtidos por ambas as análises – clínica e computadorizada, demonstrados da tabela 3, evidenciou-se que o uso diário do óleo mineral ozonizado se mostrou mais eficiente no efeito antiplaca do que sua não utilização, após o tratamento periodontal convencional.

Acredita-se que o efeito antiplaca pelo uso do óleo mineral ozonizado ocorra pela atuação da molécula durante agregação e adesão bacteriana, com o consequente retardo da formação do glicocálix na superfície da bactéria, além do efeito antimicrobiano direto associado à supressão do crescimento ou morte das bactérias envolvidas do processo, em concordância com relatos de (HARVEY, 2005).

A ação do ozônio em bactérias previamente comprovadas em humanos (SECHI et al., 2001; LEITE RODRIGUES et al., 2004; NAGAYOSHI et al., 2004), muitas delas também identificadas na microbiota oral de cães, como *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp e *Porphyromonas* spp, (WIGGS; LOBPRISE, 1997; HARVEY, 1998; BRAGA et al., 2005; ELLIOTT et al., 2005; HARDHAM et al., 2005; CARVALHO; CABRAL, 2007), podem justificar a ação benéfica do material terapêutico quanto à formação de placa. Em especial, a redução da formação da placa após aplicação diária de ozônio pode ser correlacionada à ação direta da molécula na multiplicação de bactérias como S*treptococcus* spp., com a consequente redução da liberação de seus polissacarídeos os quais auxiliam na aderência intercelular da placa, como referido no estudo de Hamada; Slade (1980). Ainda, a redução da liberação de polissacarídeos retardariam o processo de adesão celular no início da formação da placa, o que possivelmente aumentaria sua permeabilidade e reduziria a organização dos microrganismos em biofilme, em concordância com Zambori et al. (2016).

A avaliação comparativa da gengivite clínica entre os tempos (T0 e T7) seguiu referência da literatura com estudo em humanos, a qual refere o restabelecimento da saúde oral após sete dias de tratamento (LÖE; THEILADE; JENSEN, 1965), sendo realizada de forma complementar ao objetivo inicial do presente trabalho de avaliação de placa dentária. Para a indexação, o deslizamento da sonda por todas as faces dentárias permitiu a identificação do grau de inflamação por elemento dentário (GIOSO, 2007). Acredita-se que ozônio poderia ser fielmente correlacionado ao retardo ou diminuição dos sinais clínicos da gengivite caso fosse realizado o acompanhamento clínico nos tempos T0, T21 e T28, conforme preconizado por Löe; Theilade; Jensen (1965) e VOHC (2018c), afim de também avaliar a velocidade do desenvolvimento da periodontite e sua resolução.

Apesar disso, alguns achados clínicos evidenciam o potencial anti-inflamatório da molécula de ozônio adjuvante ao tratamento periodontal

convencional. A análise comparativa entre T0 e T7, demonstrada pelo gráfico 6, evidenciou a redução do grau inflamatório para todos os grupos com ozônio, exceto em G1 e G2 os quais mostraram-se estáveis para determinadas gradações. Identificou que apenas para o grupo controle (GC) houve acréscimo do número médio de cães com presença do grau mínimo de gengivite (grau 1). Este fato pode ser relacionado ao potencial inflamatório do trauma cirúrgico, associado à capacidade de indução à inflamação gengival pela formação de placa em sete dias para alguns cães. A ausência de médias de gengivite superiores nos grupos com ozônio após sua aplicação, comparando-se T0 e T7, permite relatar que essa inflamação inicial pôde ser contida pelo efeito anti-inflamatório direto do ozônio. Para as análises de gengivite, a incidência de ausências dentárias também não interferiu com a homogeneidade inicial dos grupos.

O gráfico 6 mostra que a resposta anti-inflamatória em sete dias foi tão eficiente após o tratamento convencional quanto este em associação a aplicação diária da pomada ozonizada; para este, houve redução significativamente maior do quadro inflamatório clínico, evidenciando o efeito adjuvante da molécula de ozônio ao tratamento convencional. Esse resultado vai ao encontro do que se preconiza na literatura sobre a raspagem e o polimento dentários serem procedimentos preventivos e curativos, por remover a doença pré-instalada e estimular do reparo tecidual (HARVEY, 2005). Ainda, o mesmo gráfico mostra tendência maior à resolução da gengivite clínica em T7 para os grupos tratados com ozônio, se comparados ao grupo controle, exceto pela aplicação em dias alternados (G3), o qual não mostrou essa tendência. Pode-se sugerir que o efeito antimicrobiano direto do ozônio em espécies bacterianas envolvidas na periodontite de cães permitiu o controle da liberação de mediadores inflamatórios localmente para os grupos ozonizados.

