



AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE  
DE SÃO PAULO

**ANÁLISE COMPARATIVA DA REDUÇÃO BACTERIANA COM  
IRRADIAÇÃO DO LASER DE Er:YAG OU PONTA MONTADA  
EM ALTA ROTAÇÃO APÓS REMOÇÃO DE TECIDO CARIADO  
EM DENTINA: ESTUDO *IN ANIMA NOBILE*.**

**CLAUDIA CAMPOS BLAY**

Dissertação apresentada como parte  
dos requisitos para obtenção do Grau  
de Mestre Profissional na área de Lasers  
em Odontologia.

Orientador:

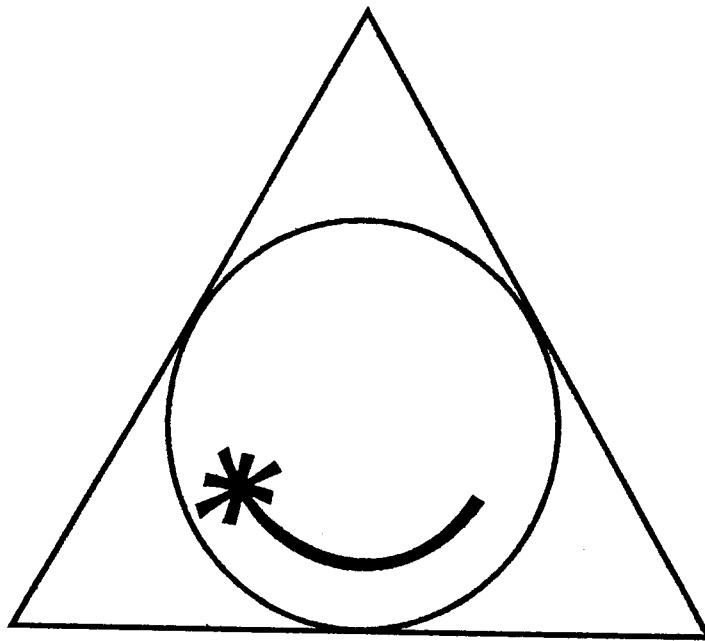
Prof. Dr. Carlos de Paula Eduardo

Co-Orientadora:

Profa. Dra. Martha Marques F. Vieira.

**São Paulo  
2001**





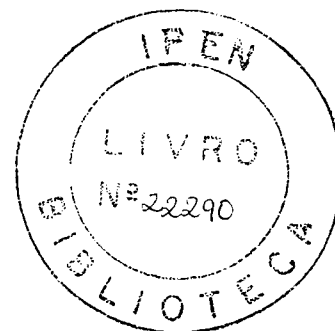
**MESTRADO PROFISSIONALIZANTE DE LASER EM  
ODONTOLOGIA**

**INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS NUCLEARES**

**Autarquia associada à Universidade de São Paulo**

**ANÁLISE COMPARATIVA DA REDUÇÃO BACTERIANA COM  
IRRADIAÇÃO DO LASER DE Er:YAG OU PONTA MONTADA EM  
ALTA ROTAÇÃO APÓS REMOÇÃO DE TECIDO CARIADO EM  
DENTINA: ESTUDO *IN ANIMA NOBILE***

**CLAUDIA CAMPOS BLAY**



**Dissertação apresentada como parte dos  
requisitos para obtenção do Grau de Mestre  
Profissional na Área de Laser em Odontologia**

**Orientador: Prof. Dr. Carlos de Paula Eduardo**

**Co-orientador: Profa. Dra. Martha Marques F. Vieira**

**São Paulo**

**2001**

## DEDICATÓRIAS

Ao meu marido Alberto, meu amor e a pessoa mais importante da minha vida.

Aos meus queridos pais Elisabeth e Marco Antonio que sempre estiveram do meu lado me apoiando e me incentivando. Sem eles não conseguiria alcançar os meus objetivos.

## AGRADECIMENTOS

À minha querida irmã **Rosana**, sempre amiga e companheira.

Aos queridos **Stela e Jayme** pela atenção e carinho demonstrados.

Aos meus cunhados **Paulo, Raquel e Roberto, Valéria e Fernando, Adriana e Marcelo**, meus grandes amigos e companheiros.

Ao **Prof. Dr. Carlos de Paula Eduardo**, orientador desta tese, pelo incentivo, apoio, atenção e amizade. Uma pessoa brilhante.

Ao **Prof. Dr. Roberto S. Zeballos**, médico imunologista, pela ajuda na elaboração dos métodos microbiológicos empregados e amizade.

Ao **Prof. Carlos Manuel de Oliveira Nascimento**, pela orientação e ajuda na dissertação e análise dos resultados microbiológicos e amizade.

À **Luciene H. Azevedo**, por ter me transmitido todo o seu conhecimento na utilização do laser de Er:YAG, pela ajuda no atendimento aos pacientes, pela atenção e amizade.

Ao **Alberto Blay**, por ter me ajudado em todas as fases de realização da tese e pelo incentivo.

À **Prof. Dra. Martha Marques F. Vieira**, pela ajuda na revisão da tese e amizade.

À **Sandra Veríssimo**, pela sua dedicação, ajuda na organização de todo o material clínico e amizade.

À todos os professores da **FOUSP** e do **IPEN** que se empenharam ao máximo para nos transmitir todos os seus conhecimentos.

À **FOUSP, LELO e IPEN**, pelo suporte oferecido para a realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

Página

**RESUMO****ABSTRACT**

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>3</b>
2.1 Cárie dental e penetração bacteriana nos túbulos dentinários.....	3
2.2 O laser de Er:YAG.....	15
2.3 Redução bacteriana com a irradiação da luz laser.....	35
<b>3. PROPOSIÇÃO.....</b>	<b>54</b>
<b>4.MATERIAIS E MÉTODO.....</b>	<b>56</b>
4.1 Material.....	56
4.1.1 Equipamento laser de Er:YAG.....	57
4.2 Métodos.....	61
4.2.1 Triagem dos pacientes.....	61

**Página**

4.2.2 Termo de consentimento livre e esclarecido.....	61
4.2.3 Procedimento clínico.....	61
4.2.4 Grupo controle.....	61
4.2.5 Grupo laser.....	67
4.2.6 Análise microbiológica.....	74
<b>5. RESULTADOS.....</b>	<b>77</b>
5.1 Análise percentual.....	81
<b>6. DISCUSSÃO.....</b>	<b>84</b>
<b>7. CONCLUSÕES.....</b>	<b>93</b>
<b>8.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>95</b>

**LISTA DE FIGURAS**

	<b>Página</b>
<b>Figura 1:</b> Esquema para coleta de tecidos dentais após a irradiação com o laser de Er:YAG.....	36
<b>Figura 2:</b> Foto do laser de Er:YAG (Kavo Key Laser - Germany).....	57
<b>Figura 3:</b> Foto da peça de mão 2051 do laser de Er:YAG (Kavo).....	58
<b>Figura 4:</b> Foto da peça de mão 2055 e a fibra óptica 50/10 acoplada ao laser de Er:YAG (Kavo).....	59
<b>Figura 5:</b> Ilustração de um ressonador de um laser.....	60
<b>Figura 6:</b> Aspecto inicial do dente cariado no grupo controle.....	62
<b>Figura 7:</b> Prévia curetagem da lesão cariada no grupo controle.....	62
<b>Figura 8:</b> Placa de meios de cultura de Agar.....	63
<b>Figura 9:</b> Amostra de dentina cariada sendo semeada na placa de Agar (Grupo controle).....	63
<b>Figura 10:</b> Remoção de tecido cariado com ponta diamantada esférica montada em alta rotação (Grupo controle).....	64
<b>Figura 11:</b> Aspecto da cavidade clinicamente sem cárie (Grupo controle).....	65

**Página**

<b>Figura 12:</b> Limpeza da cavidade com digluconato de clorexidina a 2%.....	65
<b>Figura 13:</b> Coleta das raspas de dentina no grupo controle.....	66
<b>Figura 14:</b> Amostra das raspas de dentina sendo semeadas na placa de agar.....	66
<b>Figura 15:</b> Dente restaurado com resina composta (Grupo controle).....	67
<b>Figura 16:</b> Aspecto inicial da cárie no 1º e 2º molares superior direito no Grupo laser.....	68
<b>Figura 17:</b> Remoção de esmalte sem suporte com ponta esférica diamantada montada em alta rotação para visualização da cárie.....	69
<b>Figura 18:</b> Aspecto da dentina cariada (Grupo laser).....	69
<b>Figura 19:</b> Curetagem e coleta da cárie dentinária (Grupo laser).....	70
<b>Figura 20:</b> Amostra de cárie sendo semeada em meio de cultura de Agar.....	70
<b>Figura 21:</b> Remoção de tecido cariado com a peça de mão 2051 do laser de Er:YAG (Kavo Key Laser) utilizando 250mJ de energia por pulso e 2Hz de frequência.....	71
<b>Figura 22:</b> Condicionamento e limpeza da cavidade varrendo todas as paredes do preparo com a fibra 50/10 acoplada à peça de mão 2055 (Kavo) utilizando 60mJ de energia por pulso e 10 Hz de frequência.....	72

	<b>Página</b>
<b>Figura 23:</b> Aspecto clínico das cavidades após condicionamento com o laser de Er:YAG.....	73
<b>Figura 24:</b> Coleta das raspas de dentina no grupo laser.....	73
<b>Figura 25:</b> Restauração dos dentes com resina composta.....	74
<b>Figura 26:</b> Aparelho de fluxo laminar (Germicida) e placas de Agar (Descontaminação externa).....	74
<b>Figura 27:</b> Placas de Agar após incubação onde se observa crescimento de colônias esverdeadas típicas de <i>S. viridans</i> .....	75

## LISTA DE TABELAS

	Página
<b>Tabela 1:</b> Protocolo para utilização do laser de Er:YAG em tecidos dentais duros proposto por Miserendino & Cozean (1998).....	20
<b>Tabela 2:</b> Determinação da forma e tamanho de cavidades formadas pelo laser de Er:YAG em tecidos dentais duros e sua relação com a fluência, diâmetro do foco e número de pulsos utilizados segundo Wigdor et al. (1993).....	23
<b>Tabela 3:</b> Comprimento, largura, massa, volume e água do <i>Streptococcus</i> , <i>Staphylococcus</i> e <i>Bacillus subtilis</i> segundo Belikov et al. (1995).....	36
<b>Tabela 4:</b> Análise da vitalidade de <i>Streptococcus</i> e <i>Staphylococcus</i> em cavidades de cárie após a irradiação do laser de Er:YAG utilizando protocolo proposto por Belikov et al. (1995).....	37
<b>Tabela 5:</b> Resultados em porcentagem da redução bacteriana de secções de dentina após a utilização do laser de Nd:YAG segundo Klink et al. (1997).....	45
<b>Tabela 6:</b> Parâmetros utilizados com os lasers de Alexandrita e Er:YAG na redução bacteriana de canais radiculares segundo Jelínková et al. (1999).....	50
<b>Tabela 7:</b> Parâmetros utilizados com o laser de Ho:YAG na redução bacteriana de diferentes espessuras de secções de dentina e os resultados em porcentagem segundo Gouw Soares et al. (2000).....	52

**Página**

<b>Tabela 8:</b> Resultado em porcentagem da redução bacteriana promovida pelo laser de Diodo em diferentes espessuras de dentina radicular segundo Gutknecht et al. (2000).....	53
<b>Tabela 9:</b> Número de colônias formadas (u.f.c.) e tipo de microorganismos encontrados no grupo controle após coleta e cultura de dentina cariada e raspas de dentina sem cárie.....	79
<b>Tabela 10:</b> Número de colônias formadas (u.f.c.) e tipo de microorganismos encontrados no grupo laser após coleta e cultura de dentina cariada e raspas de dentina sem cárie.....	80

u.f.c.	unidades formadoras de colônia
≥	maior-igual
<i>S. mutans</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>S. viridans</i>	<i>Streptococcus viridans</i>
<i>P.gingivales</i>	<i>Pseudomonas gingivalis</i>
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>S. sanguis</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>
<i>E. faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>

**RESUMO****ANÁLISE COMPARATIVA DA REDUÇÃO BACTERIANA COM IRRADIAÇÃO DO LASER DE Er:YAG OU PONTA MONTADA EM ALTA ROTAÇÃO APÓS REMOÇÃO DE TECIDO CARIADO EM DENTINA: ESTUDO IN ANIMA NOBILE.**

O objetivo deste estudo foi analisar a redução bacteriana, após remoção de tecido cariado em dentina com o laser de Er: YAG comparando os resultados com àqueles obtidos com o uso de ponta montada em alta rotação. Tendo em vista a dificuldade de eliminação total de microorganismos na dentina, mesmo após a remoção de todo o tecido cariado e sendo comprovada a presença da camada de smear layer, seria de grande valia a eliminação ou uma maior desinfecção dessa camada de dentina conhecidamente contaminada, evitando-se grande parte dos insucessos nos procedimentos restauradores. Foram selecionados para o estudo 30 pré-molares e molares que apresentavam cáries classificadas como médias e que necessitavam de tratamento restaurador. Os dentes foram divididos em dois grupos onde 15 dentes foram tratados de forma convencional (grupo controle - I) e 15 dentes foram tratados com o laser de Er:YAG (Kavo Key Laser), (grupo laser - II). Análise microbiológica foi usada para determinar presença ou ausência de bactérias. Tanto no grupo I como no grupo II foi feita prévia curetagem de parte da cárie dentinária e a amostra foi semeada em meio de cultura de Agar e incubada a 37°C por 72 horas, para análise quantitativa (u.f.c.) e qualitativa de bactérias. Após este procedimento foram removidas no grupo I, as lesões cariosas utilizando-se ponta esférica diamantada montada em alta rotação seguida de limpeza da cavidade com digluconato de clorexidina a 2%. No grupo II, o laser de Er:YAG (Kavo Key Laser) emitindo um comprimento de onda de 2,94µm, entregou uma energia por pulso de 250mJ a uma taxa de repetição de 2Hz

utilizando-se a peça de mão 2051 para remoção de tecido cariado. Ainda no grupo II (laser) a cavidade foi condicionada fazendo-se uma varredura em todas as paredes do preparo com a fibra 50/10 (acoplada a peça de mão 2055) no modo contato, utilizando-se uma energia por pulso de 60mJ a uma frequência de 10Hz. Após a remoção de toda a cárie e limpeza nos dois grupos, foi realizada uma coleta de raspas de dentina as quais foram semeadas em meio de cultura de Agar, incubadas a 37°C por 72 horas, para uma nova análise microbiológica. Os resultados obtidos mostraram ser o laser de Er: YAG, nos parâmetros utilizados, eficaz e efetivo na eliminação de todas as bactérias remanescentes em preparo cavitário comparado aos métodos convencionais onde se detectou um crescimento bacteriano em 20% das amostras de raspas de dentina.

**ABSTRACT****COMPARATIVE ANALYSIS OF BACTERIAL DECREASE BY  
Er:YAG LASER RADIATION AND BY A TIP MOUNTED ON A  
HIGH-ROTATION DEVICE AFTER REMOVAL OF CARIOUS  
TISSUE IN DENTINE: STUDY "IN ANIMA NOBILE"**

The purpose of this study was to analyze bacterial decrease after removal of carious tissue in dentine by Er:YAG laser, comparing the results with those achieved by using a tip mounted on a high-rotation device. In view of the difficulty of totally eliminating microorganisms from dentine, even after removing all the carious tissue, and since the presence of a smear layer is a proven fact, it would be extremely convenient to eliminate or to achieve better disinfecting of this notoriously contaminated dentine layer, so as to prevent failure of the restoration process in most cases.

For this study, we selected 30 pre-molars and molars with caries rated as medium-sized and which required restoration treatment. The teeth were divided in two groups, where 15 teeth received conventional treatment (control group - I) and 15 teeth were treated with Er:YAG laser (Kavo Key Laser) (laser group - II). Microbiologic analysis was used in order to determine presence or absence of bacteria. In group I as well as in group II a previous curettage of part of the dentine caries was performed, and the sample was seeded in an Agar culture medium and incubated at 37°C for 72 hours, for a quantitative analysis of bacteria colony forming units (c.f.u.) and qualitative bacterial analysis.

After this procedure, carious lesions were removed in group I, using a spherical diamond drill mounted on a high rotation tip, followed by cleaning of the cavity with chlorhexidine digluconate at 2%. In group II, an Er:YAG laser emitting a wave length of 2,94  $\mu\text{m}$ , delivering a 250 mJ energy per pulse at a repetition rate of 2Hz was used for

carious tissue removal. Furthermore in group II (laser), the cavity was conditioned by performing a sweeping at all walls of the preparation with the 50/10 fiber (Kavo), in contact mode, using an energy of 60 mJ per pulse at a frequency of 10 Hz.

After removing all caries and performing a cleaning operation in both groups, dentine shavings were collected and seeded in an Agar culture medium, and incubated at 37°C for 72 hours for a new microbiological analysis. The results obtained showed that the Er:YAG laser, within the used parameters, was efficient and effective in eliminating all remaining bacteria in a surface cavity preparation, as compared to conventional methods where bacterial growth was detected in 20% of the samples of dentine shavings.

## 1. INTRODUÇÃO

A cárie dental é provavelmente, a doença crônica mais comum do mundo. É considerada uma doença infecciosa que resulta na destruição e dissolução lenta dos cristais de hidroxiapatita. Na fase aguda, a doença usualmente progride com uma série de exarcebações e regressões. As exarcebações se caracterizam por períodos com altas produções de ácido produzidos pelas bactérias da própria flora bucal, levando a uma destruição progressiva do dente e uma eventual infecção da polpa dental (Sturdevant et al., 1996).

Os microorganismos bucais não vivem em colônias solitárias e sim em uma complexa comunidade constituída de diferentes espécies de bactérias.

Apesar da diversidade das bactérias presentes na flora bucal, o *Streptococcus mutans* é considerado o mais importante microorganismo de iniciação da cárie dental e muitos estudos mostram que este pode penetrar mais de 500µm através dos túbulos dentinários.

Um dos maiores problemas a serem resolvidos na remoção da cárie dental pelos métodos convencionais é a completa eliminação dos microorganismos ou pelo menos uma redução bacteriana acima de 95%.

A presença de bactérias no smear layer e a complexa anatomia da dentina, que é constituída por milhares de pequenos túbulos, facilitam a penetração de bactérias originárias das lesões cariosas, podendo levar, algumas vezes, a insucessos nos procedimentos restauradores e até mesmo a inflamações pulpares severas.

Aplicações tecnológicas já incorporadas no cotidiano como o laser, vem como um auxiliar na prática clínica podendo minimizar, entre outras coisas, os possíveis fracassos restauradores decorrentes da dificuldade de eliminação de grande parte dos microorganismos após o preparo cavitário pelos métodos convencionais.

O moderno sugere um avanço tecnológico. Esse avanço vem abrindo caminho para grandes descobertas e inúmeros benefícios no desenvolvimento científico na área odontológica.

O laser para muitos é uma luz cibernética e futurista presente somente em filmes de ficção científica. Ao contrário do que se pensa essa luz é estudada há décadas e foi através da física quântica que se descobriu todas as suas propriedades. Mas o que é física quântica?

De forma simplificada, a física quântica estuda as propriedades das moléculas, dos átomos e de partículas ainda menores que o átomo. Estuda também as interações entre esses corpos e a luz ou outras formas de radiação eletromagnética. Em outras palavras a física quântica foi a base para a descoberta do laser (Freire Junior & Carvalho Neto, 1997).

A grande permeabilidade da dentina facilitando a penetração das bactérias em camadas mais profundas dos túbulos dentinários e a dificuldade ou até mesmo a impossibilidade de substâncias anti-sépticas como a clorexidina, agirem nesses microorganismos torna imprescindível a busca de novos métodos de redução bacteriana após o preparo cavitário para se obter um prognóstico tão ou mais favorável que os alcançados pelos métodos convencionais.

Na área de endodontia o laser é largamente utilizado como coadjuvante em redução bacteriana intracanal e pesquisas in vitro e in vivo provaram a sua eficiência, porém em redução bacteriana de preparos cavitários existem poucos relatos. A importância na desinfecção de cavidades após a remoção de cárie foi o principal objetivo desta pesquisa mostrando ao clínico opções de tratamento na busca de prognósticos favoráveis na área de dentística restauradora.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Cárie dental e penetração bacteriana nos túbulos dentinários

Segundo Nisengard & Newman (1997), a cárie dental é uma decomposição lenta do dente resultante da perda de cristais de hidroxiapatita. Essa dissolução da matriz mineralizada reduz a integridade estrutural do dente. A natureza bacteriana deste processo pode resultar numa infecção crônica com eventual perda do dente e do suporte ósseo alveolar.

Thylstrup & Fejuskov (1998) relatam que em ambiente ácido criado por todas as bactérias acidogênicas na placa dental, os microorganismos, incluindo não só o *Streptococcus* e *actinomyces*, como também espécies dentro dos gêneros *Bacteróides*, *Fusobacterium* e *Neisseria*, irão manter sua capacidade de produzir ácido e posteriormente abaixar ainda mais o pH. Este fato pode ter uma importância específica na desmineralização dental. Os produtos finais como o ácido acético e láctico possuem propriedades desmineralizantes da hidroxiapatita.

Algumas bactérias são capazes de produzir ácido mais rápido do que outras, a taxa de produção de ácido do *Streptococcus*, por exemplo, é mais rápida do que do *Actinomyces*. Das bactérias acidogênicas que são encontradas usualmente em indivíduos cárie-ativos, o número total de *Streptococcus* por miligrama de peso úmido é significativamente mais alto.

Quando as lesões de cárie penetram na dentina, as condições para o crescimento microbiano variam. Acredita-se que as bactérias gram-positivas sejam comuns na cárie de dentina e que existe uma variedade de microorganismos que tendem a ser acidúricos. Sob o ponto de vista da microbiota encontrada na dentina cariada, a lesão pode ser dividida em duas áreas: Dentina necrótica e amolecida e a região profunda parcialmente descalcificada contendo microorganismos que estão penetrando nos canalículos dentinários. Uma questão importante é até que ponto essa comunidade de bactérias

sobreviverá ou futuramente proliferará em direção à polpa, caso sejam inadvertidas ou propositalmente deixadas abaixo das restaurações ou de selantes de fissuras. As dimensões dos túbulos da dentina são tais, que os microorganismos são capazes de penetrar neles em direção a polpa.

Os autores ainda citam que a dentina e a polpa compõem uma parte essencial do tecido vivo dental, sendo que as extensões citoplasmáticas dos odontoblastos estão dentro dos túbulos dentinários, enquanto que o corpo das células reveste a câmara pulpar. Assim sendo, qualquer estímulo que afete a dentina dará origem a uma reação de defesa no órgão dentina-polpa.

No local onde ocorre o ataque do ácido produzido pelos microorganismos, a lesão cariada do esmalte torna-se tão desmineralizada (porosa), por toda a sua espessura, que o tecido se quebra, separando-se, dando origem a uma cavidade cariada repleta de microorganismos da placa.

Freqüentemente grupos de túbulos dentinários localizados no centro da dentina desmineralizada apresentam-se vazios. Os microorganismos invadem ou penetram nesses túbulos. As bactérias aparecem freqüentemente em grande número, confinadas nos túbulos dentinários e em suas inúmeras ramificações.

Reeves & Stanley (1966) analisaram a relação dos sintomas clínicos em dentes cariados com inflamações pulpares. Na maioria dos casos a polpa apresenta mudanças patológicas em dentes cariados. Essas mudanças são determinadas pela virulência do microorganismo envolvido e pela resistência individual de cada hospedeiro.

Nesse estudo os autores compararam histologicamente a relação entre o grau de cárie dentinária envolvendo sua penetração e profundidade com as mudanças patológicas da polpa. Foram usados no estudo 46 dentes humanos cariados. Os dentes foram extraídos e o terço apical da raiz foi removido para fixação pulpar em formalina a 10%. Os dentes foram então descalcificados com ácido fórmico a 5%, embebidos em parafina, seccionados e pigmentados com hematoxilina e eosina. A secção longitudinal permitiu a visualização da profundidade de penetração da bactéria em dentina primária, secundária e reparativa. As medidas foram feitas com a ajuda de microscópio óptico e um micrômetro ocular. Em cada espécime as medidas foram obtidas do ponto mais profundo de penetração da bactéria até o tecido pulpar. A inflamação pulpar foi avaliada de acordo com o grau de infiltração de células inflamatórias, tipo (aguda ou crônica), hiperemia e

dilatação dos capilares, formação de abscesso e quantidade de dentina reparativa formada. Os espécimes foram então divididos em dois grupos:

I- Bactérias que se apresentaram confinadas na dentina primária e secundária.

II- Bactérias que invadiram a dentina reparativa.

Os autores observaram que nos espécimes do grupo I, onde as bactérias estavam entre 2,42mm e 1,11 mm do tecido pulpar, apresentaram um pequeno distúrbio pulpar. Nos espécimes onde ocorreu uma invasão bacteriana dos últimos 0,5mm a 1,0 mm da polpa, uma reação inflamatória foi observada.

No grupo II, onde a dentina reparativa foi invadida pelas bactérias, observou-se uma grande inflamação, formação de abscesso, grande quantidade de tecido de granulação e uma aparência de tecido pulpar doente. Além disso, os autores puderam observar que quando não há uma infecção direta à polpa, isto é, os microorganismos não invadem diretamente a polpa, uma possível inflamação pulpar é decorrente da ação dos produtos bacterianos.

Shavelton (1968) cita que cavidades que aparentam clinicamente ausência de cárie podem conter alguns túbulos dentinários infectados, porém, os microorganismos remanescentes nesses túbulos, aparecem em menor número comparado com os microorganismos nas camadas superficiais da lesão cariada. Além disso, mesmo que a dentina mostre-se rígida a sondagem e sem a inconfundível coloração amarelo-acastanhada após a remoção da cárie, ainda assim podem existir microorganismos remanescentes em alguns túbulos dentinários abertos. Investigações microbianas mostram que em 25% destes dentes, são encontradas bactérias remanescentes. Quando se faz uma análise das secções histológicas dessa região é possível flagrar microorganismos em um ou mais túbulos em 30 a 50% dos dentes analisados.

Dentro deste contexto Thystrup & Fejerskov (1998) relembram que existem em média 45000 túbulos dentinários por milímetro quadrado e é razoável esperar que alguns deles possam apresentar tratos mortos que alberguem alguns microorganismos remanescentes.

Fisher (1969) estudou a viabilidade dos microorganismos da cárie de dentina embaixo de restaurações de amálgama. Exames bacteriológicos foram feitos após períodos de 14 a 24 meses e mostraram que as bactérias de dentina cariada deixadas em

dentos restaurados podem não crescer, entretanto elas podem sobreviver por longos períodos. Por outro lado, se todo o material desorganizado for retirado, há indícios de que as bactérias poderão permanecer na dentina dura. O autor ainda cita que não é certo que estes microorganismos consigam se multiplicar e produzir ácido em cavidades seladas porém deve-se considerar a possibilidade de percolação marginal entre o material restaurador e o esmalte. O fluido que transuda contém substâncias provenientes da cavidade oral que podem servir de nutrientes. Nessas condições, o autor conclui que o número de bactérias poderá aumentar e uma possível cárie poderá estar se formando embaixo da restauração podendo levar a uma contaminação pulpar.

Leung et al. (1980), estudaram o efeito de redução bacteriana do hidróxido de cálcio em cárie de dentina. Foram selecionados para o estudo 40 dentes vitalizados e apresentando cárie classe C. Inicialmente metade da cárie dentinária foi curetada e semeada em meio de cultura para contagem de colônias. A outra metade da cárie foi deixada na cavidade e foi coberta com hidróxido de cálcio e cimento provisório. Após quatro semanas o cimento e hidróxido de cálcio foram removidos e nova curetagem foi feita para análise da amostra de cárie. Uma nova incubação foi realizada após 5 dias.

Os autores concluíram que houve uma diminuição significativa no número de bactérias após quatro semanas com o hidróxido de cálcio e no grupo controle houve um aumento das bactérias porém, eles concordam que as bactérias podem permanecer viáveis embaixo das restaurações. Assim, a cárie deve ser totalmente removida antes da restauração definitiva para se evitar uma inflamação pulpar.

Kouchi et al. (1980) estudaram a localização do *Streptococcus mutans* em túbulos dentinários de canais radiculares abertos aplicando a técnica de imunofluorescência de anticorpos. Foram extraídos 76 dentes com os canais radiculares abertos e estes foram seccionados longitudinalmente na porção apical.

Os *Streptococcus mutans* foram detectados em 48,7% dos 76 dentes examinados. Foi observado por imunofluorescência que a distância de invasão do *S. mutans* nos túbulos dentinários variou de 493 a 524 $\mu$ m até um máximo de 1050 a 1150 $\mu$ m, dependendo da subespécie do *S. mutans*. Além disso, os autores observaram que alguns germes não identificados por corante de gram, invadiram os túbulos dentinários mais distante do que o *S. mutans*.

