

Redução bacteriana em lesões de furca grau II após raspagem associada ou não à aplicação do laser de Nd:YAG

ANA KARINA PINTO DE ANDRADE*, GIORGIO DE MICHELI**, CLÁUDIO PANNUTI**, SILVANA CAI***,
DENISE MARIA ZEZELL****, ILÍRIA SALOMÃO FEIST**

* Mestranda em Periodontia pela Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

** Doutores em Periodontia pela Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

*** Doutora em Microbiologia pelo Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de São Paulo.

**** Doutora em Física pelo Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares da Universidade de São Paulo.

RESUMO

O uso do laser de Nd:YAG para redução bacteriana como coadjuvante dos procedimentos básicos no tratamento periodontal tem sido demonstrado em vários estudos. O objetivo desse ensaio clínico aleatório duplo-cego, foi avaliar a redução bacteriana obtida com o laser de Nd:YAG, associado aos procedimentos básicos periodontais em furcas grau II de pacientes com periodontite crônica. Num modelo de boca dividida, 34 furcas foram selecionadas de 17 pacientes. As 17 furcas do grupo Controle receberam duas sessões de raspagem manual associado ao ultra-som, com intervalo semanal. O grupo Teste recebeu o mesmo tratamento que o grupo anterior, seguido da aplicação do laser de Nd:YAG (100 mJ/pulso; 15 Hz; 1,5 W; 60 s). O número total de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) de bactérias anaeróbias; número total de UFC de bactérias pigmentadas de preto; porcentagem de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella intermedia* foram coletados antes, imediatamente após e um mês depois do tratamento. Os resultados demonstraram uma redução significativa das UFC de bactérias anaeróbias em ambos os grupos, sendo esta maior no grupo Teste. Após um mês, houve um aumento desse número, porém não alcançando os níveis iniciais para ambos os grupos. As UFC

de bactérias pigmentadas e a porcentagem de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia* e *Porphyromonas gingivalis* se comportaram da mesma forma em ambos os grupos, tendo uma redução imediatamente após o tratamento e um retorno a níveis próximos dos iniciais 30 dias após. Os autores concluíram que o laser de Nd:YAG associado à raspagem promoveu redução bacteriana nas furcas grau II imediatamente após duas aplicações.

DESCRITORES

Periodontite crônica. Redução bacteriana - laser de Neodímio:YAG. Tratamento não-cirúrgico periodontal.

INTRODUÇÃO

Observa-se, na literatura internacional, crescente volume de trabalhos envolvendo o uso do laser como recurso principal ou coadjuvante nas diversas modalidades terapêuticas odontológicas.

Os estudos iniciaram-se com Einstein em 1917 quando o mesmo postulou, matematicamente, que porções do campo eletromagnético poderiam ser estimuladas e emitir luz amplificada. A primeira utilização do uso do laser na Odontologia foi de Stern e Sogmaes (1964), vaporizando esmalte e dentina por meio de um laser de rubi.

O laser de Neodímio foi desenvolvido por Geusic et al.⁸ (1964), mas apenas em 1998 a “Food and Drug Administration” (FDA) aprovou o seu uso para realização dos procedimentos de “laser curettage”. Nesse último, o laser é aplicado no interior da bolsa periodontal em contato com a parede mole da mesma, visando redução bacteriana¹⁰.

Endereço para correspondência:

Giorgio De Micheli
Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo
Departamento de Estomatologia
Av. Prof. Lineu Prestes, 2.227 - Cidade Universitária
CEP: 05508-900 - São Paulo - SP
Tel.: (11) 3091-7833
E-mail: gmicheli@plugnet.com.br

O laser de Nd:YAG foi o primeiro laser desenvolvido para uso exclusivo em odontologia. Seu meio ativo é um sólido, o cristal de ítrio-alumínio-granada dopado com o elemento químico Neodímio²⁵. Esse laser opera de modo pulsado ou contínuo, sendo aquele o mais utilizado. Cada pulso dura cerca de 150 s e, dessa forma, há um menor aquecimento dos tecidos quando comparado às ondas contínuas¹⁵. Ele emite energia com comprimento de onda de 1.064 nm que passa por um sistema de fibra óptica com diâmetro variando de 200 a 800 µm e tem afinidade por elementos celulares e pigmentos²³.

