

Avaliação do esmalte dentário de cão por microscopia eletrônica de varredura após diferentes tipos de polimento

Evaluation of dog tooth enamel by scanning electron microscopy after different types of polishing

Nelcimara Mirley de Souza Correia¹ , Vitor Eduardo Arantes de Barros¹ , Emmanuel Arnhold¹ , Maria Clorinda Soares Fioravanti¹ , Raquel Cunha Carneiro¹ , Patricia Lorena da Silva Neves Guimarães^{1*} 

¹Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, Goiás, Brasil

*Autor correspondente: patricialorena2@hotmail.com

Resumo

O polimento é um procedimento importante que faz parte do tratamento da doença periodontal, sendo comumente realizado com auxílio de pasta profilática e, propicia o alisamento da superfície dental, dificultando a adesão de nova placa bacteriana. Com esse estudo, objetivou-se avaliar por meio da microscopia eletrônica de varredura (MEV) os efeitos do polimento dental, avaliando qualitativamente, a eficácia e o dano, em três tratamentos distintos, após a remoção dos cálculos dentários. Foram utilizados 20 dentes (quatro de cada cão), de onde se obtiveram três amostras de cada. As 60 amostras foram distribuídas em três grupos (G0= segmentos dentários submetidos à profilaxia sem polimento; G1= profilaxia da face vestibular seguida de polimento com utilização de Defengy OC® e G2= profilaxia da face vestibular seguida de polimento com utilização de pedra pomes e flúor gel). As amostras foram preparadas e enviadas para realização das imagens por MEV. Estas imagens, com ampliação de 100x e de 500x, foram avaliadas e as médias de classificação obtidas. A análise estatística dessas médias foi feita por meio do teste não paramétrico de Friedman, utilizando o software R. Observou-se diferença estatística ($P < 0,05$) entre os grupos 1 e 0 na magnificação de 100x, já na magnificação de 500x não houve diferença estatística ($P > 0,05$) entre os grupos. O polimento foi eficaz ao tornar a superfície do esmalte dental lisa e regular reduzindo as ranhuras provocadas pela limpeza e retirou as granulações de cálculo remanescentes. A avaliação a partir das imagens de MEV em duas ampliações foi fundamental, por ter propiciado a visualização de ranhuras e cálculos remanescentes de forma abrangente na magnificação de 100x e mais detalhadamente na de 500x.

Palavras-chave: cálculo dentário; doença periodontal; odontologia veterinária; placa dentária; superfície dental

Abstract

Polishing is an important procedure which takes part in the periodontal disease treatment, being commonly performed with the help of prophylactic paste and provides smoothing of the tooth surface, hindering the adhesion of new plaque. With this study we aimed to evaluate by means of scanning electron microscopy (SEM), the effects of dental polishing observing, qualitatively, the effectiveness and the damage, in three distinct treatments after calculus removal. Twenty (20) teeth were used (four of each dog), from which were obtained three samples each. The sixty samples were distributed into three groups (G0= tooth segmentation submitted to prophylaxis without polishing; G1= vestibular surface prophylaxis followed by polishing with the use of Defengy OC® and G2= vestibular surface prophylaxis followed by polishing with the use of pumice and fluorine gel). The samples were prepared and sent to images execution via SEM. These images, with enlargement of 100x and 500x, were evaluated and the classification averages were obtained. The statistical analysis of these averages was made through the Friedman nonparametric test using the software R. Statistical differences were observed ($P < 0,05$) between groups 0 and 1 in the 100x magnification, whereas in the 500x magnification there was no difference ($P > 0,05$) between the groups. The evaluation based on SEM images at two magnifications was essential, as it allowed the visualization of grooves and remaining calculi in a comprehensive way at 100x magnification and in more detail at 500x.

