

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ – CAMPUS UMUARAMA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL E SAÚDE  
ANIMAL**



**TERAPIA FOTODINÂMICA COMO ADJUVANTE NO TRATAMENTO DA  
DOENÇA PERIODONTAL EM EQUINOS**

**LUCAS LOPES RINO DIAS**

**UMUARAMA-PR  
FEVEREIRO/2019**

LUCAS LOPES RINO DIAS

TERAPIA FOTODINÂMICA COMO ADJUVANTE NO TRATAMENTO DA  
DOENÇA PERIODONTAL EM EQUINOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Sustentável e Saúde Animal do Departamento de Medicina Veterinária, Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

Área de concentração: Cirurgia Animal

UMUARAMA  
2019

# FOLHA DE APROVAÇÃO

LUCAS LOPES RINO DIAS

Terapia fotodinâmica como adjuvante no tratamento da doença periodontal em equinos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Sustentável e Saúde Animal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

## COMISSÃO JULGADORA

---

Prof. Dr. Max Gimenez Ribeiro  
Universidade Estadual de Maringá (Presidente)

---

Prof. Dr. Luiz Rômulo Alberton  
Universidade Paranaense (Membro)

---

Prof. Dra. Sheila Rezler Wosiacki  
Universidade Estadual de Maringá (Membro)

Aprovada em:     de                     de 20

Local da defesa: Sala de Aulas do Mestrado, Campus Regional de Umuarama-UEM

## AGRADECIMENTOS

Ao Criador, por derramar sobre a minha vida, Sua Graça irresistível e Seu amor, que por meio da adoção, me comprou pelo mais alto preço, o que me tornou filho, coerdeiro, e permitiu-me ser criativo nEle. Isso foi essencial, e a razão dessa realização. Nessa, que é uma das maiores conquistas da minha vida, não tenho mérito algum, por isso me rendo à Sua Glória. Se há algo bom em mim, ou em algo que fiz, foi devido a esse infinito amor de Graça e Misericórdia.

À Universidade Estadual de Maringá, e ao Programa de Pós-Graduação em Produção Sustentável e Saúde Animal, pela oportunidade de desenvolver esta pesquisa.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Max Gimenez Ribeiro, que me ensinou além do conhecimento técnico, me ensinou a ser profissional, homem, responsável, e sobre tudo, algo que creio ter sido providência Divina, que eu me relacionasse com o professor, para aprender a ser paciente. E também aos demais professores do corpo docente do mestrado, bem como residência, e graduação, que contribuíram na minha formação,

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos concedida, durante os dois anos, que foi imprescindível,

À minha família, em especial minha mãe e irmã, pelo suporte inestimável. À minha bisavó Oriette, que sempre me persuadiu a estudar, e meu bisavô, fonte da minha inspiração para ser veterinário, e amar cavalos. Aos demais familiares, sintam-se representados.

À minha noiva Keila, pelo companheirismo, apoio e paciência. Sem contar a ajuda, com certeza a pessoa que mais contribuiu para a conclusão dessa dissertação, Glórias a Deus pela sua vida.

Ao Natanael (Natel), pela ajuda, e esforço, que contribuíram diretamente na realização desse projeto.

Ao prof. Dr Júlio César Guerreiro, que sem medir esforços me ajudou, e orientou.

Aos meus amigos de mestrado, Renato Zavilenski, Arthur Schiestl e Yasmin Farth, e as médicas veterinárias Thais Akelli e Fernanda Barragan, que contribuíram para a realização do projeto, e de diversas atividades durante este período.

Aos meus amigos de turma da Pós-graduação em Produção Sustentável e Saúde Animal, e a todos meus amigos, que me incentivaram, aconselharam, apoiaram, enfim, estiveram comigo para a conclusão desse desafio

**Expresso nessas linhas, meu profundo agradecimento!**

## RESUMO

A doença periodontal é uma afecção de ocorrência comum relacionada com o aprisionamento de alimentos em diastemas não fisiológicos. O tratamento consiste na correção da causa primária, limpeza e desbridamento da bolsa periodontal, denominado como Terapia Convencional (TC). Frequentemente antimicrobianos são necessários, pela gravidade ou patogenicidade dos agentes envolvidos. Assim, a Terapia Fotodinâmica adjuvante (TF), tem sido estudada pelo seu potencial combate bacteriano, sem causar resistência bacteriana. O objetivo deste estudo foi estudar a doença periodontal, experimentalmente induzida, em dentes incisivos de equinos e correlacionar a evolução clínica da doença aos tratamentos, TC e TF. A técnica utilizada para a indução da doença periodontal, no período de 30 dias, causou o grau dois, pretendido pelo estudo. O TC não resultou em melhora clínica estatística, tanto na avaliação em graus como na profundidade, houve apenas numérica na profundidade após 30 dias do tratamento. A TF foi empregada em periodontos, com profundidades maiores de sulco gengival que o grupo TC, e mesmo assim apresentou melhora clínica, já com sete dias, e mais efetiva aos 30, atingindo na média, o valor considerado normal de três milímetros. A imagem radiográfica possibilitou classificar corretamente as lesões. A forma de acompanhar as lesões pela profundidade, correlacionando-a a classificação, foi acertada, por permitir acompanhar tendências de menor expressão, sem descaracterizar a escala de classificação. A Velocidade de Hemossedimentação não demonstrou relação com a doença periodontal. A Proteína C-Reativa demonstrou um comportamento interessante, constatando uma condição clínica não perceptível com o exame clínico e hemograma, em quatro animais, e por notar aumentos dos níveis após a indução e melhora após 30 dias do tratamento. A TF apresentou potencial para ser aplicada na rotina clínica, principalmente pelo incremento nos resultados, sem causar efeitos colaterais, e por suas características dialogarem com as expectativas da sociedade, por ser uma alternativa aos antibióticos.

Palavras-chave: Cirurgia; Equinos; Odontologia; Periodontite; Proteína C-Reativa.

## ABSTRACT

Periodontal disease have a common occurrence related to the imprisonment of food in non-physiological diastema. Treatment consists of correction of the primary cause, cleansing and debridement of the periodontal pocket, known as Conventional Therapy (CT). Often antimicrobials are necessary by the severity or pathogenicity of the agents involved. Thus, adjuvant Photodynamic Therapy (PDT) has been studied for its potential bacterial combat, without causing bacterial resistance. The objective of this study was to study periodontal disease, experimentally induced, in incisor teeth of horses and to correlate the clinical evolution of the disease with treatments TC and PDT. The technique used for the induction of periodontal disease, in the period of 30 days, caused the degree intended of two for the study. CT did not result in clinical improvement, either in degrees or millimeters. The PDT was used in periodontics with greater depths of gingival sulcus than the TC group, and even then it showed clinical improvement, already seven days, and more effective at 30, reaching in average the value considered normal of three millimeters. The radiographic image allowed to correctly classify the lesions. The way of accompanying the lesions, by depth, correlating the classification, was correct because it allowed to follow trends of lesser expression, without deprive the classification scale. The rate of hemosedimentation was not related to periodontal disease. The C-Reactive Protein showed an interesting behavior, noting a clinical condition not noticeable with the clinical examination and hemogram in four animals, and noticing increases in levels after induction, and improvement after 30 days of treatment. The PDT presented potential to be applied in the clinical routine, mainly due to the increase in results, without causing side effects and because of its characteristics dialogues with the expectations of society to be an alternative to antibiotics.

Keywords: C-Reactive Protein; Dentistry; Horses; Periodontitis; Surgery.

## LISTA DE TABELAS

- TABELA 1 - Classificação da doença periodontal em equinos, adaptada de Klugh (2005)..... 20
- TABELA 2 - Avaliações dos periodontos pela profundidade e grau da doença periodontal, nos grupos de tratamento – Convencional e Fotodinâmica, durante os 60 dias de estudo..... 23
- TABELA 3 - Análise descritiva referente à indução experimental da doença periodontal e a evolução após os tratamentos, Terapia Convencional (TC) e Terapia Fotodinâmica (TF), dos periodontos estudados em equinos, durante os 60 dias de estudo..... 24
- TABELA 4 - Análise das Variâncias (Teste F) das profundidades das bolsas periodontais experimentalmente induzida em equinos, pelas interações entre os tratamentos (Convencional – TC, e Terapia Fotodinâmica - TF), em relação aos dias analisados (zero, 30, 37 e 60)..... 26
- TABELA 5 - Análise das Médias (t de Student) das profundidades (mm) das bolsas periodontais em equinos, como desdobramento das interações detectadas pelo teste F, nos tratamentos (Convencional – TC, e Terapia Fotodinâmica - TF) e nos dias analisados (zero, 30, 37 e 60)....26
- TABELA 6 - Valores de Velocidade de Hemossedimentação (ml/h) dos equinos com doença periodontal induzida, tratados com Tratamento Convencional e Terapia Fotodinâmica, nos diferentes tempos de avaliação (zero, 30 e 60)..... 27
- TABELA 7 - Análise das Forças, Oportunidades, Fraquezas e Ameaças (FOFA), considerando fatores internos e externos, positivos e negativos, da Terapia Fotodinâmica como tratamento da doença periodontal, na rotina odontológica equina..... 29

## LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 – A) Demonstração da colocação da linha de algodão para indução da doença periodontal em equinos. B) Linhas fixadas nos dentes 302 e 402..... 20
- FIGURA 2 - Avaliação radiográfica e clínica para a classificação da doença periodontal em equinos. A) Imagem radiográfica dos dentes incisivos; B) Constatação da profundidade da bolsa periodontal, do dente 402..... 21
- FIGURA 3 - Profundidade dos sulcos gengivais dos equinos estudados, abscissa, no período de 60 dias, ordenada, dos dois grupos. Série 1) Terapia Convencional (Azul). Série 2) Terapia Fotodinâmica (Laranja)..... 25
- FIGURA 4 – Valores referentes à Proteína C-Reativa, em mg/L, de equinos com doença periodontal induzida no dia zero (verde), tratados no dia 30 (azul), com acompanhamento até o dia 60 (amarelo)..... 28



## LISTA DE ABREVIATURAS

°C	- Grau Celsius
CEUA	- Comissão de Ética no Uso de Animais
cm	- Centímetro
EDTA	- Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
EPM	- Erro Padrão Médio
Fig.	- Figura
FOFA	- Forças, Oportunidades, Fraquezas e Ameaças
h	- Hora
Kg	- Quilograma
L	- Litro
<i>Lasers</i>	- Amplificação da Luz por Emissão Estimulada de Radiação
<i>LEDs</i>	- Diodos Emissores de Luz
mg	- Miligrama
ml	- Mililitro
mm	- Milímetro
nm	- Nanômetro
PCR	- Proteína C-Reativa
TF	- Terapia Fotodinâmica
pH	- Potencial Hidrogeniônico
PPS	- Produção Sustentável e Saúde Animal
Tab.	- Tabela
TC	- Terapia Convencional
UEM	- Universidade Estadual de Maringá
VHS	- Velocidade de Hemossedimentação

## SUMÁRIO

1.1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	11
1.2. OBJETIVO GERAL.....	17
1.2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
1.3. MATERIAIS E MÉTODO.....	18
1.4. RESULTADOS.....	22
1.5. DISCUSSÃO.....	29
1.6. CONCLUSÃO.....	37
1.7. REFERÊNCIAS.....	38
2. ARTIGO.....	41
ANEXO 1 (Certificado: Comissão de Ética no Uso de Animais, UEM).....	56
ANEXO 2 (Normas para publicação: ABMVZ).....	57

## 1.1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### Doença Periodontal

A doença periodontal em equinos tem grande incidência em animais idosos (CASEY, 2013), possivelmente por diversas circunstâncias que se acumulam no decorrer da vida (DU TOIT e RUCKER, 2013). Ela é considerada uma afecção comum e dolorosa (CASEY, 2013; DU TOIT E RUCKER, 2013; COX *et al.*, 2012), e por isso afeta a capacidade de ingerir e mastigar alimentos, causando perda de peso e sinais de dor oral, como mastigar lento, apetite seletivo, disfagia oral e salivação excessiva (TREMINE, 2013).

A saliva consiste em um líquido com a capacidade de controlar o crescimento bacteriano, devido aos seus componentes e pH, sendo que também possui papel importante na limpeza de restos de alimentos. Sua produção é afetada com menor tempo de mastigação, como é o caso de animais estabulados, e, ao ingerir alimentos secos boa parte da saliva é comprometida em umedecê-los, ambas situações diminuem o volume salivar disponível, facilitando o desenvolvimento bacteriano e a estase de alimentos (KLUGH, 2005).

A placa é composta por bactérias em uma matriz de glicoproteínas e polissacarídeos extracelulares, e o cálculo consiste em um depósito rígido que se forma pela mineralização da placa. A saliva é a fonte de mineralização para cálculos supragengivais, devido a presença de altos teores de fósforo, que leva a ligação da placa aos íons de cálcio, complexos de carboidratos e proteínas, resultando em um precipitado de fósforo cristalino. Este cálculo pode causar a doença periodontal e bolsas periodontais principalmente nos caninos inferiores, possivelmente por estarem próximos ao ducto salivar sublingual, e assim em contato a grande quantidade de saliva (EARLEY e RAWLINSON, 2013).

A doença periodontal pode estar relacionada a lesões endodônticas, e conhecer a relação entre elas possibilita escolher o tratamento adequado. A lesão endodôntica primária pode avançar pela coroa até a região periapical, envolvendo osso alveolar e tecidos moles, podendo ocorrer doença periodontal secundária, devido a uma extensão ao ápice e canais radiculares laterais, resultando em inflamação do ligamento periodontal, bolsa periodontal e retração gengival (EARLEY e RAWLINSON, 2013). Quanto maior for o envolvimento periodontal de uma doença endodôntica e periodontal, pior será o prognóstico.

Estruturas de proteção e sustentação do dente são afetadas na doença periodontal, pela presença de placa e cálculo bacteriano, que incitam a resposta inflamatória da gengiva,

tornando-a edemaciada com sangramento espontâneo, e descoloração do cemento (CASEY, 2013; EARLEY e RAWLINSON, 2013; RAWLINSON e EARLEY, 2013). O infiltrado inflamatório e o substrato bacteriano são responsáveis pela destruição do tecido periodontal de proteção (RAWLINSON e EARLEY, 2013). Assim, a periodontite pode resultar na destruição do periodonto de proteção, ocorrendo o aprofundamento do sulco gengival (bolsa periodontal), a ulceração e retração gengival, tornando os demais tecidos periodontais vulneráveis. Com a progressão da doença ocorre a perda da aderência e mobilidade dentária, evidências radiográficas de perda de osso alveolar e osteomielite, bem como estendendo-se apicalmente pelo ligamento periodontal, causando lesão endodôntica e apical (CASEY, 2013; EARLEY e RAWLINSON, 2013; RAWLINSON e EARLEY, 2013). Em dentes maxilares, infecções apicais podem culminar em fístula oro-sinusal, resultando em sinusite (CASEY, 2013).

A hiperplasia leve da gengiva livre pode ser encontrada em animais que não possuem doença periodontal, possivelmente pela ação abrasiva dos alimentos grosseiros na mastigação. A presença física e a decomposição de alimentos, toxinas bacterianas e a resposta inflamatória tem relação com a erosão do epitélio gengival, sulcar ou da bolsa periodontal, a qual progride com a doença periodontal causando a ulceração. Neutrófilos no epitélio tem relação direta com a gravidade da doença, causando a separação e perda das fibras de colágeno. A presença de bactérias possui associação com doença periodontal e com a presença de alimentos aprisionados (COX *et al.*, 2012).

O principal fator relacionado à doença periodontal equina é o acúmulo de alimento que putrefaz no sulco gengival, por diastema não fisiológico. Ele pode ocorrer devido à alteração da amplitude de movimento normal da mastigação, abrasão gengival direta e desalinhamento dentário por má oclusão, circunstâncias frequentemente encontradas em animais idosos (KLUGH, 2005; CASEY, 2013; TREMAINE, 2013). Nos dentes incisivos, a doença periodontal ocorre principalmente por acúmulo de alimentos devido ao diastema senil, pelo desgaste dos dentes, anormalidades dentárias, síndrome da Reabsorção Odontoclástica Dentária e Hipercementose Equina (EOTRH) e, falta de cuidados (RAWLINSON e EARLEY, 2013). Em dentes molares, e pré-molares, os diastemas tem maior incidência nas partes caudais da arcada mandibular, no segundo e o terceiro e, terceiro e quarto, molares (CASEY, 2013; TREMAINE, 2013). Pacientes com idade avançada muitas vezes apresentam deslocamentos e perdas dentárias, diastemas senis, os quais resultam em acúmulo de alimento interdental, doença periodontal expressiva, e conseqüentemente, mastigação ineficiente por dor (CASEY,

2013; DU TOIT e RUCKER, 2013). A doença periodontal contribui para o deslocamento e perda do dente, pelo dano ao ligamento periodontal. Esse fator é agravado em animais idosos, devido a coroa reserva curta que proporciona instabilidade no osso alveolar, associado a perda das forças compressivas (CASEY, 2013; DU TOIT e RUCKER, 2013). Por isso, deslocamentos de dentes são mais comuns em animais nesta faixa etária (DU TOIT e RUCKER, 2013).

O diastema pode ser classificado em aberto, o qual é menos severo, e diastema valvular, o qual a comida se encarcera e não sai, favorecendo a resposta inflamatória e o dano tecidual severo (CASEY, 2013; TREMAINE, 2013). Quando os alimentos impactam na região interdental, danificam a papila interdental e promovem a colonização bacteriana, conseqüentemente, inflamação, ulceração e recessão gengival, bem como destruição do cemento, assim proporciona maior espaço para compactação, aumentando a inflamação e o dano tecidual, com lise do ligamento periodontal e da placa do osso alveolar (CASEY, 2013; RAWLINSON e EARLEY, 2013; TREMAINE, 2013). A força na mastigação é maior sobre a parte aboral da mandíbula, levando a maior impactação alimentar e desconforto, por isso os sinais de doença periodontal são mais evidentes nessa região (CASEY, 2013; TREMAINE, 2013).

A causa da síndrome EOTRH não é conhecida, mas o dano às estruturas dentais possibilita a doença periodontal, a qual causa inflamação que agrava a síndrome. Possivelmente a EOTRH inicia-se com a atividade odontoclástica devido a mediadores inflamatórios, perpetuando a absorção, em resposta há ação odontoblástica, fibroblástica e cementoblástica para produzir cemento e preencher os defeitos. Esta afecção progride para polpa, dentina, ligamento periodontal e osso alveolar, levando a inflamação e infecção, perda das estruturas de sustentação, retração gengival, aumento do ângulo do incisivo, formação de fístula, fratura do dente e dor. O tratamento da doença periodontal não cessa a EOTRH mas inibe o estímulo, conseqüentemente proporciona o seu controle. O raio-X é interessante para avaliar a extensão da afecção, e determinar a necessidade de extração do dente afetado (EARLEY e RAWLINSON, 2013).