As doenças periodontais são resultantes de infecções originadas pelo biofilme bacteriano, particularmente por bactérias anaeróbias gram-negativas¹³. A instrumentação radicular, associada a um adequado controle de placa, ocupa um lugar de destaque na terapia periodontal, sendo um recurso amplamente utilizado e fundamental para se obter o controle dessa patologia.

Os dentes multiradiculares com envolvimento de furca representam um grande desafio para o tratamento periodontal, principalmente devido a irregular e complexa anatomia dessa região. Isso favorece o acúmulo de placa e dificulta o acesso para adequada instrumentação da superfície radicular e higienização pelo paciente¹, fazendo com que a resposta ao tratamento nessa região seja, na maioria das vezes, limitada³. Por isso, pensou-se na utilização do laser de Nd:YAG nas regiões de furcas, visando redução bacteriana a fim de proporcionar um possível benefício adicional ao tratamento convencional.

OBJETIVO

O objetivo deste ensaio clínico aleatório foi comparar a redução bacteriana obtida com os procedimentos básicos periodontais, associados ou não ao laser de Nd:YAG, no tratamento das lesões de furca grau II de pacientes portadores de periodontite crônica. Essa redução bacteriana foi avaliada por meio dos seguintes parâmetros: 1 - Número total de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) de bactérias anaeróbias; 2 - Número total de UFC de bactérias pigmentadas de preto; 3 - Porcentagem de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella intermedia*.

MATERIAL E MÉTODOS

Seleção dos pacientes e delineamento do estudo

Nesse estudo, foi conduzido um ensaio clínico aleatório duplo-cego, com modelo de boca dividida, no

qual 17 pacientes portadores de periodontite crônica² foram selecionados das clínicas da Disciplina de Periodontia da FOUESP.

Os pacientes deveriam apresentar lesões de furca grau II¹¹ em dois dentes com vitalidade pulpar que não tivesse recebido tratamento periodontal nem antibioticoterapia 6 meses antes do estudo.

Este projeto foi aprovado pelo comitê de ética da FOUESP segundo o parecer nº 153/02.

Preparo dos pacientes

O examinador 1, devidamente calibrado, realizou anamnese, periograma e radiografias periapicais. Na 1ª consulta, além desses procedimentos, os pacientes receberem orientação de higiene bucal e a primeira coleta microbiológica (momento 0).

Todos os pacientes receberam tratamento periodontal prévio da boca toda com exceção dos molares selecionados para o estudo, que foram tratados durante a fase experimental propriamente dita.

Os dentes selecionados para o experimento receberam raspagem com curetas de Gracey 11/12, 13/14 e McCall 13/14 (Hu-Friedy, USA) associado ao ultrasom (EMS, Alemanha) no lado Controle e raspagem associada à aplicação do laser de Nd:YAG no lado Teste. Imediatamente após a segunda aplicação do laser, foi feita a segunda coleta microbiológica (momento 1). A terceira coleta microbiológica foi realizada após 4 semanas da segunda sessão do tratamento instituído (momento 2).

Aparelho e aplicação do laser de Nd:YAG

O examinador 2 escolhia aleatoriamente qual furca receberia a aplicação do Nd:YAG (ADT - America Dental Tecnology - USA) do LELO - FOUESP (Figura 1A; 1B).

As 17 furcas do grupo Teste receberam a aplicação do laser da seguinte forma: a fibra óptica com diâmetro de 300 µm era posicionada paralela ao longo eixo do dente (Figura 2A) para aplicação em seu componente vertical, com movimentos pendulares durante 30 segundos. Para aplicação em seu componente horizontal, a fibra era colocada inclinada aproximadamente 90° em relação ao longo do eixo do dente (Figura 2B) e, durante a aplicação, eram realizados movimentos circulares por 30 segundos, totalizando um tempo de um minuto por



Figura 1A - Aparelho de laser (ADT, USA): Vista Frontal do aparelho de Nd:YAG.