Acredita-se que a avaliação da resposta gengival ao tratamento em sete dias possa ser justificada pelo estudo em humanos de Löe; Theilade e Jensen (1965), o qual refere que, reiniciada a higienização dentária, em média após sete dias tem-se a resolução do quadro inflamatório gengival. No presente estudo, somente a aplicação de ozônio – não associado a métodos mecânicos de desorganização de placa, não mostrou resolução em sete dias, como observado na tabela 5. Porém, apesar de não ter sido identificada diferença significativa entre os grupos quanto à melhora, piora ou manutenção do índice inflamatório, houve tendência a melhora da

inflamação após a ozonização (G1, G2, G3 e G4), se comparada à sua não utilização (GC). O grupo sem ozônio apresentou a maior taxa de ausência de resposta no grau de gengivite em sete dias.

Na mesma tabela 5, o aumento do índice de inflamação foi observado em baixa frequência para todos os grupos, se comparada às demais respostas, o que equivale ao descrito anteriormente sobre a ação traumática do procedimento cirúrgico e presença mínima de placa dentária, porém nesta análise foi identificada como presente em todos os grupos, diferente do que foi mostrado e discutido sobre o gráfico 6. Como citado anteriormente, o baixo número amostral de G3 pode ter interferido no resultado discrepante observado quanto à evolução negativa da inflamação, o que também pode ter influenciado positivamente os grupos G1 e G2.

A concentração terapêutica da molécula em tecidos subgengivais não foi avaliada nesta pesquisa, porém acredita-se que ela foi mantida mesmo com maior intervalo entre aplicações, demonstrada pelos resultados benéficos em todos os grupos ozonizados evidenciados no gráfico 6 e tabela 5. Isso poderia indicar boa penetração tecidual e efeito residual do ozônio em óleo mineral, diferente do que ocorre quando utilizada água ozonizada, a qual não permite efeito residual segundo Cardoso et al. (2008).

Efeitos tóxicos secundários ao uso tópico do óleo ozonizado ainda não foram relatados, diferentemente do que ocorre após a inalação direta do gás (BOCCI, 2006). Os resultados obtidos inferem que não houve indícios de sinais de toxicidade gastrointestinal ou desconforto à molécula nos cães do presente estudo, em concordância com a literatura (SECHI et al., 2001; NAGAYOSHI et al., 2004; HUTH et al., 2006; KIM et al., 2009; MONTEVECCHI et al., 2013). Apenas um cão de G2 apresentou episódio emético nas primeiras 12 horas após a primeira aplicação da pomada; a ausência de demais efeitos gastrointestinais no mesmo cão e nos demais minimiza a probabilidade de intoxicação ou hipersensibilidade ao material terapêutico, em concordância com a literatura (BOCCI, 2006). Apesar disso, a pesquisa de Löe; Theilade e Jensen (1965), refere o prazo médio de 21 dias para a instalação da inflamação gengival, não havendo tempo hábil, no presente estudo, para afirmar que a aplicação da pomada ozonizada poderia ou não causar hipersensibilidade gengival. Para a confirmação desde efeito, estudos futuros devem ser conduzidos para avaliar o efeito da aplicação tópica do ozônio em pelo menos 21

dias de ozonioterapia. Assim, também se possibilitaria a avaliação acumulativa da molécula ingerida e seus possíveis efeitos colaterais sistêmicos.

Pôde-se também evidenciar a associação de placa na indução da inflamação gengival, o que segue os princípios previstos por Löe, Theilade e Jensen (1965), quando comparados os dados dos gráficos 1, 5 e 6. Para todas as análises em T7, a menor média de placa obtida pela aplicação diária de ozônio também induziu à maior média de ausência de inflamação. A análise computadorizada também permitiu correlação a resposta de menor índice de placa e maior resolução da gengivite para aplicação de ozônio a cada 72 horas (G2) e de forma única (G1), com relação ao grupo controle. Segundo preceitos da literatura que evidenciam que quadros de periodontite sejam secundários à mediadores inflamatórios locais e sistêmicos (YUCEL-LINDBERG; BÅGE, 2013; KALBURGI et al., 2014), a redução da gengivite clínica secundária à presença de placa mostra-se como um método adjuvante na progressão da afecção.

Considerando os resultados obtidos com as limitações deste estudo clínico e visando experimentos futuros, como médicos veterinários, devemos enfatizar a importância clínica da inflamação crônica instalada também em tecidos periodontais, não só a presença de placa e cálculo dentário, com a possibilidade de desencadeamento de alterações sistêmicas. A prevenção da doença é diretamente relacionada à prevenção do acúmulo de placa ou pela supressão de efeitos destrutivos ao tecido pela resposta inflamatória. A escovação dentária é o padrão ouro de prevenção (HARVEY, 2005; LAGE-MARQUES, 2008; STRATTON, 2012; ABREU-VILLELA et al., 2017), porém condutas adjuvantes podem auxiliar na prevenção da instalação de processos deletérios, promovendo conforto e saúde oral a curto e longo prazo.