Doença periodontal transitória pode ocorrer em potros durante a mudança na dentição, devido a alimentos que ficam presos entre o dente decíduo e permanente, ou pela erupção irregular, resultando em lesões periodontais, que são resolvidas com a correta e total erupção dos dentes permanentes (CASEY, 2013). Em equinos jovens, a mudança da dentição decídua para permanente resulta em aumentos de volume nas regiões periapicais da mandíbula, os quais

são denominados cistos de erupção. A infecção de tecidos periapicais, resulta em cisto demasiadamente grande, quente e doloroso, que pode ocorrer drenagem pela pele. Esta infecção periapical pode acontecer por doença periodontal profunda, sendo necessária avaliação oral e radiográfica, para o correto diagnóstico e determinar tecidos envolvidos. Se houver ponto de drenagem na pele, a inserção de um tubo plástico flexível na pele em direção a região apical pode auxiliar na detecção, pelo raio-X, de qual dente está afetado (GRIFFIN, 2013).

Fraturas de dentes podem envolver estruturas periodontais, danificando-as, perdendo o suporte e a proteção do dente e anexos, assim dependendo da gravidade, podendo ocorrer a perda do dente devido a mobilidade e infecção. Para a correta avaliação dessa afecção é necessária a inspeção da cavidade oral e exame radiográfico (EARLEY e RAWLINSON, 2013).

Alimentos encarcerados no espaço interdental, e abrasões gengivais por alimentos grosseiros, propiciam a alteração na microbiota e a colonização de bactérias. Na doença periodontal a proporção de bactérias gram-negativas aeróbias, anaeróbias e espiroquetas está aumentada, as quais causam lesão tecidual profunda (COX *et al.*, 2012). Essas bactérias são denominadas periodontopagênicas e danificam o periodonto de duas formas, diretamente pela liberação de enzimas e toxinas com ação proteolítica no sulco crevicular, e indiretamente pela ativação da resposta inflamatória por meio de mediadores, os quais migram para o espaço periodontal pelo aumento da permeabilidade vascular (SIMÕES, 2016; COX *et al.*, 2012).

A resposta inflamatória é responsável pelo agravamento da doença, pois as enzimas liberadas para combater as bactérias causam o aumento do sulco crevicular, a formação das chamadas bolsas periodontais (KENNEDY e DIXON, 2018; SIMÕES, 2016; BANSAL *et al.*, 2014; CASEY, 2013; RAWLINSON e EARLEY, 2013; TREMAINE, 2013; KLUGH, 2005). Assim, a periodontite pode resultar na destruição do periodonto de proteção, ocorrendo o aprofundamento da bolsa periodontal, ulceração e retração gengival, tornando os demais tecidos periodontais vulneráveis. Com a progressão da doença ocorre a perda da aderência e mobilidade dentária, evidências radiográficas de perda de osso alveolar e osteomielite, bem como extensão apical pelo ligamento periodontal, causando lesão endodôntica apical e/ou perda dentária (CASEY, 2013; RAWLINSON e EARLEY, 2013).

Nessa afecção, há elementos inflamatórios da fase aguda o que permite classificá-la como uma inflamação sistêmica e correlacioná-la às alterações em outros órgãos e sistemas (BANSAL *et al.*, 2014; FRANCESCHINE *et al.*, 2015; DE SOUZA *et al.*, 2016). Os monócitos

ativados secretam Interleucinas (IL-1 e IL-6) e o Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- $\alpha$ ), que estimulam os hepatócitos a sintetizar e liberar proteínas da fase aguda como fibrinogênio, albumina, proteína sérica amiloide A, haptoglobina, e a proteína C-reativa (GUIMARÃES *et al.*, 2014). Esses elementos atuam como pró-inflamatórios, neutralizam agentes e estimulam a regeneração do tecido (FRANCESCHINE *et al.*, 2015).

A indução da síntese da proteína C-reativa é atribuída principalmente a IL-6, e em menor proporção a IL-1 e o TNF- $\alpha$ . Sua capacidade pró-inflamatória consiste em reconhecer e favorecer a fagocitose de agentes e das células agredidas pelo processo, aumento da secreção da IL-6, bem como da IL-1 e TNF- $\alpha$  que favorecem a ativação de monócitos/macrófagos, e, induz a expressão de moléculas de adesão (MARQUES *et al.*, 2016). A proteína C-reativa consiste em um sensível marcador inflamatório sistêmico (GUIMARÃES *et al.*, 2014), e sua mensuração permite acompanhar a evolução de uma doença, bem como a resposta clínica ao combate de agentes infecciosos e/ou processos inflamatórios (FRANCESCHINE *et al.*, 2015).

#### Tratamento da Doença Periodontal

A doença periodontal necessita ser tratada adequadamente a fim de impedir a perda do dente. O Tratamento Convencional consiste na correção da causa primária, como em diastema por estreitamento apical (senil), alivia-se a gengivite e a doença periodontal envolvida (DU TOIT e RUCKER, 2013), nos casos de diastema valvular, deve ser considerada a ampliação odonplástica (ampliação do diastema), já em casos de erupção incorreta a extração do dente desalinhado (TREMAINE, 2013). Em seguida, efetua-se a remoção de alimentos e cálculos (RAWLINSON e EARLEY, 2013) limpeza e lavagem da bolsa periodontal para a avaliação (DU TOIT e RUCKER, 2013; TREMAINE, 2013), e o desbridamento (CASEY, 2013; TREMAINE, 2013; KLUGH 2005). Para a remoção de cálculos, detritos e curetagem da bolsa periodontal, a cureta periodontal é o material que permite melhor percepção ao veterinário, e proporciona a remoção de bactérias e subprodutos (RAWLINSON e EARLEY, 2013).

Enxagues diários podem ser adotados, bem como o manejo alimentar (DU TOIT e RUCKER, 2013) e a escovação dos incisivos com escova macia sem pasta, para evitar a formação de cálculos (RAWLINSON e EARLEY, 2013). A descontaminação tópica com solução Clorexidine a 0,12% frequentemente é empregada após a curetagem (RAWLINSON e EARLEY, 2013), embora soluções orais penetrem apenas 2mm abaixo da margem gengival, e permanecem por pouco tempo na bolsa periodontal, por isso em casos mais graves são

necessárias aplicações diárias, as quais são raramente empregadas pelos tutores (DU TOIT e RUCKER, 2013), ou o emprego de uma terapia adjuvante.

A progressão das lesões periodontais pode culminar em perda dentária, mesmo com o emprego do tratamento convencional, que envolve a resolução da causa, limpeza e curetagem supra e sub-gengival, sendo necessário uma medida adjuvante (ALWAELI *et al.*, 2015). Assim com certa frequência, a terapia antimicrobiana é necessária, seja pela gravidade da lesão ou pela patogenicidade dos agentes envolvidos (RAWLINSON e EARLEY, 2013; TREMAINE, 2013; KLUGH, 2005), sendo preferível antibiótico de ação local, devido aos efeitos colaterais da forma sistêmica (RAWLINSON e EARLEY, 2013; TREMAINE, 2013). No entanto, o uso de antibióticos, mesmo de ação local, é correlacionado ao surgimento de resistência antimicrobiana, questão de suma importância na saúde humana e animal.

#### Terapia Fotodinâmica

Por isso, segundo os autores Belinello-Souza *et al.* (2017), Carrera *et al.* (2016), Pulikkotil *et al.* (2016), Vohra *et al.* (2016), Alwaeli *et al.* (2015), Jervøe-Storm *et al.* (2015), Moreira *et al.* (2015) e Queiroz *et al.* (2015), a Terapia Fotodinâmica (TF) tem sido proposta, como adjuvante antimicrobiano na doença periodontal, com vantagem aos antibióticos, pela forma de ação não causar resistência bacteriana, e também por sua eficácia não ser diminuída na presença de bactérias resistentes a antibióticos (VOHRA *et al.*, 2016; JERVØE-STORM *et al.*, 2015).

Essa terapia, tem demonstrado resultados interessantes na doença periodontal, como adjuvante antimicrobiana, com melhor controle dos microrganismos, dos níveis de marcadores inflamatórios, recuperação clínica superior à terapia convencional isolada, e em alguns casos, ocorrendo a recuperação apenas com o emprego da TF (BELINELLO-SOUZA *et al.*, 2017; ALWAELI *et al.*, 2015; CAMPANILE *et al.*, 2015; MOREIRA *et al.*, 2015). Apesar disso, ainda não existem estudos, disponíveis quanto ao uso dessa técnica, em equinos.

A terapia fotodinâmica, consiste na excitação de um composto químico, por exemplo o corante Azul de Metileno, por meio de uma fonte de luz, como os Dióodos Emissores de Luz (LEDs). Essa reação, na exposição do oxigênio, gera espécies reativas de oxigênio e oxigênio de singlete, os quais são tóxicos para bactérias e tecido danificado (ERVOLINO *et al.*, 2019; BELINELLO-SOUZA *et al.*, 2017; CARRERA *et al.*, 2016; JUNQUEIRA *et al.*, 2016;



PULIKKOTIL *et al.*, 2016; VOHRA *et al.*, 2016; ALWAELI *et al.*, 2015; CAMPANILE *et al.*, 2015; JERVØE-STORM *et al.*, 2015; MOREIRA *et al.*, 2015; QUEIROZ *et al.*, 2015).

Para a efetividade do tratamento, é essencial que a fonte de luz interaja com o fotossensibilizador (EDUARDO *et al.*, 2015). O Azul de Metileno é o fotossensibilizador mais conhecido, que pertence à classe dos fenotiazínicos, os quais exigem uma fonte de luz emissora de fótons na faixa do vermelho visível, como os Diodos Emissores de Luz (*LEDs*) e *lasers* de baixa potência (EDUARDO *et al.*, 2015; DE OLIVEIRA *et al.*, 2017).

Os sistemas semi-sólidos formados por sol-géis mucoadesivos, como o poloxamer 407® e o carbopol 934®, são úteis para a liberação de fármacos, por prolongar o tempo no sítio de ação, proteção do princípio ativo, e aumento da disponibilidade (BASSI DA SILVA *et al.*, 2017). No caso do Azul de Metileno, sua aplicação na forma de sol-gel ocorre para facilitar o contato com a área a ser tratada (JUNQUEIRA *et al.*, 2015)

O emprego de fármacos na bolsa periodontal é facilitado por compostos líquidos que gelificam quando entra em contato com a temperatura corporal, como o poloxamer 407® e o carbopol 934®. Essa característica permite aplicação com uma seringa, preenchimento adequado da bolsa periodontal, e melhor absorção (RAWLINSON e EARLEY, 2013).

Em seu trabalho, Junqueira *et al.* (2015) desenvolveu o primeiro sol-gel termo-sensível, composto por poloxamer 407 e cabopol 934, contendo Azul de Metileno, para uso em feridas e bolsa periodontal. Esse sistema demonstrou possuir boas características, principalmente quanto ao perfil de liberação *in vitro*, sendo necessário um estudo *in vivo* para confirmar sua aplicação.

Estudos *in vitro* e *ex vivo* são importantes, pois permitem simular situações que ocorrem *in vivo*, detectar problemas e soluções sem expor o animal ou ser humano a uma situação desnecessária. Embora procedimentos *in vivo* sejam imprescindíveis, sendo superiores no que diz respeito à análise do desempenho clínico, especialmente após estudos *in vitro* (BASSI DA SILVA *et al.*, 2017).

## 1.2. OBJETIVO GERAL

Comparar os resultados do emprego do Tratamento Convencional (TC) com a Terapia Fotodinâmica adjuvante (TF), em lesões experimentalmente induzidas.

### 1.2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliação clínica da indução da periodontite

Analisar a indução da periodontite, durante 30 dias, com a classificação da severidade, pelo auxílio da imagem radiográfica, em uma escala de zero a quatro, e pela profundidade da bolsa periodontal. A fim de observar a técnica de indução da lesão, para estudos da doença periodontal em equinos.

- Avaliação clínica da doença periodontal

Avaliar a recuperação clínica da doença periodontal, pela classificação da severidade, com o auxílio da imagem radiográfica, em uma escala de zero a quatro, e pela profundidade da bolsa periodontal. Para correlacionar os resultados clínicos, durante os 30 dias de indução, e os 30 após o tratamento, entre os grupos, e em cada grupo.

- Avaliação radiográfica da doença periodontal

Observar os achados radiográficos, e relacionar aos achados clínicos da doença periodontal.

- Relação da Proteína C-Reativa (CRP) com a doença periodontal

Correlacionar a CRP, com a evolução e recuperação clínica da doença periodontal experimental.

- Correlação da velocidade de hemossedimentação (VHS) com a doença periodontal

Observar a relação da VHS com a evolução e recuperação da doença periodontal.

- Comparação entre os resultados dos tratamentos

Comparação do TC com a TF por meio da avaliação clínica, radiográfica, CRP e VHS.

- Análise da aplicabilidade clínica

Questões referentes aos pontos fortes, e oportunidades, foram comparadas aos pontos fracos, e ameaças (Análise FOFA), para constatar a aplicabilidade da técnica.

### 1.3. MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), da Universidade Estadual de Maringá (UEM), sob o número de protocolo 3869270818.

Foram induzidas, experimentalmente, 18 bolsas periodontais, duas por animal, em nove equinos adultos, de quatro a 10 anos, sem raça definida. Esses animais foram distribuídos em dois grupos, tratamento convencional (TC), que consistiu na limpeza e desbridamento da bolsa periodontal, composto por quatro animais, e o tratamento convencional associado à terapia

fotodinâmica (TF), com cinco animais. Todos os periodontos selecionados foram submetidos aos mesmos procedimentos, diferindo-se apenas no tratamento.

Os animais selecionados não receberam tratamentos odontológicos, e/ou com antibióticos, 90 dias prévios ao estudo, e estavam em boa condição de saúde, constatada por exame clínico e hemograma. Os dentes escolhidos para indução da lesão foram incisivos permanentes, 302 e 402 ou 303 e 403, que estivessem entre dois permanentes, saudáveis – confirmados com avaliação clínica e radiográfica.

Previamente aos procedimentos de seleção dos dentes, da avaliação da doença periodontal, do tratamento, e do acompanhamento da evolução clínica da doença, a boca foi enxaguada, o animal foi sedado com Cloridrato de Xylazina<sup>1</sup> (0,5 – 1,5mg/kg, intravenosa), a cabeça suspensa com uma cabeçada odontológica<sup>2</sup>, e a boca aberta com um espéculo odontológico para incisivos<sup>2</sup>.

A indução da periodontite foi inspirada nos estudos de Ervolino *et al.* (2019) e Belinello-Souza *et al.* (2017) em ratos, com adaptações para a espécie equina. Teve início no dia zero, com uma linha de algodão<sup>3</sup> nos espaços interdentais, esquerdo e direito do respectivo dente, de forma a envolvê-lo, como pode ser observado pela Fig. 1. Esta linha foi fixada com nós de cirurgião, um duplo seguido por dois simples, a qual foi mantida por 30 dias, com observações diárias para a recolocação, caso fosse necessária.

Findado o período de indução de 30 dias, a linha de algodão foi removida. Alimentos impactados foram extraídos, o periodonto enxaguado com água e o aspecto gengival observado (CASEY, 2013; RAWLINS PN; EARLEY, 2013; KLUGH, 2005). Uma sonda periodontal milimetrada<sup>4</sup> foi inserida perpendicularmente no sulco gengival, a qual constatou a presença da afecção periodontal, quando o valor da profundidade foi superior a três milímetros (GRIFFIN, 2013), na parte mais profunda do periodonto. Também se empregou uma classificação adaptada de Klugh (2005), Tab. 1, a qual associou a avaliação clínica à radiográfica, em uma escala de zero a quatro, a fim de selecionar os graus dois e três para o estudo clínico.

---

<sup>1</sup> Equisedan, Xilazina 10% - J. A Saúde Animal®

<sup>2</sup> Horse Dental Care®

<sup>3</sup> Corrente Cordonê, 00, Algodão, Coats Corrente®

<sup>4</sup> Sonda Willians Milimetrada, 146-P, Millenium®

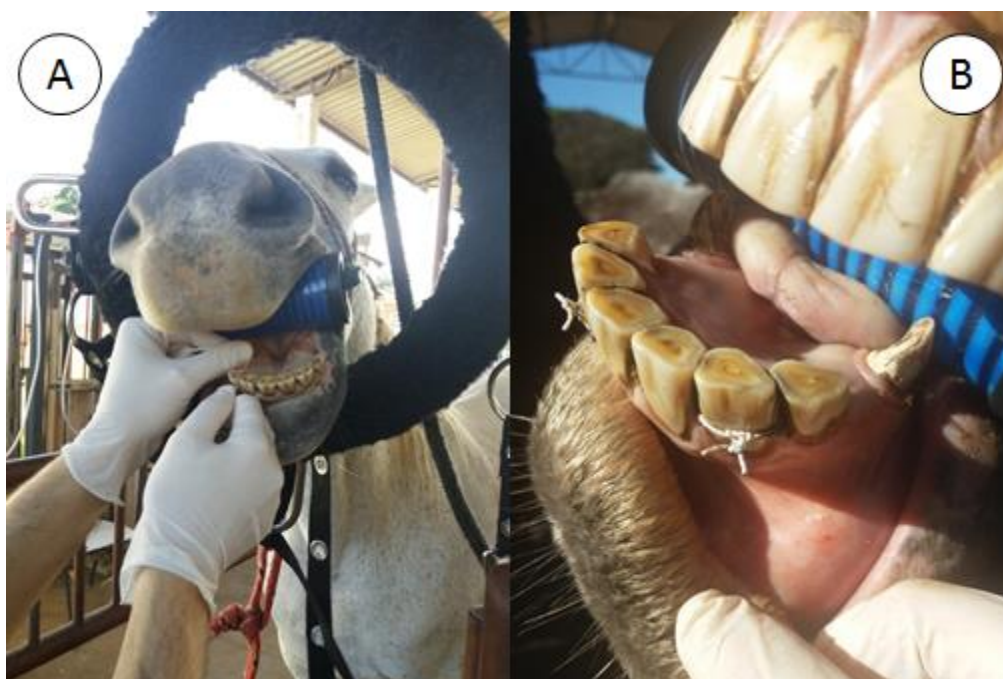


Figura 1 – A) Demonstração da colocação da linha de algodão para indução da doença periodontal em equinos. B) Linhas fixadas nos dentes 302 e 402.

Tabela 1. Classificação da doença periodontal em equinos, adaptada de Klugh (2005).