Figura 1B - Aparelho de laser (ADT, USA): Display do aparelho com energia utilizada.



Figura 2A - Aplicação do laser na região da furca. Posicionamento da fibra óptica do laser no componente vertical da furca.



Figura 2B - Aplicação do laser na região da furca. Posicionamento da fibra óptica do laser no componente horizontal da furca.

furca em cada sessão. Essa fibra foi introduzida 1 mm aquém da profundidade obtida com a sonda-gem¹² e, para tanto, um cursor de borracha foi colocado na fibra, delimitando essa medida (Figura 1C). Os parâmetros utilizados foram: 100 mJ/pulso de energia, 1,5 W de potência e 15 Hz de freqüência no modo pulsado, em que cada pulso tinha duração de 150 µs.

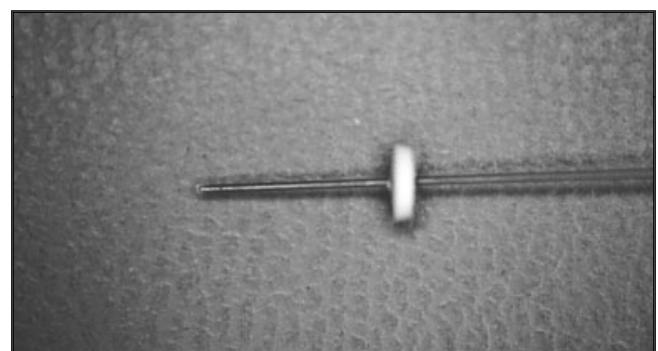


Figura 1C - Aparelho de laser (ADT, USA): Fibra óptica com cursor de borracha.

Avaliação microbiológica

Para a coleta da placa subgengival, os dentes foram isolados com roletes de algodão, a placa supra-gengival foi removida e a amostra de placa subgengival foi obtida introduzindo-se dois cones de papel nº. 40 estéreis no interior da bolsa durante 30 segundos. A amostra coletada foi depositada em um frasco contendo 3 ml do meio de transporte (VMGA III). Essas amostras foram processadas em até 24 horas após as coletas.

Os frascos contendo os cones no VMGA III foram incubados a 37°C por 30 minutos a fim de

liquefazer a gelatina e depois foram homogeneizadas em agitador de tubos (Fisher Vortex Genie 2, USA).

Alíquotas de 100 µl de cada amostra não diluída e diluídas a 1/10 e 1/100 em água peptonada foram semeadas em placas de Petri, contendo meio de cultura seletivo TSBV (ágar soja tripticaseína acrescido de soro de cavalo, bacitracina e vancomicina)¹⁹. Após três dias de incubação pelo método da chama de vela, foi realizada a contagem e identificação das UFC de *A. actinomycetemcomitans*. A identificação foi feita pela morfologia da colônia e reação de catalase positiva.

Alíquotas de 100 µl de cada amostra, diluídas a 1/100, 1/1.000 e 1/10.000, em água peptonada, foram semeadas em placas de Petri contendo meio Brucella-ágar sangue. Após sete dias de incubação em jarras de anaerobiose, foi realizada a contagem das UFC de bactérias anaeróbias e pigmentadas de preto.

As colônias de bactérias pigmentadas de preto foram reisoladas para posterior identificação. As colônias com autofluorescência positiva, teste de MUG e CAAM negativos, foram identificadas como Pi e as que apresentavam autofluorescência negativa, teste de MUG negativo e CAAM positivo, foram identificadas como *Porphyromonas gingivalis*.

Análise Estatística

O teste de Levene foi utilizado para testar a homogeneidade das variâncias, e a normalidade da distribuição foi testada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Utilizou-se o teste *t* de Student e o teste de Wilcoxon para verificar se existiam diferenças entre os grupos Teste e Controle.