6 CONCLUSÕES

I. A ozonioterapia sob aplicação digital de pomada de óleo mineral ozonizada a 30% apresentou melhor efeito antiplaca do que sua não aplicação, quando realizada após o tratamento periodontal convencional, evidenciando a ação adjuvante para a prevenção de doença periodontal em cães hígidos;

II. A aplicação de pomada ozonizada diariamente ou em dias alternados mostrou resultados similares, sendo que resultados superiores foram obtidos após aplicação diária.

Ainda foi observado a possibilidade de ação residual do ozônio em óleo mineral em dentes de difícil acesso, bem como a ausência de sinais de toxicidade gastrointestinal e efeitos colaterais tópicos em tecido oral com sua utilização em sete dias em diferentes frequências de aplicação. Finalmente, este experimento corrobora a boa experiência clínica da utilização do ozônio como método terapêutico atraumático que permitiu com rapidez e eficiência a ação adjuvante ao tratamento periodontal convencional para a prevenção da formação de placa e instalação da doença periodontal por sua ação antimicrobiana e química.

REFERÊNCIAS

ABDALLA, S. L. **Análise computadorizada para avaliação dos índices de placa bacteriana e cáluclo dentário em cães (Canis familiaris)**. 2008. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro., 2008.

ABDALLA, S. L.; SILVA, M. F. A.; PEREIRA, A. R. C.; AZEVEDO, F. D.; FERNANDES, J. I.; MINONO, G. P.; BOTELHO, R. P. Quantificação computadorizada dos índices de placa e cálculo dentais da imagem digital da superfície vestibular dos dentes de cães. **Pesquisa Veterinaria Brasileira**, v. 29, n. 8, p. 666–672, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2009000800011>. Acesso em: 4 out. 2018.

ABREU-VILLELA, P.; SOUZA, N. de C. de; BAIA, J. D.; GIOSO, M. A.; ARANHA, A. C. C.; DE FREITAS, P. M. Antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) and photobiomodulation (PBM – 660 nm) in a dog with chronic gingivostomatitis. **Photodiagnosis and Photodynamic Therapy**, v. 20, n. September, p. 273–275, 2017. Disponível em: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S1572100017304441?token=DA57F3BEC53D561B3C9E4C30264D279CF334CC4C40F2667D8D2F40B71EEBCB9BF8540D0BB508D4134ED158F050C811B5>. Acesso em: 4 out. 2018.

AZARPAZHOOH, A.; LIMEBACK, H. The application of ozone in dentistry: A systematic review of literature. **Journal of Dentistry**, v. 36, n. 2, p. 104–116, 2008. Disponível em: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0300571207002412?token=D4626F23E2146189FA863A43253CF05768D4E6F99B9CBF9660D64DBB56359C30EB51E41B82056A41FDE7DB341B4E57A3>. Acesso em: 2 jun. 2018.

BOCCI, V. A. Scientific and medical aspects of ozone therapy. State of the art. **Rivista Italiana di Ossigeno-Ozonoterapia**, v. 5, n. 2, p. 93–104, 2006. Disponível em: <https://www.arcmedres.com/article/S0188-4409(05)00342-5/fulltext>. Acesso em: 2 jun. 2018.

BOCCI, V.; ZANARDI, I.; TRAVAGLI, V. Oxygen/ozone as a medical gas mixture. A critical evaluation of the various methods clarifies positive and negative aspects. **Medical Gas Research**, v. 1, n. 1, p. 6, 2011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3231820/pdf/2045-9912-1-6.pdf>. Acesso em: 2 jun. 2018.

BOSTRÖM, E. A.; KINDSTEDT, E.; SULNIUTE, R.; PALMQVIST, P.; MAJSTER, M. Increased eeotaxin and MCP-1 levels in serum from individuals with periodontitis and in human gingival fibroblasts exposed to pro-inflammatory cytokines. **PLoS ONE**, v. 10, n. 8, p. 1–19, 2015. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0134608>. Acesso em: 2 jun. 2018.

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

CARVALHO, M. A. R. Isolamento e identificação da microbiota periodontal de cães da raça Pastor Alemão. **Ciência Rural**, v. 35, n. 2, p. 385–390, 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cr/v35n2/a22v35n2.pdf>. Acesso em: 6 jun. 2018.

CARDOSO, M. G.; DE OLIVEIRA, L. D.; KOGA-ITO, C. Y.; JORGE, A. O. C. Effectiveness of ozonated water on Candida albicans, Enterococcus faecalis, and endotoxins in root canals. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology**, v. 105, n. 3, p. 85–91, 2008. Disponível em: <https://ac.els-cdn.com/S1079210407008268/1-s2.0-S1079210407008268-main.pdf?_tid=19ef7944-af7a-4524-b12f-a66a2f424d6f&acdnat=1542657582_5e8b5d6c061c007e103f2a389b834291>. Acesso em: 4 out. 2018.