Classificação	Gengiva	Cemento	Mobilidade	Raio-X	Envolvimento osso alveolar
Grau 0	Normal	Normal	0	Normal	0%
Grau 1	Inchada, avermelhada, sensível	Normal ou supragengival	0	Normal	0%
Grau 2	Impactação, inflamada ou necrótica	Supra e subgengival	0 ou 1	Define o envolvimento	< 25%
Grau 3	Impactação, inflamada ou necrótica	Supra e subgengival	1 ou 2	Perda óssea, alterações apicais e coroa reserva	<50%
Grau 4	Edema, ulceração, necrose e pus	Supra e subgengival	2 ou 3	Perda óssea, alterações apicais e coroa reserva	>50%

Em seguida à avaliação, empregou-se o tratamento convencional nas bolsas periodontais selecionadas. A bolsa periodontal foi enxaguada com água e secada com compressa de gaze<sup>5</sup>, para a remoção de restos alimentares e teciduais. Depois, toda a bolsa foi curetada com uma

<sup>5</sup> Algodão, Dental Cremer®

cureta periodontal<sup>6</sup>, de forma a remover bactérias e tecido danificado. Tal procedimento foi empregado em ambos os grupos, no dia 30.

Na sequência do tratamento convencional, apenas para o grupo TF, empregou-se a terapia fotodinâmica. O agente fotossensibilizador utilizado foi o azul de metileno na forma de sol-gel<sup>7</sup>, o qual foi mantido em frasco de vidro âmbar, refrigerado a 5°C. Foi aplicado 0,6 ml por meio de uma seringa, por toda a bolsa periodontal. Após a aplicação, houve a espera de um minuto para incidir a luz de LEDs (650nm de comprimento de onda), à 10 centímetros de distância por 10 minutos. O protocolo consistiu de sete aplicações com 48 horas de intervalo entre elas.

O acompanhamento da evolução dos tratamentos foi realizado com avaliações nos dias 37 e 60. Para isso, foram empregadas mensurações das profundidades, em milímetros, e classificações das bolsas periodontais, em graus de zero a quatro, mediante ao exame clínico e radiográfico de cada dente, conforme demonstrado na Fig. 2.

Para avaliar o efeito do tipo de tratamento, os dados do trabalho foram analisados em esquema fatorial com dois fatores, sendo o primeiro, os resultados dos tratamentos, com dois níveis (TC e TF), e o segundo, os dias, com quatro níveis (zero, 30, 37 e 60). Para empregar esse esquema, duas bolsas periodontais foram removidas do grupo TF, a saber, Fotodinâmica 1a e 5a. Para analisar a aplicabilidade da TF na rotina veterinária, as questões referentes à técnica foram submetidas à análise das Forças, Oportunidades, Fraquezas e Ameaças (FOFA).

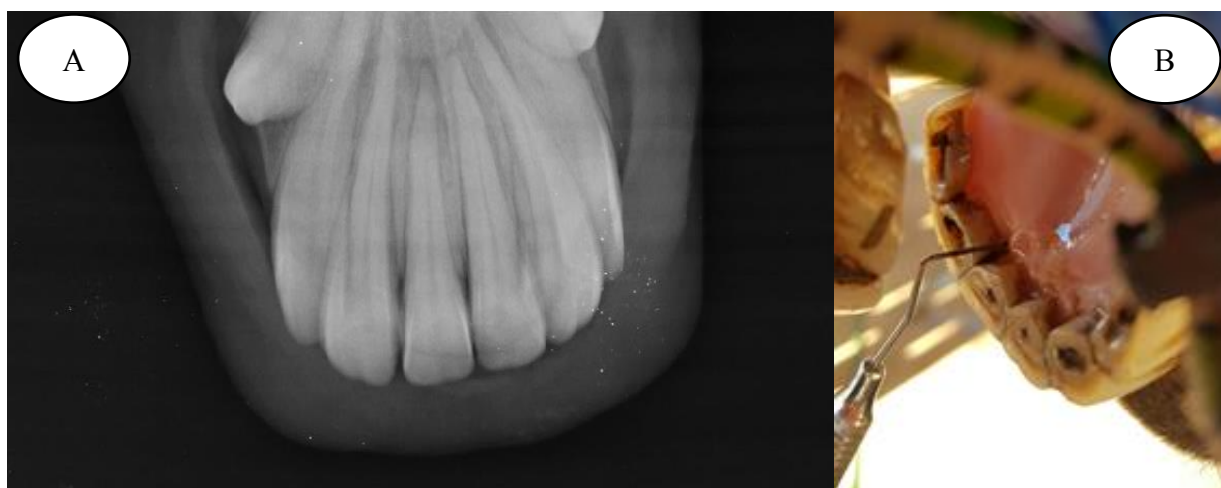


Figura 2 – Avaliação radiográfica e clínica para a classificação da doença periodontal em equinos. A) Imagem radiográfica dos dentes incisivos; B) Constatação da profundidade da bolsa periodontal, do dente 402.

<sup>6</sup> MC CALL, 17-18, Millenium, Brasil®

<sup>7</sup> Azul de Metileno 0,5%, P407 17,5%, C934P 0,2%, descrito por Junqueira et al. (2016)

A Velocidade de Hemossedimentação (VHS) e a Proteína C-Reativa (CRP), foram realizadas nos dias zero, 30 e 60, em ambos os grupos, para observar esses parâmetros em função do tempo de evolução da doença. Após a antissepsia local, foram coletados 10 ml de sangue da veia jugular, sendo transferidos 5 ml para um tubo de coleta contendo ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), e o restante para um tubo com gel separador e ativador de coágulo. Com o auxílio de um pipetador, foi transferido do tubo com EDTA, 1ml de sangue para uma pipeta de 200mm de altura e 2,5mm de diâmetro, a qual foi fixada à uma coluna vertical. A distância entre o menisco do plasma e a coluna de hemácias, em uma hora (ml/h), consiste na VHS. A amostra do outro tubo, foi encaminhada à um laboratório para quantificar e dosar a CRP, pelo método Imunoturbidimétrico automatizado<sup>8</sup>.

Os resultados das profundidades de cada grupo, em função do tempo, foram submetidos à regressão polinomial, sendo adotada a regressão quadrática para ambos. Além disso, a análise da variância das profundidades foi empregada com o teste F, a fim de constatar interferências entre os fatores, sendo os desdobramentos dessas interações avaliados pelas comparações das médias, pelo teste t de Student com nível de significância de 5%. Esses dados foram avaliados pelo *software* AgroEstat – Sistema para Análises Estatísticas de Ensaio Agrônomicos.

#### 1.4. RESULTADOS

A técnica empregada para a indução da periodontite, no período de 30 dias, resultou no grau da doença pretendido de dois, em todos os 18 periodontos selecionados. Durante esse período, houve a necessidade de recolocações das linhas de algodão, em intervalos variados entre dois a sete dias.

Neste estudo, o sol-gel contendo Azul de Metileno, demonstrou praticidade, preenchimento local, e permanência nos 10 minutos necessários, sem causar efeitos colaterais, nos equinos estudados, confirmando as características observadas por Junqueira *et al.* (2016) *in vitro*.

Todos os periodontos foram avaliados, mensurados em milímetros, e classificados, em graus, nos dias zero, 30, 37 e 60, esses resultados estão dispostos na Tab. 2. No dia zero, todos periodontos estavam saudáveis (grau zero), no dia 30, todos apresentaram grau dois. No dia 37, apenas um periodonto melhorou a classificação (grau zero), pertencente ao grupo TF, os demais

---

<sup>8</sup> HumaStar 600, Human, Alemanha.

periodontos apresentaram pouca melhora nesta avaliação. No dia 60, todos do grupo TF melhoraram a profundidade, com 60% de resolução da doença periodontal, já no grupo TC, a melhora foi inferior, não havendo uma resolução clínica em nenhum periodonto, como pode ser observado pela Tab. 2.

Tabela 2 – Avaliações dos periodontos pela profundidade e grau da doença periodontal, nos grupos de tratamento – Convencional e Fotodinâmica, durante os 60 dias de estudo.

Periodonto	Dia 0	Dia 30	Dia 37	Dia 60
Convencional 1a	2 (grau 0)	6 (grau 2)	5 (grau 2)	5 (grau 2)
Convencional 1b	2 (grau 0)	7 (grau 2)	6 (grau 2)	6 (grau 2)
Convencional 2a	1 (grau 0)	5 (grau 2)	5 (grau 2)	6 (grau 2)
Convencional 2b	1 (grau 0)	5 (grau 2)	5 (grau 2)	7 (grau 2)
Convencional 3a	0 (grau 0)	6 (grau 2)	6 (grau 2)	4,5 (grau 2)
Convencional 3b	0 (grau 0)	7 (grau 2)	6 (grau 2)	4,5 (grau 2)
Convencional 4a	0 (grau 0)	6 (grau 2)	8 (grau 2)	6 (grau 2)
Convencional 4b	0 (grau 0)	6 (grau 2)	8 (grau 2)	6 (grau 2)
Fotodinâmica 1a	0 (grau 0)	8 (grau 2)	7 (grau 2)	5 (grau 2)
Fotodinâmica 1b	0 (grau 0)	8 (grau 2)	8 (grau 2)	4 (grau 2)
Fotodinâmica 2a	1 (grau 0)	8 (grau 2)	8 (grau 2)	4 (grau 2)
Fotodinâmica 2b	1 (grau 0)	9,5 (grau 2)	7 (grau 2)	3 (grau 0)
Fotodinâmica 3a	2 (grau 0)	9,5 (grau 2)	8 (grau 2)	4 (grau 2)
Fotodinâmica 3b	2 (grau 0)	8,5 (grau 2)	8 (grau 2)	3 (grau 0)
Fotodinâmica 4a	0 (grau 0)	8 (grau 2)	4,5 (grau 2)	0 (grau 0)
Fotodinâmica 4b	0 (grau 0)	9,5 (grau 2)	6 (grau 2)	3 (grau 0)
Fotodinâmica 5a	1 (grau 0)	6 (grau 2)	3 (grau 0)	3 (grau 0)
Fotodinâmica 5b	1 (grau 0)	6 (grau 2)	4 (grau 2)	3 (grau 0)

Na Tab. 3, estão dispostos os dados da análise descritiva. As médias do grupo TC apontaram, numericamente, piora do dia zero ao 37, e leve melhora no dia 60. No grupo TF, observa-se piora do dia zero para o dia 30, pequena melhora no dia 37, e aos 60 dias, atingiu pela média, o valor considerado saudável. As médias e as variâncias foram utilizadas para comparar os dados entre os dias, dentro do grupo, e entre os grupos, nos respectivos dias.

Tabela 3- Análise descritiva referente à indução experimental da doença periodontal e a evolução após os tratamentos, Terapia Convencional (TC) e Terapia Fotodinâmica (TF), dos periodontos estudados em equinos, durante os 60 dias de estudo.

Tratamento	Dia	Média	Variância	Desvio Padrão	Erro Padrão Médio
TC	0	0,7500	0,7857	0,8864	0,3133
TC	30	6,0000	0,5714	0,7559	0,2672
TC	37	6,1250	1,5535	1,2464	0,4406
TC	60	5,6250	0,7678	0,8762	0,3098
TF	0	0,8750	0,6964	0,8345	0,2950
TF	30	8,3750	1,4107	1,1877	0,4199
TF	37	6,6875	2,7812	1,6677	0,5896
TF	60	3,0000	1,7142	1,3093	0,4629

Tratamento – TC: Convencional; TF: Fotodinâmica.

As profundidades dos sulcos gengivais foram submetidas à análise de regressão polinomial em cada grupo, a qual demonstrou os valores de significância dos coeficientes de determinação, sendo 0,8262 no grupo TF e 0,8604 no TC, para a regressão quadrática ( $p < 0,01$ ). Por meio dela, foi possível observar e comparar o comportamento das curvas, em cada grupo (Fig. 3), no período dos 60 dias, constatando em ambas a concavidade da parábola voltada para baixo ( $a < 0$ ), que demonstra aumento com o tempo e posterior melhora da profundidade. Os dois grupos apresentaram pontos de partidas semelhantes, porém o grupo TF (laranja) atingiu um pico maior e mais rápido quanto a profundidade, sendo a melhora também mais evidente e mais rápida. Já a parábola do grupo TC (azul), teve um pico menor, com uma melhora mais tardia, lenta e pequena, em relação ao seu próprio ponto máximo de profundidade.



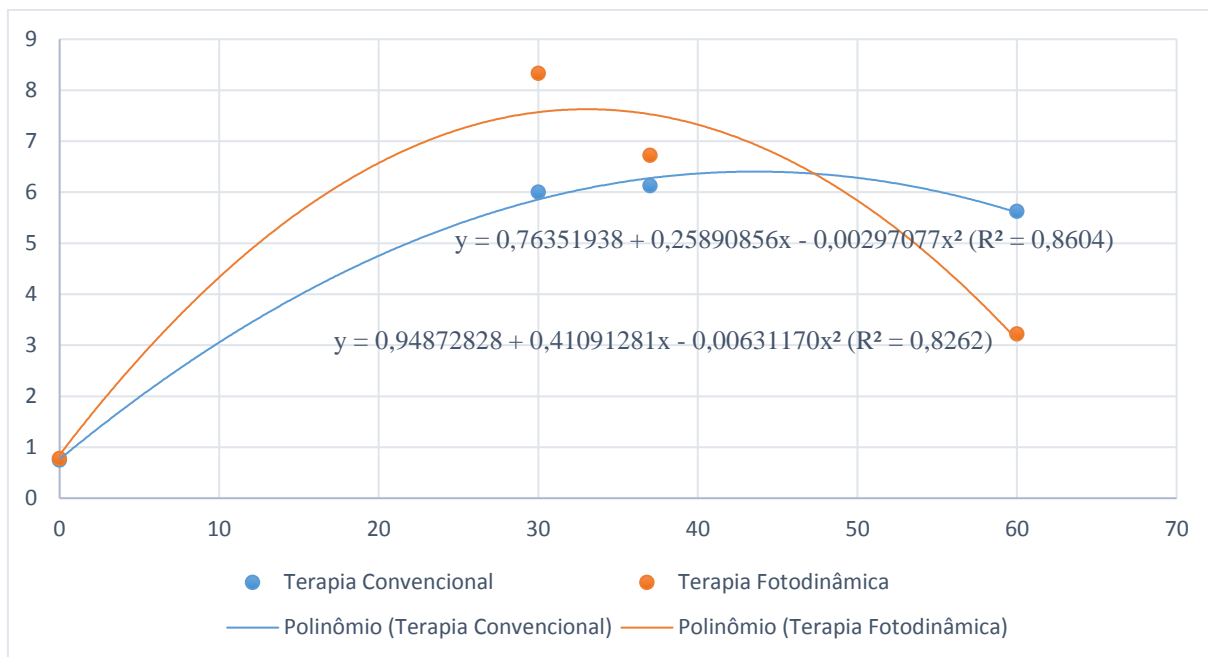


Figura 3. Profundidade dos sulcos gengivais dos equinos estudados, abscissa, no período de 60 dias, ordenada, dos dois grupos. Série 1) Terapia Convencional (Azul). Série 2) Terapia Fotodinâmica (Laranja).

Por meio da análise estatística das variâncias pelo teste F (Tab. 4), interações foram observadas entre os tratamentos e os dias, tanto juntos (TC+TF X Dia) como individualizados (Dia x TC e Dia x TF), também foi significativo o efeito do Dia e dos grupos somados em cada dia. O desdobramento dessas interações foi realizado por meio do teste t de Student (Tab. 5), que demonstrou desconsiderando o grupo, o dia zero com a menor profundidade de bolsa periodontal, os dias 30 e 37 semelhantes entre si e superiores ao dia 60. Ao comparar os grupos (Tratamentos dentro de Dias), houve semelhanças entre os resultados tanto do dia zero como 37, no dia 30 o TF teve valores maiores, e no 60 o TC teve profundidade superior de bolsa periodontal. A análise dos resultados do TF (Dia x TF), demonstrou interação positiva (Tab. 4), com diferenças entre todos os seus dias (Tab. 5), sendo o dia zero o menor, o dia 30 o maior, recuperação leve aos 37 dias, e destacada com 60. No grupo TC (Dia x TC) também detectou-se interação significativa (Tab. 4), mas o dia zero foi o menor e único diferente (Tab. 5). Não houve interação nos grupos desconsiderando os dias (Tab. 4), nem na comparação entre os grupos desconsiderando os dias (Tab. 4 e 5).

Tabela 4 – Análise das Variâncias (Teste F) das profundidades das bolsas periodontais experimentalmente induzida em equinos, pelas interações entre os tratamentos (Convencional – TC, e Terapia Fotodinâmica - TF), em relação aos dias analisados (zero, 30, 37 e 60).

Fontes de variação	GL	Quadrado Médio			
Efeito TC+TF	1	0,1914 <sup>NS</sup>			
Efeito Dia	3	129,9205 <sup>**</sup>			
Interação (TC+TF x Dia)	3	17,0872 <sup>**</sup>			
TC+TF	1	Dia 0	Dia 30	Dia 37	Dia 60
		0,0625 <sup>NS</sup>	22,5625 <sup>**</sup>	1,265625 <sup>NS</sup>	27,5625 <sup>**</sup>
Interação (Dia x TC)	3	53,75 <sup>**</sup>			
Interação (Dia x TF)	3	93,2578 <sup>**</sup>			
Coeficiente de Variação		24,2248			

Graus de Liberdade (GL); Tratamento Convencional (TC); Terapia Fotodinâmica (TF); Não significativo (NS); \*\* – p < 0,05.

Tabela 5 – Análise das Médias (t de Student) das profundidades (mm) das bolsas periodontais em equinos, como desdobramento das interações detectadas pelo teste F, nos tratamentos (Convencional – TC, e Terapia Fotodinâmica - TF) e nos dias analisados (zero, 30, 37 e 60).

Dias	0	30	37	60	Média Total
Média TC	0,750Ab	6,000Ba	6,125Aa	5,625Aa	4,625A
Média TF	0,875Ad	8,375Aa	6,687Ab	3,000Bc	4,734A
Média do Dia	0,812c	7,187a	6,406 <sup>a</sup>	4,312b	

Letras minúsculas diferentes na mesma linha, indicam diferença; Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna, indicam diferença; Tratamento Convencional (TC); Terapia Fotodinâmica (TF).

No grupo tratado com múltiplas aplicações de TF adjuvante, a recuperação foi evidenciada após sete dias do início do tratamento, com melhora de todos os periodontos após 30 dias do início do tratamento. Já no grupo TC, houve sutil melhora em milímetros, sendo que não foi confirmada estatisticamente e, não foi observada melhora em graus.

Um dos animais do grupo TF não pode ser submetido, tanto à VHS como à CRP, e duas amostras de VHS do dia zero (Convencional 1 e Fotodinâmica 4), foram perdidas. Não foram detectadas relações, da VHS com a indução da doença, ou com a recuperação, no grupo, ou entre os grupos, como pode ser observado na Tab. 6.