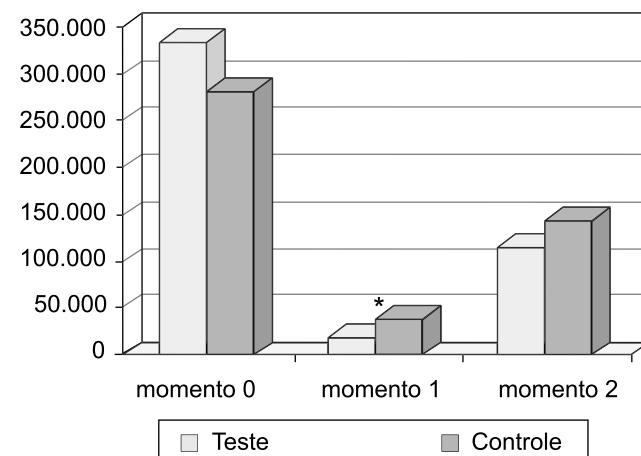
Para examinar se existiram mudanças ao longo do tempo, foi utilizado o teste não-paramétrico de Friedman. O teste de Dunn foi usado para apontar entre quais momentos havia diferenças.

Para verificar se existia associação entre grupo experimental e presença das bactérias estudadas, foi utilizado o teste Qui-quadrado, e na impossibilidade deste, foi usado o teste de Fisher. Adotou-se um nível de significância α de 5% em todos os testes estatísticos.

RESULTADOS

Dos pacientes selecionados, 52,9% eram do gênero feminino e 47,1%, masculino. A média de idade foi de 47,4 anos e 70,6% eram não fumantes.

O Gráfico 1 demonstra que não houve diferença significativa em relação ao número total de UFC de bactérias anaeróbias entre os dois grupos nos momentos 0 ($p = 0,65$) e 2 ($p = 0,37$), porém houve diferença significativa entre os grupos no momento 1 ($p = 0,019$).



* diferença estatística significante entre os grupos

Gráfico 1 - Média, mediana, desvio padrão e comparação dos grupos experimentais com relação ao número total de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) de bactérias anaeróbias nos diferentes momentos do estudo.

Em ambos os grupos, houve uma redução no número de UFC de bactérias anaeróbias do momento 0 para o momento 1, seguido de um aumento do momento 1 para o momento 2. De acordo com o teste de Dunn, essa diferença foi significativa entre os momentos 0 e 1, 0 e 2 e 1 e 2.

Já para a avaliação do número total de UFC de bactérias pigmentadas de preto (Gráfico 2), pôde-se observar que não houve diferença significativa entre os dois grupos nos momentos 0 ($p = 0,87$) e 2 ($p = 0,16$). No momento 1, a média do número de UFC de bactérias pigmentadas de preto foi maior no grupo Controle do que no Teste, porém sem diferença estatística significativa ($p = 0,27$).

Tanto no grupo Teste como no Controle, houve uma redução no número de UFC de bactérias pigmentadas de preto do momento 0 para o momento 1, seguida de um aumento do momento 1 para o momento 2 para valores próximos do

inicial. De acordo com o teste de Friedman, essa mudança ao longo do tempo foi significativa. De acordo com o teste de Dunn, essa diferença foi significativa entre os momentos 0 e 1 e entre os momentos 1 e 2.

Ainda dentro dos parâmetros microbiológicos, foi avaliada a distribuição de *Porphyromonas gingivalis* (Gráfico 3), *Prevotella intermedia* (Gráfico 4) e *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Gráfico 5) de acordo com a presença ou ausência e com os grupos experimentais, nos diferentes momentos do estudo. Não houve associação entre grupo experimental e presença de nenhuma das três bactérias estudadas em nenhum momento do estudo.