CARVALHO, C.; CABRAL, C. T. Papel da Porphyromonas gingivalis na doença periodontal. **Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentaria e Cirurgia Maxilofacial**, v. 48, n. 3, p. 167–171, 2007. Disponível em: <http://administracao.spemd.pt/app/assets/imagens/files_img/1_19_5a36f58c53931.pdf>. Acesso em: 6 jun. 2018.

ELLIOTT, D. R.; WILSON, M.; BUCKLEY, C. M. F.; SPRATT, D. A. Cultivable oral microbiota of domestic dogs. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 11, p. 5470–5476, 2005. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1287777/pdf/0357-05.pdf>. Acesso em: 4 out. 2018.

GIOSO, M. A. **Odontologia Veterinária para o Clínico de Pequenos Animais**. 2ª ed. São Paulo: Manole, 2007.

GORREL, C. **Odontologia em Pequenos Animais**. São Paulo: Elsevier Saunders, 2010.

GORREL, C.; WARRICK, J.; BIERER, T. L. Effect of a new dental hygiene chew on periodontal health in dogs. **Journal of Veterinary Dentistry**, v. 16, n. 2, p. 77–81, 1999. Disponível em: <http://journals.sagepub.com/doi/1https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/089875649901600203>. Acesso em: 4 out. 2018.

GOUVEIA, A. I. E. A. **Doença periodontal no cão**. 2009. Universidade Técnica de Lisboa, 2009. Disponível em: <https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/1677/1/Doença periodontal no cão.pdf>.

GUINESI, A. S.; ANDOLFATTO, C.; IDOMEO, B. F.; ARNALDO, A. C.; JULIANO, P. F.; ROBERTA, V. F. Ozonized Oils: A qualitative and quantitative analysis. **Brazilian Dental Journal**, v. 22, n. 1, p. 37–40, 2011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC373181/pdf/microrev00063-0161.pdf>. Acesso em: 4 out. 2018.

HAMADA, S.; SLADE, H. D. Biology , Immunology , and Cariogenicity of Streptococcus mutanst. **Microbiological Reviews**, v. 44, n. 2, p. 331–384, 1980.

Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC373181/pdf/microrev00063-0161.pdf>. Acesso em: 9 nov. 2018.

HARDHAM, J.; REED, M.; WONG, J.; KING, K.; LAURINAT, B.; SFINTESCU, C.; EVANS, R. T. Evaluation of a monovalent companion animal periodontal disease vaccine in an experimental mouse periodontitis model. **Vaccine**, v. 23, n. 24, p. 3148–3156, 2005. Disponível em: <https://ac.els-cdn.com/S0264410X05001003/1-s2.0-S0264410X05001003-main.pdf?_tid=854723de-ef5a-403e-8959-5ec08c7c3deb&acdnat=1542657920_bfeef24e5eb8f615a0a420218e5a7874>. Acesso em: 4 out. 2018.

HARVEY, C. E. Distúrbios orais, faringeanos e das glândulas salivares. In: ETTINGER, S. J. (Ed.). **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. 3 ed ed. São Paulo: Manole, 1992. p. 1265–1317.

HARVEY, C. E. Periodontal disease in dogs. Etiopathogenesis, prevalence, and significance. **The Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 28, n. 5, p. 1111–1128, 1998. Disponível em: <https://ac.els-cdn.com/S0195561698501052/1-s2.0-S0195561698501052-main.pdf?_tid=dfc6653b-667a-455d-bf89-bab918bd3f2c&acdnat=1542658010_188b78b901c7a7f0ae1d53d17c57b836>. Acesso em: 6 jun. 2018.

HARVEY, C. E. Management of periodontal disease: Understanding the options. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 31, p. 819–836, 2005. Disponível em: <https://ac.els-cdn.com/S0195561605000276/1-s2.0-S0195561605000276-main.pdf?_tid=57c4f171-bd66-4700-b0bd-6c11572ebb3c&acdnat=1542658048_52d0385ac8b77ea64713967bd479b735>. Acesso em: 4 out. 2018.

HARVEY, C. E.; EMILY, P. P. **Small Animal Dentistry**. St Louis: Mosby-Year Book Inc., 1993.

HENNET, P.; SERVET, E.; SALESSE, H.; SOULARD, Y. Evaluation of the Logan & Boyce plaque index for the study of dental plaque accumulation in dogs. **Research in Veterinary Science**, v. 80, n. 2, p. 175–180, 2006. Disponível em: <https://ac.els-cdn.com/S0034528805001037/1-s2.0-S0034528805001037-main.pdf?_tid=0bae4680-5cec-42e3-a935-21b87f5dcb70&acdnat=1542658142_357659c49c708b2932867473b4f5d8e4>. Acesso em: 4 out. 2018.