Tabela 6 – Valores de Velocidade de Hemossedimentação (ml/h) dos equinos com doença periodontal induzida, tratados com Tratamento Convencional e Terapia Fotodinâmica, nos diferentes tempos de avaliação (zero, 30 e 60).

Nome	Dia 0	Dia 30	Dia 60
Grupo Terapia Convencional			
Convencional 1	-	141	109
Convencional 2	63	105	122
Convencional 3	67	118	123
Fotodinâmica 5	-	130	130
Grupo Terapia Fotodinâmica			
Convencional 4	128	123	128
Fotodinâmica 1	128	124	128
Fotodinâmica 2	146	120	118
Fotodinâmica 3	126	122	121

Quatro animais (Convencional 4, Fotodinâmica 1, 2 e 3) eram submetidos a condições precárias até integrarem o biotério, onde passaram por um período de adaptação de 30 dias. Após esse período, foram submetidos a avaliações preliminares, as quais constataram aptos ao estudo, por meio do histórico, exame clínico e hemograma. No dia zero do estudo esses animais apresentaram níveis elevados da CRP, aos 30 dias houve grande diminuição mesmo com a indução concomitante da doença periodontal, e posterior equilíbrio aos 60 dias. Quanto aos outros animais (Convencional 1, 2, 3 e Fotodinâmica 5), houve aumento dos níveis do dia zero para o 30, e recuperação total ou parcial, aos 60 dias, independentemente do grupo, o que demonstra elevação com o estabelecimento da resposta inflamatória, e recuperação após a intervenção terapêutica (Fig. 4).

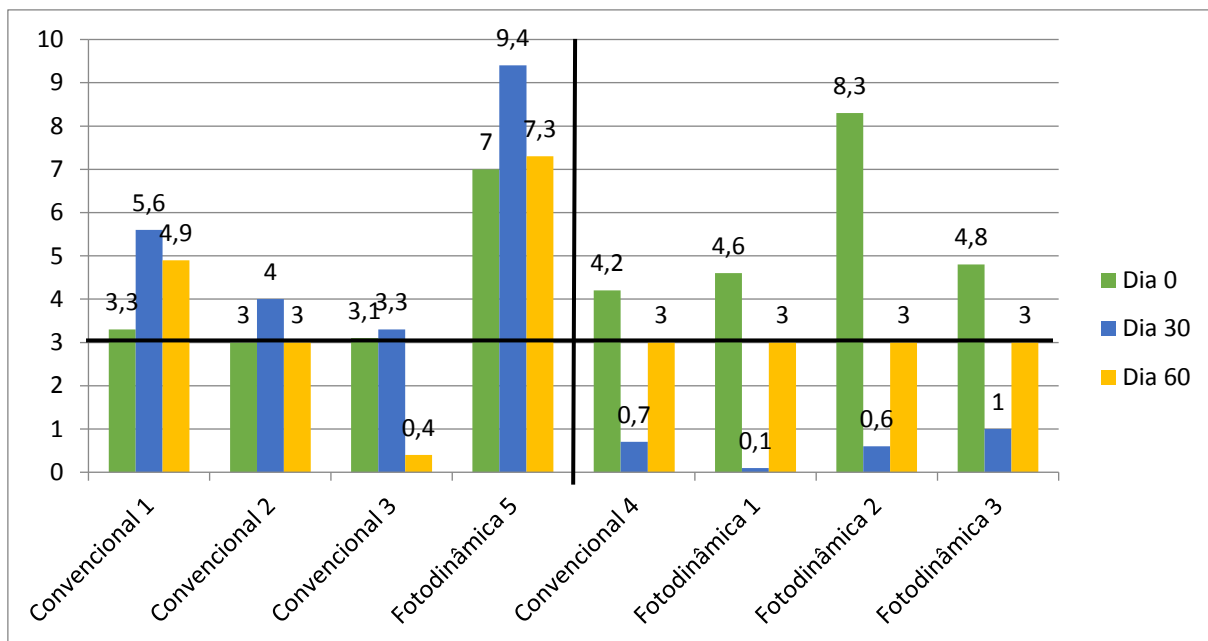


Figura 4 – Valores referentes à Proteína C-Reativa, em mg/L, de equinos com doença periodontal induzida no dia zero (verde), tratados no dia 30 (azul), com acompanhamento até o dia 60 (amarelo).

A fim de avaliar a aplicação da TF adjuvante, foi empregada a análise das Forças, Oportunidades, Fraquezas e Ameaças (FOFA), na Tab. 7, a qual avaliou as forças e fraquezas, inerentes a técnica, constatadas por este estudo, e em comparação a outros, bem como as oportunidades e ameaças em adotar essa técnica na rotina clínica. Os fatores positivos, as Forças e Oportunidades, foram comparados aos negativos, Fraquezas e Ameaças, que demonstraram haver mais fatores positivos, inclusive, sendo esses, mais preponderantes.

Tabela 7 – Análise das Forças, Oportunidades, Fraquezas e Ameaças (FOFA), considerando fatores internos e externos, positivos e negativos, da Terapia Fotodinâmica como tratamento da doença periodontal, na rotina odontológica equina.

	Fatores positivos	Fatores negativos
	Forças	Fraquezas
Fatores internos	Melhora resultados; Evita perdas dentárias; Controle bacteriano; Resposta inflamatória; Ação local; Sem efeitos colaterais; Não causa resistência; Custo baixo; Fácil aplicação; Pouco tempo no sulco gengival.	Custo de aquisição; Concorrência (géis mucoadesivos).
	Oportunidades	Ameaças
Fatores externos	Preocupação com resistência bacteriana; Busca por tratamentos especializados; Demanda por tratamento odontológico (animal ou equino); Boa casuística; Emprego em outras afecções (também de boa ocorrência).	Crise financeira; Descontinuidade (aplicações múltiplas); Preço maior; Desconhecimento (técnicos e leigos)

### 1.5. DISCUSSÃO

A avaliação clínica associada ao exame radiográfico, segundo Casey (2013) e Griffin (2013), determinam a presença de afecções dentárias ou periodontais. Elas possibilitaram selecionar 18 dentes saudáveis, de nove equinos, dois de cada, para a indução da doença periodontal experimental.

A técnica utilizada para indução foi adaptada de experimentos com ratos (ERVOLINO *et al.*, 2019; BELINELLO-SOUZA *et al.*, 2017), a qual não havia sido empregada em equinos. Demonstrou excelente aplicação nesses animais, pois resultou na doença com o grau desejado: dois, em todos os periodontos submetidos aos 30 dias de indução, como pode ser visto (Tab. 2). Isso, permitiu maior consistência dos resultados do tratamento, uma vez que o efeito e o protocolo são diferentes para gengivite, grau um, ou doença severa, grau quatro, comparados aos graus dois e três. A ressalva consiste na necessidade de recolocações da linha de algodão,

feitas basicamente em intervalos de dois a sete dias. Ervolino *et al.* (2019) e Belinello-Souza *et al.* (2017) utilizaram o primeiro molar em seus estudos, diferentemente da escolha para este estudo, que foram incisivos, a qual demonstrou ter sido acertada, pois as observações diárias, necessárias pelas quedas das ligaduras, foram facilitadas.

Além da técnica ter sido apropriada, o período de indução da lesão, previamente estabelecido de 30 dias, também foi, pois o tempo de permanência da ligadura interfere diretamente no grau da afecção. Isso é importante ser ressaltado, pois nos trabalhos de Ervolino *et al.* (2019) e Belinello-Souza *et al.* (2017) o grau da lesão não consistiu em um critério, e houve diferenças significativas no tempo da lesão entre eles. Belinello-Souza *et al.* (2017) tiveram o objetivo de estudar o tratamento com terapia fotodinâmica na lesão experimental, mas utilizaram apenas sete dias de indução, sem considerar o grau. Esse tempo menor, possivelmente tem relação com a característica gengival dos ratos, a qual é menos queratinizada, e por isso mais sensível do que a dos equinos (KENNEDY; DIXON, 2018; STASZYK; SUSKE; PÖSCHKE, 2015), a qual necessita de um prazo maior para formar uma afecção apropriada. Já no trabalho de Ervolino *et al.* (2019), lesões periodontais foram induzidas por 21 dias, mas sua finalidade era a doença periodontal estar presente após a exodontia, não importando o grau da lesão. Assim, os delineamentos em ratos geram dúvidas ao extrapolar para equinos, especialmente se o grau da doença for importante, as quais boa parte foram sanadas por este experimento.

O acúmulo interdental de alimentos consiste na principal causa da doença periodontal em equinos, ocasionado por diastemas não fisiológicos, por deslocamentos, trocas dentárias, erupção anormal, fraturas, desajuste oclusal, alterações do movimento e das forças mastigatórias (KENNEDY; DIXON, 2018; CASEY, 2013; RAWLINSON; EARLEY, 2013; TREMAINE, 2013; KLUGH, 2005). Lesões no periodonto, por alimentos abrasivos ou pelo alimento aprisionado, e o próprio conteúdo aprisionado, propiciam a colonização bacteriana, causando desequilíbrio na microbiota por aumentar a proporção de bactérias periodontopatogênicas, que liberam enzimas e toxinas, consequentemente danificam o periodonto e ativam a resposta inflamatória por meio de mediadores, os quais causam o agravo da lesão, aumento do sulco crevicular, formando as chamadas bolsas periodontais (KENNEDY; DIXON, 2018; CASEY, 2013; RAWLINSON; EARLEY, 2013; TREMAINE, 2013; KLUGH, 2005). Neste trabalho, a linha de algodão favoreceu a colonização bacteriana pela sua alta capilaridade, e por levar a agregação de alimentos, consequentemente, o encarceramento.

Os procedimentos indicados por Casey, (2013), Rawlinson e Earley, (2013) e Klugh, (2005), de preparo para avaliação, facilitaram a observação e a análise dos aspectos gengivais. Em seguida, a verificação da profundidade do sulco crevicular (Fig. 2), maior que três milímetros, conforme Griffin (2013), caracterizou ao menos, doença periodontal grau dois. Ao comparar a avaliação clínica, com o exame radiográfico, dos dentes acometidos, como recomendaram Griffin (2013) e Klugh (2005), foi constatada a proporção de periodonto envolvido, correlacionando o tamanho da bolsa periodontal com o da coroa reserva e o comprometimento do osso alveolar. A classificação (Tab. 1) basicamente considerou o periodonto saudável como grau zero, gengivite (grau um), bolsa periodontal maior que três milímetros com envolvimento inferior a 25% do periodonto (grau dois), entre 25% e 50% (grau três), e superior a 50% (grau 4).

Para o acompanhamento, os periodontos foram avaliados, classificados e as profundidades foram anotadas. O exame radiográfico teve papel fundamental na classificação, tanto na evolução da doença como do tratamento, permitindo classificar a doença periodontal, ao correlacionar os achados e o percentual de envolvimento ósseo, com a avaliação clínica, corroborando com Griffin (2013) e Klugh (2005), que destacaram o papel do Raio-X para casos não conclusivos clinicamente. Como a escala de classificação, zero a quatro, não permite acompanhar tendências e pequenas evoluções, foram utilizadas as profundidades em milímetros, sem descaracterizar a escala de classificação, mesmo com uma graduação maior.

A linha de algodão mimetizou o diastema valvular, que segundo Casey (2013) e Tremaine (2013), o conteúdo alimentar aprisionamento não sai, favorecendo a resposta inflamatória e o dano tecidual. O tratamento da periodontite, teve início com a correção da causa primária, neste caso a remoção da linha de algodão, a qual teve papel análogo à ampliação odontoclástica. Em seguida, efetuou-se a limpeza e o desbridamento, que proporcionaram a remoção de bactérias e tecidos danificados, favorecendo a cicatrização, como indicam Casey (2013), Tremaine (2013) e Klugh (2005). Esse é conhecido como tratamento convencional (TC), o qual foi empregado nos dois grupos, no dia 30, em seguida à avaliação e classificação clínica.

Em alguns casos, a terapia antimicrobiana como coadjuvante à convencional é necessária, seja pela gravidade da lesão, ou pela patogenicidade dos agentes envolvidos (RAWLINSON e EARLEY, 2013; TREMAINE, 2013; KLUGH, 2005). Por isso, há a indicação de antibióticos, sendo preferíveis locais comparados aos sistêmicos, pelos efeitos

adversos destes (TREMACHINE, 2013). A Terapia Fotodinâmica, segundo os autores Belinello-Souza *et al.* (2017), Carrera *et al.* (2016), Pulikkotil *et al.* (2016), Vohra *et al.* (2016), Alwaeli *et al.* (2015), Jervøe-Storm *et al.* (2015), Moreira *et al.* (2015) e Queiroz *et al.* (2015), também é indicada como adjuvante antimicrobiano na doença periodontal, e pela forma de ação, tem a vantagem de não causar resistência bacteriana (VOHRA *et al.*, 2016; JERVØE-STORM *et al.*, 2015). Até a conclusão deste estudo, não haviam estudos publicados da terapia fotodinâmica, neste tipo de afecção, em equinos.

A terapia fotodinâmica, conforme disseram Ervolino *et al.* (2019), Belinello-Souza *et al.* (2017), Carrera *et al.* (2016), Junqueira *et al.* (2016), Pulikkotil *et al.* (2016), Vohra *et al.* (2016), Alwaeli *et al.* (2015), Campanile *et al.* (2015), Jervøe-Storm *et al.* (2015), Moreira *et al.* (2015) e Queiroz *et al.* (2015), consiste na excitação de um corante por uma fonte de luz, a qual pode ser a Amplificação da Luz por Emissão Estimulada de Radiação (*lasers*), de baixa potência, ou Dióodos Emissores de Luz (*LEDs*), utilizado neste estudo, que na exposição do oxigênio, geram espécies reativas de oxigênio e oxigênio de singlete, os quais são tóxicos para bactérias e tecidos danificados.

O Azul de Metileno é um corante, da classe dos fenotiazínicos, que pode ser utilizado como fotossensibilizador (CARRERA *et al.*, 2016; JUNQUEIRA *et al.*, 2016), o qual possui boa interação com a fonte de luz empregada neste estudo, *LEDs*, vermelho visível. O Azul de Metileno, tem boa eficácia no combate de microrganismos (CARRERA *et al.*, 2016; JERVØE-STORM *et al.*, 2015), e seus monômeros têm o espectro de absorção em 664 nm, e dímeros em 59 nm, o que configura em excelente absorção da luz pelos tecidos (JUNQUEIRA *et al.*, 2016), e a boa interação com a luz utilizada. Para essa absorção, pelas bactérias e tecidos danificados, houve a espera de um minuto, antes de incidir a luz de *LEDs*, como indicado por Ervolino *et al.* (2019). Os sol-géis, segundo Junqueira *et al.* (2016), são compostos que facilitam a aplicação pela boa seringabilidade e por geleificar ao entrar em contato com a temperatura corporal, propiciando o preenchimento adequado da bolsa periodontal e a aderência durante o período estipulado de incidência luminosa. Junqueira *et al.* (2016) desenvolveram um sol-gel contendo Azul de Metileno, e constatou *in vitro*, características que indicavam boa aplicação *in vivo*. No presente estudo, este sol-gel foi testado *in vivo*, confirmando as características de seringabilidade e gelificação, demonstrando praticidade, preenchimento local, e permanência nos 10 minutos necessários, sem causar efeitos colaterais, por isso, teve excelente aplicação em equinos.



Os dados das profundidades dos sulcos gengivais em milímetros (Tab. 2) complementaram os resultados de classificação, permitindo um acompanhamento mais preciso da doença periodontal. Assim, a classificação demonstrou eficiência na seleção dos periodontos, para a indução da lesão, e tratamento, e a profundidade, em milímetros, teve aplicação na evolução da lesão e na cicatrização, por apresentar maior graduação, possibilitando avaliação com maior riqueza de detalhes.

A característica das parábolas, concavidade para baixo (Fig. 3), e a análise estatística descritiva (Tab. 3), demonstraram aumento da profundidade com o passar do tempo, sendo o dia zero a menor profundidade, semelhanças entre os valores dos dias 30 e 37, e o dia 60, menor que esses, que demonstra uma melhora. Tais análises, constaram que os periodontos tenderam a melhorar, o que também foi evidenciado por Alwaeli *et al.* (2015), Campanile *et al.* (2015) e Moreira *et al.* (2015).

Ao comparar as parábolas (Fig. 3), observa-se o ponto de partida semelhante em ambas, mas no grupo TF (laranja) houve um aumento acentuado, atingindo um pico maior e mais rápido quanto a profundidade, e também, com uma melhora mais marcante e efetiva. Uma interação foi observada pelo teste F, entre os grupos e/ou dias de avaliação (Tab. 4). O desdobramento da análise, apontou existirem realmente diferenças entre as parábolas, nos dias 30 e 60 ao comparar os tratamentos (TC e TF), enquanto nos dias zero e 37 não houve diferenças entre os grupos (Tab. 5). Desta forma, embora no início da indução as profundidades terem sido semelhantes, a técnica ter sido a mesma e causado uma lesão de mesmo grau (dois) em todos periodontos, houve diferença estatística ao final da indução, dia 30, com superioridade do grupo TF. O fato de os dois grupos terem o mesmo grau de lesão (Tab. 2), em todas as bolsas periodontais, mesmo assim haver diferença estatística entre os grupos (Tab. 4 e 5), quanto à profundidade, comprovam a necessidade de utilizar esses dois critérios para avaliar a evolução da doença. Apesar desta superioridade, a recuperação proporcionada por este tratamento foi mais rápida e efetiva, o que possibilitou, no dia 37, não haver mais diferença, e no dia 60, estar com valores inferiores estatisticamente. Alwaeli *et al.* (2015), Campanile *et al.* (2015) e Moreira *et al.* (2015), também observaram melhora destacada do grupo TF.

Por meio da análise do efeito grupo (Tab. 4, TC+TF) e pela comparação das médias totais entre os dois grupos (Tab. 5), foi observada semelhança entre os resultados, apesar das diferenças já discutidas. Isso ocorreu pelos altos valores, no dia 30, para o grupo TF, associado à pouca alteração entre os valores dos dias, no grupo TC.

Os desdobramentos realizados pelo teste t de Student (Tab. 5) das interações observadas pelo teste F em cada grupo com os dias (Tab. 4), confirmaram no TF o comportamento sugerido pela respectiva parábola (laranja), apresentando o dia zero com menor profundidade, o dia 30, a maior, recuperação leve aos 37 dias, e destacada com 60, atingindo pela média três mm, profundidade considerada saudável, não havendo semelhanças entre eles. Embora a parábola do grupo TC (azul), tenha tido uma profundidade menor, a melhora foi mais tardia, lenta e bem pequena, em relação ao seu próprio ponto máximo de profundidade, tal característica foi confirmada estatisticamente, o dia zero foi o único diferente (Tab. 5). Essas constatações, dos desdobramentos, complementam a observação do gráfico, apesar da parábola ter apontado uma tendência de melhora para o grupo TC, a mesma não foi confirmada, enquanto que, confirmou a recuperação do grupo TF, já aos sete dias de tratamento. Desta forma, estatisticamente, a melhora ocorreu apenas no grupo tratado com TF, como também foi observado por Belinello-Souza *et al.* (2017).