Langeland (1981), estudou a inflamação pulpar associada as cáries dentinárias profundas. Todos os dentes envolvidos foram isolados e o campo foi desinfetado com água oxigenada a 30% e iodo a 5%. Após uma escavação para remover a superfície da cárie e placa, uma amostra de dentina cariada foi coletada e semeada em meio de cultura. As cavidades foram então escavadas com brocas estéreis e instrumentos manuais sendo que toda dentina amolecida foi removida. Após lavagem e secagem as espículas de dentina foram removidas com brocas estéreis e uma amostra de raspas de dentina foi coletada para análise bacteriológica. Os resultados mostraram que ocorreu crescimento bacteriano em todas as amostras de cárie curetadas na lesão. Subculturas das raspas de dentina curetadas da superfície dura da cavidade demonstraram a presença de *Streptococcus*.

Uma análise no microscópio eletrônico de secções de dentes extraídos mostrou a presença de bactérias nos túbulos da dentina dura após uma meticulosa limpeza da superfície da cavidade. Isso ocorreu em aproximadamente um terço dos dentes tratados. Mudanças patológicas na polpa foram caracterizadas pela presença de células inflamatórias agudas e crônicas e por numerosas calcificações.

Akpatá & Blechman (1982) estudaram a invasão bacteriana nas paredes dentinárias do canal radicular. Eles utilizaram no estudo 14 dentes uniradiculares recém extraídos por problemas periodontais e que possuíam a polpa dental intacta. Foi feita cirurgia de acesso convencional e a polpa foi extirpada. Após isso todos os dentes foram instrumentados e esterelizados em gás de óxido de etileno. Após a esterilização os canais foram inoculados com duas espécies bacterianas anaeróbias, *Bacteroides melanogenicus* ss e *Peptococcus asacharolyticus* e duas anaeróbias facultativas, *Streptococcus faecalis* e *Streptococcus sanguis*.

Os canais preparados foram inoculados com 0,1ml de suspensão bacteriana e os acessos coronários selados. As espécies bacterianas anaeróbias foram incubadas anaerobicamente e as espécies anaeróbias facultativas foram incubadas aerobicamente. Após 1, 2 e 3 semanas de incubação, os dentes foram preparados para secção histológica. As bactérias anaeróbias usadas no estudo têm um crescimento lento comparado com o *Streptococcus*, os quais tem uma taxa de crescimento relativamente rápida.

Foram encontradas massas densas de *S. sanguis* e *S. faecalis* nos túbulos dentinários ao contrário dos *Bacteroides* e *Peptococcus*. A diferença de invasão

bacteriana observada pode em parte ser atribuída pela diferença da taxa de crescimento dos dois grupos.

Os autores concluíram que quanto maior o número de bactérias mais rápido o seu grau de multiplicação e mais profunda será sua penetração, e quanto maior o tempo de exposição da dentina às bactérias maior é o número de túbulos infectados e maior é a profundidade de penetração.

Segundo Pashley (1984) e Gwinnett (1984), grande parte dos restos do preparo cavitário é formado por partículas muito pequenas da matriz mineralizada do colágeno que juntamente com outros componentes formará o smear layer. Em uma revisão Pashley (1984) concorda que a presença do smear layer previne a invasão bacteriana nos túbulos dentinários, porém ele é permeável aos produtos bacterianos, os quais podem se difundir através do smear layer e penetrar nos túbulos dentinários até a proximidade da polpa, onde poderá causar reações inflamatórias. Assim, se o smear layer contém bactérias ou seus produtos irá permitir a permanência na câmara pulpar ou canal radicular de um reservatório de potentes irritantes. Além disso, mesmo que não exista nenhuma fenda entre a dentina e o material restaurador, os produtos bacterianos poderiam, teoricamente, se difundir através do smear layer até a polpa. Isto pode promover uma moderada resposta inflamatória podendo causar dor no dente afetado. O autor concluiu que o smear layer pode servir como um depósito de microorganismos e seus produtos, sendo que ambos causam injúrias a polpa.

Brannstron (1994) analisou as consequências patológicas do smear layer embaixo das restaurações. Em um estudo, 20 pré-molares humanos foram selecionados e após o preparo cavitário no grupo controle as cavidades foram limpas com spray de água enquanto que no outro grupo as cavidades foram limpas com detergente antiséptico. Os dentes foram então restaurados com um compósito. Em ambos os grupos a parte externa da restauração foi removida e substituída por óxido de zinco e eugenol, buscando prevenir um crescimento bacteriano entre o compósito e as paredes dentinárias. Os dentes foram extraídos após 3 a 6 semanas e foram feitas análises histológicas. As análises revelaram que 17 das cavidades que foram limpas com spray de água e que possuíam um smear layer remanescente, numerosas bactérias estavam presentes. Nas cavidades limpas com o antiséptico não foram encontradas bactérias. Esses resultados mostraram que as poucas bactérias presentes no smear layer podem sobreviver e se multiplicar. O autor

concluiu que o fato da bactéria conseguir se multiplicar nas paredes dentinárias mesmo se não existir apreciável comunicação com a cavidade oral, indica que certos microorganismos conseguem nutrição suficiente do smear layer e fluido dentinário. É verdade que um smear layer sem bactérias, pode ser produzido quando um dente intacto é cortado experimentalmente, porém, em procedimentos clínicos, especialmente em dentes cariados, no final do preparo devemos considerar o grande risco de bactérias sobreviverem no smear layer. O grau de inflamação pulpar parece depender da quantidade e do tipo de toxinas provenientes das bactérias vivas e mortas que alcançam a polpa através dos túbulos dentinários. Essas toxinas em combinação com reações pulpares intensas podem levar a necroses locais.

Haapasalo & Orstavik (1987) analisaram *in vitro* a infecção dos túbulos dentinários os quais permitiram testar a eficácia dos medicamentos intra-radulares. Os espécimes consistiam de cilindros de dentina de incisivos bovinos recém extraídos. O cemento e smear layer foram removidos. Os blocos cilíndricos foram esterelizados em autoclave. Após a esterelização os blocos foram infectados com um meio de cultura contendo *Enterococcus faecalis* e incubados por 3 semanas. Para avaliação da invasão bacteriana nos túbulos dentinários, foi usado microscópio eletrônico de varredura.

Os espécimes infectados por 3 semanas foram usados para testar dois medicamentos, o hidróxido de cálcio (Calasept) e o paramonoclorofenol canforado. Os medicamentos foram colocados centralmente nas amostras e estas foram incubadas em um intervalo de tempo que variou de 5 minutos a 10 dias.

As amostras de dentina foram obtidas usando-se pontas estéreis montadas em baixa rotação de vários tamanhos. As raspas de dentina obtidas com cada ponta montada, foram imediatamente coletadas e semeadas em tubos contendo meio de cultura. Esses tubos foram incubados a 37°C e examinados diariamente durante 7 dias.

Na análise de infecção dos túbulos dentinários, os autores chegaram ao seguinte resultado: Os espécimes incubados por um dia revelaram, quando analisados em microscopia eletrônica de varredura, uma penetração bacteriana de 300 a 400µm em profundidade em poucos canais. Após três semanas de incubação, uma densa infecção alcançou de 300 a 400µm e uma moderada infecção foi vista com uma penetração de 400 a 500µm. Na superfície externa das amostras ocorreu uma penetração bacteriana que variou de 150 a 200µm em profundidade.

Nos testes da eficácia de desinfecção dos túbulos dentinários, o paramonoclorofenol canforado promoveu uma desinfecção dos túbulos dentinários rápida e completa. O hidróxido de cálcio (Colasept), mostrou ser insuficiente para eliminar o *E. faecalis* nos túbulos.

Ando & Hoshino (1990) investigaram a presença e os tipos de bactérias que invadem as camadas mais profundas da dentina radicular a partir de amostras de dentes humanos que apresentavam canais contaminados, presença de cárie e sem evidência de doença periodontal severa. Logo após a extração o foramem apical e a cavidade coronária foram selados sob uma corrente de gás de nitrogênio contendo 5% de CO<sub>2</sub>. Em seguida os dentes foram transferidos para uma caixa de anaerobiose contendo 80% de nitrogênio, 10% de H<sub>2</sub> e 10% de CO<sub>2</sub> e fraturadas longitudinalmente. Amostras de dentina da superfície radicular infectada foram obtidas usando ponta montada em baixa rotação numa profundidade de 0,5 a 2mm da parede dentinária do canal radicular. Essas raspas de dentina foram semeadas em placas de Agar sangue e incubadas com 30% de CO<sub>2</sub> a 37°C. Os autores puderam observar a presença de microorganismos nas camadas mais profundas da dentina, com predominância de bactérias anaeróbias, a maioria gram-positiva (*Lactobacillus*, *Propionobacterium* e *Streptococcus*). Além disso, as bactérias presentes nas camadas mais profundas da dentina radicular infectada assemelham-se às camadas profundas da lesão cariosa da dentina coronária.

Meryon & Brook (1990) citam que áreas de irritação pulpar observada embaixo de materiais restauradores eram atribuídas a toxicidade química dos materiais, porém estudos mostram que a presença de microorganismos em cavidades restauradas ou não, podem levar a uma inflamação pulpar severa. Essa inflamação causada pelas bactérias pode ocorrer pela penetração direta das mesmas nos túbulos dentinários ou ainda de forma indireta, onde as toxinas produzidas pelas próprias bactérias irão dissolver o smear layer facilitando a penetração das mesmas ou ainda essas toxinas servirão para causar diretamente uma reação pulpar inflamatória. Com base nesses dados os autores resolveram estudar a habilidade de penetração, em segmentos de dentina, de três bactérias orais.

Nesse estudo foram utilizados terceiros molares humanos onde as coroas foram seccionadas transversalmente em espessuras de 100 e 500µm. Em algumas amostras o smear layer na parte coronária foi mantido intacto. Todas as amostras foram colocadas

em meio de cultura em contato direto com um cilindro contendo 0,075ml de cultura de bactérias. As bactérias utilizadas foram o *Corynebacterium spp* e dois anaeróbios facultativos, o *Actinomyces viscosus* e o *Streptococcus sanguis*. Todas as culturas foram checadas microscopicamente após 24, 48 e 72 horas. A presença ou ausência de bactérias foi registrada e quando presente, um teste de gram foi feito para identificação das bactérias e a penetração de cada microorganismo através das amostras de 100 e 500 $\mu$ m foram observadas.

Os autores concluíram que todos os microorganismos cresceram dentro das condições do estudo. A penetração bacteriana na grande maioria das amostras se deu dentro de 72 horas, com exceção de algumas placas contendo *Corynebacterium*. Não houve diferença de penetração bacteriana nas amostras com ou sem smear layer. A penetração nas amostras de 100 $\mu$ m foi mais rápida com o *S. sanguis* seguido pelo *A. viscosus* e *Corynebacterium*. O resultado foi similar porém ligeiramente mais demorado nas amostras de 500 $\mu$ m, mas na maioria dos casos a penetração bacteriana ocorreu em 72 horas.

Safavi et al. (1990) em seus estudos afirmam que os túbulos dentinários dos canais radiculares tem sido o abrigo de microorganismos levando possivelmente a infecções endodônticas persistentes. Além disso, o preparo endodôntico convencional reduz significativamente o número de microorganismos porém, alguns destes microorganismos crescem nos túbulos dentinários não permitindo sua remoção pelos métodos convencionais. Nessa pesquisa onde os canais radiculares foram inoculados com uma suspensão de *Streptococcus faecium* e incubados por 27 dias a 37°C, os autores puderam observar uma infecção nos túbulos dentinários de todas as amostras infectadas e a penetração dos microorganismos foi de 50 a 100 $\mu$ m de profundidade. Em algumas secções os autores puderam observar uma penetração de até 300 $\mu$ m de profundidade nos túbulos dentinários.

Orstavik & Haapasalo (1990) estudaram a velocidade e profundidade de penetração de bactérias nos túbulos dentinários radiculares. Além disso, analisaram o emprego de substâncias irrigadoras e agentes bactericidas na desinfecção de amostras de dentina contaminada.

Os espécimes consistiam de cilindros de dentina de incisivos bovinos, de acordo com modelo utilizado por Haapasalo & Orstavik (1987), inoculados com *Enterococcus*

*faecalis*, *Streptococcus sanguis*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. Os canais dos cilindros de dentina foram preparados através de tratamento ultra-sônico com EDTA e hipoclorito de sódio e em seguida, foram inoculados com suspensão bacteriana por um período de tempo superior a 14 dias (de 3 a 6 semanas). O grau de contaminação no interior dos túbulos dentinários foi examinado em microscopia eletrônica de varredura e também por meio de cultura bacteriana das raspas de dentina removidas seqüencialmente por brocas que variaram em profundidade de 0 a 1350 $\mu$ m, a partir da superfície dentinária da luz do canal radicular em direção a região do cimento. As raspas de dentina coletadas foram semeadas em meio de cultura e incubadas por 7 dias a 37°C.

Os autores observaram que o *Enterococcus faecalis* inoculado e incubado em dentina radicular durante 2 a 3 semanas penetrou de 300 a 400 $\mu$ m. O *S. sanguis* precisou de 14 dias para penetrar totalmente ao longo dos túbulos dentinários. A *E. coli* penetrou não mais que 600 $\mu$ m mesmo após 14 dias de incubação e a *P. aeruginosa* revelou completa infecção nos túbulos dentinários após 3 dias, porém a observação desses espécimes no microscópio eletrônico revelou pouquíssimos organismos.

Os autores ainda observaram que a maioria das bactérias nos túbulos dentinários não sobreviveram 24 horas após a remoção do seu meio de nutrição, porém condições in vivo, permitem o suprimento de nutrientes às bactérias no interior dos túbulos dentinários. Desta forma, os autores destacam a importância da utilização de agente antiséptico nos túbulos dentinários. Observaram também que o smear layer apenas dificulta, porém não impede a ação do agente bactericida.

Vahdaty et al. (1993) citaram nesse estudo que a infecção microbiana da polpa freqüentemente é devido a cárie dental e que o sucesso no tratamento do canal radicular irá depender da eliminação ou redução dos microorganismos. Os autores ainda relatam que a clorexidina é um agente bactericida de largo espectro capaz de romper as paredes celulares dos microorganismos causando extravasamento dos componentes intracelulares e morte celular.

Soluções de 0,2% e 2% de clorexidina, 0,2% e 2% de hipoclorito de sódio (NaCl) e solução salina normal foram escolhidas para avaliação da eficácia na desinfecção dos túbulos dentinários após irrigação de canais radiculares.

Raízes de incisivos bovinos recém extraídos foram preparados em amostras cilíndricas de 4mm de altura e 5mm de largura com uma abertura da luz do canal de

2,1mm de largura. A remoção do cimento e smear layer na superfície da dentina com EDTA e NaOCl foi feita para facilitar o crescimento dos microorganismos dentro dos túbulos dentinários. A coroa e 5mm do ápice foram removidos e a raiz remanescente foi cortada em camadas transversais. Após esses procedimentos as secções da raiz foram autoclavadas e os túbulos dentinários foram inoculados com 100µl de suspensão de *E. faecalis* e incubados por 1 semana. Os canais foram então irrigados com 20ml de solução irrigadora sendo cada irrigante usado em 6 espécimes. Após isso, removeu-se dentina das paredes do canal utilizando-se pontas estéreis montadas em baixa rotação aumentando o diâmetro, obtendo-se amostras de 100µm, 100 a 300µm e 300 a 500µm de profundidade. As amostras de rasps de dentina foram então colocadas em meio de cultura para determinação de presença e quantificação dos microorganismos remanescentes.

Os autores concluíram que a clorexidina e o NaOCl foram igualmente efetivos como agente microbiano, reduzindo significativamente o número de bactérias, particularmente nas camadas superficiais (100µm), dos túbulos dentinários. No grupo controle e no grupo irrigado com solução salina em todas as amostras foram encontradas bactérias em uma profundidade de 300µm dos túbulos dentinários. Os autores ainda citam que clinicamente os efeitos bactericidas dos agentes irrigantes são mais efetivos após a remoção do smear layer, pois facilitaria sua penetração em camadas mais profundas.

Os autores puderam concluir que a clorexidina reduziu o número de bactérias somente nos primeiros 100µm dos túbulos dentinários.

Peters et al. (1995) em uma revisão de literatura analisaram a importância e a consequência de bactérias remanescentes e seus produtos nos túbulos dentinários radiculares. Os autores puderam observar que mesmo um pequeno número de bactérias deixadas nos túbulos dentinários após preparo químico mecânico e obturação, podem levar a um crescimento e reinfecção do canal levando a falhas no tratamento endodôntico.

Berutti et al. (1997) citam que a infecção microbiana da polpa conduz subsequentemente a um tratamento endodôntico. Essa infecção é frequentemente consequência de cárie dental, injúria mecânica ou microinfiltração coronária. O sucesso de um tratamento endodôntico depende da eliminação ou redução destes microorganismos.

O objetivo desse estudo foi avaliar a penetração de diferentes irrigantes (EDTA e NaOCl), nos túbulos dentinários e seus efeitos bactericidas. Dezesesseis incisivos centrais

uniradiculares sem cárie foram selecionados para o estudo. Em todos os dentes foi feita cirurgia de acesso convencional e extirpação da polpa. Os espécimes foram imersos em NaOCl a 5% por 10 minutos e após a secagem com cone de papel estéril os dentes foram esterelizados em gás de óxido de etileno. Os canais radiculares foram inoculados com aproximadamente 0,1ml de um meio de cultura túrbido, contendo *Streptococcus faecalis*. Os 16 dentes foram divididos em dois grupos: Grupo A e Grupo B. Os canais nos dois grupos foram instrumentados e irrigados com aproximadamente 33ml (em cada canal), de um irrigante específico. O tempo total que o irrigante permaneceu dentro do canal foi de 11 minutos por espécime.

No grupo A, o irrigante usado durante a instrumentação foi o NaOCl a 5%. Após o preparo foi feita uma lavagem com 3ml de solução fisiológica para neutralizar o efeito do irrigante. No grupo B a irrigação consistiu em 1ml de EDTA a 10% seguido por 1ml de um agente tensoativo (Triton X-100) e por NaOCl a 5%. Após o preparo e irrigação, os canais foram lavados com solução fisiológica e os dentes foram mantidos em formalina a 10% por uma semana. Os dentes foram embebidos em parafina e seccionados longitudinalmente em uma espessura de 7  $\mu$ m. Após 20 dias de incubação um exame histológico revelou que o *S. faecalis*, promoveu uma densa e profunda infecção tubular. O grau e a profundidade da penetração da bactéria foi menor no terço apical dos espécimes, onde os túbulos dentinários são mais estreitos. No grupo A uma análise histológica mostrou uma área de infecção que se estendeu a 300 $\mu$ m de profundidade nos túbulos dentinários e no grupo B mostrou uma área livre de infecção tubular até uma profundidade de 130 $\mu$ m.

Os autores puderam concluir que a efetividade bactericida dos irrigantes depende de sua habilidade de penetração nos túbulos dentinários infectados e este processo é influenciado pela presença ou ausência de smear layer. Tem sido mostrado que o smear layer reduz a permeabilidade da dentina entre 25% a 49%, impedindo muitas vezes a penetração de agentes bactericidas e podendo ainda conter microorganismos na sua composição. Assim no grupo B onde o uso do EDTA promoveu uma remoção do smear layer, os irrigantes foram capazes de penetrar e promover uma desinfecção mais efetiva.

## 2.2 O LASER DE Er: YAG

Um dos primeiro estudos envolvendo o laser com tecidos dentais duros foi realizado por Goldman et al. (1965). Este estudo teve como objetivo a avaliação dos efeitos do laser sobre a estrutura dental. Foram selecionados para o estudo dentes humanos extraídos. O laser utilizado foi o laser de rubi com comprimento de onda de 6,943 angstrom e os dentes foram irradiados em modo focado e desfocado. Após a irradiação, os dentes foram analisados visualmente, fotografados e seccionados em espessuras de 75 $\mu$ m. As secções foram observadas com o auxilio de microscopia óptica, luz polarizada e micro-radiografia. Os resultados mostraram que após o impacto de um pulso do feixe laser em modo focado, a face vestibular de um incisivo mostrou-se queimada e seca na área de ataque com uma pequena depressão.

A análise micro-radiográfica mostrou não haver alterações teciduais em esmalte e dentina abaixo da depressão formada pelo pulso do laser. No mesmo dente, um impacto semelhante de densidade de energia de 4000J/cm<sup>2</sup> na região vestibular da superfície radicular, abaixo da margem cervical, onde ainda apresentava cimento e a presença de cálculo. Após a irradiação, a área parecia queimada e pigmentada, bem como o cimento foi removido e o cálculo destruído. A habilidade de remover tecido cariado também foi estudada, aplicando-se uma densidade de energia de 4000J/cm<sup>2</sup> nas margens da lesão cariada. Avaliações microscópicas mostraram que o feixe laser não foi capaz de penetrar profundamente na lesão. A irradiação do laser em uma região com lesão cariada pigmentada foi realizada em um molar utilizando-se dois pulsos e densidade de energia de 13.400 J/cm<sup>2</sup> cada pulso. O exame visual mostrou profunda penetração. No microscópio, as secções revelaram-se amplas, com profunda destruição do esmalte e a lesão cariada foi removida quase totalmente. Os autores relatam ainda, a utilização do laser em um paciente voluntário, no qual um segundo molar superior recebeu irradiação do laser de rubi com uma densidade de energia de 51J/cm<sup>2</sup>. O molar foi extraído 1 hora após o tratamento. Os resultados mostraram que o paciente não relatou sensibilidade ou sensação de aquecimento, porém foi percebido um odor de queimado. Não foram observados danos evidentes nos lábios ou na gengiva ao redor do molar. Os autores

concluíram que nestes estudos preliminares o laser penetrou em tecido hígido sendo as alterações superficiais. Os estudos microscópicos demonstraram uma remoção profunda e seletiva de áreas com lesão cariada pigmentada. Não foi possível determinar a eficiência do laser em regiões com tecido cariado. O uso clínico em paciente demonstrou que houve sensação dolorosa, porém a densidade de energia não foi alta. O exame do dente extraído confirmou alterações superficiais para exposição com baixa densidade de energia.

Gordon (1967) avaliou as cavidades formadas na superfície dentária de 15 dentes humanos extraídos quando foi irradiado um feixe de laser de rubi com 6.943 angstrom. A duração do pulso do laser foi de 0,5 e 0,7 milisegundos, e a energia entregue inicial foi de 50 J. Com o refinamento do foco do aparelho foi possível reduzir a saída de energia para 20 J por pulso. Os resultados mostraram que não foi possível observar angulações definidas nos preparos cavitários como as realizadas com o uso de ponta montada em alta rotação. Quando em esmalte, a cavidade formada assumiu formato de cone, porém quando alcançou a junção amelo-dentinária, esta morfologia não foi encontrada. Em cavidades de classe V, o fundo da cavidade apresentou-se irregular formando uma estrutura dentária fusionada e inclusões semelhantes a bolhas.

O autor concluiu que o laser poderia ser utilizado para preparos cavitários, porém havia a necessidade de maior refinamento do equipamento para uso clínico, bem como estudos sobre o efeito no tecido pulpar.

Segundo Arcoria & Cozean (1994) as imensas mudanças tecnológicas nos últimos anos possibilitaram uma segurança e efetividade em relação ao uso do laser em tecidos duros. As características de absorção dos tecidos dentais (dentina, esmalte, polpa e cimento), têm um importante papel em como a radiação laser irá agir no tecido alvo.

Nesses tecidos a irradiação pode ser absorvida, refletida, refratada ou transmitida. O efeito terapêutico do laser está relacionado com o comprimento de onda, potência, largura de pulso e características de absorção dos tecidos irradiados. Quando um feixe é irradiado na superfície do tecido, parte da luz penetra no tecido e parte pode ser refletida difusamente. A quantidade de luz que penetra irá depender, primeiramente, das propriedades ópticas do tecido. A energia irradiante é convertida em calor e é distribuída através do tecido. Essa conversão é baseada na combinação das propriedades óptica e térmica de cada tecido.

Miserandino & Cozean (1998) citam que a eficiência de ablação do laser de Er: YAG em esmalte e dentina tem revelado que os lasers localizados no infravermelho médio do espectro eletromagnético são capazes de remover relativamente rápido os tecidos dentais duros sem induzir a indesejáveis efeitos como derretimento carbonização e rachaduras no esmalte e dentina.

Os resultados favoráveis obtidos com o laser de Er:YAG podem ser atribuídos a forte absorção da radiação  $2,94\mu\text{m}$  pela água e hidroxiapatita e pela curta duração do pulso do laser, prevenindo que a energia térmica se propague nos tecidos dentais adjacentes.

Ainda segundo os autores, teoricamente a remoção de tecido dental duro pelo laser de Er: YAG pode ser atribuído a um processo de ablação fotomecânica ou fotoacústica na qual as cavidades dentais preparadas são criadas pela rápida vaporização da água contida dentro do esmalte e dentina.

De acordo com a teoria, a rápida ebulição e expansão da água no tecido, gera uma mudança volumétrica ou onda de choque suficiente para criar microexplosões ou áreas microscópicas de pressão na superfície do esmalte e dentina.

Keller & Hïbst (1989a) estudaram o efeito da aplicação do laser de Er: YAG e  $\text{CO}_2$  sobre os tecidos duros. Foram usados 30 dentes humanos extraídos os quais foram cortados em secções de 2mm de espessura e fixados em formaldeído a 4%. As cavidades foram feitas com o laser de  $\text{CO}_2$  (Sharplan 1060), cujo comprimento de onda é  $10,6\mu\text{m}$  a uma distância focal de 125mm. A energia irradiada foi de 1 J aplicada em combinação de potência/tempo de 20W/50ms e 2W/500ms. Foram também feitas cavidades com o laser de Er:YAG cujo comprimento de onda é  $2,94\mu\text{m}$ . A energia irradiada foi de 200mJ por pulso. As superfícies tratadas foram observadas utilizando-se microscopia óptica e eletrônica de varredura para avaliação das alterações provocadas pela irradiação de esmalte e dentina.

Os resultados mostraram que sob microscopia óptica o uso do laser de  $\text{CO}_2$  2W/500ms promoveu a formação de uma cavidade maior do que quando se utilizou 20W/50ms. Além disso, foram observadas áreas de fusão em esmalte. Na dentina observou-se a presença de carbonização e fissuras com distribuição concêntrica ou radial. Por sua vez, o laser de Er: YAG, não promoveu áreas de fusão e nem foram observadas áreas fraturadas ou com fissuras. As margens das cavidades não apresentaram aspecto

vítreo como as encontradas nas superfícies irradiadas com o laser de CO<sub>2</sub>. Na microscopia eletrônica de varredura houve uma confirmação dos achados da microscopia óptica com relação a aplicação do laser de CO<sub>2</sub>, permitindo a identificação em esmalte e em dentina de zonas de fusão, fissuras radiais ou concêntricas, áreas vítreas, carbonização e rachaduras. Esses fenômenos não foram observados com o uso do laser de Er: YAG, sendo detectadas somente áreas lascadas, porém sem sinais de danos térmicos às estruturas dentais. O arranjo dos cristais de hidroxiapatita do esmalte e dentina não foram modificados. Os autores ainda relatam que a causa de alterações aos tecidos circundantes pode ter sido pelo processo de ablação causado por micro-explosões levando a ejeção do substrato em forma de partículas microscópicas.

Os autores concluíram que a maior parte de energia incidente é absorvida no processo de ablação, sendo que apenas uma pequena fração de energia resulta em aquecimento do tecido remanescente.

Hibst & Keller (1989b) estudaram o efeito do laser de Er: YAG em esmalte e dentina. Dentes extraídos foram cortados em secções de 2mm de espessura e fixados em solução de formaldeído a 4%. Cinco espécimes apresentavam tecido cariado e 25 hígidos. No experimento utilizou-se o laser de Er:YAG (Quantronix 294), pulsado e duração do pulso de 250 $\mu$ s. A intensidade da luz no ponto de foco foi medida, indicando uma energia radiante de 30 a 360mJ por pulso e frequência de aplicação de 1Hz. As amostras foram examinadas com auxílio da microscopia óptica. O diâmetro das perfurações produzidas foi medido por um micrômetro ocular conectado ao microscópio (Zeiss). Para comparação foram realizadas cavidades com o mesmo tamanho, porém utilizando um laser de CO<sub>2</sub> aplicado por meio de uma termocâmara com lentes de aproximação.

Os resultados mostraram que as cavidades tornaram-se mais largas com o aumento da energia radiante, porém não foram afetadas pelo número de pulsos aplicados. Para a mesma energia radiante utilizada, as cavidades em esmalte foram menores que em dentina, apresentando formato cônico e com profundidade diretamente proporcional ao número de pulsos aplicados, sendo que a ablação do tecido dentinário ocorreu mais facilmente do que em esmalte. A profundidade aumentou quando os tecidos duros dentários apresentavam-se cariados. Quando a temperatura foi medida com o auxílio da termocâmara, observou-se que o efeito térmico do laser de Er: YAG foi muito pequeno comparado ao laser de CO<sub>2</sub>. Todavia, com a aplicação do laser de CO<sub>2</sub>, utilizando-se um

parâmetro de 20W/50ms, houve um considerável aquecimento da estrutura dentária que necessitou de 1,5 segundos para que atingisse 100°C. Após 20 segundos, a temperatura estava em 50°C e demorou cerca de 30 segundos para igualar-se a temperatura ambiente. Com o laser de Er: YAG a aplicação de um único pulso com 400mJ de energia, produziu um pequeno e localizado aumento de temperatura, sendo que após 0,1 segundos a cavidade estava com 50°C e a temperatura ambiente foi alcançada dentro de 2 segundos. A eficiência de ablação foi menor para tecidos moles comparada aos tecidos duros.