HOLLAND, A. Ozone in endodontics. **Endodontic Practice**, p. 6–10, 2010. Disponível em: <http://www.rootfillings.com/pdf/ozone.pdf>. Acesso em: 4 out. 2018.
HUTH, K. C.; JAKOB, F. M.; SAUGEL, B.; CAPPELLO, C.; PASCHOS, E.; HOLLWECK, R.; HICKEL, R.; BRAND, K. Effect of ozone on oral cells compared with established antimicrobials. **European Journal of Oral Sciences**, v. 114, n. 5, p. 435–440, 2006. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1600-0722.2006.00390.x>. Acesso em: 4 out. 2018.

IORIO, F. B. R. D.; LIBERATORE, A. M. A.; KOH, I. H. J.; OTANI, C.; CAMILO, F. F. Ozonated mineral oil: preparation, characterization and evaluation of the microbicidal activity. **Ozone: Science and Engineering**, v. 38, n. 4, p. 253–260, 2016. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01919512.2015.1128801>. Acesso em: 4 out. 2018.

KALBURGI, V.; SRAVYA, L.; WARAD, S.; VIJAYALAXMI, K.; SEJAL, P.; HAZEIL, D. Role of systemic markers in periodontal diseases: A possible inflammatory burden and risk factor for cardiovascular diseases? **Annals of Medical and Health Sciences Research**, v. 4, n. 3, p. 388, 2014. Disponível em: <http://www.amhsr.org/text.asp?2014/4/3/388/133465>. Acesso em: 27 set. 2018.

KIM, H. S.; NOH, S. U.; HAN, Y. W.; KIM, K. M.; KANG, H.; KIM, H. O.; PARK, Y. M. Therapeutic effects of topical application of ozone on acute cutaneous wound healing. **Journal of Korean Medical Science**, v. 24, n. 3, p. 368–374, 2009. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2698179/pdf/jkms-24-368.pdf>. Acesso em: 4 out. 2018.

KLEIN, T. Predisposing factors and gross examination findings in periodontal disease. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 15, n. 4, p. 189–196, 2000. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1096286700800389>. Acesso em: 4 out. 2018.

KYLLAR, M.; WITTER, K. Prevalence of dental disorders in pet dogs. **Veterinary Medicine Czech**, v. 50, n. 11, p. 496–505, 2005. Disponível em: <http://vri.cz/docs/vetmed/50-11-496.pdf>. Acesso em: 4 out. 2018.

LACERDA, M. S. de; OLIVEIRA, S. T. de; QUEIROZ, D. N. Variações anatômicas na dentição de cães sem raça definida. **Ciência Rural**, v. 30, n. 4, p. 655–659, 2000. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782000000400016&lng=pt&tlng=pt>. Acesso em: 4 out. 2018.

LAGE-MARQUES, M. **Estudo da ozonioterapia como contribuição para a odontologia veterinária**. 2008. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia; Universidade de São Paulo, 2008. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/10137/tde-17042009-161518/>.

LAPOLLI, F. R.; HASSEMER, M. E. N.; AMARGO, J. G.; DAMÁSIO, D. L.; LOBO-RECIO, M. Á. Desinfecção de efluentes sanitários através de dióxido de cloro. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 10, p. 200–208, 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-41522005000300004&script=sci_abstract&tlng=pt>. Acesso em: 4 out. 2018.

LEITE RODRIGUES, K.; CATELLANI CARDOSO, C.; CAPUTO, L. R.; TAVARES CARVALHO, J. C.; EVANGELISTA FIORINI, J.; SCHNEEDORF, J. M. Cicatrizing and antimicrobial properties of an ozonised oil from sunflower seeds. **Inflammopharmacology**, v. 12, n. 3, p. 261–270, 2004. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1163/1568560042342275>. Acesso em: 4 out.

2018.

LÖE, H.; THEILADE, E.; JENSEN, S. B. Experimental gingivitis in man. **Journal of Periodontology**, v. 36, n. 3, p. 177–187, 1965. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1902/jop.1965.36.3.177>. Acesso em: 27 ago. 2018.

MEHLMAN, M. A.; BOREK, C. Toxicity and biochemical mechanisms of ozone. **Environmental Research**, v. 42, n. 1, p. 36–53, 1987. Disponível em: <https://ac.els-cdn.com/S0013935187800051/1-s2.0-S0013935187800051-main.pdf?_tid=79f23690-b029-4b94-901e-d2a39c2a4bce&acdnat=1542658528_ea41f3f602313668892149d6bcf4e271>. Acesso em: 4 out. 2018.

MONTEVECCHI, M.; DORIGO, A.; CRICCA, M.; CHECCHI, L. Comparison of the antibacterial activity of an ozonated oil with chlorhexidine digluconate and povidone-iodine. A disk diffusion test. **New Microbiologica**, v. 36, n. 3, p. 289–302, 2013. Disponível em: <http://www.newmicrobiologica.org/PUB/allegati_pdf/2013/3/289.pdf>. Acesso em: 4 out. 2018.

