



BR0645258

INIS-BR-3979



AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE  
DE SÃO PAULO

**LASER E DIAGNÓSTICO DE CÁRIES: ESTADO DA ARTE  
E AVALIAÇÃO *IN VITRO* DAS DIFERENÇAS DE  
FLUORESCÊNCIA ENTRE ESMALTE SADIO, CARIADO E  
*DESMINERALIZADO***

**MARIA ANGÉLICA LOPES CHAVES MENDONÇA**

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

Orientadora:

Profa. Dra. Martha M.F. Vieira

Co-Orientador:

Prof. Dr. Carlos de Paula Eduardo

**São Paulo  
2001**



INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES

FACULDADE DE ODONTOLOGIA

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

**LASER E DIAGNÓSTICO DE CÁRIES: ESTADO DA ARTE  
E AVALIAÇÃO *IN VITRO* DAS DIFERENÇAS DE  
FLUORESCÊNCIA ENTRE ESMALTE SADIO, CARIADO E  
*DESMINERALIZADO*.**

**MARIA ANGÉLICA LOPES CHAVES MENDONÇA**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos  
para a obtenção do Grau de Mestre Profissional  
área de concentração em LASER em Odontologia.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Martha M F Vieira

Co-orientador: Prof. Dr. Carlos de Paula Eduardo

SÃO PAULO

2001



## AGRADECIMENTOS

*Em primeiro lugar à Deus e  
à todos que de alguma forma colaboraram para a execução desse trabalho  
Agradeço a paciência e o tempo dispensados e principalmente apoio recebido  
À minha orientadora pela sua paciência e atenção  
Ao meu esposo Rubens e minha filha Ana Carolina  
À minha família, sem a qual o meu esforço teria sido em vão, em especial minha  
irmã Rosa, e Rosalia minha tia  
À Profª Drª Hilda Ferreira Cardozo pela atenção e amizade  
À toda a equipe do Mestrado Profissionalizante, em especial Ms. Sandro F. Stolf,  
pela obtenção dos espectros e o Prof. Dr. Armando Mirage, pelo auxílio prestado  
e utilização do LASER de Argônio .  
À Márcia V. M. Missaka, pelo apoio e amizade recebidos*

*Enfim, Muito Obrigada!*

## Lista de Abreviaturas e Siglas

Ar - Argônio

DELFL – Dye Enhancement LASER Fluorescence

Hz – Hertz

J – Joule ( Unidade de Energia)

LF – LASER Fluorescence

mm – milímetro

mJ- miliJoule

nm – nanômetro

% - porcentagem

pH – potencial hidrogeniônico

p – pulso

pps – pulso por segundo

QLF – Quantitative LASER Fluorescence

s – segundo

W – Watt ( Unidade de Potência)

$\lambda$  - Lambda ( Letra Grega referente ao comprimento de onda)

$\mu\text{m}$  – micrômetro

## SUMÁRIO

1. Introdução	1
2 Fundamentos do Projeto	8
2.1 Importância do Estudo	8
2.2 O LASER	9
2.3 LASER de Argônio	16
2.4 Óptica Moderna e Odontologia	17
2.5 Espalhamento da luz no esmalte	18
2.6 Propagação da luz no esmalte e dentina	19
2.7 Espectroscopia	22
3..Objetivos	23
4.Revisão de Literatura	24
5. Materiais e Métodos	36
6. Resultados e Discussão	39
7 Estado da Arte dos Métodos de Diagnóstico	45
8. Conclusão	48
9. Referências Bibliográficas	49

**LASER E DIAGNÓSTICO DE CÁRIES: ESTADO DA ARTE E  
AVALIAÇÃO IN VITRO DAS DIFERENÇAS DE FLOURESCÊNCIA  
ENTRE ESMALTE SADIO, DESMINERALIZADO E CARIADO**