Os autores concluíram que o laser de Er: YAG é efetivamente absorvido pelos tecidos dentais duros. Esmalte e dentina são removidos pelo processo de vaporização, sendo que este fenômeno aumenta a pressão interna dos tecidos e microexplosões ocorrem levando consigo partes da estrutura dentária. A temperatura medida no estudo indicou que a transmissão de calor através dos tecidos dentários foi pequena.

Miserendino & Cozean (1998) estudaram as mudanças histológicas observadas na dentina e tecido pulpar quando expostos ao laser de Er:YAG ( $\lambda=2,94\mu\text{m}$ ) em procedimentos clínicos de remoção de tecido cariado, preparo cavitário e condicionamento de esmalte e dentina com o laser, antes do condicionamento ácido. Os autores citam que os resultados favoráveis obtidos com o laser de Er:YAG pulsado em tecidos dentais duros, podem ser atribuídos em duas fundamentais propriedades: Em primeiro, a forte absorção da radiação de  $2,94\mu\text{m}$  pela água e hidroxiapatita dos tecidos dentais e em segundo, a curta duração do pulso do laser pode prevenir que a energia térmica se propague nos tecidos adjacentes.

Os dentes envolvidos no estudo foram divididos em dois grandes grupos:

- I- O grupo laser onde se usou o laser de Er: YAG (Centauri).
- II- O grupo controle onde os procedimentos foram executados usando-se uma ponta montada em alta rotação padronizada para remoção de cárie e preparo cavitário e ácido fosfórico para condicionamento do esmalte.

O protocolo para utilização do laser em cada procedimento é mostrado na tabela 1:

TABELA 1 - Protocolo para utilização do laser de Er:YAG

Tratamento	Energia entregue	Taxa de pulso
Remoção de cárie	50mJ	5 - 10Hz
Preparo cavitário	80mJ - 120mJ	5 - 10Hz
Condicionamento do esmalte	120mJ	10Hz

Foram selecionados 73 espécimes de ambos os grupos (grupo laser e grupo controle), para análise da evolução histológica da dentina e tecido pulpar. A extração dos dentes foi executada imediatamente ou 30 dias após o tratamento.

Os resultados mostraram que não houve diferença significativa entre o grupo laser e o grupo controle em nenhum dos procedimentos. O exame qualitativo dos espécimes revelou algumas diferenças que podem ou não ser manifestações clínicas. No grupo laser as mudanças no tecido pulpar foram associadas a uma hiperemia de baixa intensidade e uma inflamação focalizada. Nenhuma alteração tecidual associada com hemorragia ou necrose foi observada. No grupo controle a hiperemia ocorreu com uma intensidade mais alta do que no grupo laser, porém a análise estatística revelou que não existiu diferença significativa nas respostas histológica entre os dois grupos. A análise qualitativa para os grupos no qual a extração foi realizada imediatamente após o tratamento e o grupo na qual os dentes foram extraídos após 30 dias, revelaram que imediatamente após o tratamento com o laser aproximadamente 50% dos espécimes mostraram alguma alteração vascular. Porém após 1 mês de tratamento, a maioria das alterações histológicas observadas imediatamente após o procedimento com o laser foram resolvidas ou retornaram a aparência normal com exceção de 25% dos dentes onde ainda havia se observado algum tipo de alteração vascular.

Os autores puderam concluir que os efeitos ocorridos imediatamente após o tratamento em ambos os métodos foram somente temporários e que o tecido pulpar tende a retornar a seu estado normal num período de um mês.

Kayano et al. (1991) utilizaram o laser de Er: YAG para irradiação em tecido duro dental. Foram verificadas as alterações morfológicas, possível aumento de resistência ao ácido e efeitos da irradiação laser no modo contato e não contato sobre o esmalte, dentina e cimento. O estudo mostrou que o laser de Er: YAG pode promover ablação de esmalte

e dentina sem causar trincas no modo contato e não contato. As bordas da cavidade se tornaram mais ácido resistentes.

Hibst & Keller (1992a) avaliaram os efeitos térmicos durante a irradiação de tecidos dentais duros com o laser de Er: YAG. Segundo os autores, no estado de subablação onde a energia utilizada é em média 37mJ, o decréscimo da temperatura ocorre mais rapidamente em esmalte em comparação com a dentina de acordo com a maior difusividade térmica do esmalte. Porém, quando o limiar de ablação é excedido (225mJ-437mJ), o efeito térmico é mais pronunciado no esmalte. Quando ocorre a subablação, a energia do laser é convertida em calor, ao passo que ultrapassando o limiar de ablação a energia térmica na dentina aumenta levemente com o aumento da energia radiante. Quando se trabalha com pulsos repetidos o efeito térmico irá aumentar de acordo com o intervalo entre dois pulsos. Medições feitas com um termopar revelaram que a taxa de repetição é o parâmetro determinante no calor acumulado.

A influência da água na superfície dental durante a irradiação com o laser de Er: YAG, em relação ao aumento de temperatura e a eficiência de ablação, foi estudada por Hibst & Keller (1992b). Os autores observaram que a camada de água era evaporada pelo pulso do laser e a maior parte da energia era consumida no processo de ablação. Também verificaram que a água reduziu o efeito térmico, tanto para pulsos simples como para múltiplos.

Li et al. (1992) utilizaram a microscopia de varredura para determinar o grau de ablação provocado pelo laser de Er: YAG em dentes humanos. Foram feitas secções de dentes humanos extraídos com espessuras que variaram de 0,5 a 0,75mm. Após a ablação do esmalte e dentina, as cavidades formadas foram observadas no microscópio eletrônico de varredura e medidos com um micrômetro ocular. A eficiência de ablação do laser de Er: YAG em esmalte e dentina foi definida pela profundidade de ablação por pulso.

A profundidade de ablação por pulso na dentina com uma taxa de repetição de 2Hz foi de 36 a 78 $\mu$ m por pulso usando uma fluência de 10 a 140J/cm<sup>2</sup>. A profundidade de ablação por pulso no esmalte a uma taxa de repetição de 2Hz foi de 37 a 75 $\mu$ m por pulso usando uma fluência igual a usada na dentina. Quando se utilizou uma taxa de repetição de 5Hz em dentina a profundidade de ablação foi de 67 a 80 $\mu$ m por pulso usando-se uma fluência de 50 a 115J/cm<sup>2</sup>. No esmalte a profundidade de ablação foi de 50 a 74 $\mu$ m por pulso utilizando-se a mesma fluência e frequência daquela usada na

dentina. A área adjacente a cavidade no esmalte, se mostrou clara e sem carbonização para todas as fluências inferiores a  $80\text{J}/\text{cm}^2$ . Na dentina foram observados efeitos térmicos mínimos quando se utilizou fluências abaixo de  $74\text{J}/\text{cm}^2$ . O aspecto micro-retentivo, observado em microscopia eletrônica de varredura, indicou ser benéfico em procedimentos adesivos.

Wigdor et al. (1993) propuseram um método para determinar a forma e tamanho exato de uma cavidade formada pelo laser de Er: YAG e ainda, a relação do tamanho, profundidade e volume da cavidade com a fluência, diâmetro do foco e número de pulsos do laser de Er: YAG.

Molares foram colocados em hipoclorito de sódio a 10% para remoção de proteínas e material necrótico residual presentes em dentes recém extraídos. Os dentes foram então estocados em solução salina estéril a 10% até serem usados experimentalmente. Utilizou-se no estudo o laser de Er: YAG (Schwartz Electro-Optics), com um diâmetro de foco de 650 microns.

Foram feitas 5 cavitações em padrão linear em cada dente, em intervalos de 2mm com o propósito de manter a profundidade de cada cavidade entre 500-800 microns. A largura de pulso foi de  $250\mu\text{s}$ . O número de pulsos e a fluência foram determinadas para se chegar a uma profundidade da cavidade desejada. Antes da moldagem das cavidades obtidas com o laser, estas foram limpas com solução salina a 10% para a remoção de detritos após o uso do laser. Depois de todos esses procedimentos, um material de moldagem foi injetado nas cavidades e após a polimerização, o material de moldagem foi removido e colocado em um chassi de filme 35mm vazio sendo então projetado em uma tela milimetrada na parede. As alturas das impressões foram medidas e correspondiam a profundidade das cavidades criadas pelo laser. Somente as impressões que apresentaram um preenchimento total das cavidades foram usadas para o estudo. Os resultados obtidos estão na tabela 2.

TABELA 2 - Profundidades das cavidades formadas com o laser de Er:YAG

Energia (mJ)	Fluência ( $J \cdot cm^{-2}$ )	Número de pulsos	Profundidade por pulso ( $\mu m$ pulso)
626	189	5	115
443	133	5	68,4
324	98	5	67,8
245	74	3	48,3
187	56	2	22

Os autores puderam concluir que há uma redução da profundidade do tecido irradiado quando a energia é reduzida. Afirmam ainda que, nesse método, onde se utilizou material de moldagem, foi possível determinar o volume exato removido por pulso pelo laser.

Wigdor et al. (1993) investigou o efeito de três lasers no tecido dental duro e na polpa dental. Foram usados no estudo 4 dentes humanos anteriores recém extraídos. Em cada dente foi feita uma cavidade de 3mm de diâmetro e 2mm de profundidade. Cada dente foi então tratado utilizando-se os seguintes parâmetros:

I - Ponta carbide montada em baixa rotação

II - Laser de  $CO_2$                       4W - 5Hz

III - Laser de Nd:YAG                    12,5W

IV - Laser de Er: YAG                    500mJ - 3Hz

O tempo necessário para cada laser criar o defeito variou de 15 a 30 segundos.

Os dentes foram então fraturados na região dos preparos para facilitar o exame em microscopia eletrônica de varredura. Para um exame *in vivo* em microscópio óptico da dentina e polpa dental foram usados incisivos, caninos e pré-molares de cães. No grupo controle removeu-se pequena quantidade de esmalte com alta rotação da face vestibular, até a junção amelo-dentinária. O grupo que sofreu o tratamento, seguiu os mesmos parâmetros do grupo anterior no qual dentes humanos *in vitro* foram utilizados. Após 4 dias os cães foram sacrificados e os dentes foram imediatamente removidos e fixados em formalina a 10%. Após isso, os dentes foram descalcificados por 2 semanas, seccionados e corados com hematoxilina e eosina para análise em microscópio óptico. Os autores

concluíram que o laser de Er: YAG causou o menor dano aos tecidos dentais comparado aos outros lasers, sendo o mais efetivo e eficiente na remoção de esmalte e dentina. A microscopia eletrônica de varredura mostrou que o laser de Er: YAG causou alterações na dentina similares aquelas causadas com ponta carbide montada em baixa rotação.

A análise histológica *in vivo* da polpa mostrou que com o laser de Er: YAG não ocorreram alterações anormais quando comparado ao tecido pulpar de cães que não receberam tratamento. Ocorreu um espessamento da camada de dentina após 4 dias da irradiação, sugerindo que possivelmente o laser de Er: YAG estimulou a formação de dentina reparativa. Os efeitos dos lasers de CO<sub>2</sub> e Nd: YAG em tecidos duros sugeriram que estes têm um grande potencial de causar injúria a polpa e aos tecidos circunvizinhos devido aos seus efeitos térmicos, apresentando camadas de carbonização ao redor da superfície dentinária. O laser de Er: YAG por ser altamente absorvido pela água e hidroxiapatita tem ocasionado menor efeito térmico aos dentes.

Morioka (1994) estudou a possibilidade de perfuração, em tecidos dentais duros, com o laser de Er: YAG comparando este com outros lasers. Foram usados no estudo dentes incisivos humanos com o esmalte hígido. Os dentes foram limpos e estocados em água destilada a 4°C após fixação com solução de formalina a 10%.

Foi utilizado o laser de Er:YAG (NEC SL-137A), cujo comprimento de onda é 2,94µm. O feixe foi focado perpendicularmente a face vestibular do dente. A energia irradiada variou entre 0,5 e 9J com uma taxa de repetição de 10 pulsos por segundo. Após a irradiação, a superfície do dente foi observada em um estereomicroscópio no qual possibilitou uma visão tridimensional da área. Subseqüentemente à observação, o dente foi cortado longitudinalmente seccionando a área irradiada e uma nova análise em estereomicroscópio foi feita. Os outros lasers utilizados para se obter um grupo comparativo foram os lasers de CO<sub>2</sub>, Argônio, Nd: YAG pulsado e Nd: YAG contínuo.

Os resultados mostraram que com o uso do laser de Er: YAG as cavidades variaram de diâmetro dependendo da energia utilizada. A superfície ao redor da cavidade apresentou-se esbranquiçada e a perfuração apresentou uma forma cônica. Os autores puderam concluir que o laser de Er: YAG pode causar uma perfuração localizada em tecido dental duro com uma energia relativamente baixa o que não ocorre com os outros lasers estudados. Os lasers de Nd: YAG e Argônio não perfuraram a superfície do

esmalte mesmo utilizando corante preto para maior absorção do feixe laser. O laser de CO<sub>2</sub> promoveu uma perfuração no esmalte quando foi utilizada uma energia de 18 J, porém a cavidade obtida se apresentou excessivamente profunda alcançando a polpa dental. Quando se utilizou uma energia inferior a 18 J, nenhuma mudança ocorreu tornando difícil o controle da energia de irradiação para fazer uma cavidade com profundidade adequada.

Os autores puderam concluir que o laser de Er: YAG se mostrou eficiente no que se refere a perfuração dos tecidos dentais duros comparado aos lasers de CO<sub>2</sub>, Ar e Nd: YAG.

Dostálova et al.(1997b) estudaram a técnica de preparo cavitário com o laser de Er: YAG analisando o formato da cavidade e velocidade de preparo. O sistema de entrega do feixe do laser de Er: YAG utilizado era braço articulado, irrigação a água e potência fornecida com controle automático. O ressonador permitia gerar uma energia de 700mJ e a largura de pulso era de 200µs.

Este estudo contou com 45 pacientes os quais possuíam 112 cáries. Durante o preparo a energia do laser, a taxa de repetição e o número de pulsos foram controlados. Após 1 semana do preparo cavitário os dentes foram avaliados quanto a dor e inflamação pulpar. Após 6 meses foi feita avaliação de vitalidade de cada dente e qualidade da restauração.

Para o preparo do esmalte a energia utilizada foi de 345mJ a uma taxa de repetição de 2Hz. Na dentina a energia utilizada foi de 200mJ a uma taxa de repetição de 1 a 2Hz dependendo da profundidade da cavidade. Foram tratadas cáries de esmalte e dentina.

Os autores puderam observar que após 1 semana do tratamento os dentes apresentavam vitalidade pulpar e não foi observado dor ou inflamação pulpar. O mesmo ocorreu no exame após 6 meses do tratamento nos 112 dentes analisados.

Os autores concluíram que o laser de Er: YAG pode ser efetivo não somente na remoção de cárie, mas também em esmalte e dentina sadio. O tempo de preparo é mais ou menos 7 vezes mais longo comparado aos métodos convencionais, porém o tratamento com o laser diminui o som e vibração, razões pelas quais podem causar desconforto, stress e dor ao paciente. As energias utilizadas no estudo foram consideradas ideais sendo que energias até 100mJ são indicadas para condicionamento do dente. Nesse estudo ficou

evidente que as energias podem ser mudadas durante o preparo dependendo da natureza do tecido dental. Os pacientes não sentiram dor e nenhum desconforto com o tempo de preparo.

Arcoria & Cozean (1994) estudaram a variação de temperatura de vários lasers com diferentes comprimentos de onda utilizando um tratamento padronizado. Foram utilizados no estudo 255 molares permanentes recém extraídos. Os dentes foram armazenados em solução de água desionizada, álcool isopropílico e glicerina (50:40:10), a qual foi usada para determinar a temperatura de flutuação após ablação com os lasers de diferentes comprimentos de onda. Em cada dente foram feitos 2 túneis da superfície mesial até uma posição interna próxima a polpa. Termopares foram colocados dentro dos túneis. A ponta terminal do primeiro termopar ficou posicionada na junção amelo-dentinária e o segundo na face mesial do corno pulpar. Cada termopar possuía um sistema modular acoplado para transformar e interpretar as temperaturas obtidas. Foram utilizados nesse estudo os lasers de CO<sub>2</sub>, Nd: YAG, Ho: YAG e Er: YAG. No grupo controle foi utilizado ponta montada em alta rotação. A ablação na estrutura dental ocorreu na porção oclusal dos dentes, mais precisamente na fossa mesial para que o feixe coincidissem com a localização do termopar.

Os autores observaram uma elevação de temperatura próxima a localização da polpa. Os resultados obtidos em ordem crescente foram:

1- Ponta montada com água e ar, 2- 50mJ Er: YAG, 3- 120mJ Er: YAG 4- ponta montada com ar, 5- 80mJ Er: YAG, 6- 100mJ Er: YAG, 7- 150mJ Er: YAG, 8- 200mJ Er: YAG, 9- 50mJ Ho: YAG, 10- 100mJ Ho: YAG, 11- 1W CO<sub>2</sub>, 12- 150mJ Ho: YAG, 13- 3W CO<sub>2</sub>, 14- 1mJ Nd: YAG, 15- 3mJ Nd: YAG, 16- 5mJ Nd: YAG, 17- 200mJ Ho: YAG, 18- 10mJ Nd: YAG, 19- 15mJ Nd: YAG, 20- 50W CO<sub>2</sub>, 21- 300mJ Ho: YAG, 22- 10W CO<sub>2</sub>, 23- 15W CO<sub>2</sub>, 24- 20W CO<sub>2</sub>.

Os autores puderam concluir que as variações dos níveis de energia do laser de Er: YAG foram equivalentes ao uso de ponta montada em alta rotação.

Gimble et al. (1994) estudaram a eficácia do laser de Er: YAG especificamente em tratamento de fôssulas, remoção de cárie, condicionamento e preparo cavitário. O grupo laser foi comparado ao grupo controle o qual foram feitos os mesmos procedimentos, porém, de maneira convencional. Um total de 352 espécimes foram incluídos neste estudo, sendo 165 espécimes do grupo laser 187 do grupo controle. A

energia entregue para cada procedimento variou entre 15mJ para selamento de fôssulas e fissuras, até 250mJ em preparo cavitário, as frequências utilizadas em todos os procedimentos variaram entre 5 a 10Hz. O tempo e a energia entregue em cada procedimento foram respectivamente 59 segundos e 47mJ no selamento de fôssulas e fissuras, 71 segundos e 159mJ em remoção de cárie e preparo cavitário e 43 segundos e 118mJ em condicionamento.

Em todos os procedimentos foi utilizado o laser de Er: YAG (Premier Laser Systems, Inc-Centauri). Para o estudo um terço dos dentes envolvidos foram extraídos após 48 horas do tratamento e o restante 1 mês após o tratamento. A avaliação dos resultados consistiu em análise visual (fissuras, superfície condicionada e adaptação das resinas), exame radiográfico, microscopia eletrônica de varredura, histologia pulpar e teste de resistência a tração. Amostras aleatórias de dentes com área suficientemente grande para acomodar um *bracket* foram submetidas a teste de tração. Foi observado que nas amostras onde o condicionamento foi feito apenas com o laser, a média de resistência de força de adesão foi de 12MPa enquanto que o laser combinado com ataque ácido a média de força adesiva foi de 31MPa.

Análise histológica da polpa incluindo hiperemia, hemorragia, necrose e inflamação foram feitas obtendo-se em média 6 secções de cada dente. O resultado mostrou que não ocorreu nenhum dano significativo a polpa em nenhum espécime tanto no grupo controle quanto no grupo laser.

Os pacientes tiveram uma resposta positiva com a utilização do laser, citando especificamente, a ausência do barulho e vibração da ponta montada bem como um alívio da dor. O laser foi altamente seletivo e efetivo na remoção de tecido cariado resultando em grande preservação da estrutura dental. As fotografias em microscopia eletrônica de varredura demonstraram uma superfície rugosa com os túbulos dentinários abertos.

Dostálová et al.(1998) avaliaram após dois anos de tratamento com o laser de Er: YAG, a vitalidade dos dentes envolvidos e a qualidade das restaurações. O laser foi utilizado com refrigeração a água, controle automático de potência, energia ajustável até 500mJ e largura de pulso de 200 $\mu$ s. A taxa de repetição utilizada foi de 1 a 4Hz e a energia entregue variou entre 100 a 400mJ. Os procedimentos de preparo cavitário e restauração foram feitos em 150 dentes cariados. Os dentes foram examinados após 1 semana, 6; 12; 18 e 24 meses. Para o preparo do esmalte a energia utilizada foi de 400mJ

com uma taxa de repetição de 2 a 4Hz. Para a dentina a energia entregue foi de 200mJ a uma taxa de repetição de 1 a 2Hz dependendo da profundidade da cavidade. Após 1 semana os dentes examinados não apresentaram nenhum tipo de inflamação e dor. Após 6; 12; 18 e 24 meses os dentes se apresentavam vitalizados e sem inflamação.

Keller & Hibst (1995) em uma revisão de literatura citam que a utilização do laser de Er: YAG em tecidos dentais sadios bem como em lesões cariosas, resulta em ablação efetiva sem que ocorram injúrias térmicas aos tecidos circunvizinhos. Além disso, após ser ultrapassado o limiar de ablação, a perda de massa cresce linearmente com o aumento da energia incidente e esta perda de massa é maior para a dentina do que para o esmalte.

Em um estudo em que o laser de Er: YAG foi irradiado no esmalte ou dentina superficial, nenhuma reação pulpar ocorreu. Quando uma zona de dentina ou pré-dentina perto da polpa é alcançada pelo feixe laser, uma redução do fluxo sanguíneo pulpar é observada imediatamente porém, essa redução é reversível dentro de poucos minutos. Mesmo se a câmara pulpar é exposta pelo feixe laser o mesmo efeito pode ser observado. Conclui-se que nenhum dano térmico a polpa ocorre quando se utiliza o laser de Er: YAG cuidadosamente e dentro dos parâmetros seguros.

Em outro estudo onde se utilizou dentes de cães, análises histológicas foram feitas para determinar se a polpa pode ser mantida viva por um longo período após preparo com o laser de Er:YAG. As cavidades foram preparadas com ou sem exposição da câmara pulpar. As energias irradiadas variaram entre 150mJ a 500mJ a uma taxa de repetição de 1 a 4Hz. Os preparos foram feitos com e sem refrigeração a água. Avaliação histológica foi executada duas, quatro, seis e oito semanas após o tratamento. Nenhuma reação pulpar ocorreu em todos os parâmetros empregados para preparo cavitário em esmalte e dentina distante da polpa. Quando o preparo ocorreu perto da polpa, um aumento vascular foi observado após duas semanas do tratamento. Quando a câmara pulpar foi exposta, a parte coronal do tecido pulpar perto da lesão se apresentou necrótico, mas odontoblastos na borda do defeito do laser ainda estavam vivos. Quatro semanas após o tratamento com o laser, os defeitos perto da polpa apresentaram uma nova zona de dentina, adjacente a região pulpar. Quando a câmara pulpar foi aberta após quatro semanas, uma ponte de dentina foi produzida pela polpa viva. Após 6 semanas uma nova dentina nos defeitos perto da polpa aumentaram em espessura.

Dostálová et al. (1997a) estudaram o real efeito do laser em dentes humanos in vivo. Foi usado no estudo o laser de Er:YAG com braço articulado, refrigeração à água e largura de pulso de 200 $\mu$ s. Foram usados no estudo quatro pré-molares humanos não cariados. Foi realizado um preparo cavitário na superfície vestibular de cada dente com o laser. Sendo as dimensões dos preparos de 3 x 5mm e a profundidade de 3mm. Os parâmetros utilizados foram de 150 pulsos, 345mJ de energia a uma taxa de repetição de 2Hz. Após a irradiação com o laser os dentes foram extraídos por indicação ortodôntica. Os dentes foram descalcificados durante 6 semanas e fixados em parafina. Foram cortadas secções longitudinais de 5 $\mu$ m e estas foram coradas em hematoxilina e eosina obtendo-se um total de 172 secções nas quais foram analisadas em microscópio óptico e avaliação histológica.

Os resultados revelaram uma redução nas camadas de dentina após o uso do laser. Somente uma fina camada de dentina foi deixada perto da polpa. Nenhuma trinca ou injúria estrutural foi observada. A superfície do preparo cavitário se apresentou similar aos tecidos circunvizinhos. Nenhuma indicação de inflamação pulpar foi observada. A vascularização estava normal bem como a forma dos odontoblastos. Os autores puderam concluir que o laser de Er:YAG é seguro quando promove a ablação de esmalte e dentina dentro das condições descritas.

Pelagalli et al. (1997) investigaram a eficiência do laser de Er:YAG na remoção de cárie e preparo cavitário em esmalte e dentina, comparando os resultados com aqueles obtidos em um grupo controle o qual foi utilizado ponta montada em alta rotação.

Na primeira fase aproximadamente um terço dos dentes foram extraídos imediatamente após o tratamento, um terço foi extraído 2 dias após o tratamento e o restante foi extraído de 1 mês a 1 ano após o tratamento com o laser. Todos os dentes extraídos foram submetidos a avaliação histológica para determinar os efeitos do laser no tecido dental. Todos os dentes no grupo controle foram analisados de forma similar. Foi utilizado no estudo o laser de Er:YAG (Centauri-Premier Laser System). A média de dosimetria usada no grupo laser foi de 80mJ a uma taxa de repetição de 5 a 10Hz na remoção de cárie e 120mJ e 5 a 10Hz em preparo cavitário. No grupo controle foi utilizado ponta montada em alta rotação para remoção da cárie e preparo cavitário sendo que este foi posteriormente analisado em microscopia eletrônica de varredura. Nenhuma trinca ou carbonização na superfície irradiada com o laser de Er:YAG foi encontrada. As

paredes laterais e axiais do preparo possuíam uma textura lisa em combinação com uma leve aparência despolida.

No estudo histológico foram analisadas as alterações no tecido pulpar, vascular (hiperemia, hemorragia, inflamação e necrose), nos odontoblastos e dentina (carbonização, reabsorção). As alterações vasculares como hiperemia ou hemorragias locais, inflamação suave a moderada ou áreas localizadas de necrose por períodos de 2 a 3 semanas podem representar manifestações normais de reparação. Somente 1 dos 45 dentes que foram irradiados com o laser, apresentou uma significativa inflamação, ocorrendo igualmente com 1 dente no grupo controle.

Os autores puderam concluir que clinicamente o laser e a broca foram equivalentes não demonstrando nenhuma diferença na efetividade do preparo cavitário e remoção de cárie. Os autores ainda notaram que em dentes onde radiograficamente o preparo cavitário tinha alcançado a polpa, não ocorreu nenhum dano significativo na análise histológica assim, o laser pode apresentar uma grande vantagem: Grande redução bacteriana e selar a polpa quando esta é exposta sem causar danos permanentes a câmara pulpar.

Cozean et al. (1997) avaliaram a eficiência e segurança do laser de Er:YAG na remoção de cárie, preparo cavitário em esmalte e dentina comparado a alta rotação. A pesquisa foi dividida em duas fases, sendo que na primeira o estudo contou com 60 pacientes cujos dentes tratados tinham indicação de extração e na segunda os dentes não foram removidos. Em ambas as fases os pacientes foram divididos aleatoriamente entre o grupo tratado com laser e o grupo controle que recebeu tratamento com alta rotação. Aproximadamente um terço dos dentes foram extraídos imediatamente após o procedimento, o outro terço em 48 horas e o restante em 1 mês. Em todos os grupos os dentes foram submetidos a exame histológico para avaliar os efeitos nos tecidos dentários dos dois métodos empregados.

Na segunda fase os dentes foram tratados como na primeira, porém não foram extraídos. A segunda fase foi dividida em duas (Fase II A e Fase II B), onde os pesquisadores aumentaram o número de pacientes para confirmar os resultados de vitalidade pulpar. Por um período de 18 meses foram efetuados testes de vitalidade pulpar pré e pós-operatório em ambos os grupos e foram utilizadas radiografias para determinar a presença de cárie, falta de material restaurador ou indícios de necrose pulpar. As

restaurações das cavidades preparadas tanto no grupo controle como no grupo laser foram executadas com amálgama ou resina composta. A polimerização dos compósitos foi feita com o laser de Argônio. O laser de Er:YAG (Premier Laser Systems Inc.) foi utilizado com os seguintes parâmetros:

- a) Condicionamento: 25mJ, 5 a 10Hz.
- b) Remoção de tecido cariado: 50mJ, 5 a 10Hz.
- c) Remoção de dentina: 80mJ, 5 a 10Hz.
- d) Remoção de esmalte: 120mJ, 5 a 10Hz.