Ao observar o comportamento das curvas (Fig. 3), apenas quanto à recuperação após tratamento, do dia 30 ao 60, nota-se que, inicialmente ela foi lenta no grupo TC, não sendo evidenciada pelo teste t de Student, e o grupo TF teve uma recuperação mais rápida e efetiva, observada já aos sete dias após o tratamento, mesmo tendo de início uma doença mais grave, atingiu a média de 3 mm aos 60 dias, profundidade considerada saudável (Tab. 5). Os trabalhos de Pulikkotil *et al.* (2016), Moreira *et al.* (2015) e Queiroz *et al.* (2015), constataram também superioridade do grupo TF, mas diferentemente do presente estudo e de Belinello-Souza *et al.* (2017), constataram melhora nos dois grupos, segundo Queiroz *et al.* (2015), com superioridade apenas nos parâmetros inflamatórios, com uma semana e aos três meses, e Pulikkotil *et al.* (2016), constataram a superioridade apenas aos 60 dias, na sensibilidade ao sangramento.

O período de avaliação após o tratamento, utilizado no presente estudo, foi eficaz para constatar a superioridade do TF ao TC, o que corrobora com os trabalhos de Belinello-Souza *et al.* (2017), Alwaeli *et al.* (2015), Campanile *et al.* (2015) e Moreira *et al.* (2015), que também constataram esta superioridade. Assim como o presente estudo, Belinello-Souza *et al.* (2017), também identificaram melhora no grupo TF, com apenas sete dias de avaliação, destacando a superioridade da TF ao TC, mesmo em um curto período de avaliação.

Neste estudo, as sete aplicações em 13 dias de TF, demonstraram-se eficazes clinicamente, com apenas 40% de bolsas remanescentes para o grupo TF (Tab. 3), e os resultados apontaram ainda para melhora futura, pelo comportamento da parábola (Fig. 3),

confirmado estatisticamente (Tab. 4 e 5). Enquanto que, no grupo TC, não foi evidenciada melhora da profundidade, em nenhum periodonto houve resolução da lesão, constatando incremento significativo dos resultados do TF, em relação ao TC, após 30 dias do tratamento. Nos seus estudos, Campanile *et al.* (2015) e Moreira *et al.* (2015) empregaram aplicações múltiplas da TF na doença periodontal, os quais também observaram superioridade ao TC, em humanos, mesmo o TC tendo apresentado melhora estatística.

Durante o processo inflamatório, há a liberação de proteínas da fase aguda na corrente sanguínea, elevando os níveis plasmáticos (PIHL *et al.*, 2016), por isso elas são utilizadas como biomarcadores para o diagnóstico de afecções inflamatórias (BUNDGAARD *et al.*, 2016). A VHS, é uma técnica que afere indiretamente a resposta inflamatória, pelo aumento proporcional das proteínas plasmáticas, ocorre maior hemossedimentação em um tempo menor. Um dos animais do grupo TF não pode ser submetido, tanto ao VHS como à CRP, por ter uma ferida na perna a qual interferiria no resultado, e duas amostras de VHS do dia zero (Convencional 1 e Fotodinâmica 5) foram perdidas. Devido à baixa especificidade da técnica e o pequeno número de animais, não foram detectadas relações da VHS com a indução da doença, ou com a recuperação, no grupo ou entre os grupos (Tab. 6).

As proteínas indicadoras da resposta inflamatória em equinos, normalmente são a proteína amiloide A sérica, haptoglobulina e fibrinogênio (BUNDGAARD *et al.*, 2016; PIHL *et al.*, 2016), apesar de pouco utilizada, a CRP demonstrou comportamento interessante neste estudo, para detectar afecções nessa espécie, corroborando com Petersen *et al.* (2004) e Zabrecky *et al.* (2015). Dos animais admitidos à esta pesquisa, quatro (Convencional 4, Fotodinâmica 1, 2 e 3) eram submetidos a condições precárias antes de integrar o biotério (Fig. 4). Após um mês nele, passaram pelo crivo, do histórico, exame clínico e hemograma. Nesses animais, constatou-se níveis elevados da CRP no dia zero, grande diminuição com 30 dias, mesmo com a indução da doença periodontal, e posterior equilíbrio. Essa técnica, permitiu acompanhar a evolução da condição desses pacientes, sendo a melhora do manejo e bem-estar, mais preponderantes que o prejuízo causado pela lesão experimental, indicando potencial para analisar a condição geral do paciente equino, em associação ao hemograma e exame clínico. Quanto aos outros animais (Convencional 1, 2, 3, e Fotodinâmica 5), houve aumento dos níveis com 30 dias, e recuperação total ou parcial aos 60 dias, independentemente do grupo, o que demonstra elevação com o estabelecimento da resposta inflamatória e recuperação após a intervenção terapêutica. Assim, nota-se que a CRP teve relação direta com estado dos animais

e com a doença periodontal experimental, demonstrando potencial para aplicação na clínica, como também destacaram Petersen *et al.* (2004) na inflamação asséptica, laminite induzida por carboidratos, pneumonia, enterite e após castração, e conforme Zabrecky *et al.* (2015) na fratura de costela, artrite séptica, cólica, enterocolite, e neutrófilos tóxicos.

Ao considerar os fatores positivos da análise FOFA (Tab. 7), primeiramente, as forças, a TF possui grande potencial para melhorar consideravelmente os resultados, como este trabalho constatou e Belinello-Souza *et al.* (2017); Alwaeli *et al.* (2015), Campanile *et al.*(2015), e Moreira *et al.*(2015) também destacaram, evitando perdas dentárias, proporcionando controle bacteriano e melhora da resposta inflamatória (MOREIRA *et al.* 2015), com ação local segura, sem causar efeitos colaterais (ERVOLINO *et al.*, 2019; MOREIRA *et al.*, 2015) e resistência (VOHRA *et al.*, 2016; JERVØE-STORM *et al.*, 2015), custo baixo e fácil aplicação. Também não exige a permanência de algum composto por longos períodos no sulco gengival, o que causaria desconforto e encerramento do protocolo, por perda ou desintegração precoce do material. Quanto às oportunidades, a busca por soluções alternativas para o combate de afecções bacterianas com segurança tem aumentado, assim como a demanda por tratamentos com veterinários especialistas, e o entendimento da necessidade da saúde bucal animal, inclusive em equinos. A periodontite possui ocorrência razoável na clínica odontológica equina (CASEY, 2013) e animal, sendo que a TF adjuvante, pode ser empregada também em outras afecções, como tumores cutâneos (sarcóides, carcinomas de células escamosas), neoplasias do trato urinário e gliomas (DOBSON *et al.*, 2018).

A análise da Tab. 7 demonstrou também pontos negativos, sendo que as fraquezas são superadas por pontos anteriormente destacados. Como o custo de aquisição da fonte de luz, o qual é diluído, pela boa casuística da periodontite (CASEY, 2013), e por também ser indicada à outras enfermidades, de ocorrências iguais ou superiores (DOBSON *et al.*, 2018), além de melhorar os resultados, inclusive nessas outras afecções. Quanto às ameaças, como a concorrência de outras formas de tratamento, principalmente géis muco-adesivos com antibióticos, também de ação local e com efeito colateral inferior aos antibióticos sistêmicos, mas são facilmente suplantadas, pelo fato dos géis causarem resistência bacteriana, bem como a alta tolerância dos biofilmes à ação antisséptica e antimicrobiana (JERVØE-STORM *et al.*, 2015), e a possibilidade de descontinuidade do tratamento, por perdas ou desintegração precoce. Já os problemas relacionados às ameaças, exigem estratégias para serem minimizados, como a crise financeira, que interfere diretamente na descontinuidade do tratamento, quanto às

aplicações múltiplas, podendo ser adotada apenas uma aplicação, por exemplo. Ou ainda, o desconhecimento da técnica, a qual pode ser menosprezada por veterinários e tutores, para isso, trabalhos científicos, como este, comprovando sua eficácia, relatando a forma de ação e aplicações, bem como ações de conscientização e divulgação, quanto ao uso racional de antibióticos e da TF, são essenciais, assim como a explicação técnica, com linguagem acessível ao tutor, a fim de que entenda a função e eficácia da mesma. A única ameaça que não pode ser combatida pelas características da técnica, é o proprietário evitar protocolo que eleve, mesmo que insignificadamente, o preço. Desta forma, é possível notar, os pontos positivos são mais preponderantes que os negativos, embora esses não devem ser subestimados, apontando o grande potencial clínico, com ressalvas pertinentes a uma técnica inovadora, apesar de não ser nova.

#### 1.6. CONCLUSÃO

- A técnica proposta para a indução da periodontite, foi eficaz na espécie equina, causando o grau de doença esperada para o estudo dos tratamentos.
- O Tratamento Convencional (TC) não teve relação estatística com a melhora clínica da doença periodontal, com pequena melhora apenas em milímetros aos 30 dias após o tratamento. As múltiplas aplicações da Terapia Fotodinâmica adjuvante (TF), demonstraram recuperação já aos sete dias após o tratamento, e aos 30 dias, houve resolução total de 60% dos periodontos, melhora significativa em milímetros de todos os periodontos, atingindo pela média a profundidade considerada saudável.
- O acompanhamento clínico, por meio da classificação, auxiliada pela imagem radiográfica, e profundidade da bolsa periodontal em milímetros, são eficientes.
- A CRP, demonstrou potencial para ser utilizada na rotina clínica.
- Pela baixa especificidade da técnica e o número de animais utilizados, não foi possível avaliar o emprego da VHS.
- A TF foi empregada em bolsas periodontais mais profundas, com melhora clínica evidenciada estatisticamente já aos sete dias, igualando as profundidades, e aos 30 dias passou a ter profundidade menor, demonstrando superioridade ao TC, o qual teve pequena melhora e apenas numérica aos 60 dias.
- A TF tem potencial para ser aplicada na rotina clínica, principalmente por melhorar os resultados e pela segurança.

## 1.7. REFERÊNCIAS

1. ALWAELI, H. A.; AL-KHATEEB, S. N.; AL-SADI, A. Long-term clinical effect of adjunctive antimicrobial photodynamic therapy in periodontal treatment: a randomized clinical trial. *Lasers in medical science*, v. 30, n. 2, p. 801-807, 2015.
2. BANSAL, T.; PANDEY, A.; DEEPA, D.; ASTHANA, A. K. C-reactive protein (CRP) and its association with periodontal disease: a brief review. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*, v. 8, n. 7, p. ZE21, 2014.
3. BASSI DA SILVA, J.; FERREIRA, S. B. S.; DE FREITAS, O.; BRUSCHI, M. L. A critical review about methodologies for the analysis of mucoadhesive properties of drug delivery systems. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 43, n. 7, p. 1053-1070, 2017.
4. BELINELLO-SOUZA, E. L.; ALVARENGA, L. H.; LIMA-LEAL, C. *et al.* Antimicrobial photodynamic therapy combined to periodontal treatment: Experimental model. *Photodiagnosis and photodynamic therapy*, v. 18, p. 275-278, 2017.
5. BUNDGAARD, L.; BENDIXEN, E.; SØRENSEN, M. A. *et al.* A selected reaction monitoring-based analysis of acute phase proteins in interstitial fluids from experimental equine wounds healing by secondary intention. *Wound Repair and Regeneration*, v. 24, n. 3, p. 525-532, 2016.
6. CAMPANILE, V. S. M.; GIANNOPOULOU, C.; CAMPANILE, G. *et al.* Single or repeated antimicrobial photodynamic therapy as adjunct to ultrasonic debridement in residual periodontal pockets: clinical, microbiological, and local biological effects. *Lasers in medical science*, v. 30, n. 1, p. 27-34, 2015.
7. CARRERA, E. T.; DIAS, H. B.; CORBI, S. C. T. *et al.* The application of antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) in dentistry: a critical review. *Laser physics*, v. 26, n. 12, p. 123001, 2016.
8. CASEY, M. A new understanding of oral and dental pathology of the equine cheek teeth. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, v. 29, n. 2, p. 301-324, 2013.
9. COX, A.; DIXON, P.; SMITH, S. Histopathological lesions associated with equine periodontal disease. *The Veterinary Journal*, v. 194, n. 3, p. 386-391, 2012.
10. DE OLIVEIRA, C. L.; DE SOUSA SANTOS, K.; NETO, J. D. A. F. *et al.* A eficácia da terapia fotodinâmica no tratamento periodontal não cirúrgico. *ARCHIVES OF HEALTH INVESTIGATION*, v. 6, n. 6, 2017.
11. DE SOUZA, F. B. R.; FISCHER, G.; VARGAS, G. D. Efeito antimicrobiano da própolis contra agentes infecciosos de interesse veterinário. *Science and Animal Health*, v. 1, n. 1, p. 24-37, 2016.
12. DOBSON, J.; DE QUEIROZ, G. F.; GOLDING, J. P. Photodynamic therapy and diagnosis: Principles and comparative aspects. *The Veterinary Journal*, v. 233, p. 8-18, 2018.

13. DU TOIT, N.; RUCKER, B. A. The gold standard of dental care: the geriatric horse. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, v. 29, n. 2, p. 521-527, 2013.
14. EARLEY, E.; RAWLINSON, J. T. A new understanding of oral and dental disorders of the equine incisor and canine teeth. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, v. 29, n. 2, p. 273-300, 2013.
15. EDUARDO, C. D. P.; BELLO-SILVA, M. S.; RAMALHO, K. M. *et al.* A terapia fotodinâmica como benefício complementar na clínica odontológica. *Revista da Associação Paulista de Cirurgões Dentistas*, v. 69, n. 3, p. 226-235, 2015.
16. ERVOLINO, E.; STATKIEVICZ, C.; TORO, L. F. *et al.* Antimicrobial photodynamic therapy improves the alveolar repair process and prevents the occurrence of osteonecrosis of the jaws after tooth extraction in senile rats treated with zoledronate. *Bone*, v. 120, p. 101-113, 2019.
17. FRANCESCHINE, J. A. S.; BRITO, F.; FIGUEREDO, C. M. Impacto do tratamento periodontal não-cirúrgico nos níveis plasmáticos da proteína c-Reativa em pacientes com periodontite crônica: revisão da literatura. *Revista de Ciências Médicas e Biológicas*, v. 14, n. 1, p. 82-87, 2015.
18. GRIFFIN, C. The gold standard of dental care: the juvenile horse. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, v. 29, n. 2, p. 487-504, 2013.
19. GUIMARÃES, A. O.; DE BRITO, A. M. G.; GOES, C. S. *et al.* S. Proteína C reativa e velocidade de hemossedimentação na avaliação laboratorial de processos inflamatórios. *Scire Salutis*, v. 4, n. 1, p. 6-16, 2014.
20. JERVØE-STORM, P. M.; JEPSEN, S.; WORTHINGTON, H. V. Adjunctive antimicrobial photodynamic therapy for treating periodontal and peri-implant diseases. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, n. 6, 2015.
21. JUNQUEIRA, M. V.; BORGHI-PANGONI, F. B.; FERREIRA, S. B. *et al.* Functional polymeric systems as delivery vehicles for methylene blue in photodynamic therapy. *Langmuir*, v. 32, n. 1, p. 19-27, 2016.
22. KENNEDY, R. S.; DIXON, P. M. The aetiopathogenesis of equine periodontal disease—a fresh perspective. *Equine Veterinary Education*, 2018.
23. KLUGH, D. O. Equine periodontal disease. *Clinical techniques in equine practice*, v. 4, n. 2, p. 135-147, 2005.
24. MARQUES, T. V. F.; GONÇALVES, L. S.; MARQUES, F. V. Influência da periodontite apical nos níveis séricos de marcadores de Proteína C-reativa: revisão da literatura. *Revista Brasileira de Odontologia*. v. 72, n. 1/2, p. 16, 2016.

25. MOREIRA, A. L.; NOVAES JR, A. B.; GRISI, M. F. *et al.* Antimicrobial photodynamic therapy as an adjunct to non-surgical treatment of aggressive periodontitis: a split-mouth randomized controlled trial. *Journal of periodontology*, v. 86, n. 3, p. 376-386, 2015.
26. PETERSEN, H. H.; NIELSEN, J. P.; HEEGAARD, P. M. H. Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry. *Veterinary research*, v. 35, n. 2, p. 163-187, 2004.
27. PIHL, T. H.; SCHEEPERS, E.; SANZ, M. *et al.* Acute-phase proteins as diagnostic markers in horses with colic. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, v. 26, n. 5, p. 664-674, 2016.
28. PULIKKOTIL, S. J.; TOH, C. G.; MOHANDAS, K.; LEONG, K. V. G. Photodynamic therapy in periodontitis. *Australian Dental Journal*, v. 61, n. 4, p. 440-445, 2016.
29. QUEIROZ, A. C.; SUAID, F. A.; DE ANDRADE, P. F. *et al.* Adjunctive effect of antimicrobial photodynamic therapy to nonsurgical periodontal treatment in smokers: a randomized clinical trial. *Lasers in medical science*, v. 30, n. 2, p. 617-625, 2015.
30. RAWLINSON, J. T.; EARLEY, E. Advances in the treatment of diseased equine incisor and canine teeth. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, v. 29, n. 2, p. 411-440, 2013.
31. SIMÕES, G. J. M. Avaliação dos níveis séricos de proteína c reativa em cães com doença periodontal. 2016. Dissertação de Mestrado. Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias. 2016.
32. STASZYK, C.; SUSKE, A.; PÖSCHKE, A. Equine dental and periodontal anatomy: A tutorial review. *Equine Veterinary Education*, v. 27, n. 9, p. 474-481, 2015.
33. TREMAINE, H. Advances in the treatment of diseased equine cheek teeth. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, v. 29, n. 2, p. 441-465, 2013.
34. VOHRA, F.; AKRAM, Z.; SAFII, S. H. *et al.* Role of antimicrobial photodynamic therapy in the treatment of aggressive periodontitis: a systematic review. *Photodiagnosis and photodynamic therapy*, v. 13, p. 139-147, 2016.
35. ZABRECKY, K. A.; SLOVIS, N. M.; CONSTABLE, P. D.; TAYLOR, S. D. Plasma C-reactive protein and haptoglobin concentrations in critically ill neonatal foals. *Journal of veterinary internal medicine*, v. 29, n. 2, p. 673-677, 2015.