**MARIA ANGÉLICA LOPES CHAVES MENDONÇA**

**RESUMO**

O objetivo desse estudo foi avaliar as diferenças na espectroscopia de emissão de fluorescência entre esmalte sadio, submetido à solução desmineralizadora e cariado, além de estabelecer o estado da arte dos métodos de diagnóstico de cárie que utilizam de luz LASER. A QLF, a LF e a DELF, têm a finalidade de quantificar a perda mineral em lesões iniciais a fim de fornecer ao clínico as informações de que precisa para decidir a medida terapêutica adequada para cada caso em particular. Foi constatado que todos os métodos mencionados apresentaram desempenho satisfatório no tocante à especificidade e sensibilidade, especialmente quando usados associadamente para o diagnóstico de cáries. Foram observados experimentalmente três grupos de dentes humanos extraídos (sadios, cariados e desmineralizados). Os resultados mostraram que o pico de emissão de fluorescência do esmalte sadio é visivelmente maior que o do esmalte cariado, o mesmo ocorrendo entre esmalte desmineralizado e cariado.

**LASER AND CARIES DIAGNOSIS THE STATE OF THE ART AND EVALUATION  
IN VITRO OF THE DIFFERENCES OF THE FLOURESCENCE BETWEEN SOUND,  
CARIOUS AND DEMINERALISED ENAMEL**

**MARIA ANGÉLICA LOPES CHAVES MENDONÇA**

**ABSTRACT**

The aim of this study was to evaluate the methods for establishing dental caries diagnosis that make use of LASER light as source of illumination, establishing the "state of art". Experimental observation of the differences among fluorescence of sound, demineralised and carious enamel by visible luminescent spectroscopy was also done. Six human teeth, extracted for clinical reasons were studied, and the results showed that the spectrum of carious enamel is different from the sound and demineralized ones. The differences are more evident relative to sound enamel and carious enamel, the same occurring between demineralized and carious enamel.

The review of the literature aimed to make comparative considerations between QLF, LF and DELF; their effectiveness relative to traditional methods such as visual, visual with probe, radiography. It was verified that DELF was more sensitive, but could not discriminate between different degrees of mineral loss. QLF, compared to DIAGNOdent has the same sensitivity, but it is better for scientific purposes.

The experimental part of the present study used an argon ion LASER to illuminate the teeth and signs of emission of fluorescence were captured by a PMT and then analyzed by a computer system with EG&G software. *The results showed that the spectrum of carious enamel is different from the sound and demineralized. The differences are more evident in relation to sound and carious enamel, the same occurs between demineralized and carious enamel.*

## 1.INTRODUÇÃO

A palavra diagnóstico é derivada do grego, dia (através) e gnosis (conhecimento), ou seja, somente através do suficiente conhecimento dos componentes da doença, expressos por sinais e sintomas, que a entidade à qual eles pertencem pode ser identificada e um diagnóstico ser estabelecido. Deve, portanto, ser evidente que um conhecimento completo dos fatores responsáveis pela etiologia e patogênese da doença é tão importante quanto aqueles que permitem a identificação dessa doença (GRONDAHAL H J, 1988).

Nas últimas décadas, os fatores envolvidos no processo da doença cárie, têm sido universalmente aceitos de maneira mais simplificada com a chamada tríade de Keyes, que ilustra a interação dos três fatores principais: o hospedeiro (dentes e saliva), a microbiota e a dieta . Muitas tentativas para a modificação dos fatores que levam à cárie dental foram realizadas, ao mesmo tempo que os estudos concluíram que o desenvolvimento dos sinais e sintomas envolvem uma ampla variedade de mudanças, que vão desde a dissolução submicroscópica individual dos cristais de hidroxiapatita até o aparecimento da lesão de cárie visível. Tudo isso tem direcionado os profissionais para uma maior compreensão da natureza dinâmica do processo carioso (THYLSTRUP A. & FEJERSKOV, 1998).