Para se realizar o exame histológico os dentes foram fixados em formalina a 10%, desidratados em etanol, embutidos em parafina e cortados em secções de 6µm de espessura. Os resultados histológicos mostraram que não houve diferença significativa na histologia pulpar entre os dentes irradiados e os dentes do grupo controle. Os autores concluíram que o uso do laser de Er:YAG foi seguro e efetivo para remoção de tecido cariado, preparo cavitário e condicionamento do esmalte.

Glockner et al. (1998) estudaram as alterações de temperatura no interior da câmara pulpar durante a irradiação com o laser de Er:YAG. Neste experimento foram utilizados 20 incisivos e caninos humanos, recém extraídos. Todos os dentes foram cobertos por metal Mellotti o qual apresenta qualidades de condução térmica favorável. A polpa foi removida apicalmente e a cavidade pulpar foi lavada com solução de NaCl a 0,9%.

A temperatura foi medida com auxílio de um termoelemento do tipo K (Ni-Cr), no qual foi acoplado a um termômetro ligado a um computador. Este dispositivo foi inserido pelo ápice da raiz até o interior da câmara pulpar. A temperatura externa foi controlada e mantida a 31°C com umidade relativa de 85%. Dez dentes foram preparados com o laser de Er:YAG (Twinlight Laser, Fotona), à uma distância focal de 10 a 15mm, 500mJ de energia por pulso, frequência de 10Hz, duração do pulso de 200µs e com refrigeração a água. No grupo controle, 10 dentes foram preparados com ponta diamantada montada em alta rotação, utilizando-se também refrigeração à água.

Os resultados mostraram que com o laser não houve mudança na temperatura inicial de 37°C por 3 a 4 segundos. Após esse tempo houve um decréscimo gradual na temperatura a qual nivelou-se entre 30°C - 25°C. Um aumento na temperatura ocorreu apenas quando a cavidade pulpar foi trepanada e o feixe laser atingiu o medidor

diretamente. Não houve aumento da temperatura intrapulpar, quando o feixe laser não entrou em contato com os sensores de temperatura. Por sua vez, com o alta rotação houve uma discreta queda inicial da temperatura, porém um aumento contínuo da temperatura foi observado até atingir 70°C ou mais. Antes que o teto da câmara pulpar fosse trepanado, foi necessário interromper os preparos para evitar danos térmicos aos sensores de temperatura. Os autores concluíram que preparos realizados com o laser de Er:YAG poderiam causar menos stress térmico a polpa.

Aoki et al.(1998) estudaram a efetividade do laser de Er:YAG na remoção de cárie comparando os resultados aos métodos convencionais.

Foram usados no estudo 31 dentes humanos extraídos com cárie radicular na superfície proximal. Todas as lesões cariosas foram divididas em duas partes de tamanhos aproximadamente iguais através de uma linha feita com um corante preto. Guiado por esta linha central uma das metades da lesão cariiosa foi tratada com o laser de Er:YAG e a outra com ponta carbide montada em baixa rotação. A irradiação com o laser foi feita utilizando-se refrigeração a água, energia de 180mJ/pulso e frequência de 10Hz. A energia foi entregue de modo contato através de uma fibra óptica de quartzo. Nessa fibra há uma perda de aproximadamente 20% da energia, portanto a energia na ponta da fibra a qual foi entregue ao tecido irradiado foi de 145mJ. Após o tratamento com o laser, a outra metade da lesão remanescente foi tratada com ponta em baixa rotação montada em micro-motor.

Os autores puderam observar que a dentina cariada foi efetivamente e eficientemente removida pelo laser de Er:YAG nos parâmetros utilizados. Na análise histológica não foram observados danos térmicos como rachadura ou carbonização nas paredes irradiadas. Além disso, a coloração de bactérias indicou que a camada de dentina infectada a qual continha bactérias gram-positivas e gram-negativas foi quase completamente removida no tratamento com o laser assim como no tratamento com a ponta montada. A observação em microscopia eletrônica de varredura mostrou que em contraste com a relativa aparência lisa e coberta com smear layer das superfícies onde foi utilizada a ponta montada, a superfície dentinária irradiada apresentou-se com microirregularidades, sem smear layer e com os túbulos dentinários abertos.

Takeda et al. (1998) estudaram as mudanças morfológicas das paredes do canal radicular com o laser de Er:YAG e sua efetividade em remover detritos e smear layer.

Foi utilizado no estudo 36 incisivos humanos unirradiculares os quais suas coroas foram cortadas na junção amelo-cementária. Os canais radiculares foram limpos, instrumentados com lima tipo K-file e irrigados com 3ml de hipoclorito de sódio a 5,25%, peróxido de hidrogênio a 3% e finalmente com 3ml de água destilada. Os canais foram então secos com cones de papel estéreis e as raízes foram divididas longitudinalmente em duas partes iguais. Os dentes foram divididos aleatoriamente em 3 grupos com 12 dentes cada.

No grupo 1, o qual serviu como controle, os dentes não foram irradiados. No grupo 2 os dentes foram irradiados com o laser de Er:YAG (Kavo Key Laser, Germany) utilizando-se uma energia de 100mJ e frequência de 10Hz. A distância entre a fibra e o canal radicular foi de 2cm com uma orientação perpendicular, sendo que o laser irradiou o ápice por 3 segundos e o terço médio por 3 segundos. Durante a irradiação os dentes foram mantidos em constante refrigeração a água. No grupo 3 os dentes foram irradiados da mesma maneira que no grupo 2, aumentando apenas o tempo de irradiação para 5 segundos. Todos os espécimes de cada grupo foram fotografados por microscópio eletrônico de varredura onde foi observada as mudanças morfológicas após o tratamento em cada grupo.

Os autores puderam observar que o canal radicular no grupo 1, apresentou detritos compostos por remanescente pulpar e dentinário e uma forte presença de smear layer, obstruindo os túbulos dentinários. No grupo 2 a irradiação por 3 segundos foi efetiva em remover os detritos e smear layer expondo os orifícios dos túbulos dentinários. No grupo 3 as paredes do canal radicular irradiado por 5 segundos, apresentaram-se livres de detritos e smear layer e os túbulos dentinários estavam limpos e abertos.

Os autores puderam concluir que 3 segundos foi o tempo mínimo para se obter resultados efetivos na limpeza das paredes dos canais radiculares.

Tanji (1998) utilizou o laser de Er:YAG em cavidades classe I e descreveu com o auxílio da microscopia eletrônica de varredura as alterações morfológicas do esmalte e dentina.

Foram utilizados 29 terceiros molares extraídos. 20 espécimes foram divididos em 4 grupos com 5 dentes em cada. Cada grupo recebeu diferentes parâmetros:

Grupo I: Energia por pulso de 400mJ, taxa de repetição de 2Hz e densidade de energia de 128,38J/cm<sup>2</sup>.

Grupo II: Energia por pulso de 450mJ, taxa de repetição de 2Hz e densidade de energia de 144,43J/cm<sup>2</sup>.

Grupo III: Energia por pulso de 500mJ, taxa de repetição de 2Hz e densidade de energia de 160,48J/cm<sup>2</sup>.

Grupo IV: Ponta diamantada cilíndrica KGS número 1091 montada em alta rotação.

O formato das cavidades dos espécimes foram demarcados com 3mm de largura no sentido vestibulo-lingual e 4mm de profundidade aproximadamente. Após serem submetidas ao tratamento, as coroas foram seccionadas no sentido vestibulo-lingual, sendo fósforo e oxigênio através de fluorescência de raios X, a quantidade de cálcio na dentina diminuiu após a irradiação com 400mJ e a quantidade de fósforo na dentina aumentou após a irradiação com 450mJ de energia do laser de Er:YAG. O autor ainda observou que a dentina apresentou túbulos dentinários abertos nas 3 densidades de energia utilizadas.

A avaliação das mudanças morfológicas nas superfícies de esmalte e dentina após a irradiação com o laser de Er:YAG com ou sem água, foi determinada por Hossain et al (1999).

Foram utilizados no estudo 40 incisivos humanos para avaliação em esmalte e 40 molares para avaliação em dentina. As superfícies do esmalte foram preparadas cortando as junções amelo-cementárias dos dentes e as superfícies de dentina foram preparadas seccionando-se horizontalmente o terço médio das coroas dentais. O laser utilizado no estudo foi o Er:YAG (Key Laser 1242, Kavo, Germany), emitindo um comprimento de onda de 2,94µm com diâmetro do feixe de 0,63mm.

Antes da irradiação, as amostras foram divididas em 4 grupos:

Grupo 1: Irradiação da superfície do esmalte com refrigeração a água.

Grupo 2: Irradiação da superfície do esmalte sem refrigeração a água.

Grupo 3: Irradiação da superfície da dentina com refrigeração a água.

Grupo 4: Irradiação da superfície da dentina sem refrigeração a água.

Um feixe de laser focalizado foi usado para irradiar cada amostra em quatro pontos com energia/pulso de 100, 200, 300 ou 400mJ a uma frequência de 2Hz por 5 segundos. Metade das amostras foram usadas para o estudo sobre as taxas de ablação e a outra metade foi utilizada para avaliação morfológica. Quando foram observadas as taxas

de ablação, os autores concluíram que a relação entre profundidade de ablação e energia por pulso é quase linear em esmalte e dentina, com uma eficiência de ablação maior em dentina do que em esmalte, além disso, com a ausência de água, a profundidade de ablação foi levemente maior quando comparado àquelas com refrigeração a água.

Observações no estereoscópio revelaram que no grupo 1 e grupo 3 nenhuma área de fusão ou carbonização foi encontrada. No grupo 2 quando se utilizou energia/pulso de 100 e 200mJ não se encontrou nem carbonização nem fusão nas cavidades, porém, a 300mJ ou 400mJ, uma leve carbonização foi observada nas margens das cavidades. No grupo 4, utilizando-se baixas energias (100mJ), não foi observada carbonização ou fusão, entretanto em altas energias, carbonização com coloração marrom foi observada nas margens e paredes das cavidades. As amostras observadas em microscopia eletrônica de varredura revelaram que com o aumento gradual da energia o smear layer foi removido e os túbulos dentinários se apresentaram abertos e visíveis.

### **2.3 Redução bacteriana com a irradiação da luz laser**

Investigações na área de redução bacteriana com a utilização da luz laser nas paredes dentinárias têm-se desenvolvido em velocidade crescente.

Eduardo et al. (1993) já pensando em uma ação bactericida através da irradiação laser nas paredes dentinárias de canais radiculares, apresentaram o sucesso de um caso clínico de retratamento endodôntico com lesão apical. Os autores usaram o laser de Nd:YAG com a finalidade de redução bacteriana. Verificaram no controle clínico e radiográfico, após 2 meses, uma redução da lesão periapical, que ficou mais evidente após 6 meses.

Belikov et al. (1995) estudaram a possibilidade de sobrevivência da bactéria *Bacillus subtilis* nos produtos de destruição dos tecidos dentais removidos pela irradiação do laser de Er:YAG e em uma segunda análise a influência dos parâmetros utilizados, observando a vitalidade das bactérias (*Streptococcus e Staphylococcus*), presentes nos produtos de destruição e nas paredes das cavidades irradiadas com o laser.

As propriedades físicas das bactérias são mostradas na tabela 3:

TABELA 3 - Propriedades físicas das bactérias

Tipo de bactéria	Comprimento µm	Largura µm	Massa gramas	Volume ml	Água %
Streptococcus	2	2	$2 \times 10^{-12}$	$2 \times 10^{-12}$	50
Staphylococcus	1	1	$0,5 \times 10^{-12}$	$0,5 \times 10^{-12}$	40
Bacillus Subtilis	2	1	$10^{-12}$	$10^{-12}$	60

É evidente que praticamente quase todas as bactérias possuem água na sua composição e isto é um fator muito importante na interação da bactéria com o laser de Er:YAG.

Na primeira fase, a superfície de um dente intacto recém extraído, foi inoculada com o *Bacillus subtilis*. Uma fina camada da superfície dental na qual havia a presença da bactéria, foi marcada e irradiada pelo laser de Er:YAG com uma densidade de energia fixa. Os produtos finais da irradiação do laser se fixaram em um chumaço de algodão colocado a uma distância de 10-40mm da superfície irradiada como mostra a figura 1.

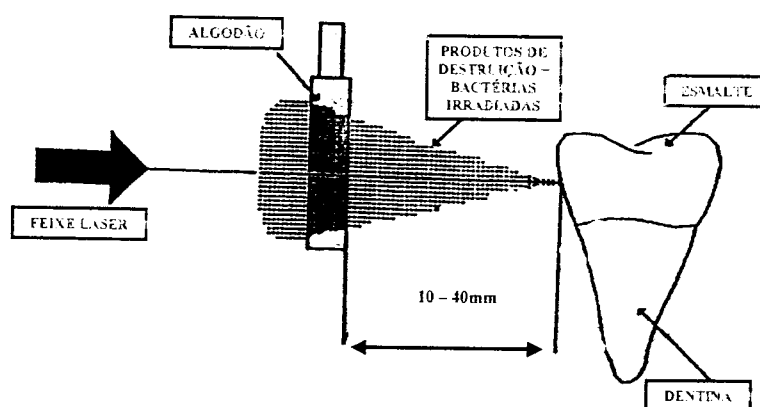


Figura 1 - Esquema para coleta de tecidos dentais após a irradiação com o Er:YAG

Após a irradiação e coleta dos produtos, o algodão foi colocado em meio de cultura para quantificação das bactérias após 24 e 48 horas.

Na segunda fase, foi analisada a vitalidade do *Streptococcus* e *Staphylococcus* em algumas cavidades de cárie utilizando os parâmetros mostrados na tabela 4:

TABELA 4 - Parâmetros utilizados com o laser para redução bacteriana

Laser	Comprimento de onda - $\mu\text{m}$	Duração do pulso - $\mu\text{s}$	Energia mJ	Taxa de repetição- Hz
Er:YAG	2,94	150	300	1Hz
YSGG:Cr,Er	2,79	400	300	1Hz

Os autores puderam concluir que uma alta atividade das bactérias nos produtos finais de destruição pelo laser no esmalte e dentina, podem ser encontradas após a irradiação de apenas um pulso. Os resultados mostraram uma grande resistência do *Staphylococcus* ao laser de Erbium. Esse fenômeno pode ser explicado pelo menor volume de água na composição dessa bactéria comparado ao *Streptococcus* e *Bacillus subtilis*.

Okamoto et al. (1992) investigaram o efeito bactericida do laser de He-Ne em microrganismos cariogênicos juntamente com a influência da ação de corantes como fotossensibilizadores. O efeito bactericida foi determinado pela formação de zonas inibitórias de crescimento ou pela contagem de colônias bacterianas viáveis. Os microrganismos utilizados no estudo foram o *Streptococcus sobrinus*, freqüentemente isolados em lesões cáries humanas, e a *Escherichia coli*. Foi utilizado na pesquisa o laser de He-Ne (Soft Laser 632, Worldwide Lasers, Switzerland), cujo comprimento de onda é 632,8nm. A potência utilizada foi de 6mW, a distância da fibra óptica até a superfície da placa de Agar foi de 0,5cm e o diâmetro da fibra 0,126cm<sup>2</sup>. O tempo de irradiação foi de 2,5 e 10 minutos, sendo a densidade de energia entregue de 5,7; 14,3 e 28,6J/cm<sup>2</sup> respectivamente. Após a irradiação e incubação das placas de Agar a 37°C durante 48 horas, os autores observaram que o *Streptococcus sobrinus*, que é um

microorganismo gram-positivo, foi sensível a irradiação do laser de HeNe, porém a *Escherichia coli* (Gram-negativo), foi resistente a irradiação. Foram examinados também o efeito de corantes necessários para estimular uma ação bactericida. Uma zona inibitória de crescimento bacteriano foi observada quando se usou 10 tipos de corantes verdes, azuis ou roxos.

Os autores concluíram que as bactérias cariogênicas foram mortas pela irradiação do laser de He-Ne somente na presença de corantes específicos.

Rooney et al. (1994) avaliaram o efeito bactericida do laser de Nd:YAG (ADL dLASE 300), intra canal, in vitro, em um modelo de laboratório, na presença de corante (Suomi ink), com o objetivo de estabelecer uma potência média e uma energia mínima necessária para eliminação de bactérias. Como modelo de laboratório foram utilizados pequenos tubos capilares de vidro de 1,13mm de diâmetro e 20mm de comprimento, contendo uma quantidade determinada de bactérias em suspensão, na ordem de  $10^5$ . O microorganismo utilizado foi o *Enterococcus faecalis*, gram-positivo, anaeróbio facultativo, não esporulado, comumente isolado de culturas mistas de canais radiculares contaminados.

Os modelos foram inoculados com 12 $\mu$ l de suspensão de *Enterococcus faecalis*. Uma das extremidades do tubo estava selada e na outra foi introduzida a fibra do laser de 320 $\mu$ m de diâmetro, irradiando o conduto, sem extravasamento da suspensão. Os modelos foram divididos em dois grupos e a fibra foi ativada no interior destes com movimentos de uma extremidade a outra e vice-versa. Foram empregados diferentes parâmetros de potência média e energia.

Grupo A - 22 espécimes contendo apenas a suspensão de bactérias foram irradiados com o laser usando uma potência média de 0,3 a 3 watts durante 20 a 60 segundos. A energia total entregue foi de 9 a 75J. Quatro espécimes não foram tratados com o laser.

Grupo B - 1 $\mu$ /ml de tinta de Suomi foi adicionada a suspensão de bactérias. Quinze espécimes foram irradiados com o laser e 3 não foram. Utilizou-se 0,3 a 3watts de potência média, em um tempo de 10 a 30 segundos sendo a energia total entregue de 6 a 37,5J.

Para a avaliação do efeito bactericida, 5 $\mu$ l da suspensão do interior do canal foi removido após a irradiação com o laser e uma série de 10 diluições foram feitas. Duas

alíquotas de 10µl de cada uma das diluições foram semeadas em placas de Agar sangue e incubadas a 37°C durante 18 horas. A contagem de u.f.c. foi feita a partir das culturas de Agar que produziram crescimento de colônias espaçadas.

Os resultados mostraram que no grupo A, somente laser, houve apenas um pequeno efeito bactericida quando se utilizaram energias totais inferiores a 30J. O aumento das energias utilizadas levou a um aumento significativo da redução bacteriana. Em dois espécimes irradiados com 60J e 75J, não ocorreu crescimento bacteriano na cultura de Agar.

A energia total entregue é o produto da potência média utilizada e o tempo de irradiação do laser  $E(J)=Pm(W) \times t(s)$ . A potência média abaixo de 1,0W durante 30 segundos, não apresentou nenhum, ou apenas um pequeno efeito bactericida.

No grupo B, onde foi acrescentado a tinta Suomi a suspensão, o log"Kill" variou de 1 a 4,1 com baixas doses de energia total (6J a 37,5J). Utilizando os mesmos parâmetros de energia, o efeito bactericida no grupo B foi maior do que no grupo A (sem o corante).

Ando et al. (1996) investigaram o efeito bactericida do laser de Er:YAG em bactérias periodontais utilizando baixas energias. O laser utilizado foi o Er:YAG (Hoya Corporation, Japan) emitindo comprimento de onda de 2,94µm, energia máxima de 1J, taxa de repetição máxima de 10Hz e duração de pulso de 200µs. O diâmetro do feixe laser era de 6,0mm. Os microorganismos utilizados no estudo foram o *P. gingivalis* e o *A actinomycetemcomitans* os quais foram semeados em meio de cultura específico e incubados a 37°C.

O experimento foi dividido em 2 fases. Na primeira fase os microorganismos foram irradiados diretamente pelo laser de Er:YAG. Após 5 dias de incubação em Agar, uma colônia de *P. gingivalis* com aproximadamente 0,5mm de diâmetro foi diluída em 10ml de um meio de cultura e a suspensão bacteriana foi preparada subculturando a diluição por 3 dias. A suspensão foi então espalhada em uma nova placa de Agar na qual foi exposta imediatamente a um único pulso do laser utilizando densidades de energia de 0,04; 0,07; 0,1; 0,3; 0,4; 0,7; 1,4 e 2,6J/cm<sup>2</sup>/pulso. Após a irradiação e incubação por 5 dias, as placas de Agar foram visualmente analisadas para determinar zonas inibitórias de crescimento bacteriano. O mesmo procedimento foi feito nos meios onde se cultivou o *A actinomycetemcomitans*.

Na segunda fase examinou-se o efeito bactericida do laser de Er:YAG em colônias de *P.gingivalis*. Após 5 dias de incubação da bactéria em meio de cultura anaeróbio, 15 colônias com diâmetro de 0,8mm foram selecionadas. Doze colônias de *P.gingivalis* foram expostas a um pulso único do laser cujo diâmetro do feixe era de 2,00mm. As densidades de energia utilizadas foram de 1,8, 3,5, 7,1 e 10,6J/cm<sup>2</sup>/pulso, sendo que 3 colônias foram usadas para cada energia e 3 colônias não irradiadas foram usadas como controle. Cada colônia irradiada e não irradiada sofreu uma série de diluições e foram semeadas em uma nova placa de Agar. Após 5 dias de incubação as unidades formadoras de colônia (u.f.c.) foram determinadas contando-se o número de colônias que cresceram nas placas.

Na primeira fase os autores observaram zonas inibitórias de crescimento de ambas as bactérias nos lugares da placa de Agar em que foi irradiado com um pulso do laser utilizando-se densidades de energia maiores iguais a 0,3J/cm<sup>2</sup>. Além disso, nenhuma diferença foi detectada no crescimento bacteriano nas áreas previamente irradiadas com densidades de energia de 1,4 e 2,6J/cm<sup>2</sup> e nas áreas controle (não irradiadas), indicando que o meio de Agar irradiado não afeta no crescimento bacteriano.

Na segunda fase quando a colônia de *P.gingivalis* foi exposta a um único pulso do laser com densidades de energia de 1,8 e 3,5J/cm<sup>2</sup>, somente a superfície das colônias foram ablacionadas e a cor das colônias mudou para branco. A ablação total das colônias ocorreu claramente quando se utilizou densidades de energia entre 7,1 e 10,6J/cm<sup>2</sup>, ocorrendo uma significativa redução de colônias de *P.gingivalis*.

Gutknecht et al. (1996a) avaliaram in vitro o efeito bactericida do laser de Nd:YAG intracanal. Neste estudo foram utilizados dentes humanos extraídos onde 20 canais de dentes anteriores e 20 de dentes posteriores foram armazenados em solução de cloreto de sódio a 0,9%. Após o preparo dos canais e esterilização em autoclave, os espécimes foram divididos em 2 grupos (grupo controle e grupo laser).

Todos os canais foram inoculados com 10µl de suspensão de *Enterococcus faecalis*. Essa suspensão foi produzida a partir de colônias incubadas em placa de Agar sangue a 37°C durante 24 horas. O número exato das bactérias contidas nesta suspensão original foi obtida a partir de uma série de diluições, nas quais 100µl de cada diluição inoculada em cultura de Agar sangue, foram incubadas para a contagem de colônias (u.f.c.).

Após a inoculação da suspensão dos microorganismos no interior dos canais, o grupo laser foi irradiado com o laser de Nd:YAG, emitindo  $1,064\mu\text{m}$  de comprimento de onda no modo pulsado, com duração de pulso de  $100\mu\text{s}$  através de fibra óptica de quartzo flexível de  $200\mu\text{m}$  de diâmetro para os canais anteriores e  $300\mu\text{m}$  para os canais posteriores. Os parâmetros utilizados foram de  $100\text{mJ}$  de energia por pulso, frequência de  $15\text{Hz}$  e  $1,5\text{W}$  de potência média. A fibra óptica introduzida no canal no comprimento real de trabalho, irradiou a luz laser com movimento helicoidal por toda a parede dentinária, de apical para cervical, durante 10 segundos, por 4 vezes. Todos os canais, tanto do grupo controle quanto do grupo laser, foram irrigados com  $1\text{ml}$  de solução de NaCl a  $0,9\%$  e coletados em tubo de ensaio sendo que cada  $100\mu\text{l}$  de cada diluição realizada foi inoculada em meio de cultura de Agar sangue e incubada para contagem de colônias(u.f.c.). A concentração de bactérias na suspensão retirada do interior de cada canal foi calculada correlacionando o número de colônias às diluições correspondentes. Os resultados foram transformados em logaritmo ( $\log\text{"Kill"} = \log(a/b)$ ), onde  $a =$  suspensão original e  $b =$  suspensão retirada do interior do canal. O valor médio do  $\log\text{"Kill"}$  no grupo laser (suspensão a), foi de  $0,15$  e o valor médio do  $\log\text{"Kill"}$  no grupo controle (suspensão b), foi de  $3,22$ . Estes resultados equivalem a uma redução bacteriana média de  $99,91\%$  com a utilização do laser. Os autores ainda estabelecem que os parâmetros utilizados com o laser neste trabalho, podem ser considerados como ideais na prática endodôntica *in vivo*.

Gutknecht et al. (1996b) em pesquisa clínica com acompanhamento de 3 anos, avaliaram 517 dentes correspondendo 863 canais tratados endodônticamente com o emprego do laser de Nd:YAG intracanal como coadjuvante na desinfecção do canal radicular.

Todos os canais apresentavam radiograficamente granulomas periapicais de  $5\text{mm}$  de diâmetro ou mais. A fibra óptica introduzida dentro do canal radicular irradiou com movimentos circulares as paredes dentinárias, de apical para cervical, durante 10 segundos por 4 vezes empregando parâmetros de  $1,5\text{W}$  de potência média e  $15\text{Hz}$  de taxa de repetição. Em  $80\%$  dos casos não houve a necessidade da administração de anestésico durante a irradiação do laser. Nos casos mais complicados, de retratamento ou com lesões periapicais mais extensas, este procedimento foi realizado 2 a 3 vezes semanais. O sucesso no tratamento foi considerado a partir da redução da imagem radiolúcida ao

exame radiográfico após 3 a 12 meses, livres de sinais e sintomas. De acordo com esse critério, os autores obtiveram sucesso em 86% dos casos clínicos.

Moritz et al. (1997a) analisaram, através de exame microbiológico, a redução bacteriana com o laser de Nd:YAG, dos canais radiculares infectados *in vivo*. Trinta pacientes que possuíam dentes unirradiculares infectados, foram selecionados. Dez pacientes fizeram parte do grupo controle e o restante recebeu a irradiação do laser. Para determinar um valor padrão, primeiramente foram coletadas amostras microbiológicas de todos os dentes antes do início do tratamento. Após este procedimento foi utilizado o laser de Nd:YAG (Pulsmaster 300), emitindo comprimento de onda de 1,064 $\mu$ m, com largura de pulso de 100 $\mu$ s, potência média de 1,5W, frequência de 15Hz. Foi empregada uma fibra óptica de quartzo com diâmetro de 300 $\mu$ m. Os canais foram irradiados por períodos de 10 segundos com intervalos de 20 segundos em movimentos helicoidais de apical para cervical, irradiando-se assim, todas as paredes internas do canal radicular.

Para avaliação da redução bacteriana, exames microbiológicos foram realizados antes da primeira irradiação. Após a primeira irradiação, os autores observaram uma redução bacteriana em todos os dentes, sendo que em 19 canais radiculares foram encontrados um mínimo de crescimento de *Streptococcus* e em 10 canais um crescimento mínimo de *Estaphylococcus*.

Moritz et al. (1997b) estudando a ação bactericida, analisaram os resultados de exames microbiológicos, espectrometria infravermelha e penetração de corante em pesquisa *in vitro*, após a irradiação do laser de diodo no interior de canais contaminados.

O sistema utilizado foi um protótipo do laser de diodo pulsado (Dentek), emitindo comprimento de onda de 810nm, com largura temporal de 2 a 32 milissegundos, com potência média variando entre 0,5 a 15 Watts e frequências de 1,5 a 250Hz. Esse sistema pode também ser utilizado no modo de emissão contínuo. A luz guia é gerada pelo laser de Hélio-Neônio (533nm e 1mW de potência média).

Nesse estudo, condutos radiculares de 44 dentes extraídos foram mecanicamente preparados, autoclavados a 134°C e inoculados com *Escherichia coli* e *Streptococcus faecalis*. A concentração inicial das suspensões originais foi de 1 x 10<sup>9</sup>/ml. Cada canal foi inoculado com 10 $\mu$ l desta suspensão e selado com cimento provisório (Cavit), fixo em uma base de resina. Em seguida os dentes foram incubados por 48 horas a 37°C.

No final do terceiro dia, o cimento foi removido, os condutos irrigados com soro fisiológico e irradiados com o laser. A fibra óptica introduzida no canal, na altura do ápice, foi ativada e removida lentamente de apical para cervical em movimento helicoidal contínuo, irradiando toda a parede dentinária do conduto. Este procedimento foi repetido por 5 vezes, por 5 segundos cada, com breves intervalos de tempo entre cada procedimento, totalizando um período de 25 segundos.