## 2. ARTIGO

Terapia fotodinâmica como adjuvante no tratamento da doença periodontal em equinos

Adjunctive photodynamic therapy as periodontal disease treatment in equines

*L. L. R. DIAS<sup>1</sup>, M. G. RIBEIRO<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Maringá – UEM, Umuarama, PR

### RESUMO

A doença periodontal é uma afecção comum, relacionada ao aprisionamento de alimentos em diastemas não fisiológicos, em equinos. O tratamento consiste na correção da causa primária, limpeza e desbridamento do sulco gengival, denominado Terapia Convencional (TC). Frequentemente antimicrobianos são necessários, pela gravidade ou patogenicidade dos agentes. A Terapia Fotodinâmica adjuvante (TF), tem sido estudada pelo seu potencial combate bacteriano, sem causar resistência bacteriana. O objetivo deste estudo foi analisar a doença periodontal, experimentalmente induzida, em dentes incisivos de equinos, e correlacionar à evolução clínica da doença aos tratamentos, TC e TF. A técnica utilizada para a indução da doença periodontal, no período de 30 dias, causou o grau pretendido, dois. O TC não resultou em melhora clínica estatisticamente, tanto em graus como em profundidade, apenas numérica na profundidade aos 60 dias. A TF foi empregada em dentes com profundidade maior da bolsa periodontal, que o grupo TC, e mesmo assim, apresentou melhora clínica já com sete dias, e mais efetiva aos 30, atingindo na média, o valor considerado normal, três milímetros. A TF apresentou potencial para ser aplicada na rotina, pelo incremento nos resultados, sem causar efeitos colaterais.

Palavras-chave: Cavalos; Cirurgia; Odontologia; Periodontite; Periodontologia.

### ABSTRACT

Periodontal disease is a common condition, related to the entrapment of food in non-physiological diastems, in horses. Treatment consists of correction of the primary cause, cleansing and debridement of the gingival sulcus, called Conventional Therapy (CT).

Often antimicrobials are requested by the severity or pathogenicity of the agents. Adjuvant Photodynamic Therapy (PDT), has been studied for its potential bacterial combat, without causing bacterial resistance. The objective of this study was to analyze periodontal disease, experimentally induced, in incisor teeth of horses, and to correlate the clinical evolution of the disease with treatments, TC and PDT. The technique used for the induction of periodontal disease, in the period of 30 days, caused the desired degree, two. TC did not result in clinical improvement, either in degrees or millimeters. The PDT was used in teeth with a greater depth of the periodontal pocket, than the TC group, and even then, showed clinical improvement already seven days, and more effective at 30, reaching in the average, the value considered normal, three millimeters. The PDT presented potential to be applied in the routine, by the increase in the results, without causing side effects.

Keywords: Dentistry; Horse; Periodontitis; Periodontology; Surgery.

## INTRODUÇÃO

A doença periodontal é uma afecção dolorosa, comum em equinos (CASEY, 2013), causada principalmente pelo acúmulo de alimento no sulco crevicular (KENNEDY; DIXON, 2018; CASEY, 2013; RAWLINSON e EARLEY, 2013; TREMAINE, 2013; KLUGH, 2005).

Alimentos encarcerados no espaço interdental, propiciam a colonização de bactérias periodontopatogênicas. Elas liberam enzimas e toxinas, danificando o periodonto, ativam a resposta inflamatória por meio de mediadores, que causam o agravo, aprofundamento do sulco crevicular, formando as bolsas periodontais (KENNEDY; DIXON, 2018; CASEY, 2013; RAWLINSON e EARLEY, 2013; TREMAINE, 2013; KLUGH, 2005). Dependendo da severidade, ocorre a destruição do periodonto de proteção, exposição das demais estruturas, levando à osteomielite, lesão endodôntica, apical, e/ou perda dentária (CASEY, 2013; RAWLINSON e EARLEY, 2013).

O Tratamento Convencional (TC) da periodontite, consiste na correção da causa primária, limpeza e desbridamento do sulco crevicular (CASEY, 2013; TREMAINE, 2013; KLUGH 2005). Com certa frequência, terapia antimicrobiana é necessária, seja pela gravidade da lesão, ou patogenicidade dos agentes (RAWLINSON e EARLEY, 2013; TREMAINE, 2013; KLUGH, 2005). O problema dos antibióticos, além dos efeitos

adversos (TREMAINE, 2013), é a resistência bacteriana, questão importantíssima na saúde humana e animal.

Segundo Belinello-Souza *et al.* (2017), Carrera *et al.* (2016); Pulikkotil *et al.* (2016), Vohra *et al.* (2016), Alwaeli *et al.* (2015), Jervøe-Storm *et al.* (2015), Moreira *et al.* (2015); Queiroz *et al.* (2015); a terapia fotodinâmica, tem sido proposta como adjuvante antimicrobiano na doença periodontal, com a vantagem de não causar resistência bacteriana (VOHRA *et al.*, 2016; JERVØE-STORM *et al.*, 2015), mas sem estudos publicados desse emprego, em equinos.

A terapia fotodinâmica, consiste na excitação de um corante, por uma fonte de luz, que na exposição do oxigênio, geram espécies reativas de oxigênio e oxigênio de singleto, os quais são tóxicos para bactérias e tecido danificado (ERVOLINO *et al.* 2019; BELINELLO-SOUZA *et al.* 2017; CARRERA *et al.* 2016; JUNQUEIRA *et al.* 2016; PULIKKOTIL *et al.* 2016; VOHRA *et al.* 2016; ALWAELI *et al.* 2015; CAMPANILE *et al.* 2015; JERVØE-STORM *et al.* 2015; MOREIRA *et al.* 2015; QUEIROZ *et al.* 2015).

O objetivo deste trabalho foi estudar o uso da TF, na doença periodontal experimental, e compará-la à TC, em equinos.

## MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), da Universidade Estadual de Maringá (UEM), sob o número de protocolo 3869270818.

Foram induzidas, experimentalmente, 18 bolsas periodontais, duas por animal, em equinos adultos, de quatro a 10 anos, sem raça definida. Esses animais foram distribuídos em dois grupos, tratamento convencional (TC), consistiu na limpeza e desbridamento da bolsa periodontal, com quatro animais, e o tratamento convencional associado à terapia fotodinâmica (TF), com cinco animais. Todos os periodontos selecionados foram submetidos aos mesmos procedimentos, diferindo-se apenas no tratamento.

Os animais selecionados não receberam tratamentos odontológicos, e/ou com antibióticos, 90 dias prévios ao estudo, e estavam em boa condição de saúde, constatada por exame clínico e hemograma. Os dentes escolhidos para indução da lesão foram incisivos permanentes, 302 e 402 ou 303 e 403, que estivessem entre dois permanentes, saudáveis – confirmados com avaliação clínica e radiográfica.

Prévio aos procedimentos, a boca foi enxaguada, o animal sedado com Cloridrato de Xylazina a 10% (0,5 – 1,5mg/kg, intravenosa), a cabeça suspensa com uma cabeçada odontológica (Horse Dental Care, Brasil), e a boca aberta com um espéculo odontológico para incisivos (Horse Dental Care, Brasil).

A indução da periodontite foi inspirada nos estudos de Ervolino *et al.* (2019) e Belinello-Souza *et al.* (2017) em ratos, com adaptações para a espécie equina, com início no dia zero, pela colocação de uma linha de algodão (Corrente Cordonê, 00, Algodão, Coats Corrente, Brasil), nos espaços interdentais, esquerdo e direito do respectivo dente, de forma a envolvê-lo (Fig. 1). Esta linha foi fixada com nós de cirurgião, um duplo seguido por dois simples, e mantida por 30 dias, com observações diárias, para a recolocação, caso fosse necessária.



Figura 1 – A) Demonstração da colocação da linha de algodão para indução da doença periodontal em equinos. B) Linhas fixadas nos dentes 302 e 402.

Findado o período de indução, 30 dias, a linha e os alimentos impactados foram removidos, o periodonto enxaguado com água e o aspecto gengival observado (CASEY, 2013; RAWLINSON e EARLEY, 2013; KLUGH, 2005). A profundidade do sulco gengival, e a presença da afecção – superior a três milímetros (GRIFFIN, 2013), foram determinadas com uma sonda periodontal milimetrada (146-P, Millenium, Brasil), inserida perpendicularmente no sulco periodontal. Também se empregou uma classificação adaptada de Klugh (2005), Tab. 1, a qual associou a avaliação clínica à

radiográfica (Fig. 2), em uma escala de zero a quatro, a fim de selecionar os graus dois e três para o estudo clínico. A profundidade e a classificação, das bolsas periodontais, também foram utilizadas para acompanhar a evolução dos tratamentos, nos dias 37 e 60.

Tabela 1. Classificação da doença periodontal em equinos, adaptada de Klugh (2005).

Classificação	Gengiva	Cemento	Mobilidade	Raio-X	Envolvimento osso alveolar
Grau 0	Normal	Normal	0	Normal	0%
Grau 1	Inchada, avermelhada, sensível	Normal ou supragengival	0	Normal	0%
Grau 2	Impactação, inflamada ou necrótica	Supra e subgengival	0 ou 1	Define o envolvimento	< 25%
Grau 3	Impactação, inflamada ou necrótica	Supra e subgengival	1 ou 2	Perda óssea, alterações apicais e coroa reserva	<50%
Grau 4	Edema, ulceração, necrose e pus	Supra e subgengival	2 ou 3	Perda óssea, alterações apicais e coroa reserva	>50%

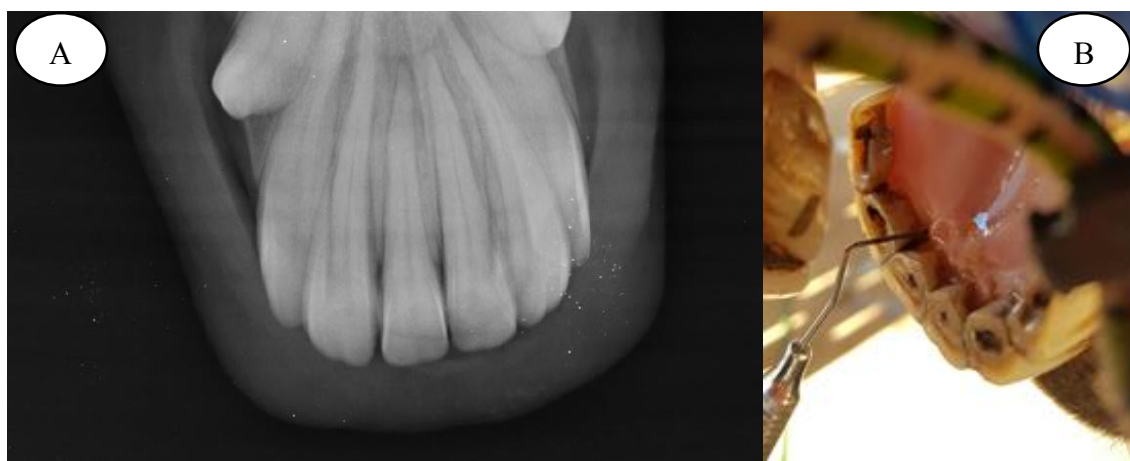


Figura 2 – Avaliação radiográfica e clínica para a classificação da doença periodontal em equinos. A) Imagem radiográfica dos dentes incisivos; B) Constatação da profundidade da bolsa periodontal, do dente 402.

Em seguida à avaliação, empregou-se o tratamento convencional nos periodontos selecionados. Foram enxaguados com água, e secos com compressas de gazes (Algodão, Dental Cremer, Brasil). Depois, toda a bolsa foi curetada, com uma cureta periodontal (MC CALL, 17-18, Millenium, Brasil). Tal procedimento foi empregado nos dois grupos, no dia 30. Na sequência, apenas para o grupo TF, empregou-se a terapia fotodinâmica.

Para a TF, o agente fotossensibilizador utilizado foi o Azul de Metileno, na forma de sol-gel (Azul de Metileno 0,5%, P407 17,5%, C934P 0,2%), descrito por Junqueira et al. (2016), o qual foi mantido em frasco de vidro âmbar, refrigerado a 5°C. Foi aplicado 0,6 ml com uma seringa, por todo periodonto. Após a aplicação, houve a espera de um minuto, para incidir Dioidos Emissores de Luz (LEDs), que possui 650nm de

comprimento de onda. O protocolo consistiu em sete aplicações, intercaladas com 48 horas, à 10 centímetros de distância, por 10 minutos.

Para avaliar o efeito do tratamento, os resultados das profundidades (mm) foram analisados em esquema fatorial, com dois fatores, sendo o primeiro, os resultados dos tratamentos, com dois níveis (TC e TF), e o segundo, os dias, com quatro níveis (zero, 30, 37 e 60). Para empregar esse esquema, duas bolsas periodontais foram removidas do grupo TF, a saber, Fotodinâmica 1a e 5a. Para analisar a aplicabilidade da TF na rotina veterinária, as questões referentes à técnica foram submetidas à análise das Fraquezas, Oportunidades, Fraquezas e Ameaças (FOFA).

Os resultados das profundidades de cada grupo, em função do tempo, foram submetidos à regressão polinomial, sendo adotada a regressão quadrática para ambos. Além disso, a análise da variância das profundidades foi empregada com o teste F, a fim de constatar interferências entre os fatores, sendo os desdobramentos dessas interações avaliados pelas comparações das médias, pelo teste t de Student com nível de significância de 5%. Esses dados foram avaliados pelo *software* AgroEstat – Sistema para Análises Estatísticas de Ensaio Agrônomicos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A avaliação clínica associada ao exame radiográfico, conforme Casey (2013) e Griffin (2013), determinaram a presença de afecções, possibilitando a seleção de 18 dentes saudáveis, dois em cada animal, de nove equinos, para a indução da doença periodontal experimental.

A técnica utilizada para indução, foi adaptada de experimentos em ratos (BELINELLO-SOUZA *et al.* 2017; ERVOLINO *et al.* 2019), e não havia sido descrita em equinos. A gengiva queratinizada dos equinos, torna-a mais resistente do que as de outras espécies (KENNEDY; DIXON, 2018; STASZYK; SUSKE; PÖSCHKE, 2015), configurando um obstáculo. Isso ressalta a competência da técnica empregada na indução da lesão, a qual causou o grau pretendido (dois) em todos os periodontos, no período de 30 dias (Tab. 2), diferentemente de Belinello-souza *et al.*, (2017) que induziram por sete dias, e Ervolino *et al.*, (2019) por 21 dias, e para eles não importava o grau. As lesões com o mesmo grau, garantiram a consistência dos resultados dos tratamentos, uma vez

que o efeito e o protocolo são diferentes para gengivite (grau um), ou doença severa (grau quatro), comparados aos empregados nos graus dois e três.

Tabela 2 – Avaliações dos periodontos pela profundidade e grau da doença periodontal, nos grupos de tratamento – Convencional e Fotodinâmica, durante os 60 dias de estudo.

Periodonto	Dia 0	Dia 30	Dia 37	Dia 60
Convencional 1 <sup>a</sup>	2 (grau 0)	6 (grau 2)	5 (grau 2)	5 (grau 2)
Convencional 1b	2 (grau 0)	7 (grau 2)	6 (grau 2)	6 (grau 2)
Convencional 2 <sup>a</sup>	1 (grau 0)	5 (grau 2)	5 (grau 2)	6 (grau 2)
Convencional 2b	1 (grau 0)	5 (grau 2)	5 (grau 2)	7 (grau 2)
Convencional 3 <sup>a</sup>	0 (grau 0)	6 (grau 2)	6 (grau 2)	4,5 (grau 2)
Convencional 3b	0 (grau 0)	7 (grau 2)	6 (grau 2)	4,5 (grau 2)
Convencional 4 <sup>a</sup>	0 (grau 0)	6 (grau 2)	8 (grau 2)	6 (grau 2)
Convencional 4b	0 (grau 0)	6 (grau 2)	8 (grau 2)	6 (grau 2)
Fotodinâmica 1 <sup>a</sup>	0 (grau 0)	8 (grau 2)	7 (grau 2)	5 (grau 2)
Fotodinâmica 1b	0 (grau 0)	8 (grau 2)	8 (grau 2)	4 (grau 2)
Fotodinâmica 2 <sup>a</sup>	1 (grau 0)	8 (grau 2)	8 (grau 2)	4 (grau 2)
Fotodinâmica 2b	1 (grau 0)	9,5 (grau 2)	7 (grau 2)	3 (grau 0)
Fotodinâmica 3 <sup>a</sup>	2 (grau 0)	9,5 (grau 2)	8 (grau 2)	4 (grau 2)
Fotodinâmica 3b	2 (grau 0)	8,5 (grau 2)	8 (grau 2)	3 (grau 0)
Fotodinâmica 4 <sup>a</sup>	0 (grau 0)	8 (grau 2)	4,5 (grau 2)	0 (grau 0)
Fotodinâmica 4b	0 (grau 0)	9,5 (grau 2)	6 (grau 2)	3 (grau 0)
Fotodinâmica 5 <sup>a</sup>	1 (grau 0)	6 (grau 2)	3 (grau 0)	3 (grau 0)
Fotodinâmica 5b	1 (grau 0)	6 (grau 2)	4 (grau 2)	3 (grau 0)

O acúmulo interdental de alimento consiste na principal causa da doença periodontal em equinos (KENNEDY; DIXON, 2018; CASEY, 2013; RAWLINSON e EARLEY, 2013; TREMAINE, 2013; KLUGH, 2005). Alimento aprisionado, propicia a colonização de bactérias periodontopatogênicas, que liberam enzimas e toxinas, as quais danificam o periodonto, ativam a resposta inflamatória por meio de mediadores, esses causam o agravo da lesão, formando as bolsas periodontais (KENNEDY; DIXON, 2018; CASEY, 2013; RAWLINSON e EARLEY, 2013; TREMAINE, 2013; KLUGH, 2005). Neste trabalho, a linha de algodão favoreceu a colonização bacteriana pela sua alta capilaridade, e por levar a agregação de alimentos, conseqüentemente, o encarceramento.

A verificação da profundidade do sulco crevicular (Fig. 2), a princípio, determinou a presença da afecção, nos sulcos maiores que três milímetros, conforme Griffin (2013). O exame radiográfico foi fundamental, tanto na evolução da doença, como do tratamento, pois constatou a proporção de periodonto envolvido, ao correlacionar a profundidade da bolsa periodontal, ao tamanho da coroa reserva, e a proporção de periodonto lesionado,

bem como o envolvimento ósseo, e possíveis lesões em estruturas adjacentes, corroborando com Griffin (2013) e Klugh (2005).