Com o advento da utilização do flúor na água de abastecimento e o uso de fluoretos em dentifrícios. Especialmente em países desenvolvidos, o perfil da cárie dentária vem se modificando, tanto no seu diagnóstico como na sua progressão. Anteriormente ao flúor, a cárie evoluía rapidamente desde uma

desmineralização inicial até uma cavidade aberta, e como consequência, seu prognóstico era mais sombrio (STOOKEY et al; 1999). Isso muitas vezes deixava os clínicos bem mais propensos à prática restauradora, muitas vezes em detrimento da prevenção. O efeito do flúor na redução de cáries, quando incorporado na água de abastecimento, como foi descoberto por DEAN et al, 1934, teve seu uso clínico implementado já em 1942 com a fluoretação das águas de abastecimento nos Estados Unidos, e desde a década de 80 no Brasil. O conceito de des/remineralização, tornou-se importante na determinação do passo clínico a ser dado, ou seja, se a lesão deve ou não ser restaurada( ANGMAR-MANSSON et al;1998; DODDS M.; 1993; HUME et al; 1993); uma vez que a progressão da doença cárie ficou mais lenta. Nesse contexto, um método de diagnóstico que nos permita detectar a doença em sua fase mais inicial, tornou-se ferramenta de extrema importância, para que todas as mudanças patológicas atribuídas à referida doença possam ser determinadas do início da desmineralização até o ponto onde a lesão seja reversível, ou seja, passível de remineralização. Segundo STOOKEY et al, 1999, nenhum dos métodos atuais de diagnóstico possibilita a avaliação da dinâmica da cárie, incluindo o estágio de reversibilidade ou não da lesão. Apesar das várias opiniões de quando o tratamento restaurador deva ser escolhido, parece ser acordo geral que a presença de cavitação clinicamente detectável, na maioria dos casos, requer a confecção de uma restauração. A radiografia não proporciona uma informação definida se a cavidade está presente ou não (BILLE, J& THYLSTRUP,A,1982.), contudo a probabilidade de ocorrer uma cavitação aumenta com a extensão radiográfica da lesão.

Desse modo os dentistas são forçados a avaliar o processo, que é dinâmico, por uma variável dicotômica de presença ou não de cárie, usando critérios clínicos, como dureza do tecido, resistência, enfim métodos de caráter muitas vezes subjetivo.

Os métodos de diagnóstico, segundo THYLSTRUP (1988), no manejo da cárie, servem a diferentes propósitos:

- ◇ Determinar a presença da doença e sua extensão em um paciente suspeito.
- ◇ Permitir a escolha da alternativa de tratamento mais indicada para a obtenção do melhor prognóstico.
- ◇ Monitorar o curso da doença e avaliar a eficiência do tratamento.
- ◇ Determinar a presença de fatores que possam favorecer o estabelecimento e a progressão das cáries.

Segundo ANDO *et al*, 1997, os métodos clínicos atuais de diagnóstico possuem limitações em no mínimo três aspectos :

1. Habilidade de detectar as cáries em um estágio considerado avançado (Gwinnett, 1971).
- 2 Não avaliam com precisão a quantidade de perda mineral;
- 3 Eles têm dificuldade em observar pequenas perdas na quantidade mineral ocorridas como resultado de desmineralização e/ou remineralização.

Uma pré condição necessária para que um método diagnóstico tenha valor é que possa influenciar na decisão terapêutica e seu uso clínico deve superar qualquer risco associado ao paciente. Outros fatores como custo monetário, o desconforto do paciente, entre outros, devem ser avaliados. Uma das propriedades de método de diagnóstico é a capacidade de separar os casos