Seis grupos de 5 dentes cada foram irradiados com diferentes parâmetros de potência média:

2W / 0,01 e 0,02 segundos

3W / 0,01 e 0,02 segundos

4W / 0,01 e 0,02 segundos

Após o tratamento com o laser, os espécimes foram incubados em meio de cultura por 28 dias e as amostras microbiológicas examinadas. Dos 44 dentes, 5 ainda apresentavam crescimento bacteriano após o tratamento com o laser quando foi utilizado os parâmetros de 2 e 3W. A irradiação com 4W e frequência de 10Hz resultou na eliminação completa dos microorganismos, com aumento máximo de temperatura de 6°C na superfície radicular externa. O exame em microscopia eletrônica de varredura revelou uma superfície dentinária com vedamento dos túbulos dentinários, com aspecto de fusão e recristalização.

Coffelt et al. (1997) investigaram um valor mínimo de densidade de energia capaz de promover ablação bacteriana causando um mínimo de dano às superfícies radiculares de dentes humanos.

Colônias de *Escherichia coli* semeadas e cultivadas em placas de Agar foram tratadas com o laser de CO<sub>2</sub> (Luxar Corporation, WA), com comprimento de onda de 10,6µm. As densidades de energia utilizadas foram 3; 6; 8; 11; 14; 83 e 110J/cm<sup>2</sup>. Após a aplicação do laser, cada uma das colônias bacterianas foram examinadas em microscópio eletrônico de varredura.

Em uma segunda parte do estudo, raízes de dentes extraídos foram levemente raspadas e posteriormente tratadas com o laser de CO<sub>2</sub> usando diferentes densidades de energia (3; 6; 8; 11; 14; 19; 41; 50; 83 e 110mJ/cm<sup>2</sup>), aplicando cada uma dessas em 5

espécimes diferentes. Após o tratamento com o laser, os espécimes foram preparados para análise em microscopia eletrônica de varredura.

Os resultados mostraram que quando as colônias de bactérias foram expostas às densidades de energia que variaram de 3 a  $8\text{J}/\text{cm}^2$ , a matriz extracelular dos microorganismos foram atacadas ou parcialmente removidas pelo feixe laser. Baseado nas imagens do microscópio eletrônico de varredura, as densidades de energia  $\geq 11\text{J}/\text{cm}^2$  foram capazes de ablacionar colônias bacterianas isoladas e destruir microorganismos individualmente, mas somente em contato direto com o feixe laser. Os autores também observaram que bactérias residuais cresceram em todas as colônias microbiológicas tratadas com o laser. Isso leva a crer que existem variáveis na interação laser/microorganismo ditando a efetividade na esterelização da superfície. Segundo os autores se ocorrer um descuido na densidade de energia entregue, o efeito térmico da irradiação penetrará nas colônias microbianas em uma profundidade de  $125\mu\text{m}$  a  $250\mu\text{m}$ , porém a maioria das colônias, quando analisadas em microscópio eletrônico de varredura, excedem a camada de  $250\mu\text{m}$ , assim microorganismos viáveis podem permanecer intactos a ação do laser. Sabendo-se que o laser de  $\text{CO}_2$  ( $\lambda=10,6\mu\text{m}$ ) é altamente absorvido pela água, alguns tecidos ou massas microbianas que exibem um alto conteúdo de água irão limitar a profundidade de penetração pela alta absorção do feixe laser.

A análise em microscopia eletrônica de varredura das superfícies radiculares, mostraram que as densidades de energia  $\geq 19\text{J}/\text{cm}^2$  produziram mudanças microscópicas superficiais. A aplicação de densidades de energia entre 19 e  $41\text{J}/\text{cm}^2$  foram suficientes para causar um condicionamento da superfície da raiz, entretanto, o feixe laser deixou a superfície isenta de danos térmicos. Densidades de energia  $\geq 50\text{J}/\text{cm}^2$  foram suficientes para penetrar no smear layer e causar danos térmicos a superfície como microfraturas e rachaduras.

Klink et al. (1997) analisaram o efeito bactericida em profundidade do laser de Nd:YAG na dentina radicular. Após esterilização em autoclave, a dentina foi seccionada longitudinalmente em 6 diferentes espessuras de 100 a  $1000\mu\text{m}$  e inoculada de um lado, com  $4\mu\text{l}$  de suspensão de *Streptococcus mutans*. O outro lado de cada secção de dentina foi irradiado com o laser de Nd:YAG (Sunlase 400-Sunrise U.S.A.), com 1,5W de potência média, taxa de repetição de 15 pulsos por segundo e 100mJ de energia por pulso, em um tempo de 40 segundos. A superfície dentinária foi irradiada com uma fibra de

quartzo de 200 $\mu\text{m}$ , a qual varreu toda a superfície oposta a inoculação em um ângulo aproximado de 5° com a superfície dentinária, simulando as condições clínicas do procedimento intracanal. Os espécimes então, foram transferidos para meio de cultura e vibrados mecanicamente para remoção das bactérias do interior da dentina. Após serem feitas uma série de diluições, uma alíquota de 100 $\mu\text{l}$  de cada uma foi transferido para meio de cultura de Agar sangue, incubado e em seguida foi realizada contagem de colônias (u.f.c.). Um dos grupos, estabelecido como o de espessura zero, recebeu irradiação diretamente sobre a superfície em que foi inoculada a suspensão de bactérias.

Os resultados em porcentagem estão demonstrados na tabela 5:

TABELA 5 - Redução bacteriana em dentina utilizando o laser de Nd:YAG

Espessura	Porcentagem
Zero	95,7%
100 $\mu\text{m}$	93,9%
150 $\mu\text{m}$	94,9%
300 $\mu\text{m}$	92,9%
500 $\mu\text{m}$	85,6%
750 $\mu\text{m}$	87,4%
1000 $\mu\text{m}$	84,8%

Os autores tiveram um aumento significativo na eliminação de u.f.c. após o tratamento com o laser em todas as espessuras de dentina. A contagem da u.f.c. aumentou nas espessuras maiores de dentina, indicando que a ação bactericida do laser foi menor quando a profundidade era maior. Entretanto a diminuição do efeito bactericida somente foi significativa nas amostras de 100 $\mu\text{m}$  de espessura.

Blum et al. (1997) compararam *in vitro* a eficácia de irrigantes endodônticos convencionais e o laser de Nd:YAP, emitindo 1,34 $\mu\text{m}$  de comprimento de onda, no modo pulsado, com duração de pulso de 150 $\mu\text{s}$ . O feixe do laser é entregue por fibra óptica com diâmetro de 240 $\mu\text{m}$  e 385 $\mu\text{m}$ . A taxa de repetição varia entre 5 a 30Hz, com uma energia por pulso de 100 a 310mJ.

Foram removidas transversalmente, coroas de 30 dentes humanos unirradiculares recém extraídos. Os canais radiculares foram preparados mecanicamente utilizando-se água estéril como irrigante e esterelizados com óxido de etileno por 24 horas. Os dentes foram separados em 6 grupos com 5 dentes em cada grupo. O grupo 1 (grupo controle negativo), não recebeu inoculação e nem outro tipo de tratamento. O grupo 2 (grupo controle positivo), foi contaminado com *Streptococcus sanguis* e não recebeu nenhum tratamento. Os outros quatro grupos, foram inoculados com *Streptococcus sanguis* e instrumentados por 20 minutos com limas tipo flexofile. No grupo 3 entre cada passo do preparo, NaOCl a 5,25% foi usado como irrigante. Os outros três grupos após instrumentação e irrigação com água estéril foram irradiados com um tempo de exposição de 30 segundos com os seguintes parâmetros:

Grupo 4 - 260mJ - 5Hz

Grupo 5 - 310mJ - 10Hz

Grupo 6 - 300mJ - 30Hz

Após o tratamento os dentes foram numerados de 1 a 30 e incubados em tubos contendo um meio de cultura por 48 horas, a 37°C e foi efetuada a contagem de colônias remanescentes (u.f.c.).

A análise revelou uma significativa diferença na contagem de colônias entre os grupos 2; 4 e 5 com o grupo 3 (NaOCl). Não ocorreu nenhuma diferença significativa dos grupos 4 e 5 com o grupo 2 (grupo controle positivo) e também entre o grupo 1 (grupo controle negativo) e o grupo 3 (NaOCl). A diferença entre o grupo 6 (laser) e o grupo 2 (grupo controle positivo), foi significativa porém entre o grupo 6 e o grupo 1 a diferença não foi significativa.

Os autores puderam concluir que o laser a uma taxa de repetição de 5 a 10Hz foi relativamente ineficiente na redução bacteriana, já quando se utilizou uma taxa de repetição de 30Hz o laser foi tão efetivo quanto o NaOCl.

Koba et al. (1998) realizaram exames histopatológicos do periápice de dentes de cães com lesão periapical após a irradiação com o laser de Nd:YAG. Cento e trinta e cinco dentes de cães unirradiculares foram usados no estudo. Foi realizada uma cirurgia de acesso nos dentes e extirpação da polpa. Os dentes ficaram expostos aos fluidos bucais

durante 1 mês sem nenhum selamento com o objetivo de induzir uma infecção. Após este período lesões periapicais com tamanhos semelhantes foram produzidas por este método.

Os dentes foram então instrumentados e irradiados com o laser de Nd:YAG utilizando os seguintes parâmetros: 1W de potência média, frequência de 30Hz, em um tempo de 1 e 2 segundos ou 2W, 30Hz, num tempo de 1 e 2 segundos. Os dentes foram obturados na mesma sessão. Após 2, 4 e 8 semanas do tratamento, os cães foram sacrificados e a maxila e a mandíbula com os dentes intactos foram extraídos e fixados em formalina a 10% por 1 semana. Após a fixação, descalcificação e desidratação, as amostras foram seccionadas em espessuras de 25 $\mu$ m e coradas com hematoxilina e eosina. A morfologia dos canais radiculares e lesões periapicais foram observados no microscópio eletrônico de varredura.

Os autores puderam observar que após duas semanas, a inflamação na região periapical dos dentes tratados com o laser era semelhante àquela dos dentes do grupo controle, porém após 8 semanas a lesão era significativamente menor que as do grupo controle. Os autores concluíram que o laser de Nd:YAG pode ser considerado um auxiliar na redução bacteriana em tratamento endodôntico de uma única sessão.

Mehl et al (1999) investigaram as propriedades antimicrobianas da irradiação do laser de Er:YAG em canais radiculares. O laser de Er:YAG utilizado (Key-II 1242 Kavo, Germany) emite radiação no infravermelho com comprimento de onda de 2,94 $\mu$ m e duração do pulso de 250 a 500 $\mu$ s.

A radiação laser foi aplicada com uma energia por pulso de 50mJ a uma frequência de 15 pulsos por segundo. A entrega da radiação no modo focado dentro dos canais foi feita pela fibra óptica número 40/28 acoplada na peça de mão 2055.

Noventa dentes recém extraídos tiveram a coroa cortada e os canais radiculares foram alargados mecanicamente usando-se limas endodônticas. O forame apical foi selado, as amostras foram esterelizadas em autoclave e divididas aleatoriamente com 10 dentes em cada subgrupo. Quarenta canais radiculares (4 grupos) foram inoculados com *Staphylococcus aureus* e 40 (4 grupos) foram inoculados com *Escherichia coli* por 2 horas. Após 2 horas todos os canais foram secos com pontas de papel estéril. Dois grupos de cada espécie de bactérias foram irradiados com o laser de Er:YAG por 15 e 60 segundos respectivamente. Um grupo de cada espécie de bactéria foi irrigado com solução de NaOCl a 1,25% e o grupo restante de cada espécie de bactéria não foi tratado

e serviu como controle positivo. Adicionalmente um grupo de 10 canais radiculares não foram inoculados com nenhuma suspensão de bactérias e serviu como grupo controle negativo (sem tratamento). Durante a irradiação, a fibra foi inserida dentro do canal radicular e 3 movimentos circulares de apical para cervical foram executados com uma velocidade constante de 2mm/s no grupo irradiado por 15 segundos e 0,5mm/s no grupo irradiado por 60 segundos. Após a irradiação ou irrigação com NaOCl, os canais foram lavados com 2ml de solução salina estéril sendo que esta solução foi coletada, diluída, espalhada em meio de cultura e incubada por 24 horas a uma temperatura de 37°C em condições aeróbicas. Após a incubação, o número de colônias (u.f.c.) foram contadas nas placas que apresentavam entre 20 e 200 colônias.

Os resultados revelaram que no grupo controle negativo não houve a formação de nenhuma colônia. No grupo onde foi inoculada a *Escherichia. Coli* o número de bactérias foi reduzido significativamente com a irradiação do laser de Er:YAG. A análise estatística mostrou uma significativa diferença na redução bacteriana entre os dois tempos de irradiação (15s e 60s). Entre o grupo irradiado em um tempo de 60 segundos e o grupo NaOCl nenhuma diferença significativa foi observada. Esse resultado se repetiu no grupo que foi inoculado com o *Streptococcus aureus*.

Os autores puderam concluir que o uso do laser de Er:YAG em canais radiculares promove uma efetiva e significativa eliminação de bactérias, contudo dependendo do tempo de irradiação uma diferença no grau de redução bacteriana pode ser observado. Além disso, em contraste com outros sistemas de lasers, não é observado nenhuma seletividade para diferentes tipos de bactérias.

Moritz et al. (1999) compararam a efetividade antibacteriana em canais infectados utilizando três diferentes lasers: Nd:YAG, Ho:YAG e Er:YAG. Os autores citam que um dos maiores problemas durante a irrigação dos canais radiculares com agentes químicos convencionais, é a dificuldade destes agentes de alcançarem as bactérias nas quais tem grande capacidade de penetração nos túbulos dentinários.

Foram utilizados no estudo 40 dentes unirradiculares recém extraídos. Após o preparo e esterelização cada canal foi inoculado com 10µl de suspensão de *Escherichia coli* e *Enterococcus faecalis* e incubados a 37°C durante 48 horas. Após este período os dentes foram separados em 6 grupos contendo 5 dentes em cada grupo sendo que os 10 dentes restantes fizeram parte do grupo controle. Os dentes do grupo laser foram

irradiados utilizando-se os seguintes parâmetros: 0,8W e 10Hz, 1,5W e 10Hz sendo que os parâmetros utilizados foram iguais para os três diferentes comprimentos de onda. A fibra óptica foi posicionada no ápice e o laser foi ativado irradiando as paredes do canal radicular de apical para cervical com movimentos circulares lentos. Esse procedimento foi repetido 5 vezes durante 5 segundos com intervalos de 20 segundos. Adicionalmente um termômetro foi fixado na superfície externa de cada dente para monitoramento do aumento de temperatura da dentina durante a irradiação com o laser. Os autores observaram que os parâmetros utilizados nos três lasers não conduziram a aumentos de temperatura desfavoráveis que poderiam exceder os limites de segurança nos tratamentos endodônticos *in vivo*.

Após a irradiação, os canais radiculares foram irrigados com solução fisiológica salina estéril e cones de papel estéreis foram introduzidos dentro do canal radicular por 10 segundos. Estes cones foram então transferidos para um meio de cultura (BHI) por 30 segundos obtendo-se amostras pra exame microbiológico.

Os autores concluíram que os três lasers diminuíram substancialmente a população de bactérias com mínimas diferenças nos resultados obtidos entre eles. O melhor resultado foi obtido pelo laser de Er:YAG seguido pelo laser de Nd:YAG e pelo laser de Ho:YAG. A energia entregue por todos os lasers foi de 1,5W. Os resultados obtidos indicaram que os três comprimentos de onda testados agiram como efetivos bactericidas e são apropriados para tratamento do canal radicular.

Jelínková et al. (1999) compararam o efeito bactericida em canais radiculares de dentes humanos recém extraídos com a utilização do laser de Alexandrita ( $\lambda=0,75\mu\text{m}$ ) e o laser de Er:YAG ( $\lambda=2,94\mu\text{m}$ ). Os autores relembram que em métodos convencionais de preparo e limpeza de canais radiculares, o smear layer criado pode ser composto de remanescentes orgânicos, microorganismos e restos de dentina os quais se aderem às paredes dos canais tornando não efetivo o processo de esterelização através de produtos químicos e mecânicos. Os canais radiculares foram tratados com instrumentos endodônticos e solução de hipoclorito de sódio a 5,25%. Foram confeccionados 60 discos com diâmetro de 5mm e estes foram inoculados com *Nocardia asteroides*, *Micrococcus albus*, *Lactobacillus species* e *Streptococcus sanguis*. Cada grupo de discos (3 grupos) foram irradiados com comprimentos de onda e parâmetros diferentes como é mostrado na tabela 6:

TABELA 6 - Parâmetros para irradiação de secções de dentina contaminada

	<b>Alexandrita</b> $\Lambda=0,75\mu\text{m}$ <b>Grupo I</b>	<b>Er:YAG</b> $\Lambda=2,94\mu\text{m}$ <b>Grupo II</b>	<b>Er:YAG</b> $\Lambda=2,94\mu\text{m}$ <b>Grupo III</b>
<b>Energia</b>	250mJ	90mJ	300mJ
<b>Taxa de repetição</b>	1Hz	1Hz	1Hz
<b>Número de pulsos</b>	30	30	30

Após a irradiação com o feixe laser, os discos foram colocados em meio de cultura e incubados a 37°C por 24 horas. Após esse período foi executada a contagem das unidades formadoras de colônia (u.f.c.) para determinar a atividade dos microorganismos.

Uma segunda análise foi feita com o objetivo de observar a transmissão de energia irradiada através das paredes do canal radicular para os tecidos adjacentes. No laser de Alexandrita os autores observaram uma transmissão de energia dentro do canal radicular e também na parte externa da raiz circundando o tecido dentinário. Quando a mesma energia entregue foi medida no laser de Er:YAG, observou-se que a radiação foi totalmente absorvida pelas paredes internas do canal radicular e que o efeito de subablação promovido pela radiação do laser de Er:YAG não promove ablação às paredes do canal. Além disso, não se detectou transmissão de calor na parte externa do dente. Na análise de redução bacteriana dos espécimes os autores observaram que o laser de Er:YAG nos parâmetros utilizados (90mJ, 30 pulsos e 1Hz) foram capazes de destruir todas as bactérias e que o efeito bactericida do laser foi efetivo em toda a superfície as quais as bactérias estavam presentes. Isto ocorreu porque a presença de hidroxiapatita e água contida na dentina, desencadeia uma total absorção do laser de Er:YAG nas paredes do canal radicular. A esterelização superficial pode ser realizada pelo efeito acumulativo de múltiplos pulsos os quais podem ser separados por intervalos de tempo suficientes para prevenir o acúmulo de calor. Uma dose total de 85J/cm<sup>2</sup> foi considerada como limite para uma completa esterelização superficial. Os autores puderam concluir que a radiação do laser de Er:YAG pode ser eficientemente usada para matar as bactérias dentais. A

radiação do laser de Er:YAG é totalmente absorvida pelas paredes do canal radicular. Por essa razão, as ramificações do ápice radicular não são irradiadas pelo laser.

Gouw Soares et al. (2000) investigaram o efeito bactericida do laser de Ho:YAG em espécimes de dentina contaminadas de dentes incisivos bovinos recém extraídos. As raízes foram cortadas longitudinalmente em 180 secções com 3 diferentes espessuras: 100µm, 300µm e 500µm. Todos os espécimes foram autoclavados e um dos lados de cada secção de dentina foi inoculado com 1µl de suspensão de *Enterococcus faecalis* em uma área de 5mm de diâmetro.

Seis grupos com 10 espécimes cada foram divididos de acordo com as espessuras das secções de dentina. O grupo controle foi dividido em dois diferentes grupos (C1 e C2) sendo que no grupo C1 os espécimes foram inoculados e não tratados. Este grupo serviu para checar o número de bactérias que recobriram cada espécime após a inoculação. No grupo C2 os espécimes foram inoculados e tratados no lado oposto a inoculação com NaOCl a 1% e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Os outros 4 grupos (grupos laser), foram irradiados com diferentes parâmetros utilizando o laser de Ho:YAG com comprimento de onda de 2,10µm o qual produz radiação no infravermelho do espectro eletromagnético. No grupo laser as secções de dentina foram irradiadas no lado oposto a inoculação. A fibra óptica entregou a irradiação em movimentos circulares de apical para cervical fazendo um ângulo de 5° com a superfície, em um tempo total de 20 segundos, simulando as condições em um tratamento de canal *in vivo*. Os parâmetros utilizados foram:

L1=1,0w / 5Hz

L2=1,0W / 10Hz

L3=1,5W / 5Hz

L4=2,0W / 5Hz

Após o tratamento, cada espécime foi colocado em um tubo teste contendo 1ml de meio de cultura específico. Foi feita então uma série de diluições e 100µl de cada uma dessas diluições foram espalhadas em placa de Agar. Após incubação por 24 horas a 37°C foi feita a contagem de colônias (u.f.c.).

Os autores observaram uma significativa redução bacteriana após o tratamento com o laser comparado aos 2 grupos controle como mostra a tabela 7:

TABELA 7 - Redução bacteriana após irradiação com o laser de Ho:YAG

Grupo	Parâmetros	Redução bacteriana %		
		100µm	300µm	500µm
L1	1w / 5Hz	92,51	85,27	88,72
L2	1W / 10Hz	98,21	83,65	88,56
L3	1,5W / 5Hz	98,21	90,31	86,37
L4	2W / 5Hz	98,46	96,04	98,35

Os autores puderam concluir que o laser de Ho:YAG mostrou um significativo efeito bactericida, com uma grande diminuição da população bacteriana em um máximo de redução de 98,46% e um mínimo de 83,65%. O parâmetro utilizado de 2W / 5Hz mostrou-se altamente eficaz na redução bacteriana, mesmo em secções de 500µm, demonstrando que o laser de Ho:YAG é eficiente na desinfecção da dentina radicular contaminada.

Gutknecht et al. (2000) estudaram o efeito bactericida do laser de diodo em dentina radicular. No estudo utilizou-se dentes bovinos recém extraídos, os quais as raízes foram seccionadas longitudinalmente em três diferentes espessuras (100, 300 e 500µm). Após esterelização em autoclave, as secções foram inoculadas com 1µl de suspensão de *Enterococcus faecalis*. A área inoculada foi de aproximadamente 5mm de diâmetro em apenas uma das superfícies de cada secção. O lado oposto a inoculação foi irradiado com o laser de diodo (Dentek Laser system LD 15, 810nm). O tempo de irradiação foi de 30 segundos e a potência utilizada foi de 0,6W no modo contínuo. A ponta da fibra óptica foi colocada em contato formando um ângulo de 5° com a superfície irradiada. Doze secções de dentina inoculada (4 de cada espessura), sem tratamento de laser, serviram como grupo controle. As bactérias presentes nas secções de dentina foram diluídas e semeadas em placa de Agar sendo que após 24 horas foi feita contagem de colônias.

Os autores puderam observar que a redução bacteriana diminuiu com o aumento de espessura dos espécimes. A porcentagem de redução bacteriana em cada diferente espessura é mostrada na tabela 8:

TABELA 8 - Redução bacteriana após irradiação com o laser de diodo

Espessura ( $\mu\text{m}$ )	Número de espécimes	Redução bacteriana %
100	10	97,07
300	10	88,38
500	10	73,96

Os autores concluíram que a radiação do laser de diodo foi capaz de reduzir o número de bactérias nas camadas mais profundas da dentina radicular.

## PROPOSIÇÃO

### 3. PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo foi, especificamente, analisar a capacidade de redução bacteriana do laser de Er:YAG após remoção de tecido cariado (modo focado) e condicionamento em dentina (modo contato) comparando os resultados com aqueles obtidos utilizando ponta montada em alta rotação.

## 4. MATERIAIS E MÉTODO

### 4.1 MATERIAIS:

Para a realização do presente estudo foram utilizados:

Equipamento laser de Er:YAG com alta densidade de potência, modelo Kavo Key Laser(Kavo, Germany), comprimento de onda de 2,94 $\mu$ m.

Caneta de alta rotação Kavo super torque - 625

Pontas montadas diamantadas número KGSorensen n<sup>o</sup>1013 e 1014

Curetas Hufried número EXC 18W

Cinzel Hufried 24054 – 13/14

Machado Hufried CP32/33

Agar sangue (Hemácias de carneiro)

Agar chocolate

Agar Mac Conckey

Óculos de proteção

Solução de digluconato de clorexidina a 2%

Fluxo Laminar

Alça de Henry

Estufa

Adesivo dentinário single bond (3M)

Resina composta fotopolimerizável P 60 (3M)

#### 4.1.1 Equipamento laser de Er:YAG:

O laser de Er:YAG (Kavo Key Laser)\*, tem energia ajustável de 60 a 500mJ, taxa de repetição de 1 a 15Hz duração do pulso de 250 a 500 $\mu$ s. (fig. 2)

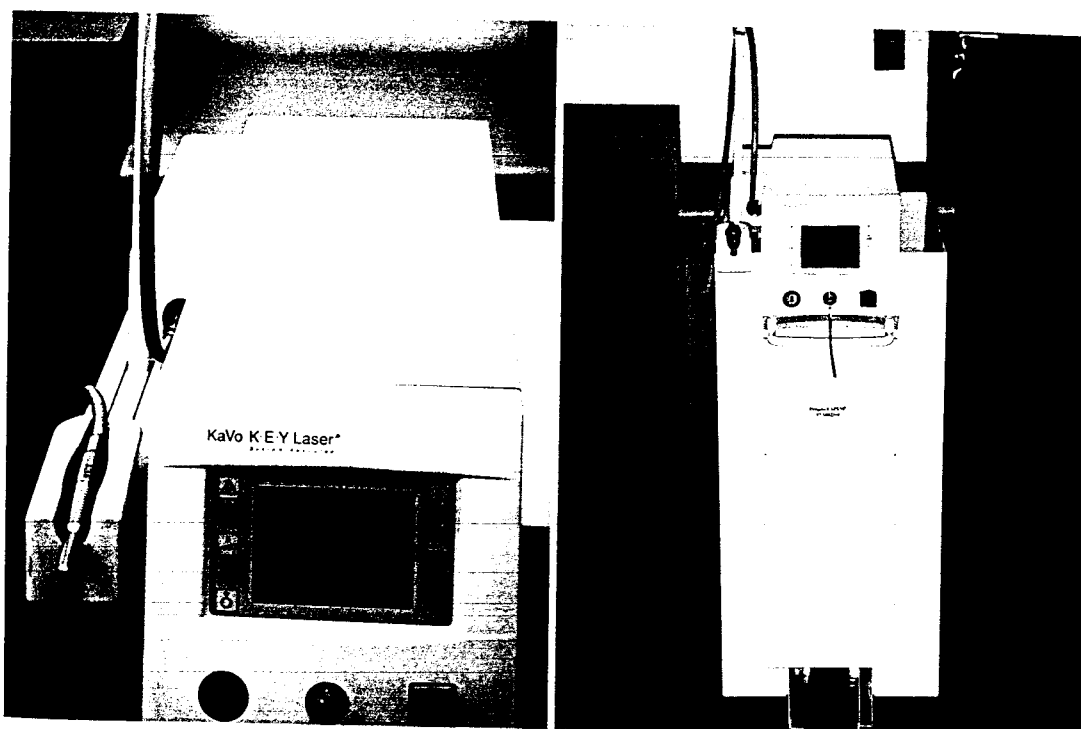


Figura 2 - Foto do laser de Er:YAG (Kavo Key Laser - Germany)

---

\* Equipamento conseguido através do projeto FAPESP nº 97/10.823-0 e pertencente ao LELO(Laboratório Experimental de Lasers em Odontologia)-FOUSP

As peças de mão utilizadas no presente estudo foram:

1) Peça de mão número 2051 a qual entrega o feixe laser de modo não contato e tem como foco ideal a distância de 12 a 15mm, entre a lente de saída do feixe laser ao tecido alvo. O diâmetro do feixe na posição focalizada é 0,63mm..(fig.3).