Keywords: tooth calculus; periodontal disease; veterinary dentistry; dental plaque; dental surface

1. Introdução

A doença periodontal configura-se como uma das afecções mais comumente diagnosticadas em animais de pequeno porte nos atendimentos clínicos por todo o mundo e, por volta de dois anos de idade, é estimado que 70% dos gatos e 80% dos cães já apresentam algum grau de doença periodontal^(1,2). Nesta condição, há inflamação

do periodonto ocasionada pela presença de placa bacteriana, também chamada de biofilme, que é observada como material aderente e de coloração amarelada que se forma sobre a superfície do esmalte dental e por toda a cavidade oral^(1,3). A persistência dessa placa leva à formação de cálculo dentário, pela mineralização decorrente da precipitação de sais de cálcio, compostos por carbonato de cálcio e fosfato de

Recebido: 24 de novembro de 2022. Aceito: 27 de março de 2023. Publicado: 19 de maio de 2023.



Este é um artigo de Acesso Aberto distribuído sob os termos da Creative Commons Attribution License, que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o trabalho original seja devidamente citado.

<https://revistas.ufg.br/vet/index>

cálcio, além de outros minerais presentes na saliva^(4,5). A formação da placa bacteriana decorre da colonização e crescimento de microrganismos na superfície dental, sendo *Porphyromonas gingivalis* um dos principais agentes etiológicos frequentemente associados à doença periodontal. Estudos demonstraram que o uso de imunoterapia usando a Imunoglobulina Y (IgY-PG), obtida de ovos de galinhas, contra as gingipainas da *Porphyromonas gingivalis* foram eficazes em evitar a fixação e proliferação dessa bactéria, contribuindo para diminuir índices de placa e de cálculo dentário⁽⁶⁾.

A remoção da placa bacteriana e do cálculo dentário deve ser feita em duas regiões, supragengival e subgengival. Na região supragengival pode ser feita a utilização de instrumentos manuais como os extratores de cálculo ou instrumentos mecânicos, como o aparelho de ultrassom; na região subgengival, a remoção deve ser efetuada com cureta. Estes procedimentos podem causar danos ao esmalte dental, tornando-o irregular, com presença de microabrasões ou ranhuras, para tanto é necessário realizar o polimento dessa superfície^(7,8).

O polimento da superfície dos dentes submetidos à limpeza é feito para que seja removida qualquer placa bacteriana remanescente e ainda, para suavizar pequenas ranhuras e irregularidades, as quais podem predispor a deposição de placa bacteriana. O polimento geralmente é realizado com uma taça de borracha e pasta de polimento. A pressão utilizada deve ser suave e numa velocidade inferior a 3000 rotações por minuto (rpm), além de manter esses instrumentos em contato com essa superfície em tempo curto com a finalidade de evitar danos térmicos ou estruturais⁽⁷⁾.

Com esse estudo objetivou-se avaliar, por meio da microscopia eletrônica de varredura (MEV), os efeitos do polimento dental em cães, de forma a pontuar qualitativamente, eficácia e dano, após a remoção do cálculo dentário, em três tratamentos distintos.

2. Material e métodos

Este estudo foi realizado no Laboratório de Odontologia Veterinária do Hospital Veterinário da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás (UFG) e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais sob protocolo número 031/17. Foram utilizados para a pesquisa, dentes de cinco cães com grau similar de doença periodontal que vieram a óbito, provenientes do Centro de Controle de Zoonoses de Goiânia. De cada animal foram utilizados quatro dentes, o primeiro molar inferior bilateral e o quarto pré-molar superior bilateral, os quais possuíam cálculo dentário na superfície de seu esmalte. Três grupos foram formados com 20 amostras em cada. O Grupo controle (G0) foi composto pelos segmentos dentários submetidos a remoção de cálculo sem polimento; o Grupo 1 (G1), pelos

segmentos submetidos a remoção do cálculo e polimento com Defengy OC[®], um suplemento mineral vitamínico composto de ovo em pó, óleos essenciais de alecrim e cravo e outros elementos sob a forma de pasta comestível, e o Grupo 2 (G2) pelos segmentos submetidos a remoção de cálculo e polimento com pedra pomes Quimidrol[®] e flúor gel Flugel[®], totalizando 60 amostras (três secções de cada um dos 20 dentes).