onde exista ou não a doença e distinguir seus diferentes estágios . A precisão também é um referencial da habilidade do método em prover um diagnóstico que corresponda ao verdadeiro estado do paciente, por exemplo, num teste dicotômico - aquele que separa a população avaliada em um grupo no qual a doença está presente e outro no qual está ausente - pode ser representado numericamente através de uma tabela dois por dois, a partir de onde pode-se ver o número de diagnósticos positivos verdadeiros, e o número de diagnósticos falso positivos, que juntos cobrem todos os casos de interesse em relação à doença. Da mesma forma a fração positiva verdadeira (TPF) somada à fração falso negativa (FNF) é consequentemente igual à unidade. Igualmente a fração falso positiva (FPF) adicionada à fração negativa verdadeira (TNF) é igual à unidade. Portanto basta a doença para conhecer-se todas as frações uma vez que :  $FPF+FNF=1$  e  $FPF+TNF=1$ . Cada uma dessas frações representa uma estimativa de probabilidade de um determinado diagnóstico do estado da doença ou saúde; por exemplo  $TPF=0.8$ , para um determinado método diagnóstico, é a probabilidade de 80% que uma decisão positiva de diagnóstico será tomada, para um caso realmente positivo. Isso significa que cada fração representa uma probabilidade condicional, ou seja, é condicional em relação à presença ou ausência da doença ou estado de doença sobre o qual estamos interessados. A tabela exemplifica os dados acima explanados.

Estado real	Resultado dos testes		Totais
	Positivo(T+)	Negativo (T-)	
Doença Presente (D+)	TPF=0.8	FNF=	1.0
Doença Ausente (D-)	FPF=	TNF=0.9	1.0

**Tabela 1** – Uma tabela dois por dois em que os valores de sensibilidade, TPF, são colocados. Os dois valores que faltam, podem ser facilmente calculados uma vez que  $FNF=1$  e  $TPF=1-TNF$  (THYLSTRUP A & FEJERSKOV O; Cap.2, pag. 9 Tratado de Cariologia, 1986).

Outra representação gráfica do método diagnóstico é a curva ROC, que é chamada CURVA CARACTERÍSTICA DE AÇÃO RECEPTORA, onde os valores de FP (Falsos Positivos) tem suas resultantes representadas graficamente nessa curva, pois às vezes nos defrontamos com métodos diagnósticos que não nos dão um simples sim ou não como resposta, ou seja que podem prover valores dentro de uma escala contínua de resultados possíveis. Desse modo, um critério menos rigoroso resultaria em um ponto na parte mais superior da curva e na medida que o critério for mais rígido, o ponto de operação desloca-se para as partes mais inferiores da curva. O receptor da informação pode operar em diferentes pontos ao longo da curva, que por sua vez descreve as combinações que podem ser feitas entre TPF e FPF, ou em outras palavras, que FPF temos que aceitar para obter um TPF específico. Exemplificando, alguns métodos diagnósticos, como as radiografias, dão resultados que devem ser julgados subjetivamente; a curva ROC então descreve performance da combinação do observador – a posição na curva depende tanto da qualidade da radiografia quanto da qualidade do observador ( THYLSTRUP et al: Tratado de Cariologia, p.7, 1988).

Nos últimos anos, uma mudança no uso de critérios de decisão em diagnóstico de cáries, tem ocorrido em muitos países, tornando-se mais estritos no que respeita fazer ou não uma restauração a partir de uma lesão observada radiograficamente. Isso tem sido atribuído, como acima foi descrito, a um declínio na prevalência da cárie e a um aumento das medidas preventivas, que tornaram a doença não tratada menos grave. Os métodos de auxílio diagnóstico mais utilizados, como radiografias, não são capazes de distinguir uma lesão inicial de uma cavitação; por isso têm havido muitos esforços para se realizar um diagnóstico precoce de cárie (LUSSEI; *et al*, 1991).

PITTS, 1996, refere que é importante considerar que a *conduta do clínico não esteja apenas concentrada na detecção de novas tecnologias e seu desempenho sem levar em consideração sua integração nas estratégias de tratamento do risco de cárie do seu paciente.*