NABI, S. U.; WANI, A. R.; SHAH, O. S.; DEY, S.; PRADESH, U.; AGRICULTURAL, A. Association of periodontitis and chronic kidney disease in dogs. **Veterinary Word**, v. 7, p. 403–407, 2014. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/f3a0/da1ab780b55c35e82c07938ed8f2bad4209c.pdf>. Acesso em: 27 set. 2018.

NAGAYOSHI, M.; FUKUIZUMI, T.; KITAMURA, C.; YANO, J.; TERASHITA, M.; NISHIHARA, T. Efficacy of ozone on survival and permeability of oral microorganisms. **Oral Microbiology and Immunology**, v. 19, n. 4, p. 240–246, 2004. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1399-302X.2004.00146.x>. Acesso em: 4 out. 2018.

NAKAO, A.; SUGIMOTO, R.; BILLIAR, T. R.; MCCURRY, K. R. Therapeutic antioxidant medical gas. **Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition**, v. 44, n. 1, p. 1–13, 2009. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2613492/pdf/jcbn-44-1.pdf>. Acesso em: 27 set. 2018.

NISES, J.; ROSANDER, A.; PETTERSSON, A.; BACKHANS, A. The occurrence of Treponema spp. in gingival plaque from dogs with varying degree of periodontal disease. **PloS one**, v. 13, n. 8, p. e0201888, 2018. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article/file?id=10.1371/journal.pone.0201888&type=printable>. Acesso em: 26 set. 2018.

OGUZ, E.; EKINCI, S.; EROGLU, M.; BILGIC, S.; KOCA, K.; DURUSU, M.; KALDIRIM, U.; SADIR, S.; YURTTAS, Y.; CAKMAK, G.; KILIC, A.; PURTULOGLU, T.; OZYUREK, S.; CEKLI, Y.; OZKAN, H.; SEHIRLIOGLU, A. Evaluation and comparison of the effects of hyperbaric oxygen and ozonized oxygen as adjuvant treatments in an experimental osteomyelitis model. **Journal of Surgical Research**,

v. 171, n. 1, p. e61–e68, 2011. Disponível em: <https://ac.els-cdn.com/S002248041100549X/1-s2.0-S002248041100549X-main.pdf?_tid=5388efb3-7a52-43bf-af42-2a62fc50eab9&acdnat=1542658777_707d086dcb424740ff9856878c216690>. Acesso em: 6 jun. 2018.

PATTANAIK, B.; PATTANAIK, S.; NAITAM, D.; JETWA, D.; MANGLEKAR, S.; DANI, A. Ozone therapy in dentistry: A literature review. **Journal of Interdisciplinary Dentistry**, v. 1, n. 2, p. 87, 2011. Disponível em: <http://www.jidonline.com/text.asp?2011/1/2/87/85024>. Acesso em: 4 out. 2018.

PEDDLE, G. D.; DROBATZ, K. J.; HARVEY, C. E.; ADAMS, A.; SLEEPER, M. M. Association of periodontal disease, oral procedures, and other clinical findings with bacterial endocarditis in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 234, n. 1, p. 100–7, 2009. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19119972>. Acesso em: 4 out. 2018.

PENMAN, S.; HARVEY, C. E. Periodontal Disease. In: HARVEY, C. E.; ORR, H. S. (Ed.). **Manual of Small Animal Dentistry**. 2nd. ed. [s.l.] West Sussex KCO, 1992. p. 37–48.

SCHROEDER, H. E.; ATTSTRÖM, R. Effect of mechanical plaque control on development of subgingival plaque and initial gingivitis in neutropenic dogs. **European Journal of Oral Sciences**, v. 87, n. 4, p. 279–287, 1979. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1600-0722.1979.tb00683.x>. Acesso em: 4 out. 2018.

SECHI, L. A.; LEZCANO, I.; NUNEZ, N.; ESPIM, M.; DUPRÈ, I.; PINNA, A.; MOLICOTTI, P.; FADDA, G.; ZANETTI, S. Antibacterial activity of ozonized sunflower oil (Oleozon). **Journal of Applied Microbiology**, v. 90, p. 279–284, 2001. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1046/j.1365-2672.2001.01235.x>. Acesso em: 4 out. 2018.

SILVER, J. G.; MARTIN, L.; MCBRIDE, B. C. Recovery and clearance rates of oral microorganisms following experimental bacteraemias in dogs. **Archives of Oral Biology**, v. 20, n. 10, p. 675–679, 1975. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0003996975901363>. Acesso em: 4 out. 2018.

STRATTON, K. Dentistry and Oral Surgery. v. 1, n. 76, 2012. Disponível em: <https://repository.upenn.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=3078&context=bellwether>. Acesso em: 4 out. 2018.