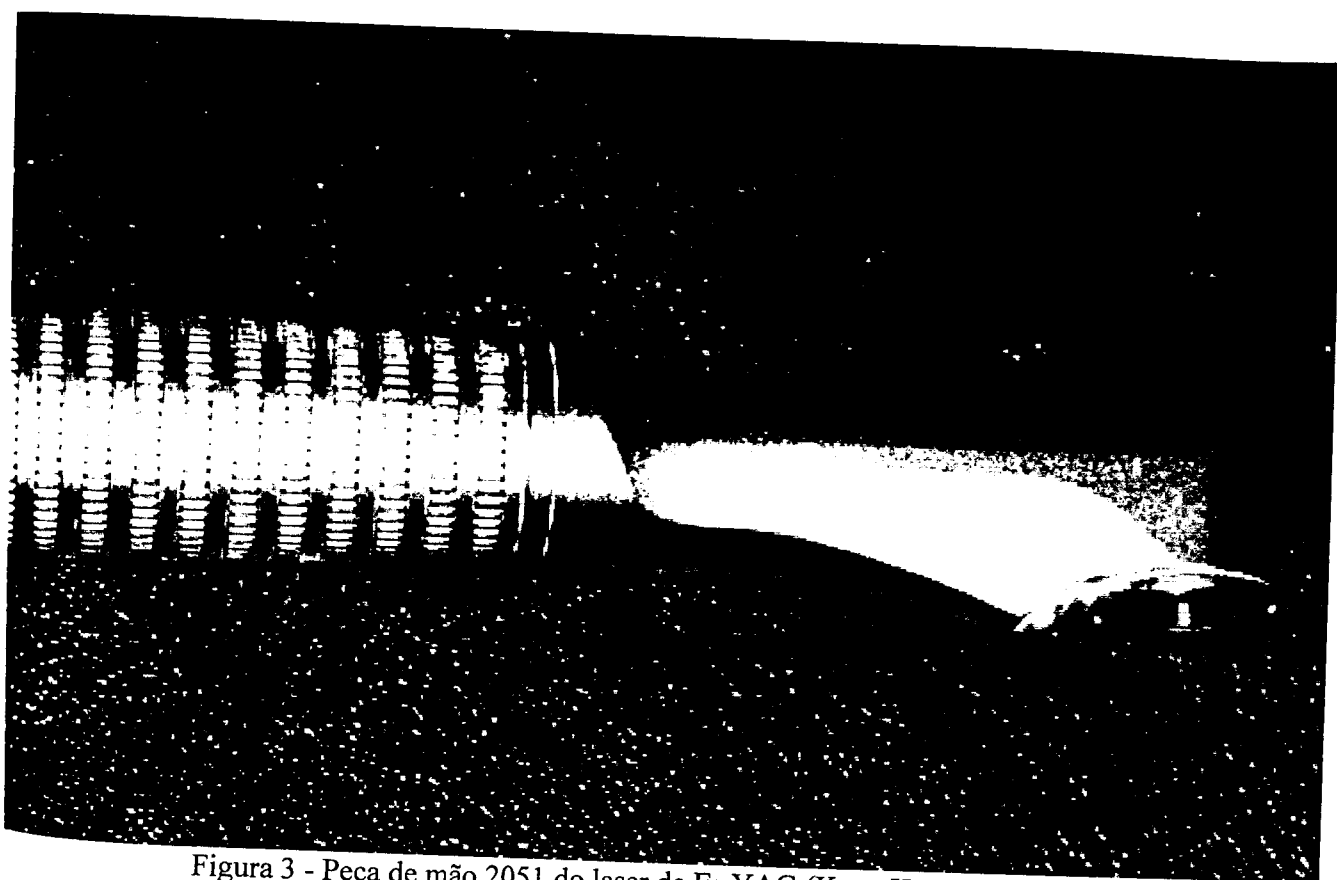


Figura 3 - Peça de mão 2051 do laser de Er:YAG (Kavo Key Laser)

2) Peça de mão 2055 a qual foi acoplada uma fibra óptica número 50/10 com diâmetro externo de 0,470mm e fator de transmissão de 0,54. A fibra é utilizada no modo contato (fig. 4).

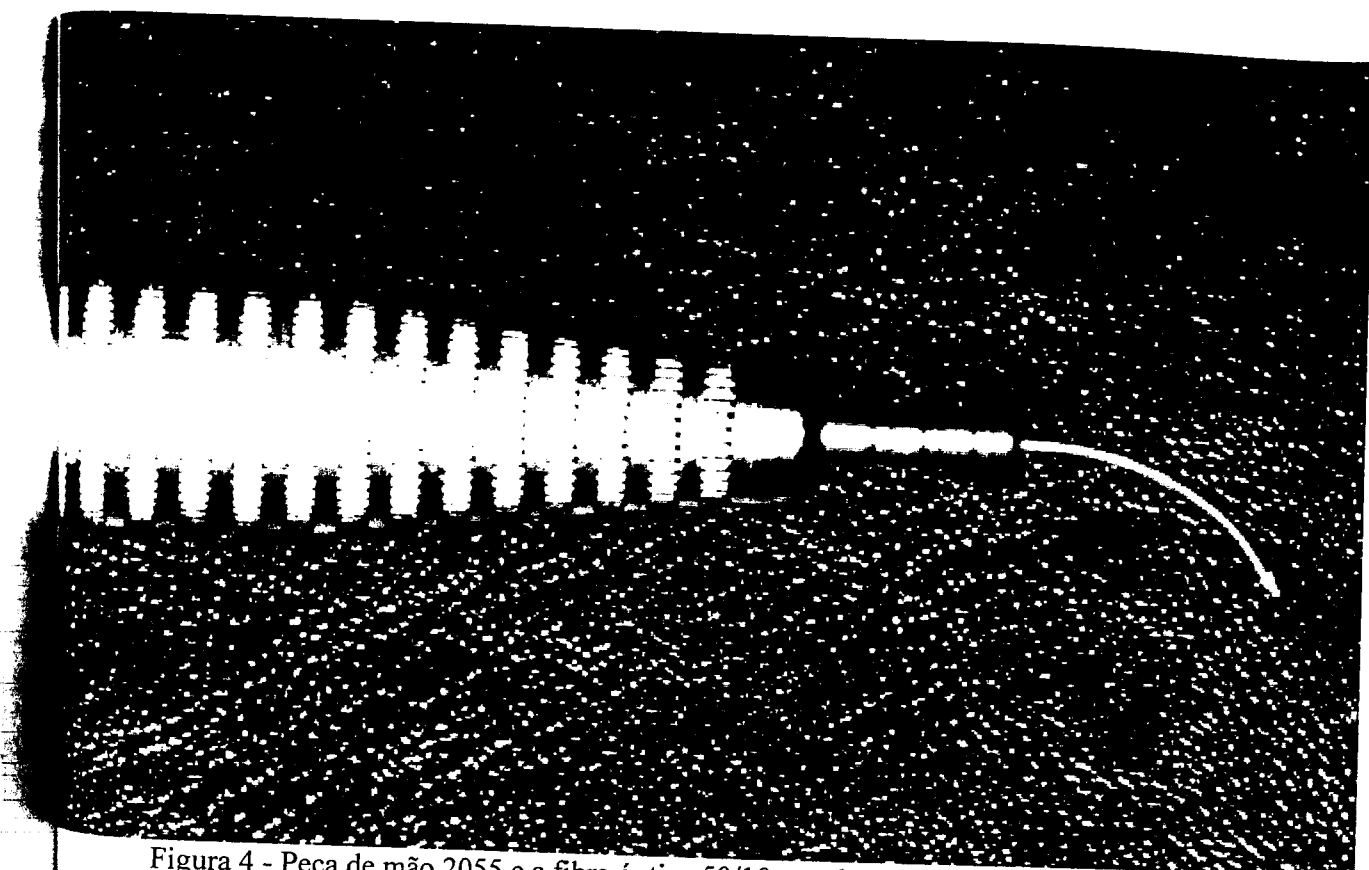


Figura 4 - Peça de mão 2055 e a fibra óptica 50/10 acoplada ao laser de Er:YAG (Kavo Key Laser).

O laser é uma fonte de radiação capaz de produzir, em bandas extremamente finas, intensos campos eletromagnéticos coerentes no intervalo espectral que se estende do infravermelho remoto ao ultravioleta.

O laser de Er:YAG está localizado na região do infravermelho médio (invisível ao olho humano), do espectro eletromagnético e emite um feixe laser de  $2,94\mu\text{m}$  de comprimento de onda.

O comprimento de onda pode ser entendido como a distância que a radiação se move durante o período de oscilação, isto é, de crista a crista da onda e é a quantidade mais comumente usada para descrever a luz.

O mecanismo de bombeamento do laser de Er:YAG é feito através de uma lâmpada flash a qual excitará os átomos do meio ativo de forma que a emissão laser possa ocorrer.

O meio ativo do laser de Er:YAG é sólido e é constituído pelo érbium, pertencente as terras raras, o qual é utilizado como dopante na rede da matriz de um cristal de granada de alumínio ítrio (YAG) (fig 5).

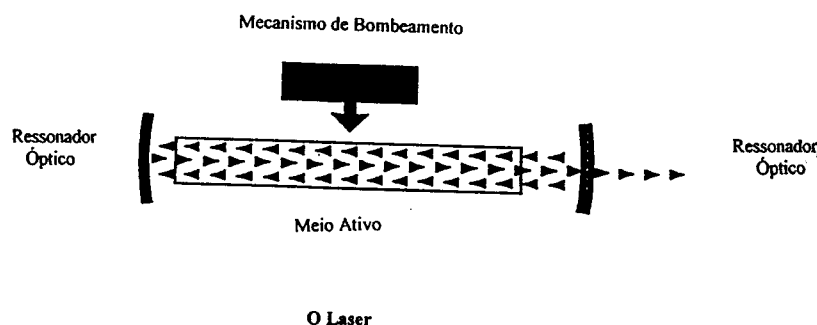


Figura 5 - Ilustração simplificada de uma cavidade laser

O cromóforo absorvedor nesse comprimento de onda é a água e hidroxiapatita.

O modo de emissão é pulsado e o sistema de entrega do feixe laser é através de fibra óptica. Esse laser possui uma alimentação interna de spray de água e ar e regulação do spray na peça de mão.

Sendo neste comprimento de onda a luz invisível ao olho humano, o laser de Er:YAG possui como luz guia um laser de diodo com comprimento de onda de 635nm, possibilitando que o usuário enxergue claramente o ponto de incidência do laser.

## **4.2 MÉTODO:**

### **4.2.1 Triagem dos pacientes**

Participaram no presente estudo pacientes com idades que variaram entre 19 e 35 anos os quais apresentavam molares e pré-molares com cáries em estágio agudo e que necessitavam de tratamento restaurador. Foram selecionados 30 dentes apresentando cáries classificadas como médias em profundidade e estes foram divididos em 2 grupos:

- 1) O grupo controle onde 15 dentes foram tratados de forma convencional.
- 2) O grupo laser onde 15 dentes foram tratados utilizando-se o laser de Er:YAG.

### **4.2.2 Termo de consentimento livre e esclarecido**

Todos os pacientes foram informados quanto ao tipo de tratamento que seria realizado. Foi fornecido a todos os pacientes envolvidos, documento escrito o qual esclarece os objetivos, benefícios e riscos da pesquisa ficando o paciente livre em se retirar da pesquisa a qualquer momento, não sofrendo qualquer tipo de penalização. Além disso, a pesquisa foi avaliada e aprovada pelos Comitês de Ética da FOU SP e do Instituto de Pesquisas Energéticas Nucleares (IPEN) constando no processo número 51.

### **4.2.3 Procedimento clínico**

Todos os dentes foram previamente radiografados e submetidos a teste térmico para averiguação de vitalidade pulpar. Após isso, tanto no grupo laser como no grupo controle, os dentes foram anestesiados e posteriormente foi feito isolamento absoluto evitando-se qualquer tipo de contaminação, o que influenciaria nos resultados finais.

### **4.2.4 Grupo controle**

Após os procedimentos básicos descritos no item 4.2.3, foi feita uma penetração inicial com ponta esférica KGS número 1013, montada em alta rotação para remoção de esmalte superficial e sem suporte o que possibilitou o acesso e melhor visualização da cárie dentinária.

Três curetas Hufried número 18W estéreis foram utilizadas para a primeira coleta de tecido dentinário cariado. Durante a coleta da amostra, procurou-se padronizar a quantidade de tecido cariado, estabelecendo que a cárie preencheria totalmente a parte ativa da cureta (fig. 6 e fig. 7)

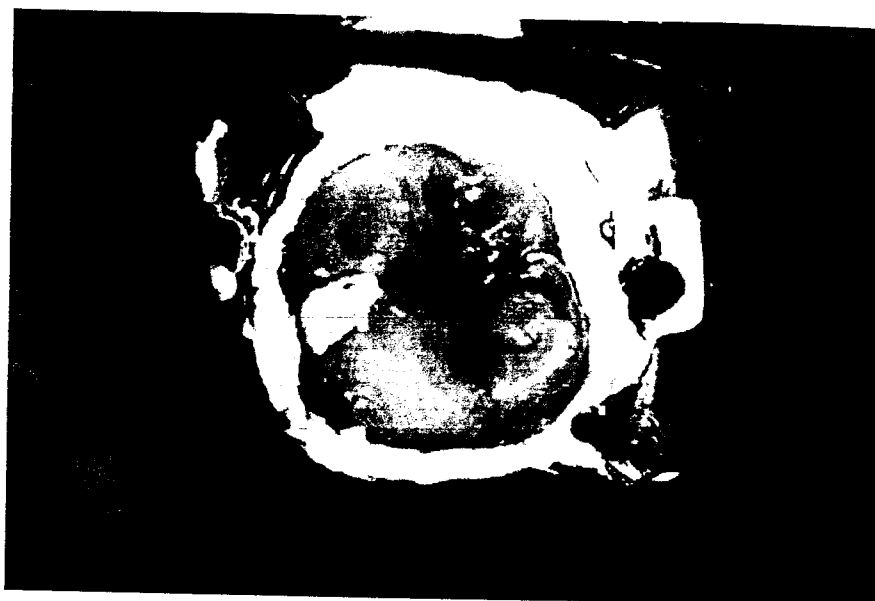


Figura 6 - Aspecto inicial do dente cariado.



Figura 7 - Coleta inicial de cárie dentinária

O tecido cariado contido em cada uma das três curetas foi semeado em um diferente tipo de meio de cultura de Agar (fig. 8 e fig. 9):

1) Agar sangue azida - meio de cultura que favorece o crescimento de bactérias gram-positivas.

2) Agar Mac Conckey - meio de cultura que favorece o crescimento de bactérias gram-negativas.

3) Agar chocolate - meio de cultura que favorece o crescimento de todas as bactérias.

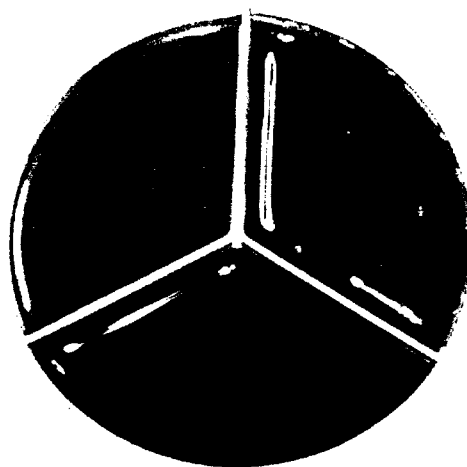


Figura 8 - placa contendo o Agar Sangue Azida, Mac Conckey e chocolate.



Figura 9 - Amostra de dentina cariada sendo semeada na placa de Agar.

Após a prévia curetagem, o tecido cariado foi totalmente removido com ponta esférica diamantada KGS número 1014 montada em alta rotação (fig 10).



Figura 10 - Remoção de tecido cariado com alta rotação.

A cavidade então, apresentando clinicamente ausência de cárie (fig. 11), foi submetida a limpeza com digluconato de clorexidina a 2% durante 1 minuto (fig.12).

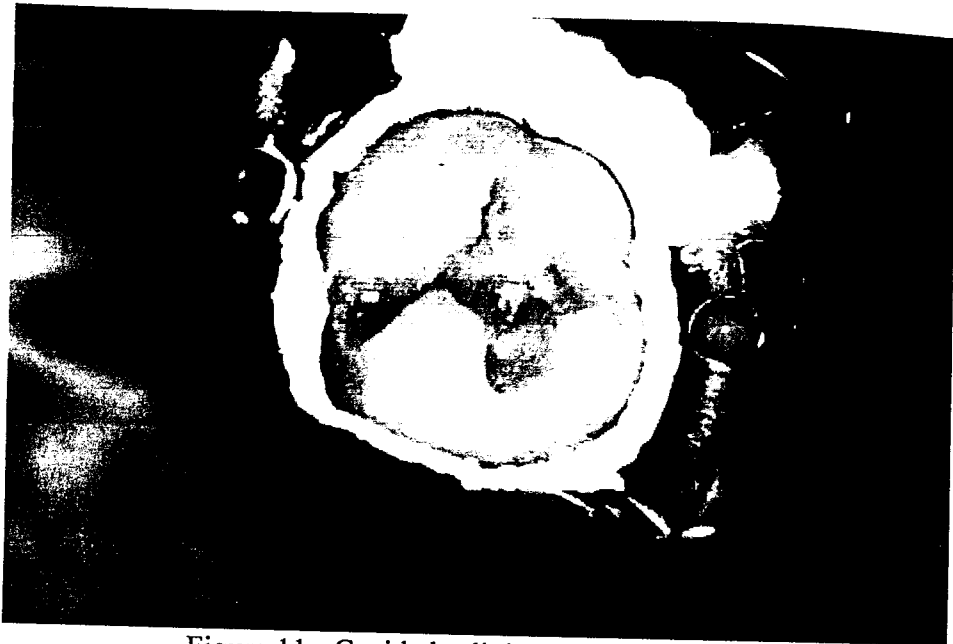


Figura 11 - Cavidade clinicamente sem cárie.



Figura 12 - Limpeza da cavidade com digluconato de clorexidina a 2

Para um acabamento e alisamento final das paredes do preparo cavitário foi utilizado machado e enxada Hufried. Esse artifício permitiu a coleta de raspas de dentina e smear layer provenientes do acabamento final da cavidade. Essas raspas de dentina foram coletadas com três curetas Hufried estéreis Número 18W (fig. 13) e semeadas em placas de Agar (fig. 14) padronizando a quantidade de dentina igualmente a curetagem descrita anteriormente.

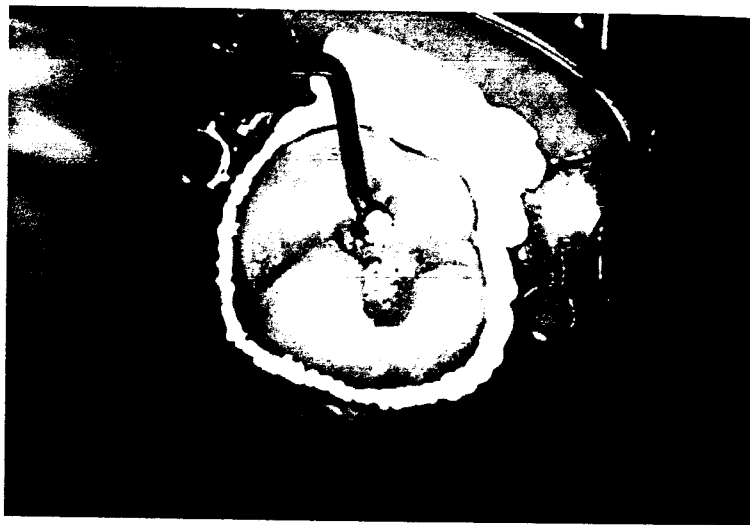


Figura 13 - Coleta das raspas de dentina .



Figura 14 - Amostras de raspas de dentina semeadas em placas de Agar.

Após todos esses procedimentos todos os dentes foram restaurados convencionalmente na mesma sessão utilizando-se ácido fosfórico a 37%, sistema adesivo single bond (3M) e resina composta fotopolimerizável para dentes posteriores P 60 (3M) (fig 15).

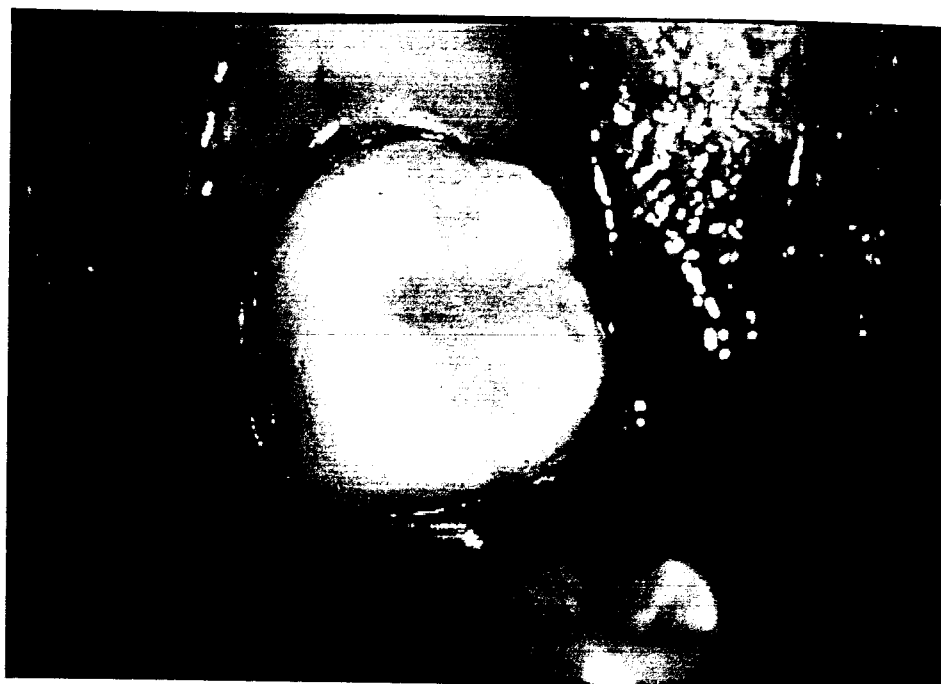


Figura 15 - Restauração final.

#### **4.2.5 Grupo laser**

Todos os pacientes deste grupo foram atendidos no Laboratório Experimental de Lasers em Odontologia (LELO), localizado na FOU SP. Durante todo o procedimento clínico foram respeitadas todas as normas de segurança preconizadas pela Academy of Laser Dentistry, entre elas:

- 1) Proteção dos olhos: Profissional, auxiliar e paciente
- 2) Proteção do tecido alvo e não alvo
- 3) Refrigeração com água e ar
- 4) *Inter lock*

Os procedimentos realizados no grupo laser foram feitos em pacientes que possuíam lesões cariosas semelhantes as do grupo controle.

Os dentes após exame de Rx, teste de vitalidade pulpar, anestesia e isolamento foram submetidos a remoção de esmalte sem suporte com ponta esférica diamantada KGS número 1013 montada em alta rotação, para exposição da lesão cariosa e curetagem prévia de dentina cariada, a qual foi semeada em placas de Agar (Sangue Azida, Mac Conckey e Chocolate), igualmente ao grupo controle (figs 16, 17,18, 19 e 20).

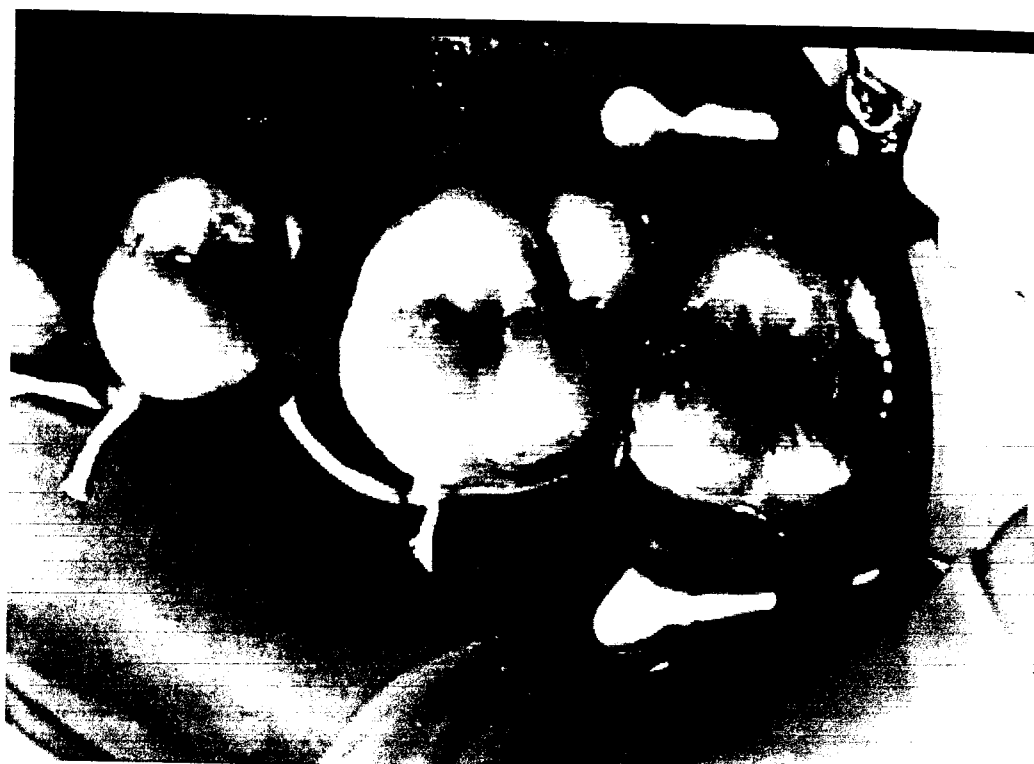


Figura 16 - Aspecto inicial da cárie no 1° e 2° molar superior direito.

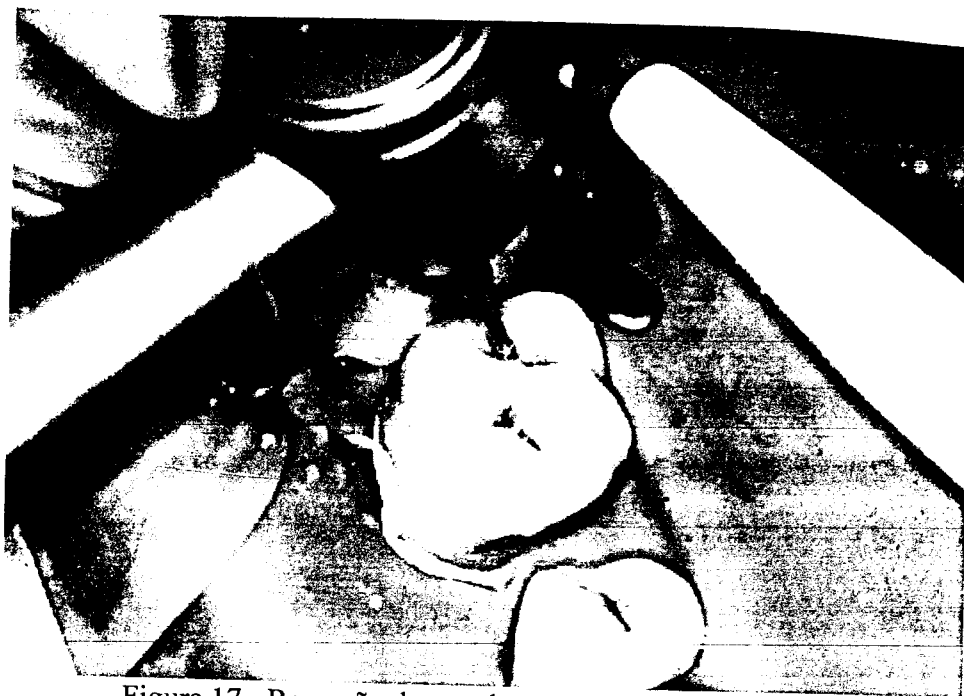


Figura 17 - Remoção de esmalte sem suporte com alta rotação.



Figura 18 - Exposição da dentina cariada

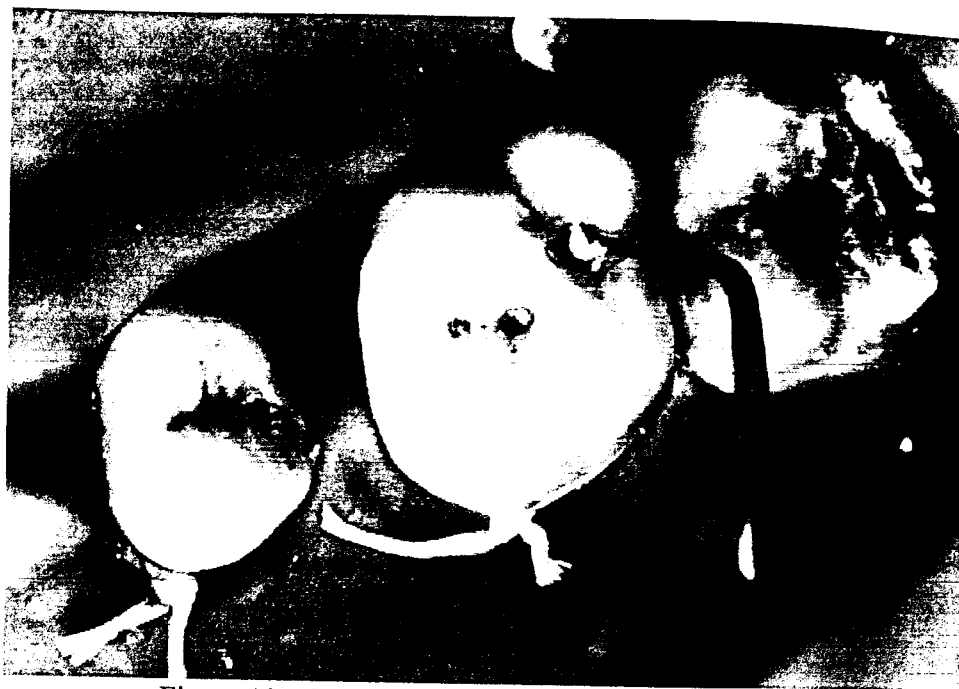


Figura 19 - Curetagem e coleta de tecido cariado.