O aumento da utilização da radiação LASER, tanto nos estágios iniciais de pesquisa, inicialmente financiada totalmente com interesses na indústria bélica, no início da década de 70 (Roberts; A.M. & Stewart; H; 1971) e atualmente na produção de artefatos médico-odontológicos, têm implicações de caráter importante na Saúde Pública. Cabe ao fabricante a classificação do dispositivo LASER, e relação aos danos biológicos potenciais que podem ser causados quando da exposição direta ao feixe, e principalmente lesões que podem ocorrer na retina. O foco do feixe LASER em olhos desprotegidos, mesmo quando da utilização de LASER de baixa potência, como no caso do DIAGNOdent, pode acarretar danos à retina, mesmo quando utilizados na densidade de potência de aproximadamente  $0.06\text{mW/cm}^2$ . Um exemplo para exemplificar esse risco, é o

uso das ponteiros LASER de, por exemplo He-Ne, de classe I, considerado, seguro, com os parâmetros de utilização de:

CW potência: 1mW

Diâmetro do feixe: 1 mm

Comprimento de onda: 632,8 nm

A densidade de potência calculada a um metro de distância desse LASER seria de  $32 \text{ mW/cm}^2$ , ou seja, muitas ordens de grandeza maiores que os parâmetros acima descritos (Roberts & Stewart, 1971). A Conferência Governamental Americana da Indústria Higienista (ACGIH) recomenda a remoção de objetos da direção de propagação do feixe LASER, para evitar possíveis reflexões acidentais, já que os raios refletidos têm aproximadamente a mesma intensidade que o próprio raio incidente (Roberts & Stewart, 1971).

A ferramenta de diagnóstico ideal de uma lesão inicial deve ser aquela que permita o monitoramento dessa lesão ao longo do tempo para se quantificar e avaliar o sucesso da terapêutica empregada. O exame radiográfico para diagnóstico de cárie, é tão antigo na odontologia como na medicina. Por muitos anos, seus benefícios têm sido apreciados e sua habilidade em detectar lesões escondidas de cárie, especialmente as cáries interproximais, foi muito indicada, especialmente quando a inspeção visual não é conclusiva. O pioneiro na utilização de computadores para armazenar e modificar as imagens de radiografias oclusais, foi KLEIN (1967). A partir de então, uma série de publicações foram feitas a este respeito.

Os malefícios da radiação ionizante, e a modificação da evolução e prevalência da cárie devido ao aumento da disponibilidade do flúor, foram os

grandes catalisadores para o aparecimento das radiografias digitais (DDR- Direct Digital Radiography). Essas radiografias são obtida com o auxílio de uma câmara CCD, dispensam a utilização de filmes radiográficos e diminuem a quantidade de radiação ionizante, além de diminuir a necessidade de manipulação da imagem (STOOKEY et al, 1999) . WENZEL et al, 1995 observaram que esse método de digitalização de imagens radiográficas possuem desempenho satisfatório de sensibilidade e especificidade (0.6 -0.8). Entretanto, o monitoramento do processo de cárie, sugere que para uma terapia expectante, muitas tomadas radiográficas deveriam ser feitas para auxiliar a decisão terapêutica. Do ponto de vista ético, aumentaria o risco do paciente aos malefícios da radiação ionizante

Os dentistas são treinados, quando diagnosticam cáries incipientes, a utilizar inicialmente a inspeção visual; dessa forma as pesquisas devem se concentrar na complementação dessa inspeção visual(STOOKEY *et al*, 1999, ZÁRATE-PEREIRA *et al*, 2000). Um desses complementos é a quantificação da imagem óptica ou de seus componentes. Atualmente os estudos e os aparatos clínicos concentram-se em avaliar qual a melhor ferramenta clínica de auxílio diagnóstico, e o LASER representa um avanço tecnológico na área dos chamados métodos ópticos de diagnóstico de cárie.

## 2. FUNDAMENTOS DO PROJETO

### 2.1. Importância do Estudo

O cirurgião-dentista, hoje em dia tem a necessidade de ter um profundo conhecimento da importância relativa dos fatores do ambiente oral que governam o desenvolvimento e a progressão de cáries, para ser capaz de escolher a medida mais adequada para o controle da progressão da doença em determinado paciente.