Tais dentes foram igualmente submetidos à limpeza com remoção dos cálculos dentários por meio de raspador ultrassônico em alta rotação Microdont[®]. Em seguida, foi realizado o polimento com taça de borracha de granulação fina Microdont[®] por dez segundos em cada segmento dentário, baseado no tempo utilizado por Fichtel⁽⁵⁾, exceto a face lingual/palatina que representa o G0. No esmalte da porção meso-vestibular foi aplicado polimento com Defengy OC[®] (G1), enquanto na porção disto-vestibular utilizou-se pedra pomes Quimidrol[®] e flúor gel Flugel[®](G2). Os procedimentos de limpeza e polimento foram realizados por um único profissional experiente para evitar variações na técnica. Posterior ao polimento dentário foi feita a odontossecação dos fragmentos dentários, na região de transição da raiz e coroa, com broca ponta diamantada em chama de granulação média KG Sorensen[®], para cortes dentários em segmentos de 3x3mm cada. Realizou-se também a odontossecação da face palatina ou lingual para amostragem do G0. Dessa forma, garantiu-se a avaliação de diferentes materiais de polimento em amostras de mesma origem dental.

Posteriormente, realizou-se a desidratação dos fragmentos em que se utilizaram soluções progressivas de álcool, iniciando em solução de álcool 70%, transferindo para álcool 80%, 90%, 95% e 100%, permanecendo em cada concentração por 30 minutos. Após desidratado em álcool 100%, os segmentos foram armazenados, envoltos por papel kraft, em frascos com sílica gel azul. Os espécimes foram levados ao Laboratório Multiusuário de Microscopia de Alta Resolução (LabMic) da Universidade Federal de Goiás, onde foram fixados na base metálica (stub) com fita dupla face de carbono (fita condutora). O contato elétrico do topo da amostra até a base metálica foi feito com um fio de tinta carbono. Após a secagem, a amostra foi recoberta com ouro utilizando o sistema para deposição de filmes, Denton Vacuum, Desk V, e analisada no microscópio eletrônico de varredura (MEV), Jeol, JSM – 6610, equipado com EDS, *Thermo Scientific NSS Spectral Imaging*.

Foram obtidas, pelo LabMic, 120 imagens, das quais 60 possuíam ampliação das imagens em 100x e 60 com ampliação de 500x. As imagens foram distribuídas aleatoriamente e enviadas a sete examinadores, que desconheciam o processo e objetivo do trabalho, para a avaliação quanto à eficácia e dano. Foram estabelecidos critérios para avaliação das imagens, com base no descrito

por Fichtel⁽⁵⁾ e descritos no Quadro 1. Os examinadores receberam as imagens obtidas pela MEV e duas imagens que representavam pontuações entre um e cinco, tanto para a variável eficácia quanto para o dano.

Dessa forma, cada imagem obteve sete avaliações em relação à eficácia e sete para dano, ou seja, foram atribuídos dois valores para cada imagem, por cada um dos sete examinadores, que foram organizados em quatro

Quadro 1. Descrição das pontuações referente aos critérios utilizados (eficácia e dano) para a avaliação das imagens da superfície dental obtidas por microscopia eletrônica de varredura, em dentes submetidos a diferentes técnicas de polimento.

Pontuações	Eficácia	Dano
1	Ausência de grânulos na superfície do esmalte	Ausência de ranhuras em um campo de imagem microscópica
2	Até 10% de grânulos na superfície do esmalte	Até 10 ranhuras em número, presentes em um campo de imagem microscópica
3	De 10 a 25% de grânulos na superfície do esmalte	Até 30 ranhuras vistas em um campo de imagem microscópica
4	De 25 a 40% de grânulos na superfície do esmalte	Ranhuras abundantemente vistas em um campo de imagem microscópica
5	Acima de 40% de grânulos na superfície do esmalte	Ranhuras sob toda superfície do esmalte dentário

Fonte: Adaptado de Fichtel (2008, p. 234).

tabelas: duas tabelas para eficácia e dano com aumento de 100x, e outras duas tabelas para eficácia e dano com aumento de 500x. A partir desses dados, foi realizada a média de classificação de cada imagem. Realizou-se a análise estatística considerando as variáveis eficácia e dano, com magnificação de 100x e 500x, referentes aos grupos G0, G1 e G2, utilizando o teste não-paramétrico de Friedman.