Para um acompanhamento mais sensível do que a escala de classificação, zero a quatro, a qual não permite acompanhar tendências e pequenas evoluções, foram constatadas as profundidades, em milímetros. A capacidade de observar a evolução, com maior precisão, foi confirmada pelas Tab. 3, 4 e 5, pois no dia 30 todos os periodontos apresentaram a mesma classificação (grau dois, Tab. 2), mas houve diferença estatística nas profundidades em milímetros, entre os grupos. O uso associado da profundidade em milímetros com a classificação, melhora a precisão no acompanhamento da evolução da doença, sem descaracterizar a escala.

Tabela 3- Análise descritiva referente à indução experimental da doença periodontal e a evolução após os tratamentos, Terapia Convencional (TC) e Terapia Fotodinâmica (TF), dos periodontos estudados em equinos, durante os 60 dias de estudo.

Tratamento	Dia	Média	Variância	Desvio Padrão	Erro Padrão Médio
TC	0	0,7500	0,7857	0,8864	0,3133
TC	30	6,0000	0,5714	0,7559	0,2672
TC	37	6,1250	1,5535	1,2464	0,4406
TC	60	5,6250	0,7678	0,8762	0,3098
TF	0	0,8750	0,6964	0,8345	0,2950
TF	30	8,3750	1,4107	1,1877	0,4199
TF	37	6,6875	2,7812	1,6677	0,5896
TF	60	3,0000	1,7142	1,3093	0,4629

Tratamento – TC: Convencional; TF: Fotodinâmica.

Tabela 4 – Análise das Variâncias (Teste F) das profundidades das bolsas periodontais experimentalmente induzida em equinos, pelas interações entre os tratamentos (Convencional – TC, e Terapia Fotodinâmica - TF), em relação aos dias analisados (zero, 30, 37 e 60).

Fontes de variação	GL	Quadrado Médio			
Efeito TC+TF	1	0,1914 <sup>NS</sup>			
Efeito Dia	3	129,9205 <sup>**</sup>			
Interação (TC+TF x Dia)	3	17,0872 <sup>**</sup>			
TC+TF	1	Dia 0 0,0625 <sup>NS</sup>	Dia 30 22,5625 <sup>**</sup>	Dia 37 1,265625 <sup>NS</sup>	Dia 60 27,5625 <sup>**</sup>
Interação (Dia x TC)	3	53,75 <sup>**</sup>			
Interação (Dia x TF)	3	93,2578 <sup>**</sup>			
Coefficiente de Variação		24,2248			

Graus de Liberdade (GL); Tratamento Convencional (TC); Terapia Fotodinâmica (TF); Não significativo (NS); \*\* – p < 0,05.



Tabela 5 – Análise das Médias (t de Student) das profundidades (mm) das bolsas periodontais em equinos, como desdobramento das interações detectadas pelo teste F, nos tratamentos (Convencional – TC, e Terapia Fotodinâmica - TF) e nos dias analisados (zero, 30, 37 e 60).

Dias	0	30	37	60	Média Total
Média TC	0,750Ab	6,000Ba	6,125Aa	5,625Aa	4,625A
Média TF	0,875Ad	8,375Aa	6,687Ab	3,000Bc	4,734A
Média do Dia	0,812c	7,187a	6,406a	4,312b	

Letras minúsculas diferentes na mesma linha, indicam diferença; Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna, indicam diferença; Tratamento Convencional (TC); Terapia Fotodinâmica (TF).

O tratamento da periodontite, iniciou com a correção da causa primária, remoção da linha de algodão, que teve papel análogo à ampliação odontoclástica. Em seguida, efetuou-se a limpeza e o desbridamento, que conforme Casey (2013); Tremaine (2013) e Klugh (2005), propiciam a cicatrização, pela remoção de bactérias e tecido danificado. Esse tratamento (TC), foi empregado nos dois grupos, no dia 30, após o exame clínico.

Em alguns casos, uma terapia adjuvante é necessária, seja pela gravidade da lesão, ou pela patogenicidade dos agentes envolvidos (RAWLINSON e EARLEY, 2013; TREMAINE, 2013; KLUGH, 2005). Por isso, há a indicação de antibióticos, sendo preferíveis locais, pelos efeitos adversos (TREMAINE, 2013). A terapia fotodinâmica, segundo Belinello-Souza *et al.* (2017), Carrera *et al.* (2016), Vohra *et al.* (2016), Pulikkotil *et al.* (2016), Alwaeli *et al.* (2015), Jervøe-Storm *et al.* (2015), Moreira *et al.* (2015) e Queiroz *et al.* (2015), tem essa indicação, e pela forma de ação, tem a vantagem de não causar resistência bacteriana (VOHRA *et al.*, 2016; JERVØE-STORM *et al.*, 2015). Até a conclusão deste estudo, não haviam estudos publicados da terapia fotodinâmica, nessa afecção, em equinos.

O Azul de Metileno é um corante, da classe dos fenotiazínicos, que pode ser utilizado como fotossensibilizador (CARRERA *et al.*, 2016; JUNQUEIRA *et al.*, 2016), o qual possui boa interação com a fonte de luz empregada neste estudo, LEDs, vermelho visível. O Azul de Metileno, tem boa eficácia no combate de microrganismos (CARRERA *et al.*, 2016; JERVØE-STORM *et al.*, 2015), e seus monômeros têm o espectro de absorção em 664 nm, e dímeros em 59 nm, o que configura em excelente absorção da luz pelos tecidos (JUNQUEIRA *et al.*, 2016) e a boa interação com a luz utilizada. Para essa absorção, pelas bactérias e tecidos danificados, houve a espera de um minuto, antes de incidir a luz de LEDs, como indicado por Ervolino *et al.* (2019). Neste estudo, o emprego do Azul de Metileno, ocorreu por meio de sol-gel, desenvolvido e

testado *in vitro* por Junqueira *et al.* (2016), o qual facilitou a aplicação, pela seringabilidade, e geleificação ao entrar em contato com a temperatura corporal, propiciando o preenchimento adequado da bolsa periodontal, e aderência durante o período estipulado de incidência luminosa, 10 minutos. Assim, confirmou *in vivo*, as características testadas *in vitro*, demonstrando praticidade, sem causar efeitos colaterais, por isso, teve excelente aplicação em equinos.

O teste F (Tab. 4) apontou interações entre os grupos (TC E TF) e/ou entre os dias (0, 30, 37 e 60). As profundidades dos sulcos gengivais, dos 60 dias, foram submetidas à análise de regressão polinomial em cada grupo, a qual demonstrou para ambos valores significativos dos coeficientes de determinação, sendo 0,8262 no grupo TF e 0,8604 no TC, para a regressão quadrática ( $p < 0,01$ ). A característica das parábolas ( $a < 0$ ), concavidade para baixo (Fig. 3), associada ao desdobramento das interações por meio da análise das médias (Tab. 5), desconsiderando o grupo, apontaram o dia zero com a menor profundidade, semelhanças entre os valores dos dias 30 e 37, e o dia 60, menor que esses, conferindo tendência à melhora, também evidenciada pelos autores Alwaeli *et al.* (2015), Campanile *et al.* (2015) e Moreira *et al.* (2015).

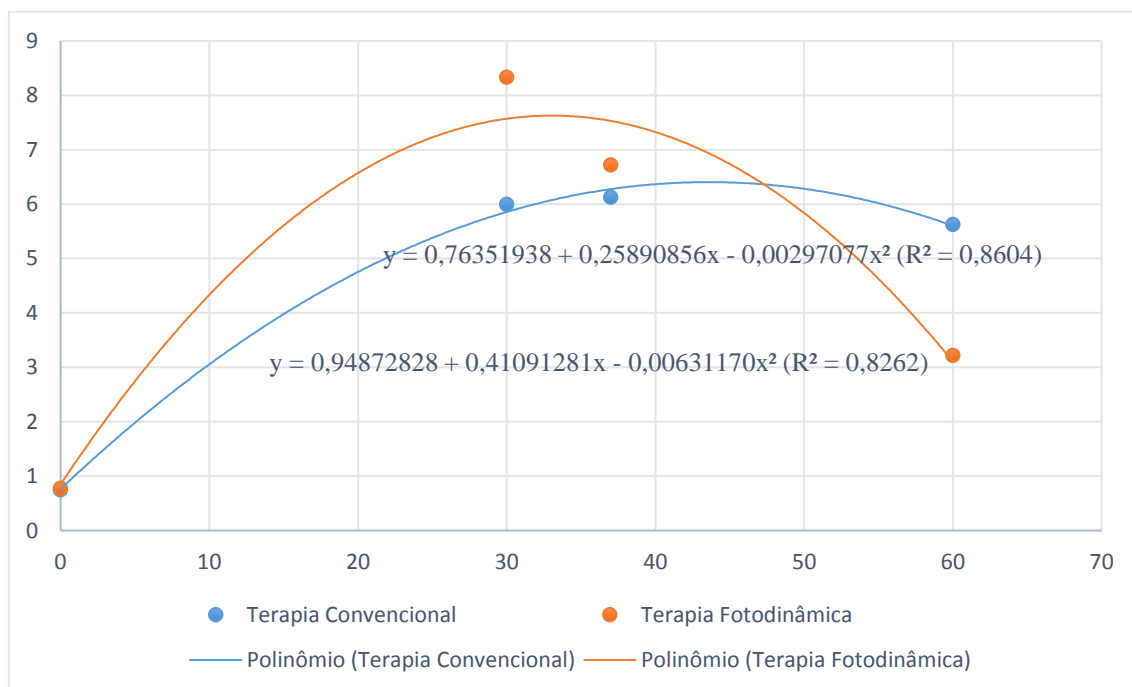


Figura 3. Profundidade dos sulcos gengivais dos equinos estudados, abscissa, no período de 60 dias, ordenada, dos dois grupos. Série 1) Terapia Convencional (Azul). Série 2) Terapia Fotodinâmica (Laranja).

Conforme a Fig. 3, Tab. 2, 3, 4 e 5, antes da indução, dia zero, os periodontos estavam saudáveis, as profundidades semelhantes, e a mesma técnica de indução, foi aplicada. Ao final da indução, dia 30, causou uma lesão de mesmo grau (dois), em todos periodontos, mas houve diferença estatística quanto à profundidade, sendo o grupo TF superior, com um pico maior e mais rápido (Fig. 3 e Tab. 4 e 5). Apesar desta superioridade, a recuperação proporcionada pela TF, foi mais rápida e efetiva, o que possibilitou, no dia 37, não haver mais diferença entre os grupos, e ter sido deste grupo o único periodonto recuperado, e no dia 60, estar com valores inferiores estatisticamente (Fig. 3, Tab. 3 e 5). Os autores Alwaeli *et al.* (2015), Campanile *et al.* (2015) e Moreira *et al.* (2015), também observaram melhora destacada do grupo TF, e Belinello-Souza *et al.* (2017), identificaram melhora no grupo TF, com apenas sete dias de avaliação, destacando a superioridade da TF ao TC, mesmo em um curto período de avaliação.

Por meio da comparação dos resultados, entre os dois grupos, desconsiderando os dias (Tab. 4 e 5), foi observada semelhança entre os resultados, apesar das diferenças já discutidas. Isso ocorreu pelos altos valores, no dia 30, para o grupo TF, associado à pouca alteração entre os valores dos dias, no grupo TC.

Os resultados das interações (Tab. 4) com os desdobramentos (Tab. 5), permitiram avaliar cada grupo (Tab. 5). No TF confirmou o comportamento sugerido pela respectiva parábola (Fig. 3), apresentando o dia zero com menor profundidade, o dia 30, a maior, recuperação aos 37 dias, e destacada com 60, atingindo pela média o valor considerado saudável, de três mm (Tab. 2, 3 e 5). Embora a parábola do grupo TC (azul), tenha tido uma profundidade menor, a melhora foi mais tardia, lenta e insignificante, em relação ao seu próprio ponto máximo de profundidade, tal característica foi confirmada estatisticamente, o dia zero foi o menor, e único diferente (Tab. 5). Essas constatações, das interações e seus desdobramentos da análise fatorial, complementam a observação do gráfico, apesar da parábola ter apontado uma tendência de melhora para o grupo TC, a mesma não foi confirmada, enquanto que, confirmou a recuperação do grupo TF, já aos sete dias. Como também observaram Belinello-Souza *et al.* (2017), a melhora ocorreu apenas no grupo tratado com TF.

O período de avaliação após o tratamento, utilizado no presente estudo, foi eficaz para constatar a superioridade do TF ao TC. As sete aplicações em 13 dias, de TF, se demonstraram eficazes, com melhora já aos sete dias de tratamento, e destacada com 60%

de resolução aos 30 dias, e melhora evidente em todos periodontos, enquanto o grupo TC teve uma pequena melhora da profundidade apenas aos 30 dias, não detectada estatisticamente, e em nenhum periodonto houve resolução. Nos seus estudos, Campanile *et al.* (2015) e Moreira *et al.* (2015) empregaram aplicações múltiplas da TF nessa afecção, e também observaram superioridade, em humanos.

A aplicação da TF adjuvante, foi testada pela análise FOFA, Tab. 6, que ponderou as forças e fraquezas, constatadas neste estudo, e em comparação a outros, bem como as oportunidades e ameaças, em adotar essa técnica na rotina clínica.

Tabela 6 – Análise das Forças, Oportunidades, Fraquezas e Ameaças (FOFA), considerando fatores internos e externos, positivos e negativos, da Terapia Fotodinâmica como tratamento da doença periodontal, na rotina odontológica equina.

	Fatores positivos	Fatores negativos
	<b>Forças</b>	<b>Fraquezas</b>
Fatores internos	Melhora resultados; Evita perdas dentárias; Controle bacteriano; Resposta inflamatória; Ação local; Sem efeitos colaterais; Custo baixo; Fácil aplicação; Pouco tempo no sulco gengival.	Custo de aquisição; Concorrência (géis mucoadesivos).
	<b>Oportunidades</b>	<b>Ameaças</b>
Fatores externos	Preocupação com resistência bacteriana; Busca por tratamentos especializados; Demanda por tratamento odontológico (animal ou equino); Boa casuística; Emprego em outras afecções (também de boa ocorrência).	Crise financeira; Descontinuidade (aplicações múltiplas); Preço maior; Desconhecimento (técnicos e leigos)

Ao considerar os fatores positivos da análise FOFA (Tab. 6), primeiramente, as forças, a TF possui grande potencial para melhorar os resultados, como neste trabalho, e Belinello-Souza *et al.* (2017), Alwaeli *et al.* (2015), Campanile *et al.* (2015) e Moreira *et al.* (2015) também destacaram. Evita perdas dentárias, proporciona controle bacteriano e melhora da resposta inflamatória (MOREIRA *et al.* 2015), com ação local segura, sem efeitos colaterais (ERVOLINO *et al.*, 2019; MOREIRA *et al.*, 2015) e resistência (VOHRA *et al.*, 2016; JERVØE-STORM *et al.*, 2015), custo baixo, e fácil aplicação. Não exige a permanência de compostos por longos períodos no sulco gengival, que causaria desconforto, e encerramento do protocolo, por perda ou desintegração precoce. Quanto às oportunidades, alternativas para o combate de afecções bacterianas, com segurança, têm aumentado, assim como, à demanda por veterinários especialistas, e o entendimento da necessidade da saúde oral, em equinos. Essa afecção, periodontite, é comum na clínica odontológica equina (CASEY, 2013), e animal, e ainda, a TF adjuvante, pode ser

empregada também em outras afecções, como tumores cutâneos (sarcóides, carcinomas de células escamosas), neoplasias do trato urinário, gliomas (DOBSON *et al.*, 2018).

Os pontos negativos, Tab. 6, demonstraram fraquezas facilmente superadas pelos pontos positivos. Como o custo de aquisição da fonte de luz, diluído pela boa casuística da periodontite (CASEY, 2013), e por ser indicada à outras enfermidades, de ocorrências iguais ou superiores (DOBSON *et al.*, 2018), além de melhorar os resultados clínicos. Quanto às ameaças, algumas são facilmente superadas, como a concorrência, os principais são géis muco-adesivos com antibióticos, também de ação local, com efeito colateral inferior aos antibióticos sistêmicos, mas eles causam resistência bacteriana, bem como há alta tolerância dos biofilmes à ação antisséptica e antimicrobiana (JERVØESTORM *et al.*, 2015) e, a possibilidade de descontinuidade do tratamento, por perdas ou desintegração precoce. Já algumas ameaças, exigem estratégias, como a crise financeira, que interfere na continuidade do tratamento, quanto às aplicações múltiplas, podendo ser adotada apenas uma aplicação por exemplo. Ou ainda, o desconhecimento da técnica, a qual pode ser menosprezada por veterinários e tutores, para isso, trabalhos científicos, como este, comprovando sua eficácia, relatando a forma de ação e aplicações, bem como ações de conscientização e divulgação, quanto ao uso racional de antibióticos e da TF, são essenciais. Uma ameaça que não pode ser solucionada com características próprias, é o proprietário evitar protocolo que eleve, mesmo que insignificamente, o preço. Apesar disso, os pontos positivos são mais preponderantes que os negativos.

## CONCLUSÃO

O Tratamento Convencional (TC) não teve relação estatística com a melhora clínica da doença periodontal, em 30 dias pós-tratamento, enquanto a Terapia Fotodinâmica adjuvante (TF), demonstrou ser eficiente, com recuperação já aos sete dias, melhora significativa de todos os periodontos, com resolução completa em 60%, e atingindo, pela média do grupo, a profundidade de periodonto saudável. A TF tem potencial para ser aplicada na rotina clínica, principalmente por melhorar os resultados clínicos, com segurança e facilidade de aplicação.

## REFERÊNCIAS

- ALWAELI, H. A.; AL-KHATEEB, S. N.; AL-SADI, A. Long-term clinical effect of adjunctive antimicrobial photodynamic therapy in periodontal treatment: a randomized clinical trial. *Lasers in medical science*, v. 30, n. 2, p. 801-807, 2015.
- BELINELLO-SOUZA, E. L.; ALVARENGA, L. H.; LIMA-LEAL, C. *et al.* Antimicrobial photodynamic therapy combined to periodontal treatment: Experimental model. *Photodiagnosis and photodynamic therapy*, v. 18, p. 275-278, 2017.
- CAMPANILE, V. S. M.; GIANNOPOULOU, C.; CAMPANILE, G. *et al.* Single or repeated antimicrobial photodynamic therapy as adjunct to ultrasonic debridement in residual periodontal pockets: clinical, microbiological, and local biological effects. *Lasers in medical science*, v. 30, n. 1, p. 27-34, 2015.
- CARRERA, E. T.; DIAS, H. B.; CORBI, S. C. T. *et al.* The application of antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) in dentistry: a critical review. *Laser physics*, v. 26, n. 12, p. 123001, 2016.
- CASEY, M. A new understanding of oral and dental pathology of the equine cheek teeth. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, v. 29, n. 2, p. 301-324, 2013.
- DOBSON, J.; DE QUEIROZ, G. F.; GOLDING, J. P. Photodynamic therapy and diagnosis: Principles and comparative aspects. *The Veterinary Journal*, v. 233, p. 8-18, 2018.
- ERVOLINO, E.; STATKIEVICZ, C.; TORO, L. F. *et al.* Antimicrobial photodynamic therapy improves the alveolar repair process and prevents the occurrence of osteonecrosis of the jaws after tooth extraction in senile rats treated with zoledronate. *Bone*, v. 120, p. 101-113, 2019.
- GRIFFIN, C. The gold standard of dental care: the juvenile horse. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, v. 29, n. 2, p. 487-504, 2013.
- JERVØE-STORM, P. M.; JEPSEN, S.; WORTHINGTON, H. V. Adjunctive antimicrobial photodynamic therapy for treating periodontal and peri-implant diseases. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, n. 6, 2015.
- JUNQUEIRA, M. V.; BORGHI-PANGONI, F. B.; FERREIRA, S. B. *et al.* Functional polymeric systems as delivery vehicles for methylene blue in photodynamic therapy. *Langmuir*, v. 32, n. 1, p. 19-27, 2016.