Sob o ponto de vista clínico, a razão de se fazer o diagnóstico é para permitir a escolha do mais apropriado método de tratamento. Os métodos de diagnóstico e a forma como as informações diagnósticas são usadas devem ser continuamente adaptadas para o desenvolvimento de novas formas de tratamento (THYLSTRUP, A., Tratado de Cariologia, cap.15, p. 224,1988) . O tratamento conservador de uma lesão inicial de cárie, com medidas preventivas não-invasivas, é decorrente do marcante decréscimo da prevalência e freqüência da citada patologia (GRANATH, L, et al,1980). Para tanto tornou-se necessário o desenvolvimento de ferramentas de auxílio diagnóstico que se adequassem a essa nova realidade, ou seja que fossem capazes de mensurar as mudanças mais iniciais da estrutura do esmalte passíveis de evoluírem para cavitação, de modo que as medidas preventivas pudessem ser iniciadas antes que o processo carioso se tornasse irreversível. A literatura mostra diversas pesquisas *in vitro* e *in vivo* de novos métodos de diagnóstico. Para o presente interessa avaliar os métodos ópticos de diagnóstico que se utilizam de luz LASER.

## 2.2. O LASER

### A. LASERs e suas propriedades

#### *Princípios básicos de um LASER*

#### *Noções da história dos LASERs*

A palavra **LASER** vem de um acrônimo do termo **Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation**, ou seja, amplificação da luz por emissão estimulada de radiação, o que traduz o princípio físico que permitiu a criação inicialmente dos Masers e posteriormente dos LASERs. O conceito de emissão estimulada de radiação foi inicialmente postulado por Alberto Einstein em 1917; Townes, partindo desse princípio desenvolveu um Maser (amplificação de microondas por emissão estimulada de radiação), e em 1958 Shawlow e Townes propuseram estender os princípios dos Masers para a região visível do espectro eletromagnético. Em 1964, o LASER contemporâneo foi obtido pelos cientistas C.H. Townes, norte americano, Nikolai G. Besov e Alexander M. Prochrov, soviéticos, os quais receberam o prêmio Nobel de Física em 1964 (Freire Jr. e Carvalho Neto em "O Universo dos Quanta" 1997). Mas, foi Theodore Maiman (nascido em 11 de Julho de 1927) quem construiu o primeiro *maser* ótico e o nome foi trocado para "LASER" ("Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation"), Em Julho de 1960 Maiman anunciou o funcionamento do primeiro *LASER* cujo meio ativo era um cristal de rubi. O rubi é um cristal de óxido de alumínio contendo um pouco de cromo, que forma o meio ativo: são eles que geram a luz *LASER* por emissão estimulada de fótons. Eles são excitados por uma luz externa muito intensa (flash). O LASER de rubi é um sistema de três

níveis: a luz externa excita o átomo de cromo do estado fundamental para um estado excitado de vida curta. Desse estado excitado o átomo decai para outro estado de menor energia. A diferença de energia é dissipada na forma de vibrações no cristal de rubi. Esse segundo estado excitado é meta-estável, portanto, conveniente para ser usado na ação *LASER* (fig. 1).

Os princípios básicos para o funcionamento de um LASER são;

- Meio Ativo ou amplificador- coleção de átomos, moléculas ou íons que emitem radiação na parte óptica do espectro eletromagnético.
- Inversão de população: gerada por um processo de excitação que leva as referidas partículas do estado de menor energia, estado fundamental, para o chamado estado excitado, geralmente por meio de bombeamento.

Cavidade óptica: necessária para que ocorra uma oscilação LASER. Esse tipo

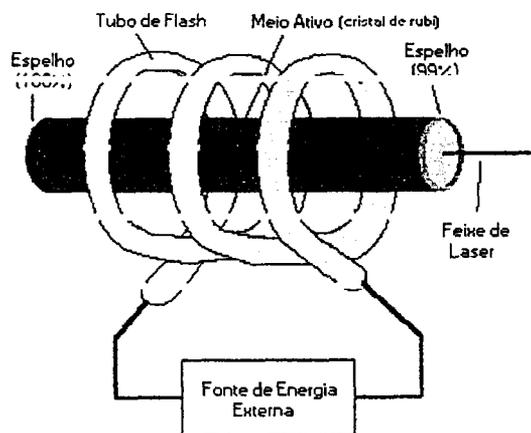


Figura1 esquematiza o LASER de rubi desenvolvido em 1960

de oscilação LASER ocorre em um ressonador, onde se encontram um espelho totalmente refletor e outro parcialmente refletor por onde o feixe sai da cavidade.