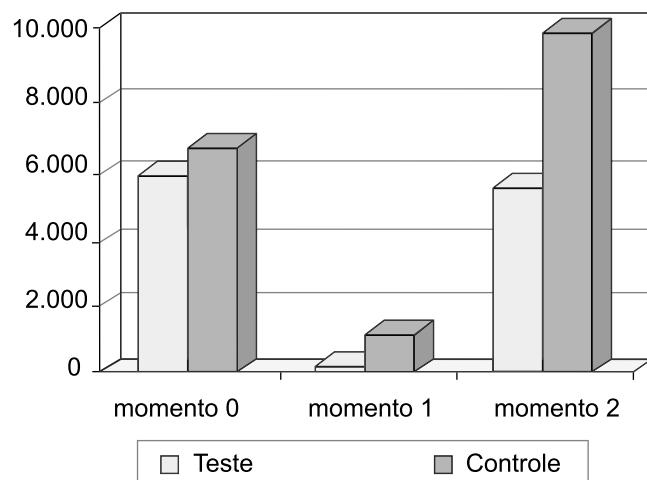


Gráfico 2 - Média e comparação dos grupos experimentais com relação ao número total de Unidades Formadoras de Colônias de bactérias pigmentadas de preto nos diferentes momentos do estudo.

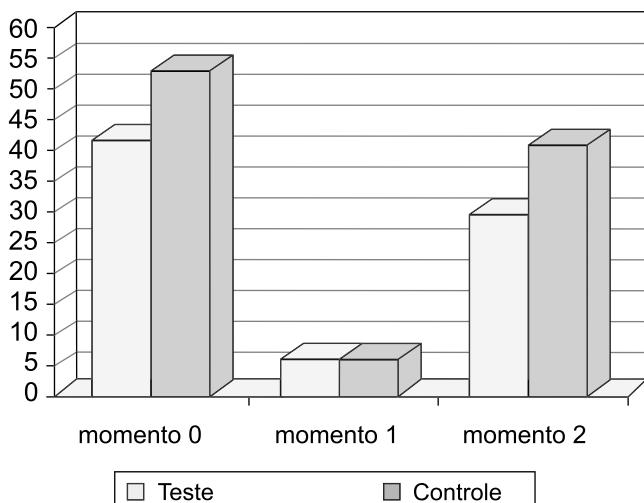


Gráfico 3 - Distribuição dos pacientes (%) de acordo com presença ou ausência de *Porphyromonas gingivalis* e grupo experimental, nos diferentes momentos do estudo.

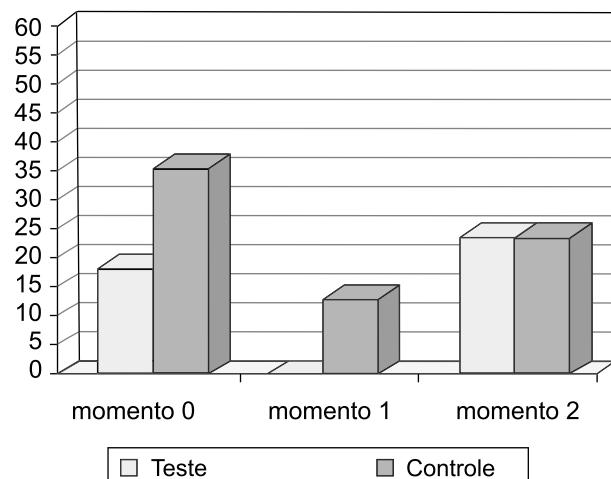


Gráfico 4 - Distribuição dos pacientes (%) de acordo com presença de *Prevotella intermedia* e grupo experimental, nos diferentes momentos do estudo.