TIWARI, S.; AVINASH, A.; KATIYAR, S.; IYER, A. A. Dental applications of ozone therapy : A review of literature. **The Saudi Journal for Dental Research**, v. 8, n. 1–2, p. 105–111, 2016. Disponível em: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S2352003516300260?token=D775E474E3094D3C93CCD49D9F4AF17AF5A2BB15B6DEAD0F14AAAD6E67CDCB33B1F251EE0D6657D8FFF94D8CF44DB88E>. Acesso em: 6 jun. 2018.

TRAINA, A. **Efeitos biológicos da água ozonizada na reparação tecidual de feridas dérmicas em ratos**. 2008. Facudade de Odontologia da Universidade de São Paulo, 2008. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/23/23149/tde-08042009-150340/pt-br.php>.

TRAVAGLI, V.; ZANARDI, I.; VALACCHI, G.; BOCCI, V. Ozone and ozonated oils in skin diseases: A review. **Mediators of Inflammation**, v. 2010, p. 1–9, 2010. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/mi/2010/610418/>. Acesso em: 4 out. 2018.

UYSAL, B. Ozonated olive oils and the troubles. **Journal of Intercultural Ethnopharmacology**, v. 3, n. 2, p. 49–50, 2014. Disponível em: <http://www.scopemed.org/fulltextpdf.php?mno=153160>. Acesso em: 26 set. 2018.

VALACCHI, G.; FORTINO, V.; BOCCI, V. The dual action of ozone on the skin. **British Journal of Dermatology**, v. 153, n. 6, p. 1096–1100, 2005. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2133.2005.06939.x>. Acesso em: 4 out. 2018.

VELANO, H. E.; NASCIMENTO, L. C. Do; BARROS, L. M. De; PANZERI, H. Avaliação in vitro da atividade antibacteriana da água ozonizada frente ao Staphylococcus aureus. **Pesquisa Odontológica Brasileira**, v. 15, p. 1–5, 2001. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/pob/v15n1/a04v15n1.pdf>. Acesso em: 4 out. 2018.

VOHC, V. O. H. C. Trial Protocol - Detailed Requirements. In: **Veterinary Oral Health Council 2016**. [s.l: s.n.]

VOHC, V. O. H. C. Veterinary Oral Health Council History. In: **VOHC, Veterinary Oral Health Council 2018a**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <http://www.vohc.org/vohc_history.html>. Acesso em: 19 nov. 2018.

VOHC, V. O. H. C. Veterinary Oral Health Council mean page. In: **VOHC, Veterinary Oral Health Council 2018b**. [s.l: s.n.]p. 9. Disponível em: < http://www.vohc.org/l>. Acesso em: 19 nov. 2018.

VOHC, V. O. H. C. Trial Protocol - Detailed Requirements. In: **Veterinary Oral Health Council 2018c**. [s.l: s.n.] Disponível em: <http://www.vohc.org/protocol_details.html>. Acesso em: 4 out. 2018.

WALLIS, C.; PATEL, K. V.; MARSHALL, M.; STAUNTON, R.; MILELLA, L.; HARRIS, S.; HOLCOMBE, L. J. A longitudinal assessment of periodontal health status in 53 Labrador retrievers. **Journal of Small Animal Practice**, v. 59, n. September, 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30006940>. Acesso em: 4 out. 2018.

WIGGS, R. B.; LOBPRISE, H. B. Periodontology. In: **Veterinary dentistry principles & Practice**. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1997. p. 186–231.

YUCEL-LINDBERG, T.; BÅGE, T. Inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontitis. **Expert Reviews in Molecular Medicine**, v. 15, p. e7, 2013. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/services/aop-cambridge-core/content/view/05B60424BB7C7B946500A924A8B53453/S1462399413000082a.pdf/inflammatory_mediators_in_the_pathogenesis_of_periodontitis.pdf>. Acesso em: 4 out. 2018.

ZAMBORI, C.; MORVAY, A. A.; SALA, C.; LICKER, M.; GURBAN, C.; TANAISE, G.; TIRZIU, E. Antimicrobial effect of probiotics on bacterial species from dental plaque. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 10, n. 3, p. 214–221, 2016. Disponível em: <https://jidc.org/index.php/journal/article/view/27031452/1468>. Acesso em: 9 nov. 2018.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido utilizado como modelo

---

Em qualquer etapa do estudo, o tutor terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas.

É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de tratamento do animal na instituição. As informações obtidas (relativas ao tutor e ao animal) serão analisadas em conjunto com outros pacientes, não sendo divulgada a identificação de nenhum animal ou tutor.

O pesquisador também tem o compromisso de utilizar os dados e o material coletado apenas para esta pesquisa, tendo sido já aprovado pelo CEUAVET (Conselho de Ética de Uso Animal).

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo **"Ozonioterapia na saúde oral de cães".**

Afirmo ter discutido com a Dra Paula Abreu Villela sobre a minha decisão de incluir meu(s) animal(is) neste estudo. Foram esclarecidos os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados em meu(s) animal(is), seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes.