3. Resultados e discussão

Foram avaliadas 60 amostras, obtidas a partir de 20 dentes de cinco cães. Os grupos foram divididos em G0, G1 e G2 sendo que, cada um possuía 20 amostras, totalizando 60 amostras, as quais foram observadas nos aumentos de 100x e 500x, totalizando 120 imagens. Após a avaliação dos sete examinadores, obtiveram-se 840

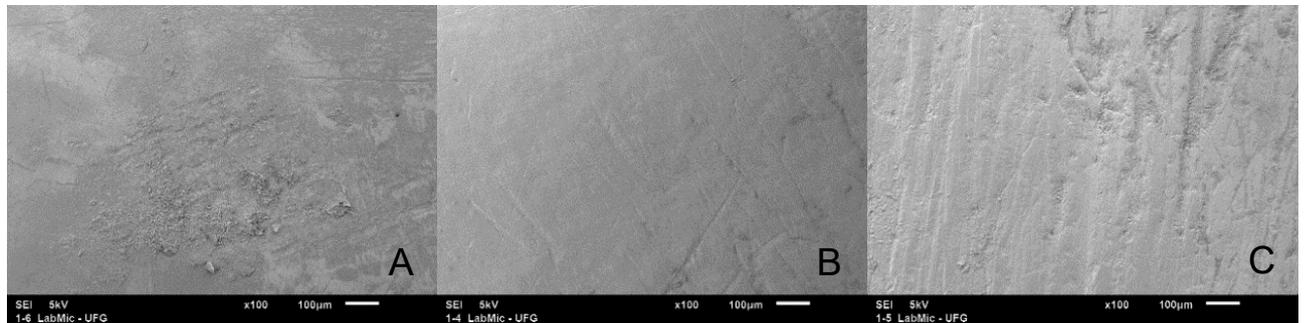


Figura 1. Imagens de microscopia eletrônica por varredura (MEV) do esmalte dental canino submetido a tratamento periodontal com e sem polimento. (A) Grupo sem polimento G0; (B) polimento com pasta Defengy OC® G1; (C) polimento com pedra pomes Quimidrol® e flúor gel Flugel® G2. Aumento: 100x. Escala: 100µm.—

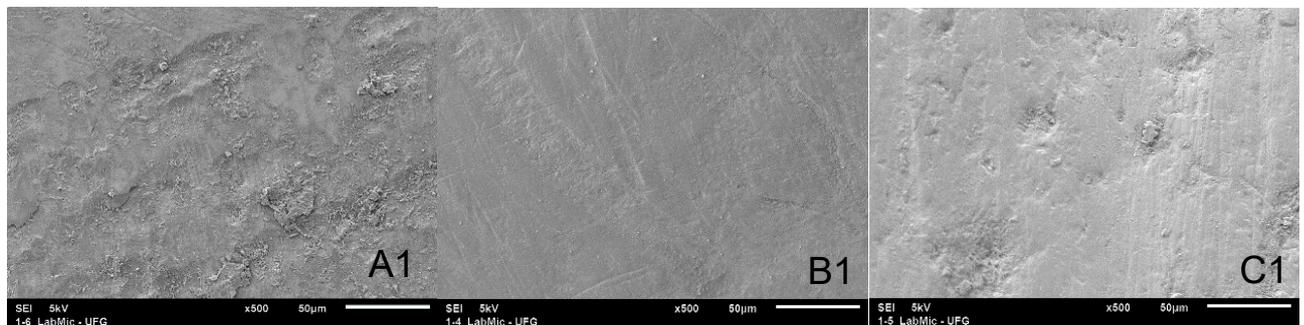


Figura 2. Imagens de microscopia eletrônica por varredura (MEV) do esmalte dental canino submetido a tratamento periodontal com e sem polimento. (A1) Grupo sem polimento G0; (B1) polimento com pasta Defengy OC® G1; (C1) polimento com pedra pomes Quimidrol® e flúor gel Flugel® G2. Aumento: 500x. Escala: 50µm.

valores para eficácia e 840 valores para dano. Houve variação na avaliação atribuída pelos examinadores. A seguir são apresentadas imagens obtidas nesse estudo por MEV nas ampliações de 100x e 500x, representativas dos três grupos estudados (Figuras 1 e 2).