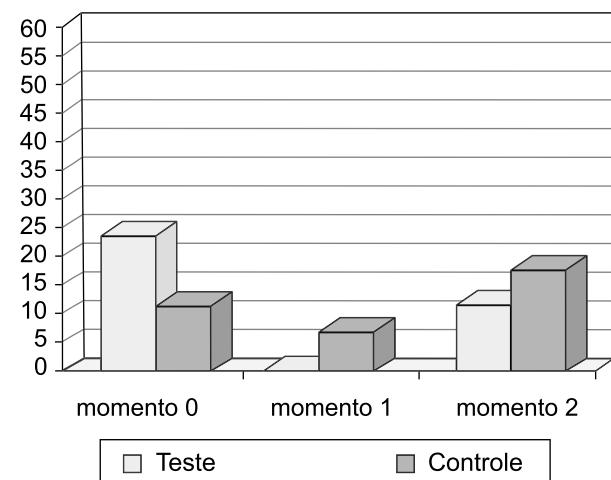


Gráfico 5 - Distribuição dos pacientes (%) de acordo com presença ou ausência de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* e grupo experimental, nos diferentes momentos do estudo.

DISCUSSÃO

Trinta e quatro dentes com envolvimento de furca grau II foram tratados com raspagem ou raspagem associada ao laser de Nd:YAG (100 mJ/pulso; 1,5 W; 15 Hz, 60 s). A análise microbiológica foi feita por meio de cultura. Os resultados demonstraram que o laser de Nd:YAG, associado à raspagem, promoveu uma redução maior na média do número total de UFC de bactérias anaeróbias quando comparadas com a raspagem isolada, imediatamente após sua aplicação.

Entretanto, outros trabalhos não demonstraram benefícios adicionais à raspagem, quando o laser de Nd:YAG foi utilizado associado ao tratamento periodontal^{9,17}. Podemos sugerir que esses resultados encontrados sejam decorrentes das energias baixas utilizadas (80 mJ/pulso).

Muitos trabalhos, assim como o nosso, demonstraram redução bacteriana após a aplicação do laser de Neodímio *in vitro*^{18,22,24} e associado à terapia periodontal^{14,5,10,12,16}.

Não observamos na literatura uma padronização quanto às energias e aos tempos utilizados para redução bacteriana na bolsa periodontal, o que dificulta uma análise mais precisa dos resultados.

Hatit *et al.*¹² (1996) demonstraram que a completa eliminação do *A. actinomycetemcomitans* não foi possível para ambos os grupos (RAPCR + laser e RAPCR isolada). Esses resultados são semelhantes ao encontrado em nosso estudo e no de Fróio⁷ (2003). Segundo esse mesmo autor, isso se deve à colonização dos tecidos gengivais por esse microrganismo também em pacientes com periodontite crônica.

Gutknecht *et al.*¹⁰ (2002), através de sondas de RNA, demonstraram resultados semelhantes a esses trabalhos citados anteriormente^{7,12}, em que houve uma redução de *A. actinomycetemcomitans* maior onde o laser foi associado à raspagem quando comparada à raspagem isolada uma semana e um mês após o tratamento, porém também não foi conseguida sua eliminação.

Esses mesmos autores¹⁰ demonstraram uma redução significativamente maior para *P. gingivalis* através de sonda de DNA e para *P. intermedia* através de sonda de RNA, um mês após o tratamento, no grupo em que o laser foi associado ao tratamento periodontal. Em nosso trabalho, encontramos redução desses microrganismos imediatamente após os tratamentos, porém houve um retorno para níveis próximos dos iniciais depois de um mês, para ambos os grupos.

Os parâmetros utilizados no nosso estudo (1,5 W, 100 mJ/pulso, 15 Hz, 1 min), foram adotados com base nos estudo *in vitro* e *in vivo* que utilizaram o laser de Nd:YAG, visando redução bacteriana e com intuito de evitar a ocorrência de danos à superfície radicular e aos tecidos adjacentes^{6,7,12,14}.

Alguns trabalhos^{5,21} demonstraram que o laser de Nd:YAG altera a superfície radicular, provocando fusão e ressolidificação da parte mineral do cimento, além da formação de fendas e crateras após

sua aplicação *in vitro*, sugerindo que a complementação com o tratamento mecânico da superfície radicular deve ser realizada a fim de reduzir essas irregularidades e biocompatibilizar a superfície radicular²⁰. Dessa forma, apesar de Chan e Chien⁴ (1994) demonstrarem que a aplicação do laser em potências superiores a 3 W foi efetiva na redução bacteriana e que Pinero²¹ (1998) demonstrou a eficiência desse laser (5-10 W; 60-120 s) associado ao tratamento convencional na prevenção da endocardite bacteriana subaguda, devemos considerar a escolha da energia mais adequada para que não haja danos à raiz dentária e aos tecidos vizinhos. A literatura demonstra⁵ que potências superiores a 2 W geram grandes danos térmicos à superfície radicular.