### **Meio de Ganho**

Um meio LASER ativo, é aquele que tem coeficiente de ganho positivo, ou seja, um meio ativo que tem uma coleção de átomos, ou moléculas, ou íons, que emitem radiação na parte óptica do espectro. O meio de ganho, provê as condições de amplificação da radiação possuindo inversão de população e transições ópticas com probabilidades não nulas.

Para se entender os mecanismos de transições ópticas e meio de ganho positivo, é necessário que se recordem alguns mecanismos de interação da luz com a matéria: absorção, emissão espontânea e emissão estimulada.

Num sistema físico em equilíbrio termodinâmico, no seu estado de menor energia, dizemos que ele está no seu estado fundamental. Se um de seus elétrons muda para uma órbita mais externa, adquirindo energia, ele passa para o estado chamado estado excitado. Esta excitação pode se dar por absorção de um fóton de energia ressonante. O processo de absorção é estimulado pelo campo eletromagnético externo. Os níveis energéticos superiores são menos estáveis de forma que o sistema tende a se desexcitar, podendo emitir um fóton. A emissão, assim como a absorção, pode ser estimulada, a diferença é que a emissão estimulada é coerente, unidirecional, monocromática.

O material ativo pode ser um sólido, líquido ou um gás; no caso do sólido, pode ser um cristal de alumínio, contendo íons cromo trivalentes ( $\text{Cr}^{3+}$ ). Os íons de alumínio são substituídos pelo cromo (dopagem). Também se emprega o vidro como meio ativo, por exemplo no caso do LASER de Neodímio (vidro dopado com íons de neodímio). Um terceiro material empregado é o Yttrium Aluminium Garnet

(YAG) que é uma Granada de Ítrio e Alumínio que pode ser dopada por exemplo com Érbrio, ou Neodímio.

Os LASERs líquidos ou de corantes são pouco comuns e ainda são mais usados no âmbito laboratorial de pesquisas. Os LASERs a gás, são mais comuns, seu material ativo é um gás ou mistura de gases, fechados em um recipiente onde as paredes opostas são transparentes e planas. Como exemplo podemos citar o LASER de He-Ne (Hélio –Neônio), o de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), Argônio (que foi utilizado nesse estudo), etc...

### **BOMBEAMENTO**

Nos LASERs a gás praticamente não podem utilizar o bombeamento óptico devido à fraca absorção. O bombeamento nesses casos geralmente ocorre através de descarga elétrica. Outra variedade de bombeamento é o químico, onde as reações químicas é que funcionam como fonte de bombeamento, é o caso do chamamo LASER químicos. Após o bombeamento, a população no nível superior é maior que no nível inferior e é necessário que o sistema possua no mínimo três níveis de energia.

Há dois tipos de sistemas LASER distintos: o de três níveis de energia e o de quatro níveis de energia. A diferença entre os dois sistemas é que no de três níveis, o nível inferior é o próprio estado fundamental E1 (nível terminal de fluorescência). A emissão de fótons ocorre no decaimento de E2 para E1. Dessa forma a inversão de população ocorre entre os níveis E2 e E1, povoando-se o nível E3 através de bombeamento externo. O nível E3, por sua vez se desexcita rapidamente por um processo não radioativo (colisões e vibrações) para o nível

E2 metaestável. Desta maneira necessitamos de um bombeamento muito intenso para manter a população suficiente no nível E2. A desexcitação neste caso é muito rápida devido à comunicação direta deste nível com o estado fundamental. Um exemplo de LASER de três níveis é o de rubi, que opera de maneira contínua.