Ao avaliar as imagens obtidas pela MEV, pôde-se observar que no G0, a remoção do cálculo dentário causou a formação de ranhuras na superfície do esmalte dental (imagens A e A1 das figuras 1 e 2, respectivamente), ainda observou-se que visualmente há quantidade considerável de cálculo remanescente. No G1, em que se estão representadas amostras dentárias polidas com pasta oral, em ambas as imagens B e B1 das figuras 1 e 2 respectivamente, são observados escassos resquícios granulares de cálculo e presença de ranhuras distinguíveis na superfície, intercaladas com áreas lisas. No G2, das amostras polidas com pedra pomes e flúor gel, ao comparar as imagens C e C1 das figuras 1 e 2 respectivamente, foi possível notar superfícies com menor quantidade de cálculo dentário em relação ao G0, porém com ranhuras nítidas no campo de imagem microscópica. Para melhor avaliar as médias e assim abranger todas as amostras foi feita a análise estatística, utilizando o método não paramétrico de Friedman, por meio do software R. Os valores de pontuação obtidos estão expressos em mediana (Quadro 2).

Quadro 2. Resultados da análise estatística utilizando o método não paramétrico de Friedman.

Variável	Grupos			P-valor
	G0	G1	G2	
Eficácia (100x)	3,49 ^a	2,42 ^b	2,57 ^{ab}	0,0048
Dano (100x)	3,40 ^a	2,45 ^b	2,85 ^{ab}	0,0437
Eficácia (500x)	3,21 ^a	2,71 ^a	2,7 ^a	0,0729
Dano (500x)	3,00 ^a	2,45 ^a	2,75 ^a	0,2120

Valores expressos em mediana para os grupos 0 (G0), 1 (G1) e 2 (G2). Nível de significância (P-valor) utilizado foi 5%. (a/a, b/b= não houve diferença estatística; a/b= houve diferença estatística).

Quanto a variável eficácia, avaliada em aumento de 100x, não houve diferença estatística ($p>0,05$) entre o G0 e G2, ou seja, entre o grupo sem polimento e o grupo submetido a polimento com pedra pomes e flúor gel. Da mesma forma, o G1 tratado com pasta oral não apresentou diferença estatística ($p>0,05$) com o G2. No entanto, em relação ao G0, o G1 demonstrou diferença estatística ($p<0,05$).

Ao observar a variável dano, em aumento de 100x, notou-se a mesma ocorrência, não há diferença estatística ($p>0,05$) entre o G0 e G2, e entre G1 e G2. Entretanto, há diferença estatística ($p<0,05$) entre o G0 e G1, ou seja, entre o grupo não submetido a polimento e o grupo em que o polimento foi realizado com pasta oral. Portanto, considerando as imagens com ampliação de 100x, ao comparar os três grupos entre si, houve diferença estatística ($p<0,05$) quanto as variáveis eficácia e dano do G1 em relação ao G0 que apresentou menor eficácia e

maior dano. Já o G1 obteve melhor avaliação para eficácia e pior para dano. O G2 não demonstrou diferença estatística com os G0 e G1.

Nas imagens com aumento de 500x não houve diferença estatística ($p>0,05$) entre os grupos, visto que, ao ampliar a imagem a área no campo microscópico é menor e mais restrita, embora se apresente com mais detalhes, o que pode explicar a diferença estatística apenas entre os grupos observados ao aumento de 100x. Dessa forma, foi importante a utilização de duas diferentes ampliações, pois em imagens com menor ampliação foi possível observar de forma mais abrangente e notar o melhor resultado do G1, quando comparado ao G0, e nas imagens em maior ampliação foi possível observar de forma mais detalhada e aproximada as amostras, o que permitiu visibilizar os resquícios mantidos ao final do procedimento.