Concordo voluntariamente que meu(s) animal(is) participe(m) deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu ou meu(s) animal(is) possa(m) ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

_____ Data _____

Nome e assinatura do tutor / responsável (descrever vínculo)

Para o responsável do projeto

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste proprietário para a participação de seu(s) animal(is) neste estudo.

_____ Data _____

Nome a assinatura do responsável pelo estudo

APÊNDICE B –Protocolo de aplicação entregue ao responsável para grupo 4

Antes da aplicação:

Após a aplicação:

Protocolo 4: calçando luvas de procedimento novas, o responsável deverá aplicar uma fina camada (0,5cm de espessura) da pomada fornecida, utilizando o dedo indicador com movimentos suaves e circulares até total recobrimento do dente e gengiva, em todas as arcadas (superior e inferior) na face externa de ambos os lados (direito e esquerdo), a cada 24 horas durante 07 dias.

- Realizar a aplicação da pomada após a última refeição do dia;
- Manter o paciente em jejum alimentar e hídrico por 30 minutos antes e após a aplicação da pomada;
- Utilizar somente a ração fornecida:
  Premier Golden® Frango e Arroz minibits: ___ gramas por dia.
- Não fornecer petiscos ou demais alimentos durante os 7 dias de tratamento;
- Não permitir exercícios periodontais, ou seja, não fornecer brinquedos, "ossinhos" ou demais objetos que possam intervir nos resultados do projeto;
- Em caso de necessidade de qualquer tratamento medicamentoso (antibiótico, antiinflamatório) por via oral ou tópica, favor comunicar a equipe responsável.

❖ Manter a pomada em ambiente protegido de luz, umidade e calor; não refrigerar.

ANEXOS

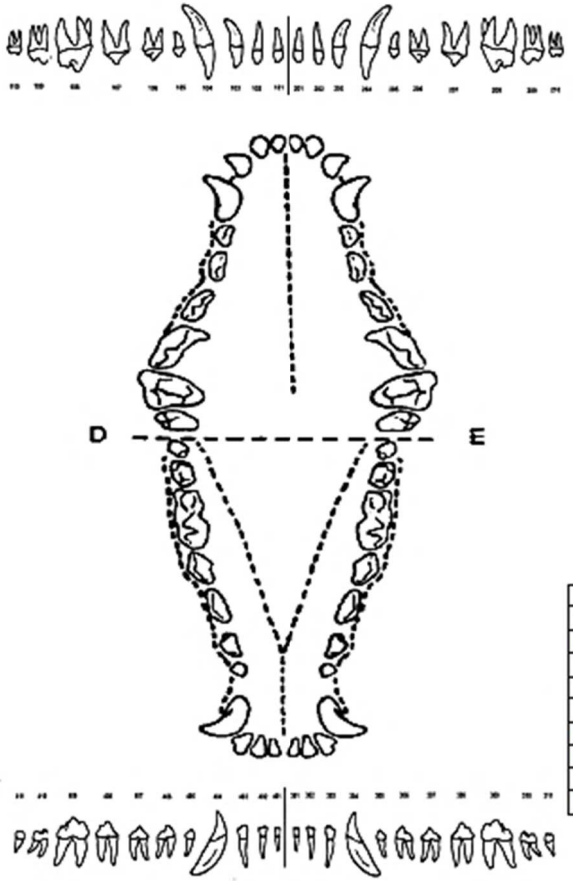
ANEXO A – Odontograma utilizado pela equipe do Laboratório de Odontologia Comparada da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (LOC FMVZ -USP)

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Serviço de Cirurgia de Pequenos Animais - HOVET
Laboratório de Odontologia Comparada

CANÍDEOS

Nome: _____ Prontuário: _____ Peso: _____ Data: _____

Ficha de exame clínico



Legenda

Bolsa periodontal (BP) em mm	Giro-versão (GV)
Retração gengival (RG) em mm	Apinhamento dental (AD)
Exposição de furca (EF) grau I, II, III	Desgaste (D)
Hiperplasia gengival (HG)	Escurecimento dental (ED)
Mobilidade dental (MD) grau I, II, III	Erosão de esmalte (EE)
Gengivite (G) grau I, II, III	Hipoplasia de esmalte (HE)
Placa (P) grau I, II, III	Lesão de reabsorção (LR)
Cálculo (C) grau I, II, III	Cárie (Ca)
Ausência de dente (E)	Dente não erupcionado (NE)
Fratura dental (FD)	Persistência de decíduo (PD)
Exposição de polpa (EP)	Lesão de palato (LP)
Dente supra-numerário (SN)	Dente extraído (X)

N A - Extra-oral/facial:

N A - Linfonodos:

N A - Mucosa vestibular:

N A - Lingua:

N A - Palato:

N A - Tonsilas:

N A - Faringe:

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

Direito **Esquerdo**

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

Cirurgião: _____ Auxiliar: _____ Anestesista: _____ Estagiários: _____

Projeto / Experimento: _____