Certamente, a busca de respostas sobre a atuação do laser quando aplicado no periodonto, em que diferentes tecidos interagem harmonicamente, é um desafio para a Odontologia⁷. Isso nos leva a sugerir a realização de estudos adicionais para se estabelecer os parâmetros e/ou número de sessões adequados para que a redução inicial conseguida em nosso estudo seja mantida por mais tempo.

CONCLUSÕES

De acordo com a metodologia desenvolvida neste trabalho, foi possível concluir que:

1. O laser de Nd:YAG, associado à raspagem, promoveu redução adicional da média do número total das Unidades Formadoras de Colônias de bactérias anaeróbias, quando comparado à raspagem isolada.
2. O laser de Nd:YAG, associado à raspagem, não promoveu melhora adicional quando comparado à raspagem isolada em relação à média do número total de Unidades Formadoras de Colônias de bactérias pigmentadas de preto nem em relação a porcentagem das bactérias *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* e *P. intermedia*.

AGRADECIMENTOS

À FAPESP, pelo auxílio a pesquisa processo 2000/06237-0.

ABSTRACT

Bacterial reduction in class II furcation after root debridement with or without Nd:YAG laser irradiation

The use of Nd:YAG laser for bacterial reduction as an adjuvant to nonsurgical periodontal treatment has been approached in several studies. The purpose of this clinical trial, randomized, double-blinded was to evaluate the bacterial reduction achieved with the Nd:YAG associated to conventional treatment on furcation sites of patients with chronic periodontitis. In a split mouth design study, 34 class II furcations that were selected from 17 patients with chronic periodontitis. They received previous full mouth periodontal treatment, except for the experimental sites. The 17 furcations of the Control group underwent twice manual and ultrasonic root debridement in weekly intervals. The Test group received the same treatment as the Control group followed by the Nd:YAG laser application (100 mJ/pulse; 1.5 W; 15 Hz; 60 s). The microbiological parameters total numbers of anaerobic Colony Forming Units (CFU); Black pigmented CFU and the level of Actinobacillus actinomycetemcomitans, Porphyromonas gingivalis and Prevotella intermedia were determined at baseline, immediately and one month after the treatment. The results showed a significant reduction of total CFU for both groups immediately after the treatment, but it was better for the Test group. After one month the total CFU average increased but was still below pretreatment levels for both groups. The black pigmented CFU and the level of Actinobacillus actinomycetemcomitans, Porphyromonas gingivalis and Prevotella intermedia decreased significantly after the treatment but 30 days after there was an increase almost equal to baseline levels for both groups. The Nd:YAG laser associated with conventional treatment promoted bacterial reduction on class II furcation immediately after its application.