Ambos os tratamentos aplicados, polimento com pasta oral e o polimento com pedra pomes e flúor gel, demonstraram ser eficazes na remoção de grânulos residuais, o que foi evidenciado na análise qualitativa das imagens de MEV, em que os grupos G1 e G2 mostraram superfície do esmalte com escassos grânulos de pequeno diâmetro em contraste com a mesma análise feita no G0, que por não ter sido submetido ao polimento, apresentou grânulos abundantes, muitas vezes sobre todo o campo de imagem microscópica.

Toriggia *et al.*⁽⁹⁾ assim como Pameijer *et al.*⁽¹⁰⁾ asseveraram que ampliações maiores de imagens de MEV, melhoram a interpretação dos resultados, o que está de acordo com o observado neste estudo em que as ranhuras dentárias e resquícios granulares foram visualizados de forma mais nítida ao ampliar a imagem, apurando a análise da efetividade do tratamento. No entanto, as imagens com magnificação de 500x abrangem área restrita da superfície do esmalte dental e, para analisá-lo em sua totalidade a ampliação de 100x permitiu melhor comparação do tratamento em área maior da superfície dental e, portanto, mais representativa do dente como um todo.

Em seus estudos, Pameijer *et al.*⁽¹⁰⁾ avaliaram imagens de MEV das características de 25 superfícies dentárias, dentre eles, 10 tratados manualmente com cureta Hu Friedy Gracey, outros 10, com unidade ultrassônica Cavitron com ponta P 10, e os cinco restantes formaram o grupo controle. Os resultados obtidos por esses pesquisadores foram similares para os dois métodos realizados, ao se analisar imagens em maior ampliação, de forma semelhante ao observado no presente estudo, em que as imagens com maior ampliação não demonstraram diferença estatística nos resultados.

Toriggia *et al.*⁽⁹⁾ em seu estudo comparativo de quatro tratamentos, concluíram que a remoção do cálculo dentário por cavitador ultrassônico associada ao polimento foi o método mais eficiente de limpeza

dentária, não existindo diferença entre os outros grupos, nos quais se efetuou limpeza com cavitador ultrassônico sem polimento, apenas curetagem e curetagem associada ao polimento. Dessa forma, já foi relatada a eficácia da utilização em conjunto da limpeza dentária pela utilização do cavitador ultrassônico e polimento, em conformidade com o aplicado no presente estudo.

O emprego da MEV para estudo da superfície dental permitiu a observação do estado de acometimento dos dentes desses animais pelos microrganismos, além de possibilitar a visualização da eficácia dos respectivos tratamentos. Cobb *et al.* também utilizaram a MEV para avaliação dos resíduos de cálculo dentário e biofilme em região subgingival, após uso de gel EDTA, constatando a alteração da estrutura do biofilme presente na superfície dental, após o tratamento⁽¹¹⁾. A pasta oral utilizada neste estudo foi desenvolvida com a finalidade de ser administrada como suplemento mineral vitamínico para cães e gatos, sendo fornecida após as refeições, a fim de reduzir a formação de placa bacteriana e halitose; sua formulação contém ovo em pó e já foi utilizada em outro estudo com doença periodontal, em decorrência da ação da IgY- PG, cujos resultados demonstraram redução nos índices de placa e cálculo dentário e ausência de halitose⁽¹²⁾. Foi proposto, através deste estudo, uma forma distinta para sua aplicação devido à presença de micro cristais em sua composição, a qual também demonstrou resultados eficazes na limpeza da superfície dental com diminuição da presença de cálculos dentários.

4. Conclusão

O polimento dentário foi eficaz ao tornar a superfície do esmalte dental lisa e regular, reduzindo as ranhuras provocadas pelo tratamento periodontal e retirou as granulações de cálculos remanescentes. Os métodos de polimento utilizando pasta oral comercial e pedra pomes com flúor gel se mostraram eficientes em tornar a superfície do esmalte dentário lisa, possibilitando menor adesão de placa bacteriana e cálculo dentário, com o melhor desempenho da pasta oral, que propicia superfície mais lisa e menos danos ao esmalte. A avaliação a partir das imagens de MEV foi fundamental, por ter propiciado a visualização de ranhuras impossíveis de serem vistas a olho nu, o que possibilitou a análise dos danos causados pela limpeza e da superfície dental após o polimento, viabilizando comparar a eficácia de diferentes tratamentos e a validade real da necessidade de polir os dentes. As duas ampliações distintas possibilitaram exame mais acurado, decorrente da visualização em maior amplitude e posteriormente em escala mais aproximada e detalhada.

Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Contribuições do autor

Conceituação: N. M. S. Correia e P. L. S. N. Guimarães. *Curadoria de dados:* N. M. S. Correia e V. E. A. Barros. *Análise Formal:* E. Arnhold. *Investigação:* V. E. A. Barros. *Gerenciamento do projeto:* P. L. S. N. Guimarães. *Supervisão:* M. C. S. Fioravanti. *Redação (esboço original):* N. M. S. Correia. *Redação (revisão e edição):* R. C. Carneiro.

Agradecimentos

À Nutripharme Saúde Animal, pelo patrocínio dos materiais e insumos para o desenvolvimento do experimento. Ao Laboratório Multiusuário de Microscopia de Alta Resolução (LabMic), pelo trabalho executado na produção das imagens de microscopia eletrônica de varredura.

Referências

- Wallis C, Holcombe LJ. A review of the frequency and impact of periodontal disease in dogs. *J Small Anim Pract.* 2020; 61(9):529-540. <https://doi.org/10.1111/jsap.13218>.
- Wiggs RB, Lobprise HB. Periodontology. In: Stepaniuk K. *Veterinary dentistry: principles and practice.* 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Raven; 1997. p.83-85. Inglês.
- Niemiec BA. Periodontal disease. *Topics in Companion Animal Medicine.* 2008; 23(2):72-80. <https://doi.org/10.1053/j.tcam.2008.02.003>.
- Mitchell, PQ. *Odontologia de Pequenos Animais.* 1st ed. São Paulo: Roca; 2004, 192p. Portugues.
- Gioso MA. *Odontologia Veterinária para o Clínico de Pequenos Animais.* In: Gioso MA. *Doença periodontal.* 2nd ed. São Paulo: Manole; 2007. p. 26.
- Hardham J, Dreier K, Sfintescu C, Evans RT. Pigmented-anaerobic bacteria associated with canine periodontitis. *Vet. Microbiol.* 2005; 106(1-2):119-128. <https://doi.org/10.1016/j.vet-mic.2004.12.018>.
- Fichtel T, Crha M, Langerová E, Biberauer G, Vla in M. Observations on the effects of scaling and polishing methods on enamel. *J. Vet. Dent.* 2008; 25(4):231-5. <https://doi.org/10.1177/089875640802500402>.
- Bellows J, Berg ML, Dennis S, Harvey R, Lobprise HB, Snyder CJ, Stone AE, Van de Wetering AG. 2019 AAHA dental care guidelines for dogs and cats. *J Am Anim Hosp Assoc.* 2019; 55(2):49-69. <https://doi.org/10.5326/jaaha-ms-6933>.
- Toriggia, PG, Hernández SZ, Negro, V.B. Tratamiento de la enfermedad periodontal em el perro: comparación de la efectividad del cavitador, el curetaje y el pulido dental. *RevCsMorfol.* 2015; 17(1):16-22. <https://revistas.unlp.edu.ar/Morfol/article/view/2251>.
- Pameijer, CH, Stallard, RE, Hiep, N. Surface characteristics of teeth following periodontal instrumentation: a scanning electron microscope study. *J. Periodontol.* 1972; 43(10):628-633. <https://doi.org/10.1902/jop.1972.43.10.628>.
- Cobb, CM, Harrel, SK, Zhao, D, Spencer, P. Effect of EDTA Gel on Residual Subgingival Calculus and Biofilm: An In Vitro Pilot Study. *Dent J (Basel).* 2023;11(1):22-35. <https://doi.org/10.3390/dj11010022>.
- Martini AC, et al. Eficácia e segurança do uso de Defengy OC® na promoção da saúde oral de cães com doença periodontal. *Medvep.* 2016; 12(45):1-7. <https://medvep.com.br/eficacia-e-seguranca-do-uso-de-defengy-oc-na-promocao-da-saude-oral-de-caes-com-doenca-periodontal/>