Figura 20 - Amostra de dentina cariada sendo semeada em placa de Agar.

Após esses procedimentos todo o tecido cariado foi removido utilizando-se o laser de Er:YAG (Kavo Key Laser) (fig. 21).

Os parâmetros de irradiação utilizados com a peça de mão 2051 para a remoção de cárie em dentina foram:

Energia por pulso - 250mJ

Frequência - 2Hz

Densidade de energia - 62,98J/cm<sup>2</sup>

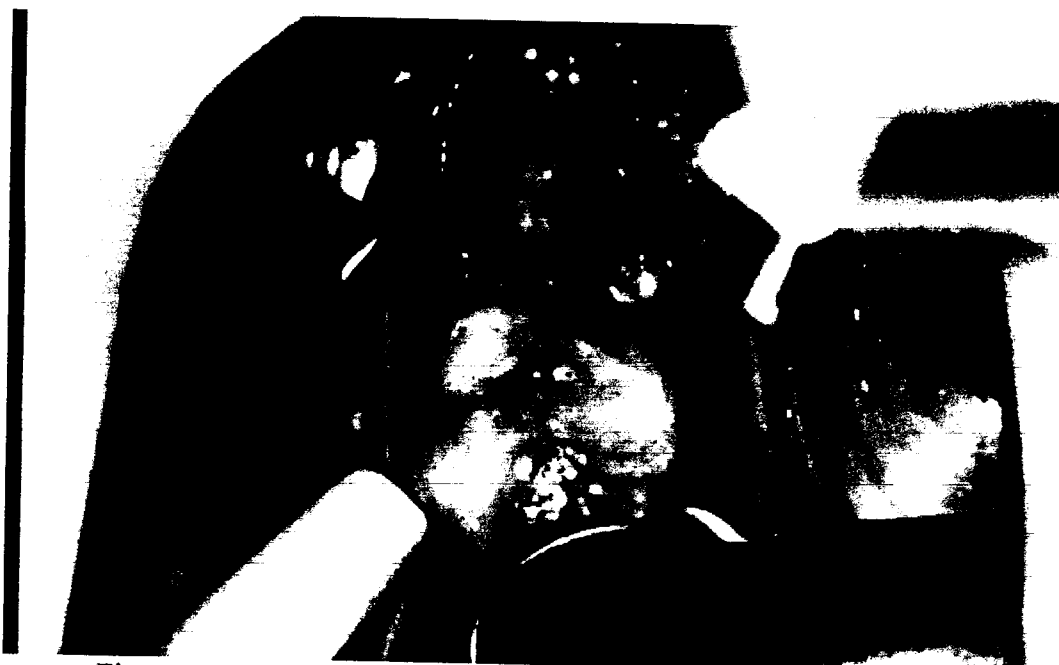


Figura 21 - remoção de tecido cariado com a peça de mão 2051

Após a remoção de todo o tecido cariado, a cavidade foi condicionada utilizando-se a peça de mão 2055 a qual foi acoplada uma fibra óptica número 50/10 com diâmetro do feixe de 0,470mm, operando em modo contato varrendo todas as paredes da cavidade (figs. 22 e 23). A energia utilizada no painel foi de 60mJ, porém esta fibra absorve, por razões técnicas, parte da energia do laser existindo assim diferença na característica de transmissão da luz. O fator de transmissão da fibra 50/10 é 0,54, portanto a energia que aparece no painel de 60mJ, na realidade entrega uma energia na superfície

irradiada de 32mJ. A frequência utilizada no estudo foi de 10Hz e a densidade de energia foi de 14,66J/cm<sup>2</sup>. Esse condicionamento efetuado na cavidade teve como objetivo limpeza da cavidade e redução bacteriana substituindo se assim o uso da clorexidina. Após o condicionamento, machado e enxada (Hufried) foram usados para acabamento e alisamento das paredes da cavidade. O uso destes instrumentais juntamente com baixa energia utilizada promovendo uma subablação facilitaram a coleta das raspas de dentina as quais foram semeadas em placas de Agar igualmente ao grupo controle (fig. 24). Após esses procedimentos todos os dentes foram restaurados de forma convencional na mesma sessão utilizando-se condicionamento com ácido fosfórico a 37%, sistema adesivo Single Bond (3M) e resina composta para dentes posteriores fotopolimerizável P 60 (3M) (fig. 25).



Figura 22 - Condicionamento das cavidades com a fibra 50/10



Figura 23 - Aspecto clínico das cavidades após o condicionamento



Figura 24 - Coleta das raspas de dentina



Figura 25 - Restauração final

#### **4.2.6 Análise Microbiológica**

Imediatamente após a coleta e semeadura, todas as placas de Agar foram colocadas de 15 a 30 minutos no fluxo laminar o qual possui uma luz germicida roxa que promove uma descontaminação ambiente e externa das placas diminuindo o número de microorganismos externos (fig. 26).

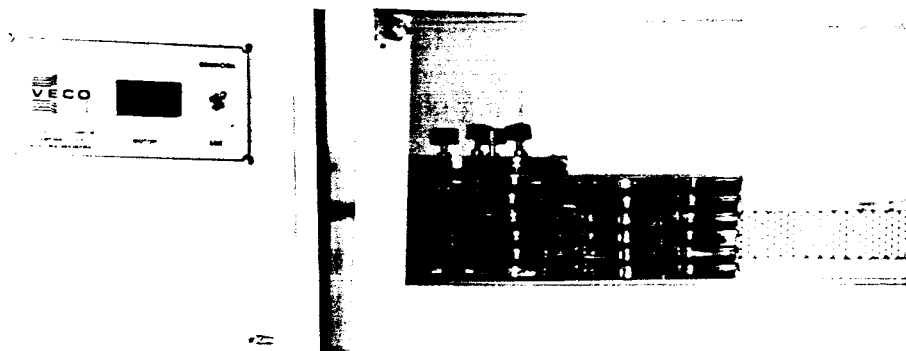


Figura 26 - Fluxo laminar e placas de Agar dentro do aparelho para manipulação

Com o auxílio da alça de Henry, as amostras coletadas que estavam localizadas em apenas um ponto da placa de Agar foram espalhadas formando estrias por todo o Agar com o objetivo de melhorar a visualização e facilitar a contagem das colônias formadas. Após esse espalhamento as placas foram incubadas em estufa com 5% de CO<sub>2</sub> a 37°C por 72 horas.

As placas de Agar sangue as quais se observou crescimento bacteriano se caracterizaram pela formação de zonas esverdeadas ao redor das colônias, típicas do grupo *Streptococcus viridans* que são α hemolíticos e produtores de pigmento verde (fig. 27).

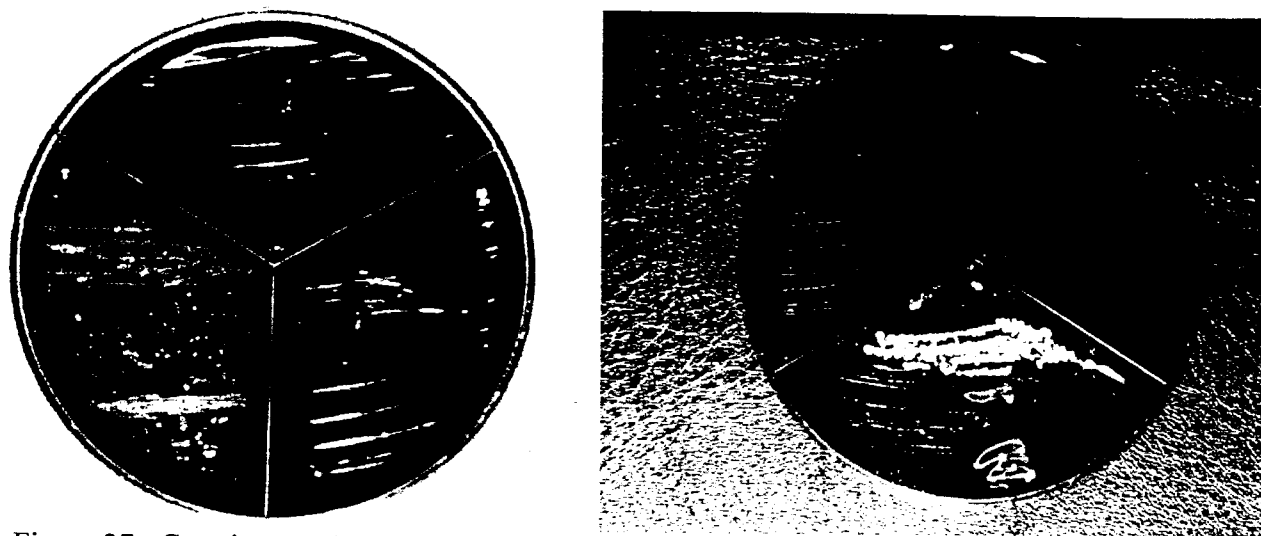


Figura 27 - Crescimento de colônias esverdeadas típicas de *S. viridans* em Agar sangue

Adicionalmente foi executado um teste de bileculina (meio de cultura constituído por bile e esculina), para verificar a possível presença de *Enterococcus faecalis* (antigamente denominado *Streptococcus* do grupo D). Na análise visual a não turbidez do meio revelou a ausência desses microorganismos.

O método de contagem por quadrantes das colônias, permitiu determinar o número de células que se multiplicaram sob as condições descritas. As colônias se desenvolvem a partir do crescimento dos microorganismos sendo que cada um destes dará origem a uma colônia. A contagem de colônias a qual foi realizada, mostrou uma população viável de microorganismos nas placas. O número de colônias que se

desenvolveram nas placas foram contadas num mínimo de 10 e um máximo de 100 (u.f.c.). Durante a contagem das colônias foi utilizada iluminação e lente de aumento (2X) para facilitar a visualização.

## RESULTADOS

## 5. RESULTADOS

Para a análise do efeito bactericida da irradiação do laser de Er:YAG foi considerado o número de colônias (u.f.c.) contadas após o crescimento de microorganismos nas placas de Agar que foram incubadas a 37°C durante 72 horas. A tabela 9 (Grupo controle) e a tabela 10 (Grupo laser), mostram os microorganismos encontrados e o número de colônias que cresceram dentro das condições do estudo antes e depois da remoção de tecido cariado.

Foi considerada a contagem de colônias num mínimo de 10 e num máximo de 100 u.f.c.

Se analisarmos a tabela 9 (Grupo controle), todas as amostras de dentina cariada apresentaram crescimento de colônias de *Streptococcus viridans* num mínimo de 100 u.f.c.. Apenas 1 das 15 amostras (C5) apresentou um crescimento de 20 u.f.c de *S. viridans* . Além disso, em 3 amostras de dentina cariada (C9, C10 e C12) ocorreu um crescimento de Células leveduriformes (fungos) e em uma amostra (C3) ocorreu crescimento de *Staphylococcus epidermidis*.

Se observarmos ainda na tabela 9 (Grupo controle), as raspas dentina sem cárie podemos observar que 3 amostras apresentaram um crescimento de *S. viridans* de 10u.f.c. (C1), 100 u.f.c.(C9) e 50 u.f.c. (C4) sendo que nesta última ainda se observou um crescimento de 10 u.f.c. de *Staphylococcus epidermidis*.

Na análise da tabela 10 (Grupo laser) todas as amostras de dentina cariada apresentaram um crescimento de *Streptococcus viridans* num mínimo de 100 u.f.c. sendo que apenas 1 das amostras (L10) apresentou um crescimento de 50 u.f.c. e a amostra L5 apresentou ainda um crescimento de 60 u.f.c. de Células leveduriformes (fungos). Nenhuma das amostras de raspas de dentina sem cárie no grupo laser apresentaram crescimento bacteriano nas placas de Agar.

TABELA 9

Grupo Controle(C)	Microorganismo encontrado / Número de colônias formadas (u.f.c.)	
Paciente (n°)	Dentina cariada	Raspas de dentina sem cárie
C 1	<i>Streptococcus viridans</i> / Superior a 100 u.f.c.	<i>Streptococcus viridans</i> / 10 u.f.c.
C 2	<i>Streptococcus viridans</i> / 100 u.f.c.	_____
C 3	<i>Streptococcus viridans</i> / 100 u.f.c. <i>Staphylococcus epidermidis</i> / 20 u.f.c.	_____
C 4	<i>Streptococcus viridans</i> / Superior a 100 u.f.c.	<i>Streptococcus viridans</i> / 50 u.f.c. <i>Staphylococcus epidermidis</i> / 10 u.f.c.
C 5	<i>Streptococcus viridans</i> / 20 u.f.c.	_____
C 6	<i>Streptococcus viridans</i> / Superior a 100 u.f.c.	_____
C 7	<i>Streptococcus viridans</i> / Superior a 100 u.f.c.	_____
C 8	<i>Streptococcus viridans</i> / 100 u.f.c.	_____
C 9	<i>Streptococcus viridans</i> / Superior a 100 u.f.c. Fungos / 100 u.f.c	<i>Streptococcus viridans</i> / 100 u.f.c.
C 10	<i>Streptococcus viridans</i> / Superior a 100 u.f.c. Fungos / 60 u.f.c.	_____
C 11	<i>Streptococcus viridans</i> / 100 u.f.c.	_____
C 12	<i>Streptococcus viridans</i> / 100 u.f.c. Fungos / 100 u.f.c.	_____
C 13	<i>Streptococcus viridans</i> / 100 u.f.c.	_____
C 14	<i>Streptococcus viridans</i> / superior 100 u.f.c.	_____
C 15	<i>Streptococcus viridans</i> / Superior a 100 u.f.c.	_____

Tabela 10

Grupo Laser (L)	Microorganismo encontrado / Número de colônias formadas (u.f.c.)	
Paciente (n <sup>o</sup> )	Dentina cariada	Raspas de dentina sem cárie
L 1	<i>Streptococcus viridans</i> / 100 u.f.c.	_____
L 2	<i>Streptococcus viridans</i> / Superior a 100 u.f.c.	_____
L 3	<i>Streptococcus viridans</i> / Superior a 100u.f.c.	_____
L 4	<i>Streptococcus viridans</i> / superior a 100 u.f.c.	_____
L 5	<i>Streptococcus viridans</i> / 100 u.f.c. Fungos / 60 u.f.c.	_____
L 6	<i>Streptococcus viridans</i> / Superior a 100 u.f.c.	_____
L 7	<i>Streptococcus viridans</i> / Superior a 100 u.f.c.	_____
L 8	<i>Streptococcus viridans</i> / Superior a 100 u.f.c.	_____
L 9	<i>Streptococcus viridans</i> / Superior a 100 u.f.c.	_____
L 10	<i>Streptococcus viridans</i> / 50 u.f.c.	_____
L 11	<i>Streptococcus viridans</i> / 100 u.f.c.	_____
L 12	<i>Streptococcus viridans</i> / 100 u.f.c.	_____
L 13	<i>Streptococcus viridans</i> / Superior a 100 u.f.c.	_____
L 14	<i>Streptococcus viridans</i> / 100 u.f.c.	_____
L 15	<i>Streptococcus viridans</i> / Superior a 100 u.f.c.	_____

## 5.1 ANÁLISE PERCENTUAL

Em uma análise percentual das raspas de dentina sem cárie no grupo controle, a presença de *S. viridans* apresentou-se positiva em 20% das placas e 80% das placas restantes não apresentaram crescimento de *S. viridans*.

A análise percentual no grupo laser das raspas de dentina mostrou 100% de ausência de *S. viridans* ou outro microorganismos em todas as amostras o que nos permite afirmar que ocorreu uma total redução bacteriana nas superfícies das cavidades tratadas com o laser de Er:YAG.

Os valores percentuais onde ocorreu crescimento bacteriano nas raspas de dentina sem cárie foram obtidos a partir da fórmula:

$$X \% = \frac{n^+}{n^t} \times 100$$

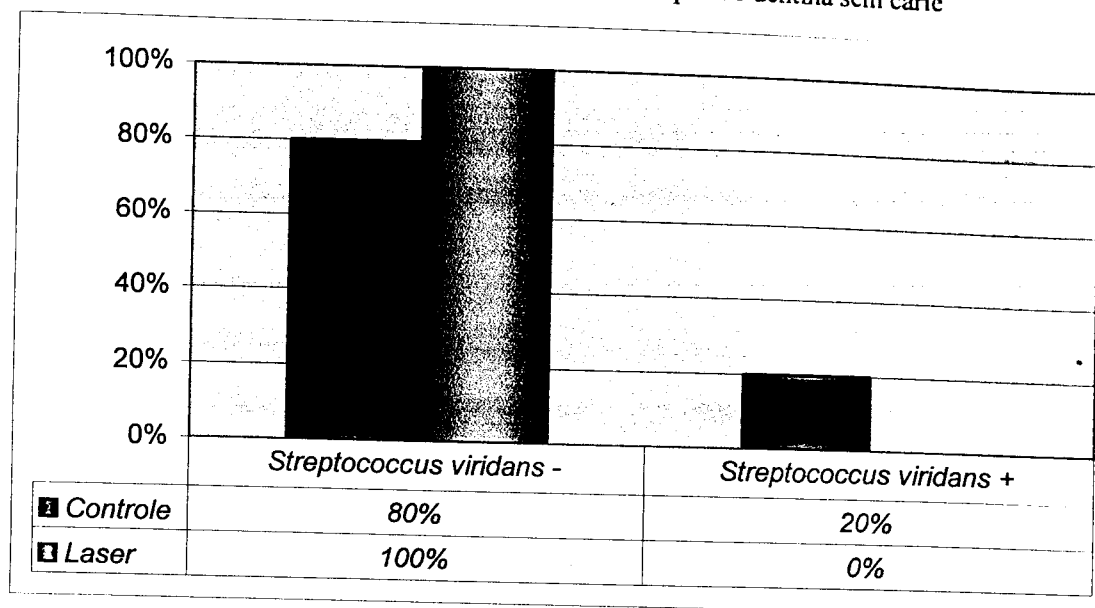
Onde :

$n^+$  é o número de amostras que apresentaram crescimento de *S. viridans*

$n^t$  é o número total de amostras de raspas de dentina semeadas em Agar

$X$  é o resultado em porcentagem

Gráfico 1 - Crescimento de colônias nas raspas de dentina sem cárie

**Onde:**

*Streptococcus viridans* - : Significa ausência deste microorganismo nas placas de Agar.

*Streptococcus viridans* + : Significa presença deste microorganismo nas placas de Agar.

Os resultados obtidos no presente estudo mostraram que o laser de Er:YAG foi eficiente e efetivo na eliminação dos microorganismos nas paredes dentinárias dos preparos cavitários, apresentando resultados significantes quando comparado ao grupo controle. Os parâmetros utilizados de 60mJ e 10Hz com o objetivo de limpeza da cavidade, remoção do smear layer e redução bacteriana mostraram-se efetivos e com grande potencial bactericida.

Brannstron (1994) analisou as conseqüências patológicas do smear layer embaixo das restaurações. As análises revelaram que em 17 das cavidades que foram limpas com spray de água e que possuíam um smear layer remanescente, numerosas bactérias estavam presentes. Nas cavidades limpas com o antisséptico não foram encontradas bactérias. Esses resultados mostraram que as poucas bactérias presentes no smear layer podem sobreviver e se multiplicar. O autor concluiu que o fato da bactéria conseguir se multiplicar nas paredes mesmo se não existir apreciável comunicação com a cavidade oral, indica que certos microorganismos conseguem nutrição suficiente do smear layer e fluido dentinário.

É verdade que um smear layer sem bactérias, pode ser produzido quando um dente intacto é cortado experimentalmente porém, em procedimentos clínicos, especialmente em dentes cariados, no final do preparo deve-se considerar o grande risco de bactérias sobreviverem no smear layer. Sabe-se que a irradiação com o laser de Er:YAG promove uma remoção do smear layer assim, no presente estudo, uma possível inflamação pulpar decorrente de toxinas provenientes das bactérias vivas e mortas que eventualmente poderiam alcançar a polpa através dos túbulos dentinários foi evitada. Essas toxinas, em combinação com reações pulpares intensas, podem levar a necroses locais. A maioria das bactérias no interior dos túbulos dentinários não consegue sobreviver 24 horas após a remoção do seu meio de nutrição porém, condições in vivo, permitem o suprimento de nutrientes a esses microorganismos. Sendo assim, a utilização de um agente antiséptico ou outro mecanismo como coadjuvante na redução bacteriana nos procedimentos de remoção de tecido cariado e preparo cavitário torna-se um passo obrigatório.

Hibst et al. (1996), investigaram o potencial do laser de Er:YAG em redução bacteriana da superfície dentinária através do aumento de temperatura da superfície irradiada, sem promover ablação ou algum tipo de dano aos tecidos circunvizinhos especialmente a polpa. Os autores citam que uma efetiva esterelização da superfície dentinária pode ser conseguida induzindo um aumento de temperatura, o qual será suficiente para matar as bactérias. Os resultados da pesquisa mostraram que em todas as amostras ocorreu uma esterelização da superfície dentinária após a irradiação com o laser de Er:YAG, sem causar nenhum dano aos tecidos adjacentes quando se utilizou os parâmetros de 60mJ, 15Hz e  $0,85\text{J}/\text{cm}^2$  de densidade de energia, o qual corresponde a 2/3 da densidade de energia necessária para ocorrer ablação.

Desta forma, o resultado alcançado no presente estudo, o qual foram utilizados parâmetros semelhantes àqueles utilizados por Hibst et al. (1996), apresentou concordância com os resultados previamente reportados por estes autores, indicando que o laser de Er:YAG pode ser usado como um potente e seguro bactericida.

## DISCUSSÃO

## 6. DISCUSSÃO

A dentística restauradora busca devolver a forma anatômica original daqueles dentes cuja destruição pela cárie dental propiciou uma perda de estrutura sadia acarretando a inúmeros problemas. Além disso, é claro que a eliminação dos microorganismos causadores da lesão cariosa deve ser o objetivo primordial deste processo restaurador.

A devolução da anatomia, permitindo um equilíbrio oclusal bem como devolvendo a estética e conforto ao paciente, não será efetiva se o clínico não conseguir extinguir o principal problema causador desse processo de destruição: Os microorganismos cariogênicos.

Segundo Thylstrup & Fejuskov (1998), uma questão importante é até que ponto estes microorganismos sobreviverão ou futuramente irão se proliferar em direção a polpa, caso sejam inadvertidas ou propositalmente deixadas abaixo das restaurações ou selantes de fôssulas e fissuras. Sabendo-se que existe em média 45.000 túbulos dentinários por milímetro quadrado e que as dimensões desses túbulos são tais que os microorganismos são capazes de penetrar neles em direção a polpa, a eliminação total destes deve ser efetiva para se evitar um possível processo de infecção e inflamação pulpar severa.

A relação dos sintomas clínicos em dentes cariados com inflamações pulpares foi estudada por Reeves & Stanley (1996) os quais afirmam que as mudanças patológicas em dentes cariados são determinadas pela virulência do microorganismo, resistência individual de cada hospedeiro e capacidade de penetração destes microorganismos ou de seus produtos nos túbulos dentinários.

Shavelton (1968), Fisher (1969) e Leung et al. (1980), citam que as cavidades que aparentam clinicamente ausência de cárie, podem conter alguns túbulos dentinários infectados. Esse processo pode ocorrer em 25% a 50% dos dentes, além disso, as bactérias que possam ter sido deixadas na dentina dura, embaixo das restaurações, podem sobreviver por longos períodos admitindo-se que os nutrientes são conseguidos através do smear layer e fluidos bucais, assim uma possível cárie poderá estar se formando embaixo da restauração, podendo levar a uma contaminação pulpar.

O smear layer que é composto por restos de preparo cavitário, partículas da matriz mineralizada do colágeno, bactérias, toxinas e outros componentes (Gwinnet, 1984), irá permitir a permanência, na camada externa da dentina, de um reservatório de potentes irritantes, portanto o smear layer pode servir como um depósito de microorganismos e seus produtos, sendo que ambos causam injúria a polpa.

A penetração bacteriana nos túbulos dentinários de canais radiculares contaminados foi estudada por Kouchi et al. (1980), Akpata & Blechman (1982), Haapasalo & Orstavik (1987), Ando & Hoshino (1990), Safavi et al. (1990) e Orstavik & Haapasalo (1990). Esses estudos mostraram que quanto maior o número de bactérias mais rápido é o seu grau de multiplicação e mais profunda será sua penetração e quanto maior o tempo de exposição da dentina às bactérias, maior é o número de túbulos infectados e maior é a profundidade de penetração. Além disso, as bactérias presentes nas camadas mais profundas da dentina radicular infectada, assemelham-se aquelas presentes nas camadas profundas da lesão cáriosa da dentina coronária. Estes microorganismos crescem nos túbulos dentinários sendo difícil sua remoção pelos métodos convencionais. A penetração das bactérias nos túbulos pode variar entre 100 $\mu$ m a 1150 $\mu$ m de profundidade.

Áreas de irritação pulpar observada embaixo de materiais restauradores eram atribuídos a toxicidade química dos materiais, porém sabe-se que a presença de microorganismos em cavidades restauradas ou não, podem levar a uma inflamação pulpar severa. Essa inflamação causada pelas bactérias pode ocorrer pela penetração direta das mesmas nos túbulos dentinários ou ainda de forma indireta, através de suas toxinas (Meryon & Brook, 1990).

Pashley (1984) cita que a presença do smear layer pode prevenir a invasão bacteriana nos túbulos dentinários, porém ele é permeável aos produtos bacterianos, os quais podem se difundir ou até mesmo dissolver o smear layer permitindo a difusão das toxinas ou das próprias bactérias nos túbulos dentinários até as proximidades da polpa.

A infecção microbiana da polpa freqüentemente ocorre devido a cárie dental e microinfiltração coronária (Vahdaty et al., 1993). Existe portanto a necessidade da utilização de algum procedimento ou agentes químicos bactericidas que sejam eficientes no combate às bactérias remanescentes na dentina após a remoção de tecido cariado, mantendo-se o saneamento e reduzindo o risco de uma possível inflamação do tecido pulpar.

A efetividade bactericida de agentes químicos depende de sua habilidade de penetração nos túbulos dentinários infectados e este processo é influenciado pela presença ou ausência do smear layer. O smear layer reduz a permeabilidade da dentina entre 25% a 49%, impedindo muitas vezes a penetração de agentes bactericidas (Berutti, 1997).

Atualmente o agente bactericida mais utilizado para limpeza e redução bacteriana após o preparo cavitário é o digluconato de clorexidina a 2%. Este composto catiônico derivado da bisguanina liga-se a superfície negativamente carregada das bactérias gram-positivas, resultando no rompimento da membrana celular provocando extravasamento de material citoplasmático e morte celular (Nisengard & Newman, 1997; Vahdaty, 1993; Thylstrup & Fejerskov, 1998).

Neutralizar as bactérias deixadas na dentina e prevenir ou reduzir o risco de contaminação do tecido pulpar são fatores extremamente importantes para clinicamente se obter um prognóstico favorável, diminuindo o risco de uma recidiva de cárie e um fracasso nos procedimentos restauradores.

O método empregado no presente estudo, o qual se analisou as raspas de dentina, obtida após preparo e acabamento das cavidades foi utilizado por Langeland (1981), Haapasalo & Orstavik (1987), Ando & Hoshino (1990), Orstavik & Haapasalo (1990) e Pahdaty (1993).

Os resultados obtidos onde se observou um crescimento bacteriano em 20% das amostras das raspas de dentina após remoção de tecido cariado no grupo controle, provam que os métodos empregados não foram totalmente eficazes na eliminação dos microorganismos, revelando a necessidade de se buscar artifícios mais efetivos no que se refere a redução bacteriana após a remoção de tecido cariado. Desta maneira o desenvolvimento e sofisticado aperfeiçoamento dos lasers odontológicos pode ser considerado como um grande passo na busca de alternativas eficazes no combate das bactérias nas paredes dentinárias dos preparos cavitários.

Segundo Arcoria & Cozean (1994), as imensas mudanças tecnológicas nos últimos anos possibilitaram uma segurança e efetividade em relação ao uso do laser em tecidos duros. As características de absorção dos tecidos dentais (dentina, esmalte, polpa e cimento), têm um importante papel em como a irradiação laser irá agir no tecido alvo. Quando um feixe é irradiado na superfície do tecido, parte da luz penetra no tecido e

parte pode ser refletida difusamente. A quantidade de luz que penetra irá depender, primeiramente, das propriedades ópticas do tecido. A energia irradiante é convertida em calor e é distribuída através do tecido. Essa conversão é baseada na combinação das propriedades óptica e térmica de cada tecido.