DESCRIPTORS

Chronic periodontitis. Bacterial reduction - Nd:YAG laser. Nonsurgical treatment.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Al-Shammari KF, Kazor CE, Wang HL. Molar root anatomy and management of furcation defects. *J Clin Periodontol* 2001;28:730-40.
2. Armitage CG. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol* 1999;4:1-6.
3. Cattabriga M, Pedrazzoli V, Wilson Junior TG. The conservative approach in the treatment of furcation lesions. *Periodontology* 2000;22:133-53.
4. Chan Y, Chien R. Bactericidal action of Nd:YAG laser radiation in periodontal pockets. In: The 4th International Congress of Lasers in Dentistry; Singapore;1994. p. 185-190.
5. Cobb CM, Mccawley TK, Kilroy WJ. A preliminary study on the effects of the Nd:YAG laser on root surface and subgingival microflora *in vivo*. *J Periodontol* 1992;63(8):701-7.
6. Frentzen M, Korner K. The effects of Nd:YAG laser radiation in periodontal pocket therapy. In: the 6th International Congress on Laser in Dentistry Germany;1996. p. 228-9.
7. Fróio GL. Laser de Nd:YAG em periodontia como coadjuvante no tratamento não-cirúrgico da periodontite crônica [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2003.
8. Geusic JE, Marcos HW, van Uitert LLG. Laser oscillations in Nd-doped yttrium aluminum, yttrium gallium, and gadolinium garnets. *Appl Phys Lett* 1964;4:182.
9. Greenwell H, Harris D, Pickman K, Burkart J, Parkins F, Myers T. Clinical evaluation of Nd:YAG laser curettageon periodontitis and periodontal pathogens [abstract 259]. *J Dent Res* 1999;78:138.
10. Gutknecht N, Raoufi P, Franzen R, Lamper F. Reduction of specific microorganisms in periodontal pockets with the aid of an Nd: YAG laser: an *in vivo* study. *J Oral Laser Applic* 2002;(3):175-80.
11. Hamp SE, Nyman S, Lindhe J. Periodontal treatment of multirooted teeth. Results after 5 years. *J Clin Periodontol* 1975;(2):126-35
12. Hatit Ben Y, Blum R, Severin C, Maquin M, Jabro MH. The effects of a pulsed Nd:YAG laser in subgingival bacterial flora and on cementum: an *in vivo* study. *J Clin Laser Med Surg* 1996;14(3):137-43.
13. Loesche WJ. The specific plaque hypothesis and the antimicrobial treatment of periodontal disease. *Dent Update* 1992;19(2):68-74.
14. Lopes IML. Contribuição ao estudo do laser de Nd: YAG, como coadjuvante à terapêutica periodontal. Estudo clínico[Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Instituto de Ciências da Saúde - UNIP.
15. Pick RM. The use of the laser for treatment of gingival diseases. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am* 1997;9(1):6-7.
16. Pinero J. Nd:YAG-assisted periodontal curettage to prevent bacteria before cardiovascular surgery. *Dent Today* 1998;17(3):84-7.
17. Radvar M, MacFarlane TW. An evaluation of the the Nd:YAG laser in periodontal pocket therapy. *Br Dent J* 1996;180(2):57-62.
18. Severin C, Ragot-Roy B. Pulsed Nd:Yag laser: bactericidal effect and dentin permeability. In: the 4th Int Congress Laser Dentistry; Bologna; 1994. p. 231-34.

19. Slots J, Reynolds HS. Long-wave UV light fluorescence for identification of black pigmented acteroides spp. *J Clin Microbiol* 1982;16:1148-51.
20. Thomas D, Rapley J, Cobb C, Spencer PE, Killoy W. Effects of the Nd:YAG laser and combined treatments on *in vitro* fibroblast attachment to root surfaces. *J Clin Periodontol* 1994;21:38-44.
21. Trylovich DJ, Cobb CM, Pippin DJ, Spencer P, Killoy WJ. The effects of the Nd:YAG Laser on *in vitro* fibroblast attachment to endotoxin-treated root surfaces. *J Periodontol* 1992;63(7): 626-32.
22. Tseng P, Gilkeson CF, Palmer J, Liew V. The bactericidal effect of Nd:YAG laser *in vitro*. *J Dent Res* 1991;70:650.
23. White JM, Goodis HE, Setcos JC, Eakle S, Hulscher BE, Rose CL. Effects of pulsed Nd:YAG laser energy on human teeth: a three-year follow-up study. *Am Dent Assoc* 1993;124 (58):45-51.
24. Whitters CJ, MacFarlane TW. The bactericidal activity of pulsed Nd:YAG laser radiation *in vitro*. *Laser Med Sci* 1994;9:297-303.
25. Zezell D. Curso clínico de laser em odontologia (Apostila de curso). São Paulo; IPEN/FUNDECTO-FOUSP; 2002.

Recebido em 24/06/04

Aceito em 01/09/04