KENNEDY, R. S.; DIXON, P. M. The aetiopathogenesis of equine periodontal disease—a fresh perspective. *Equine Veterinary Education*, 2018.

KLUGH, D. O. Equine periodontal disease. *Clinical techniques in equine practice*, v. 4, n. 2, p. 135-147, 2005.

MOREIRA, A. L.; NOVAES JR, A. B.; GRISI, M. F. *et al.* Antimicrobial photodynamic therapy as an adjunct to non-surgical treatment of aggressive periodontitis: a split-mouth randomized controlled trial. *Journal of periodontology*, v. 86, n. 3, p. 376-386, 2015.

PULIKKOTIL, S. J.; TOH, C. G.; MOHANDAS, K.; LEONG, K. V. G. Photodynamic therapy in periodontitis. *Australian Dental Journal*, v. 61, n. 4, p. 440-445, 2016.

QUEIROZ, A. C.; SUAID, F. A.; DE ANDRADE, P. F. *et al.* Adjunctive effect of antimicrobial photodynamic therapy to nonsurgical periodontal treatment in smokers: a randomized clinical trial. *Lasers in medical science*, v. 30, n. 2, p. 617-625, 2015.

RAWLINSON, J. T.; EARLEY, E. Advances in the treatment of diseased equine incisor and canine teeth. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, v. 29, n. 2, p. 411-440, 2013.

STASZYK, C.; SUSKE, A.; PÖSCHKE, A. Equine dental and periodontal anatomy: A tutorial review. *Equine Veterinary Education*, v. 27, n. 9, p. 474-481, 2015.

TREMAINE, H. Advances in the treatment of diseased equine cheek teeth. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, v. 29, n. 2, p. 441-465, 2013.

VOHRA, F.; AKRAM, Z.; SAFII, S. H. *et al.* Role of antimicrobial photodynamic therapy in the treatment of aggressive periodontitis: a systematic review. *Photodiagnosis and photodynamic therapy*, v. 13, p. 139-147, 2016.

## ANEXO 1



Comissão de Ética no Uso de Animais

da Universidade Estadual de Maringá

### CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "TERAPIA FOTODINÂMICA COMO ADJUVANTE NO TRATAMENTO DA DOENÇA PERIODONTAL EM EQUINOS", protocolada sob o CEUA nº 3869270818 (ID 001885), sob a responsabilidade de **Max Gimenez Ribeiro e equipe; Lucas Lopes Rino Dias** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá (CEUA/UEM) na reunião de 10/09/2018.

We certify that the proposal "PHOTODYNAMIC THERAPY AS AN ADJUVANT IN THE TREATMENT OF PERIODONTAL DISEASE IN EQUINE", utilizing 10 Equines (males and females), protocol number CEUA 3869270818 (ID 001885), under the responsibility of **Max Gimenez Ribeiro and team; Lucas Lopes Rino Dias** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the State University of Maringá (CEUA/UEM) in the meeting of 09/10/2018.

Finalidade da Proposta: [Pesquisa](#)

Vigência da Proposta: de 09/2018 a 12/2018

Área: Dmv-Medicina Veterinária

Origem: [Hospital Veterinário da UEM](#)

Espécie: [Equídeos](#)

sexo: [Machos e Fêmeas](#)

idade: [5 a 25 anos](#)

N: [10](#)

Linhagem: [Sem raça definida](#)

Peso: [200 a 700 kg](#)

Local do experimento: Universidade Estadual de Maringá, campus Umuarama

Maringá, 30 de janeiro de 2019

Profa. Dra. Tatiana Carlesso dos Santos  
Coordenadora da CEUA/UEM  
Universidade Estadual de Maringá

Dr. Claudemir Martins Soares  
Coordenador Adjunto da CEUA/UEM  
Universidade Estadual de Maringá



## ANEXO 2

### Normas para publicação: ABMVZ Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia

#### Política Editorial

O periódico Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science), ISSN 0102-0935 (impresso) e 1678-4162 (on-line), é editado pela FEPMVZ Editora, CNPJ: 16.629.388/0001-24, e destina-se à publicação de artigos científicos sobre temas de medicina veterinária, zootecnia, tecnologia e inspeção de produtos de origem animal, aquacultura e áreas afins.

Os artigos encaminhados para publicação são submetidos à aprovação do Corpo Editorial, com assessoria de especialistas da área (relatores). Os artigos cujos textos necessitarem de revisões ou correções serão devolvidos aos autores. Os aceitos para publicação tornam-se propriedade do Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (ABMVZ) citado como Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. Os autores são responsáveis pelos conceitos e informações neles contidos. São imprescindíveis originalidade, ineditismo e destinação exclusiva ao ABMVZ.

#### Reprodução de artigos publicados

A reprodução de qualquer artigo publicado é permitida desde que seja corretamente referenciado. Não é permitido o uso comercial dos resultados.

A submissão e tramitação dos artigos é feita exclusivamente on-line, no endereço eletrônico <<http://mc04.manuscriptcentral.com/abmvz-scielo>>.

Não serão fornecidas separatas. Os artigos encontram-se disponíveis no endereço [www.scielo.br/abmvz](http://www.scielo.br/abmvz).

#### Orientações Gerais

Toda a tramitação dos artigos é feita exclusivamente pelo Sistema de publicação online do Scielo – ScholarOne, no endereço <http://mc04.manuscriptcentral.com/abmvz-scielo> sendo necessário o cadastramento no mesmo.

## Leia "PASSO A PASSO – SISTEMA DE SUBMISSÃO DE ARTIGOS POR INTERMÉDIO DO SCHOLARONE"

Toda a comunicação entre os diversos autores do processo de avaliação e de publicação (autores, revisores e editores) será feita apenas de forma eletrônica pelo Sistema, sendo que o autor responsável pelo artigo será informado automaticamente por e-mail sobre qualquer mudança de status do mesmo.

Fotografias, desenhos e gravuras devem ser inseridos no texto e quando solicitados pela equipe de editoração também devem ser enviados, em separado, em arquivo com extensão JPG, em alta qualidade (mínimo 300dpi), zipado, inserido em “Figure or Image” (Step 6).

É de exclusiva responsabilidade de quem submete o artigo certificar-se de que cada um dos autores tenha conhecimento e concorde com a inclusão de seu nome no texto submetido.

O ABMVZ comunicará a cada um dos inscritos, por meio de correspondência eletrônica, a participação no artigo. Caso um dos produtores do texto não concorde em participar como autor, o artigo será considerado como desistência de um dos autores e sua tramitação encerrada.

### Comitê de Ética

É indispensável anexar cópia, em arquivo PDF, do Certificado de Aprovação do Projeto da pesquisa que originou o artigo, expedido pelo CEUA (Comitê de Ética no Uso de Animais) de sua Instituição, em atendimento à Lei 11794/2008. O documento deve ser anexado em “Ethics Conmittee” (Step 6). Esclarecemos que o número do Certificado de Aprovação do Projeto deve ser mencionado no campo Material e Métodos.

### Tipos de artigos aceitos para publicação

#### Artigo científico

É o relato completo de um trabalho experimental. Baseia-se na premissa de que os resultados são posteriores ao planejamento da pesquisa.

Seções do texto: Título (português e inglês), Autores e Afiliação (somente na "Title Page" – Step 6), Resumo, Abstract, Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão (ou Resultados e Discussão), Conclusões, Agradecimentos (quando houver) e Referências.

O número de páginas não deve exceder a 15, incluindo tabelas, figuras e Referências.

O número de Referências não deve exceder a 30.

#### Relato de caso

Contempla principalmente as áreas médicas em que o resultado é anterior ao interesse de sua divulgação ou a ocorrência dos resultados não é planejada.

Seções do texto: Título (português e inglês), Autores e Afiliação (somente na "Title Page" - Step 6), Resumo, Abstract, Introdução, Casuística, Discussão e Conclusões (quando pertinentes), Agradecimentos (quando houver) e Referências.

O número de páginas não deve exceder a dez, incluindo tabelas e figuras.

O número de Referências não deve exceder a 12.

#### Comunicação

É o relato sucinto de resultados parciais de um trabalho experimental digno de publicação, embora insuficiente ou inconsistente para constituir um artigo científico.

Seções do texto: Título (português e inglês), Autores e Afiliação (somente na "Title Page" - Step 6). Deve ser compacto, sem distinção das seções do texto especificadas para "Artigo científico", embora seguindo àquela ordem. Quando a Comunicação for redigida em português deve conter um "Abstract" e quando redigida em inglês deve conter um "Resumo".

O número de páginas não deve exceder a oito, incluindo tabelas e figuras.

O número de Referências não deve exceder a 12.

#### Preparação dos textos para publicação

Os artigos devem ser redigidos em português ou inglês, na forma impessoal.

#### Formatação do texto

O texto NÃO deve conter subitens em nenhuma das seções do artigo, deve ser apresentado em arquivo Microsoft Word e anexado como "Main Document" (Step 6), no formato A4, com margem de 3cm (superior, inferior, direita e esquerda), na fonte Times New Roman, no tamanho 12 e no espaçamento de entrelinhas 1,5, em todas as páginas e seções do artigo (do título às referências), com linhas numeradas.

Não usar rodapé. Referências a empresas e produtos, por exemplo, devem vir, obrigatoriamente, entre parêntesis no corpo do texto na seguinte ordem: nome do produto, substância, empresa e país.

#### Seções de um artigo

**Título:** Em português e em inglês. Deve contemplar a essência do artigo e não ultrapassar 50 palavras.

**Autores e Filiação:** Os nomes dos autores são colocados abaixo do título, com identificação da instituição a qual pertencem. O autor e o seu e-mail para correspondência devem ser indicados com asterisco somente no “Title Page” (Step 6), em arquivo Word.

**Resumo e Abstract:** Deve ser o mesmo apresentado no cadastro contendo até 200 palavras em um só parágrafo. Não repetir o título e não acrescentar revisão de literatura. Incluir os principais resultados numéricos, citando-os sem explicá-los, quando for o caso. Cada frase deve conter uma informação completa.

**Palavras-chave e Keywords:** No máximo cinco e no mínimo duas\*.

\* na submissão usar somente o Keyword (Step 2) e no corpo do artigo constar tanto keyword (inglês) quanto palavra-chave (português), independente do idioma em que o artigo for submetido.

**Introdução:** Explicação concisa na qual os problemas serão estabelecidos, bem como a pertinência, a relevância e os objetivos do trabalho. Deve conter poucas referências, o suficiente para balizá-la.

**Material e Métodos:** Citar o desenho experimental, o material envolvido, a descrição dos métodos usados ou referenciar corretamente os métodos já publicados. Nos trabalhos que envolvam animais e/ou organismos geneticamente modificados deverão constar obrigatoriamente o número do Certificado de Aprovação do CEUA. (verificar o Item Comitê de Ética).

**Resultados:** Apresentar clara e objetivamente os resultados encontrados.

**Tabela.** Conjunto de dados alfanuméricos ordenados em linhas e colunas. Usar linhas horizontais na separação dos cabeçalhos e no final da tabela. O título da tabela recebe inicialmente a palavra Tabela, seguida pelo número de ordem em algarismo arábico e ponto (ex.: Tabela 1.). No texto, a tabela deve ser referida como Tab seguida de ponto e do número

de ordem (ex.: Tab. 1), mesmo quando referir-se a várias tabelas (ex.: Tab. 1, 2 e 3). Pode ser apresentada em espaçamento simples e fonte de tamanho menor que 12 (o menor tamanho aceito é oito). A legenda da Tabela deve conter apenas o indispensável para o seu entendimento. As tabelas devem ser obrigatoriamente inseridas no corpo do texto de preferência após a sua primeira citação.

**Figura.** Compreende qualquer ilustração que apresente linhas e pontos: desenho, fotografia, gráfico, fluxograma, esquema etc. A legenda recebe inicialmente a palavra Figura, seguida do número de ordem em algarismo arábico e ponto (ex.: Figura 1.) e é citada no texto como Fig seguida de ponto e do número de ordem (ex.: Fig.1), mesmo se citar mais de uma figura (ex.: Fig. 1, 2 e 3). Além de inseridas no corpo do texto, fotografias e desenhos devem também ser enviados no formato JPG com alta qualidade, em um arquivo zipado, anexado no campo próprio de submissão, na tela de registro do artigo. As figuras devem ser obrigatoriamente inseridas no corpo do texto de preferência após a sua primeira citação.

**Nota:** Toda tabela e/ou figura que já tenha sido publicada deve conter, abaixo da legenda, informação sobre a fonte (autor, autorização de uso, data) e a correspondente referência deve figurar nas Referências.

**Discussão:** Discutir somente os resultados obtidos no trabalho. (Obs.: As seções Resultados e Discussão poderão ser apresentadas em conjunto a juízo do autor, sem prejudicar qualquer uma das partes).

**Conclusões:** As conclusões devem apoiar-se nos resultados da pesquisa executada e serem apresentadas de forma objetiva, SEM revisão de literatura, discussão, repetição de resultados e especulações.

**Agradecimentos:** Não obrigatório. Devem ser concisamente expressados.

**Referências:** As referências devem ser relacionadas em ordem alfabética, dando-se preferência a artigos publicados em revistas nacionais e internacionais, indexadas. Livros e teses devem ser referenciados o mínimo possível, portanto, somente quando indispensáveis. São adotadas as normas gerais da ABNT, adaptadas para o ABMVZ, conforme exemplos:

Como referenciar:

1. Citações no texto

A indicação da fonte entre parênteses sucede à citação para evitar interrupção na sequência do texto, conforme exemplos:

autoria única: (Silva, 1971) ou Silva (1971); (Anuário..., 1987/88) ou Anuário... (1987/88);

dois autores: (Lopes e Moreno, 1974) ou Lopes e Moreno (1974);

mais de dois autores: (Ferguson et al., 1979) ou Ferguson et al. (1979);

mais de um artigo citado: Dunne (1967); Silva (1971); Ferguson et al. (1979) ou (Dunne, 1967; Silva, 1971; Ferguson et al., 1979), sempre em ordem cronológica ascendente e alfabética de autores para artigos do mesmo ano.

Citação de citação. Todo esforço deve ser empreendido para se consultar o documento original. Em situações excepcionais pode-se reproduzir a informação já citada por outros autores. No texto, citar o sobrenome do autor do documento não consultado com o ano de publicação, seguido da expressão citado por e o sobrenome do autor e ano do documento consultado. Nas Referências deve-se incluir apenas a fonte consultada.

Comunicação pessoal. Não faz parte das Referências. Na citação coloca-se o sobrenome do autor, a data da comunicação, nome da Instituição à qual o autor é vinculado.

2. Periódicos (até quatro autores citar todos. Acima de quatro autores citar três autores et al.):

ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL. v.48, p.351, 1987-88.

FERGUSON, J.A.; REEVES, W.C.; HARDY, J.L. Studies on immunity to alphaviruses in foals. Am. J. Vet. Res., v.40, p.5-10, 1979.

HOLENWEGER, J.A.; TAGLE, R.; WASERMAN, A. et al. Anestesia general del canino. Not. Med. Vet., n.1, p.13-20, 1984.

3. Publicação avulsa (até quatro autores citar todos. Acima de quatro autores citar três autores et al.):

DUNNE, H.W. (Ed). Enfermedades del cerdo. México: UTEHA, 1967. 981p.

LOPES, C.A.M.; MORENO, G. Aspectos bacteriológicos de ostras, mariscos e mexilhões. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 14., 1974, São Paulo. Anais... São Paulo: [s.n.] 1974. p.97. (Resumo).

MORRIL, C.C. Infecciones por clostridios. In: DUNNE, H.W. (Ed). Enfermedades del cerdo. México: UTEHA, 1967. p.400-415.

NUTRIENT requirements of swine. 6.ed. Washington: National Academy of Sciences, 1968. 69p.

SOUZA, C.F.A. Produtividade, qualidade e rendimentos de carcaça e de carne em bovinos de corte. 1999. 44f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

4. Documentos eletrônicos (até quatro autores citar todos. Acima de quatro autores citar três autores et al.):

QUALITY food from animals for a global market. Washington: Association of American Veterinary Medical College, 1995. Disponível em: <<http://www.org/critical6.htm>>. Acessado em: 27 abr. 2000.

JONHNSON, T. Indigenous people are now more combative, organized. Miami Herald, 1994. Disponível em: <<http://www.summit.fiu.edu/MiamiHerld-Summit-RelatedArticles/>>. Acessado em: 5 dez. 1994.

#### Taxas de submissão e de publicação

Taxa de submissão: A taxa de submissão de R\$60,00 deverá ser paga por meio de boleto bancário emitido pelo sistema eletrônico do Conveniar <http://conveniar.fepmvz.com.br/eventos/#servicos> (necessário preencher cadastro). Somente artigos com taxa paga de submissão serão avaliados.

Caso a taxa não seja quitada em até 30 dias será considerado como desistência do autor.

Taxa de publicação: A taxa de publicação de R\$150,00 por página, por ocasião da prova final do artigo. A taxa de publicação deverá ser paga por meio de depósito bancário, cujos dados serão fornecidos na aprovação do artigo.

OBS.: Quando os dados para a nota fiscal forem diferentes dos dados do autor de contato deve ser enviado um e-mail para [abmvz.artigo@abmvz.org.br](mailto:abmvz.artigo@abmvz.org.br) comunicando tal necessidade.

#### SOMENTE PARA ARTIGOS INTERNACIONAIS

Submission and Publication fee. The publication fee is of US\$100,00 (one hundred dollars) per page, and US\$50,00 (fifty dollars) for manuscript submission and will be billed to the corresponding author at the final proof of the article. The publication fee must be paid through a bank slip issued by the electronic article submission system. When requesting the bank slip the author will inform the data to be intle invoice issuance.