O alto potencial do laser de Er:YAG em promover ablação de tecidos dentais duros e osso com um mínimo de dano térmico aos tecidos adjacentes, pode ser atribuído a alta absorção deste comprimento de onda ( $2,94\mu\text{m}$ ) pela água e hidroxiapatita, os quais são os principais componentes desses tecidos. A eficiência de ablação do laser de Er:YAG em esmalte e dentina tem revelado que os lasers localizados no infravermelho médio do espectro eletromagnético são capazes de remover relativamente rápido os tecidos dentais duros sem induzir a indesejáveis efeitos como derretimento, carbonização e rachaduras no esmalte e dentina. Análises histológicas comprovam que as alterações pulpares como hiperemia ou inflamações leves que ocorrem logo após a utilização do laser, assemelham-se às alterações ocorridas em dentes que são tratados convencionalmente porém, entre uma semana e um mês as alterações histológicas retornam ao seu estado normal. A seletividade e efetividade do laser na remoção de tecido cariado resultam em uma grande preservação da estrutura dental. As análises em microscopia eletrônica de varredura ainda revelam que a superfície irradiada com o laser de Er:YAG, apresenta-se rugosa, com os túbulos dentinários abertos e sem smear layer (Miserandino & Cozean (1998), Keller & Hibst (1989), Hibst & Keller (1989), Kayano et al. (1991), Dostálová et al. (1998), Guimble et al. (1994), Cozean et al. (1997), Aoki et al. (1998), Takeda et al. (1998), Hossain et al. (1999)).

O processo de ablação pode ser atribuído pela rápida ebulição e expansão da água no tecido, gerando uma mudança volumétrica ou onda de choque suficiente para criar microexplosões ou áreas microscópicas de pressão na superfície do esmalte e dentina. A ebulição da água ocorre quando esta atinge uma temperatura de  $100^{\circ}\text{C}$ . Esse processo de ebulição é considerado o principal mecanismo do processo de ablação dos tecidos dentais duros (Miserandino & Cozean (1998), Hibst & Keller (1989), Sobol et al. (1993)).

O coeficiente de absorção ( $\alpha$ ) depende do comprimento de onda do laser e da composição do tecido irradiado (Sobol et al., 1993). Esse fator poderá influenciar no

aumento de temperatura podendo ou não gerar danos a estrutura irradiada como carbonização, derretimento e trincas na estrutura dental e inflamação e necrose na polpa.

Devido a alta absorção do laser de Er:YAG pela água e hidroxiapatita, ocorre uma pequena penetração do feixe no tecido (cerca de 10 $\mu$ m), assim o efeito térmico ocorre apenas em uma fina camada da superfície. No processo de ablação, a taxa de repetição de pulsos é um parâmetro muito importante para a determinação do acúmulo de calor no tecido (Hibst & Keller, 1992a). Isto significa que quanto maior a taxa de repetição de pulsos, maior poderá ser o aumento da temperatura no tecido irradiado.

No presente estudo, a frequência utilizada para remoção de tecido cariado foi de 2Hz, sendo um parâmetro clinicamente seguro. Além disso, Keller & Hibst (1992), Li et al. (1992), Wigdor et al. (1993a), Wigdor et al (1993b), Morioka (1994), Arcoria & Cozean (1994), Glockner et al. (1998), Aoki et al. (1998), em seus estudos provaram que o laser de Er:YAG não causa nenhum tipo de injúria térmica a polpa e aos tecidos dentais duros quando comparado aos lasers de Nd:YAG e CO<sub>2</sub>, os quais dependendo dos parâmetros utilizados podem causar injúria a polpa e aos tecidos dentais circunvizinhos. Mudanças nos parâmetros do feixe laser podem influenciar seriamente no modo de absorção, temperatura e ablação dos tecidos irradiados (Sobol et al., 1993).

Os parâmetros para remoção de tecido cariado foram pesquisados por Dostálová et al.(1997a), Keller & Hibst (1995), Dostálová et al. (1997b), Hossain et al. (1999), os quais foram unânimes em considerar que energias variando entre 200mJ e 400mJ na remoção de tecido cariado com taxas de repetição entre 2 a 4Hz, são seguras e não promovem nenhum tipo de injúria pulpar, além disso o smear layer é removido e os túbulos dentinários se apresentam abertos e visíveis. Assim a energia utilizada neste estudo de 250mJ a uma taxa de repetição de 2Hz na remoção de tecido cariado foi comprovadamente eficaz e segura, o que permitiu a obtenção de um resultado favorável.

Sabe-se que a luz dos lasers em alta intensidade é bactericida e pesquisas têm mostrado que essa luz é efetiva contra os microorganismos presentes na cárie dental (Hibst et al., 1996), doença periodontal e infecções endodônticas. As conseqüências da irradiação de uma bactéria com a luz laser, dependem das características dos microorganismos envolvidos, da incidência da luz e do meio onde a interação laser/tecido alvo irá ocorrer. Os principais fatores que determinam a susceptibilidade das bactérias com a luz laser são a habilidade de absorção da luz, particularmente o comprimento de

onda usado e o estado fisiológico do tecido alvo no momento da irradiação. As principais características do laser são o comprimento de onda, o modo de emissão (contínuo ou pulsado), a potência, o total da dose de energia entregue e o diâmetro do feixe laser. A exposição das bactérias aos lasers de alta intensidade usualmente resulta na morte dos microorganismos por efeitos fototérmicos ou fotoablativos (quebra das ligações químicas) (Wilson, 1994).

A aplicação do laser em terapias de redução bacteriana principalmente em endodontia, tem sido largamente pesquisada e aplicada na prática clínica. Existem poucos relatos sobre a aplicação do laser de Er:YAG em redução bacteriana após preparo cavitário porém, o presente estudo vem provar a efetividade deste laser em eliminar as bactérias após o condicionamento da dentina com a fibra 50/10 (Kavo Key Laser), não tendo a necessidade de utilização de energias altas, o que poderia acarretar algum tipo de injúria ao tecido irradiado.

A certeza de que a redução bacteriana foi alcançada após a utilização da fibra 50/10 deve-se ao fato de ter sido efetuado um estudo piloto *in vivo* onde Blay,C et al.(2000) removeram todo o tecido cariado com o laser de Er:YAG ( Kavo Key Laser) em 8 molares e pré-molares seguindo a mesma metodologia empregada no presente estudo porém, sem a utilização da fibra 50/10 para condicionamento das paredes dentinárias dos preparos cavitários. Os resultados obtidos revelaram que tanto o grupo controle onde 8 molares e pré-molares tiveram suas cáries removidas de forma convencional, quanto o grupo laser apresentaram um crescimento bacteriano nas raspas de dentina sem cárie em 25% dos dentes envolvidos no estudo isto é, 2 dentes em cada grupo mesmo após a remoção da cárie ainda apresentaram microorganismos remanescentes. Deve-se lembrar que em todos os dentes no grupo controle utilizou-se o digluconato de clorexidina a 2% e os dentes no grupo laser foram irradiados com o Er:YAG somente para remoção do tecido cariado não sendo executado o condicionamento das paredes dentinárias.

Sendo o Er:YAG um laser de alta intensidade de potência é esperado que ocorra um efeito bactericida da mesma maneira que ocorre nos lasers de CO<sub>2</sub> e Nd:YAG. Essa efetividade em redução bacteriana é atribuída ao efeito térmico produzido pela alta absorção da energia eletromagnética da luz pelo tecido alvo, cuja produção e propagação de calor promovem a ação bactericida (Gutknecht et al., 1996a; Hibst et al., 1996).

O laser de CO<sub>2</sub> emitindo em um comprimento de onda de 10,6µm é altamente absorvido pela água. Assim, a energia é convertida em calor quando as moléculas de água do tecido absorvem o feixe laser. O laser de Nd:YAG, o qual não é absorvido pela água, penetra e espalha-se resultando em um acúmulo de calor no tecido alvo (Ando et al., 1996). A taxa de absorção do laser de Er:YAG pela água é teoricamente 10 vezes maior do que o laser de CO<sub>2</sub> e 20.000 vezes maior que o laser de Nd:YAG (Paghdwala, 1988).

Sabendo que as bactérias apresentam grande quantidade de água na sua composição, aproximadamente 50% a 85%, ocorre uma alta absorção da luz do laser pelas células bacterianas e o efeito térmico provoca a evaporação do seu conteúdo, resultando em uma destruição e morte celular. A morte dos microorganismos também pode ocorrer por uma elevação de temperatura ocasionada pela irradiação da luz não ocorrendo necessariamente uma absorção do feixe laser (Ando et al., 1996, Belikov et al., 1995).

Estudos com o laser de Nd:YAG em redução bacteriana nas paredes dos canais radiculares revelaram uma redução bacteriana significativa quando se utilizou parâmetros de irradiação de 100mJ de energia e 15Hz de frequência, porém a contagem das colônias aumenta em espessuras de dentina maiores, indicando que a ação bactericida do laser é menor quando a profundidade de penetração das bactérias é maior. Um fator muito importante na redução bacteriana é a correta utilização dos parâmetros (Rooney et al. (1994), Gutknecht et al. (1996a), Moritz et al. (1997a), Klink et al. (1997), Koba et al. (1999)).

Moritz et al. (1997b), utilizando um laser de diodo, emitindo comprimento de onda de 810nm, observou que nas condições empregadas, apenas 5 dos 44 dentes no seu estudo *in vitro*, ainda apresentavam crescimento bacteriano após a aplicação do laser. Os parâmetros utilizados foram de 4W de potência média e 10Hz de frequência. O aumento máximo da temperatura foi de 6°C. Os autores puderam concluir que o laser de diodo quando comparado ao laser de Neodímio, provoca menor dano térmico por ter uma profundidade de penetração menor.

Moritz et al. (1999) compararam a efetividade antibacteriana do Nd:YAG, Ho:YAG e Er:YAG, concluindo que os três lasers diminuíram substancialmente a população das bactérias nas paredes dentinárias, porém o melhor resultado foi obtido com o laser de Er:YAG seguido pelo Nd:YAG e Ho:YAG.

Quando investigaram o efeito bactericida do laser de Er:YAG em bactérias periodontais utilizando baixas energias, Ando et al.(1996) obtiveram resultados efetivos na redução bacteriana em placas de Agar indicando que o laser de Er:YAG é capaz de provocar uma redução de bactérias não necessitando a utilização de altas energias o que poderia acarretar um aumento de temperatura nos tecidos tratados.

Jelínková et al. (1999) comparando o efeito bactericida em canais radiculares utilizando o laser de Er:YAG e Alexandrita, observaram que a radiação do laser de Er:YAG foi totalmente absorvida pelas paredes dentinárias do canal radicular não havendo aumento de temperatura na parte externa da raiz o que ocorreu com o laser de Alexandrita. Na análise de redução bacteriana quando se utilizou parâmetros de 90mJ de energia, 30 pulsos e 1Hz com o laser de Er:YAG, observou-se a efetividade deste laser em destruir todas as bactérias em toda a superfície nas quais os microorganismos estavam presentes. Isto ocorreu porque a presença da hidroxiapatita contida na dentina, desencadeia uma total absorção do laser de Er:YAG nas paredes do canal radicular. A efetiva redução bacteriana superficial pode ser realizada pelo efeito acumulativo de múltiplos pulsos os quais podem ser separados por intervalos de tempo suficientes, prevenindo o acúmulo de calor.

O presente estudo mostrou que o laser de Er:YAG foi eficaz na eliminação de todas as bactérias que eventualmente poderiam estar na superfície dentinária das cavidades após preparo cavitário. Comparado ao grupo controle onde em 3 das 15 amostras coletadas apresentaram crescimento bacteriano, o laser de Er:YAG, dentro dos parâmetros utilizados (60mJ – 10Hz), foi efetivo provando ter um grande potencial bactericida comparado ao dígluconato de clorexidina a 2%, utilizado no grupo controle.

## **CONCLUSÕES**

## 7. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados do presente estudo podemos concluir:

1) O laser de Er:YAG, dentro dos parâmetros utilizados, se mostrou efetivo na redução de microorganismos na superfície de todos os dentes após condicionamento da dentina varrendo-se a cavidade com a fibra óptica 50/10, acoplada na peça de mão 2055 (Kavo Key Laser), sugerindo ser este laser eficaz na limpeza e redução bacteriana das cavidades após preparo cavitário, permitindo um prognóstico favorável nos procedimentos restauradores.

2) O digluconato de clorexidina a 2%, utilizado para limpar e reduzir as bactérias após remoção total de tecido cariado, foi ineficaz somente em 20% das amostras de dentina as quais apresentaram um crescimento bacteriano significativo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AKPATA, E.S.; BLECHMAN, H. Bacterial invasion of pulpal dentin wall in vitro. **J Dent Res**, v. 61, n. 2, p. 435-438, 1982.
2. ANDO, N.; HOSHINO, E. Predominant obligate anaerobes invading the deep layers of root canal dentine. **Inter Endod J**, v. 23, n. 1, p. 20-27, Jan., 1990.
3. ANDO, Y.; AOKI, A.; WATANABE, H.; ISHIKAWA, I. Bactericidal effect of Erbium YAG laser on periodopathic bacteria. **Lasers Surg Med**, v. 19, p. 190-200, 1996.
4. AOKI, A.; ISHIKAWA, I.; YAMADA, T.; OTSUKI, M.; WATANABE, H.; TAGAMI, J.; ANDO, Y.; YAMAMOTO, H. Comparison between Er:YAG laser and conventional technique for root caries treatment in vitro. **J Dent Res**, v. 77, n. 6, p. 1404-1414, June, 1998a.
5. AOKI, A.; WATANABE, H.; ISHIKAWA, I. Er:YAG clinical experience in Japan: Review of scientific investigations. **Proc SPIE**, v. 3248, p. 40-45, 1998b.
6. ARCORIA, C.; COZEAN, C. Hard-tissue effects using multiple wavelength lasers. 4<sup>th</sup> **Internatinal Congress on Lasers in Dentistry**, p. 131-133, Aug., 1994.
7. BELIKOV, A.V.; MOROZ, B.T.; VLASOVA, S.W. Investigation of bacterial activity in products of destruction of enamel and dentine. **Proc SPIE**, v. 1984, p. 61-66, 1995.

8. BERRUTTI, E.; MARINI, R.; ANGERETTI, A. Penetration ability of different irrigants into dentinal tubules. **Am Assoc of End**, v. 23, n. 12, p. 725-727, 1997.
9. BLAY, C.C.; BLAY, A.; NASCIMENTO, C.M.O.; AZEVEDO, L.H.; EDUARDO, C.P. Comparative analysis of the anti-microbial action of an Erbium:YAG laser and of a drill mounted on a conventional high rotation speed device on carious dentine. **7<sup>th</sup> International Congress on Laser in Dentistry**, July, Belgium, 2000.
10. BLUM, J.Y.; MICHAILESCO, P.; ABADIE, M.J.M. An evaluation of the bactericidal effect of the Nd:YAP laser. **J Endodon**, v. 23, n. 9, p. 583-585, september, 1997.
11. BRANNSTROM, M. Smear layer: Pathological and treatment considerations. **Operative Dentistry**, v.3, p. 35-42, 1984.
12. COFFELT, D.W.; COBB, C.M.; MACNEIL, S.; RAPLEY, J.W.; KILLOY, W.J. Determination of energy density threshold for laser ablation of bacteria. **J Clin Periodont**, v. 24, p. 1-7, 1997.
13. COZEAN, C.; ARCORIA, C.J.; PELAGALLI, J.; POWELL, G.L. Dentistry for the 21<sup>th</sup> century ? Er:YAG laser for teeth. **J Am Assoc**, v. 128, n. 8, p. 1080-1087, Aug., 1997.
14. DAVIES, A. The mode of action of chlorhexidine. **J Period Res**, v. 8, n. 12, p. 68-75, 1973.

15. DOSTÁLOVÁ, T.; JELÍNKOVÁ, H.; KREJSA, O. HAMAL, K.; KUBELKA, J.; PROCHÁZKA, S.; HIMMLOVÁ, L. Dentin and pulp response to Er:YAG laser ablation: A preliminary evaluation of human teeth. **J Clin Laser Med Surg**, v. 15, n. 3, p. 117-121, 1997a.
16. DOSTÁLOVÁ, T.; JELÍNKOVÁ, H.; KUCEROVÁ, H.; KREJSA, O. HAMAL, K.; KUBELKA, J.; PROCHÁZKA, S. Clinical evaluation Er:YAG laser caries treatment. **Proc SPIE**, v. 2973, p. 85-91, 1997b.
17. DOSTÁLOVÁ, T.; JELÍNKOVÁ, H.; HANA, K.; KREJSA, O.; HAMAL, K.; KUBELKA, J.; PROCHÁZKA, S. Er:YAG laser ablation - Evaluation after two year clinical treatment. **Proc SPIE**, v. 3248, p.23-32, 1998.
18. EDUARDO, C.P.; CECCHINI, R.C.M.; CECCHINI, S.C. O papel coadjuvante do Nd:YAG laser na endodontia. Caso clínico. **Rev ABO Nac**, São Paulo, v.1, n.2, p. 102-104, out, 1993.
19. FARDAL, O.; TURNBULL, R.S. A review of the literature on use of chlorhexidine in dentistry. **JADA**, v. 112, p. 863-869, June, 1986.
20. FISHER, F.J. The viability of micro-organisms in carious dentine beneath amalgam restorations. **Br Dent J**, v. 126, p. 355-356, april, 1969.
21. FREIRE JUNIOR, O.; CARVALHO NETO, R. O universo dos quanta: Uma breve história da física moderna. São paulo, **Editora FDT S.A.**, 1997.
22. GIMBLE, C.; HANSEN, R.; SWETT, <sup>a</sup>; WINN, D.; PELAGALLI, J.; COZEAN, C. Er:YAG clinical studies for hard tissue applications. **4<sup>th</sup> Inter Congress on Lasers in Dentistry**, p. 267-271, aug., 1994.

23. GLOCKNER, K.; RUMPLER, J.; EBELESEDER, K.; STADTLER, P. Intrapulpal temperature during preparation with the Er:YAG laser compared to the conventional burr: An in vitro study. **J Clin Laser Med Surg**, v. 16, n. 3, p. 153-157, 1998.
24. GOLDMAN, L; GRAY, J.A.; GOLDMAN, J.; GOLDMAN, B.; MEYER, R. Effect of laser beam impacts on teeth. **JADA**, v.70, p. 601-606, 1965.
25. GORDON, T.E. Single-surface cutting of normal tooth with ruby laser. **JADA**, v. 74, p. 398-402, feb., 1967.
26. GOUW-SOARES, S.C. Avaliação da redução bacteriana em dentina radicular contaminada irradiada com laser de Ho:YAG. Estudo in vitro. São Paulo, 1998, 141 p. Dissertação (Mestrado em Dentística) - Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.
27. GOUW-SOARES, S.G.; GUTKNECHT, N.; CONRADS,G.; LAMPERT, F.; MATSON, E.; EDUARDO, C.P. The bactericidal effect of Ho:YAG laser irradiation within contaminated root dentinal samples. **J Clin Laser Med surg**, v. 18, n. 2, p. 81-87, 2000.
28. GUTKNECHT, N.; MORITZ, A.; CONRADS, G.; SIEVERT, T.; LAMPERT, F. Bactericidal effect of the Nd:YAG laser in vitro root canals. **J Clin Laser Med Surg**, v. 14, n. 2, p. 77-80, 1996a.
29. GUTKNECHT, N.; KAISER, F.; HASSAN, A.; LAMPERT, F. Long-term clinical evaluation of endodontically treated teeth by Nd:YAG lasers. **J Clin Lasers Med Surg**, v. 14, n. 1, p. 7-11, 1996b.

30. GUTKNECHT, N.; GOGSWAARDT, D.V.; CONRADS, G.; APEL, C.; SHUBERT, C.; LAMPERT, F. Diode laser radiation and its bactericidal effect in root canal wall dentin. **J Clin laser Med Surg**, v. 8, n. 2, p. 57-60, 2000.
31. GWINNET, J. Smear layer: Physiological considerations. **Operative Dentistry**, v. 3, p. 13-29, 1984.
32. HAAPASALO, M.; ORSTAVIK, D. In vitro, infection and disinfection of dentinal tubules. **J Dent Res**, v. 66, n. 8, p. 1375-1379, 1987.
33. HIBST, R.; KELLER, U. Experimental studies of the application of the Er:YAG laser on dental hard substances: I. Measurement of the ablation rate. **Lasers Surg Med**, v. 9, p. 338-344, 1989.
34. HIBST, R.; KELLER, U. Dental Er:YAG laser application: Evaluation of thermal side effects. **Proceedings... Salt Lake City: Internatinal Society of Lasers in Dentistry**, p.231-232, 1992a.
35. HIBST, R.; KELLER, U. Dental Er:YAG laser application: Effect of water spray on ablation. **Proceedings... Salt Lake City: Internatinal Society of Lasers in Dentistry**, p. 229-230, 1992b.
36. HIBST, R.; STOCK, K.; GALL, R.; KELLER, U. Controlled tooth surface heating and sterilization by Er:YAG laser radiation. **Proc Laser Applic. Med Dent**, v.2922, p.119-126, Sep, Austria, 1996.
37. HOSSAIN, M.; NAKAMURA, Y.; YAMADA, Y.; KIMURA, Y.; NAKAMURA, G.; MATSUMOTO, K. Ablation depths and morphological changes in human enamel and dentin after Er:YAG laser irradiation with or without water mist. **J Clin Laser Med Surg**, v. 17, n. 3, p. 105-109, 1999.

38. JELÍNKOVÁ, H.; DOSTÁLOVÁ, T.; DUSKOVÁ, J.; KRÁTKY, M.; MIYAGI, M.; SHOJI, S.; SULC, J.; NEMEC, M. Er:YAG and Alexandrite laser radiation propagation in root canal and its effect on bacteria. **J Clin Laser Med Surg**, v. 17, n. 6, p. 267-272, 1999.
39. KAYANO, T.; OCHIAI, S.; KIYONO, K.; YAMAMOTO, H.; NAKAJIMA, S.; MOCHIZUKI, T. Effect of Er:YAG laser irradiation on human extracted teeth. **J Clin Laser Med Surg**, v. 13, n. 2, p. 147-150, Apr., 1991.
40. KELLER, U.; HIBST, R. Experimental studies of the application of the Er:YAG laser on dental hard substances: II light microscopic and SEM investigations. **Lasers Surg Med**, New York, v. 9, p. 345-351, 1989.
41. KELLER, U.; HIBST, R. Erbium:YAG laser in caries therapy: Indications and first clinical results. **ISLD**, p. 151-152, 1992.
42. KELLER, U.; HIBST, R. Er:YAG laser effects on oral hard and soft tissues. In: MISERENDINO, L.J.; PICK, R.M., eds **Lasers in Dentistry**, Chicago: Quintessence, cap. 11, p. 161-171, 1995.
43. KLINKE, T.; KLIMM, W.; GUTKNECHT, N. Antibacterial effects of Nd:YAG laser irradiation within root canal dentin. **J Clin Laser Med Surg**, v. 15, n. 1, p. 29-31, 1997.
44. KOBAYASHI, K.; KIMURA, Y.; MATSUMOTO, K.; TAKEUCHI, T.; IKARUGI, T.; SHIMIZU, T.; SAITO, K. Pulsed Nd:YAG laser application to one-visit treatment of infected root canals in dogs: A histopathological study. **J Clin Lasers Med Surg**, v. 16, n. 4, p. 217-221, 1998.

45. KOUCHI, Y.; NINOMIYA, J.; YASUDA, H.; FUKUI, K.; MORIYAMA, T.; OKAMOTO, H. Location of *Streptococcus mutans* in the dentinal tubules of open infected root canals. **J Dent Res**, v. 59, n. 12, p. 2038-2046, dec., 1980.
46. LANGELAND, K. Management of the inflamed pulp associated with deep carious lesions. **J Endod**, v. 7, n. 4, p. 169-181, apr., 1981.
47. LEUNG, L.R.; LOESCHE, J.W.; CHARBENEAU, T.G. Effect of dycal on bacteria in deep carious lesions. **JADA**, v. 100, p. 193-197, feb., 1980.
48. LI, Z.Z.; CODE, J.E.; VAN DE MERWE, W.P. Er:YAG laser ablation of enamel and dentin of human teeth: Determination of ablation rates at various fluences and pulse repetition rates. **Lasers Surg Med**, v. 12, n. 6, p. 625-630, 1992.
49. MEHL, A.; FOLWACZNY, M.; HAFFNER, C.; HICKEL, R. Bactericidal effects of 2,94 $\mu$ m Er:YAG laser radiation in dental root canals. **J Endod**, v. 25, n. 7, p. 490-493, Jul., 1999.
50. MERYON, S.D.; BROOK, A.M. Penetration of dentine by three oral bacteria in vitro and their associated cytotoxicity. **Intern Endod J**, v. 23, p. 196-202, 1990.
51. MISERENDINO, L.J.; COZEAN, C.D. Histologic results following in-vivo cavity preparation with an Er:YAG laser. **Proc SPIE**, v. 3248, p. 46-50, 1998.
52. MORIOKA, T. Drilling of dental hard tissues by a irradiation of Erbium:YAG laser. **Oogaki women's Junior Coll Res Bull**, n. 35, p. 51-56, 1994.
53. MORITZ, A.; DOERTBUDAK, O.; GUTKNECHT, N.; GOHARKAY, K.; SCHOOP, U.; SPERR, W. Nd:YAG laser irradiation of infected root canals in combination with microbiological examinations. **JADA**, v. 128, p. 1525-1530, nov., 1997a.

54. MORITZ, A.; GUTKNECHT, N.; GOHARKHAY, K.; SCHOOP, U.; WERNISCH, J.; SPERR, W. In vitro irradiation of infected root canals with a diode laser: Results of microbiologic, infrared spectrometric, and stain penetration examinations. **Quintessence Int**, v. 28, n. 3, p. 205-209, 1997b.
55. MORITZ, A.; SCHOOP, U.; GOHARKHAY, K.; JAKOLITSCH, S.; KLUGER, W.; WERNISCH, J.; SPERR, W. The bactericidal effect of Nd:YAG, Ho:YAG, and Er:YAG laser irradiation in the root canal: An in vitro comparison. **J Clin Laser Med Surg**, v. 17, n. 4, p. 161-164, 1999.
56. NISENGARD, R.J.; NEWMAN, M.G. Microbiologia oral e imunológica, 2<sup>o</sup> Edição, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1997.
57. OKAMOTO, H.; IWASE, T.; MORIOKA, T. Dye-mediated bactericidal effect of He-Ne laser irradiation on oral microorganisms. **Lasers Surg Med**, v. 12, p 450-458, 1992.
58. ORSTAVIVIK, D.; HAAPASALO, M. Desinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. **Endod Dent traumatol**, v. 6, n. 4, p. 142-149, aug., 1990.
59. PAGHDIWALA, A.F. Application of Erbium:YAG laser on hard dental tissues: Measurement of the temperature changes and depths of cut. **Laser Research in Medicine, Surgery and Dentistry**, v.64, p. 192-201, 1988.
60. PASHLEY, D.H. Smear layer: Physiological considerations. **Operative dentistry**, v. 3, p. 13-29, 1984.

70. TAKEDA, F.H.; HARASHIMA, T.; ETO, J.N.; KIMURA, Y.; MATSUMOTO, K. Effect of Er:YAG laser treatment on the root canal walls of human teeth: An SEM study. **Endod Dent traumatol**, v. 14, n. 16, p. 270-273, Dec., 1998.
71. TANJI, E.Y. Alterações morfológicas do esmalte e dentina de cavidades classe I preparadas com laser de Er:YAG-estudo in vitro. **São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP. 76p. Dissertação (Mestrado em Dentística) Faculdade de Odontologia, USP, 1998.**
72. THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. Tratado de cariologia , **Rio de Janeiro: Cultura Médica, 1998.**
73. VAHDATY, A.; PITT, F.; WILSON, R.F. Efficacy of chlorhexidine in disinfecting dentinal tubules in vitro. **Endod Dent traumatol**, 1993, v. 9, p. 243-248, 1993.
74. WIGDOR, H.; ABT, E.; ASHRAF, S.; WALSH, J.T. The effect of lasers on dental hard tissues. **JADA**, v. 124, n. 2, p. 65-70, Feb., 1993.
75. WIGDOR, H.; WALSH, J.T.; CUMMINGS, J.P. New method for determination of ablation of dental hard tissue with the Er:YAG laser. **Proc SPIE**, 1993a.
76. WIGDOR, H.; WALSH, J.T.; VISURI, S.R. Thermal effect of Er:YAG laser radiation on dental hard tissues. **Proc SPIE**, v. 2080, p. 26- 32, 1993b.
77. WILSON, M. Bactericidal effect of laser light and its potencial use in the treatment of plaque-related diseases. **Int Dent J**, v. 44, p. 181-189, 1994.



M22290



***Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares***  
Av. Prof. Lineu Prestes, 2242 - Cidade Universitária - CEP 05508-000  
Fone (0XX11) 3816-9000 - Fax (0XX11) 3812-3546  
SÃO PAULO - São Paulo  
[Http://www.ipen.br](http://www.ipen.br)

O Ipen é uma autarquia vinculada à Secretaria de Ciência, Tecnologia e Desenvolvimento Econômico do Estado de São Paulo, gerida técnica, administrativa e financeiramente pela Comissão Nacional de Energia Nuclear e associada à Universidade de São Paulo para fins de ensino de Pós-Graduação.