Para um sistema de quatro níveis não há necessidade de um bombeamento intenso porque o nível E1 possui energia superior ao nível fundamental  $E_0$ . As transferências não radioativas, de E3 para E2 e E1 para  $E_0$  ocorrem rapidamente, fazendo com que o nível E2 (metaestável) seja constantemente repovoado e o E1 permaneça despovoado. Assim sendo, um bombeamento moderado consegue manter a inversão de população. O LASER de neodímio é operado por esse sistema, e de maneira pulsada. Esse sistema possui a vantagem de ter baixo limiar LASER, além de alta eficiência e seu tempo de relaxação térmica é muito menor comparado ao tempo de vida luminescente do material, além da menor quantidade de calor gerada.

Nos LASERs a gás (ex. He-Ne) o sistema com transferência ressonante se assemelha ao de quatro níveis de energia. Nesse caso estes gases contêm altos níveis de energia e em ressonância. Num bombeamento, tanto E3 como E2 são povoados. Na colisão dos átomos do estado metaestável E3 e os átomos de E2, há a permutação de energia diretamente por ressonância. Os átomos de E3 desexcitam-se, levando os elétrons do outro elemento ao estado excitado E2. O nível E1, permanece praticamente vazio por sofrer desexcitação rápida (não radioativa). No caso do He-Ne, os elétrons metaestáveis do Hélio transferem a energia da excitação para o Neônio, a inversão de população se dá espontaneamente.

## FEIXE LASER

A luz LASER consiste de ondas que possuem comprimento de onda específico, ela é portanto, monocromática. Outra propriedade é sua coerência temporal e espacial e a colimação do feixe. Apesar de a luz LASER ser a forma mais colimada de energia eletromagnética conhecida, alguma divergência pode ocorrer. O processo de colimação da luz LASER é feito por lentes e espelhos, os quais regulam o tamanho do foco. O tamanho e a forma das lentes condensadoras determinam a distância focal e o tamanho do spot no ponto focal.

O fator de qualidade de feixe LASER, é uma medida utilizada para classificação do feixe, e é chamado fator  $M^2$ . Também a qualidade da lente e o seu alinhamento fazem diferença; outro fator importante a ser considerado é a forma de entrega de feixe, que pode ser por fibras ópticas, lentes, ponta de contato e braços articulados.

## LASER de Argônio

As primeiras aplicações do LASER de Argônio em dentística restauradora, envolveram iluminação dos dentes para detecção de cáries (ALFANO & YAO, 1981; BJELKHAGEN et al, 1982); também esse LASER é bastante usado para polimerização de compósitos e resinas (BENEDICENTT et al, 1984; 1986, DE MICHELIS et al, 1986) e o Food and Droogs Administration (American Dental Association, 1985) aprovou seu uso para clareamento dentário. Trata-se de um LASER a gás que como poucos é capaz de atingir uma potência de saída de vários watts, operando no modo contínuo, e na porção azul e verde do espectro eletromagnético. Esse sistema de LASER encontra aplicação na excitação da fluorescência dos tecidos, sendo portanto ferramenta de auxílio diagnóstico. O meio ativo do referido LASER é um gás de argônio ionizado, já que o argônio molecular é inerte, e por isso, há dezoito comprimentos de onda possíveis para o argônio ionizado que vão desde 488 nm ao 540 nm. Seu uso cirúrgico, é mais comum no tratamento de desordens vasculares devido à absorção seletiva pela hemoglobina na porção verde do espectro.

## 2.4 Óptica Moderna e Odontologia

As bases que fundamentam a detecção e a quantificação de cáries por métodos ópticos, são as propriedades físicas da lesão de cárie (ANGMAR-MANSSON et al, 1996; TENBOSH 1996). As características ópticas dos tecidos duros dos dentes humanos são de grande interesse na odontologia moderna. Luz de baixa intensidade pode ser usada para o diagnóstico de cáries, e outras doenças ( GRIGORI, et al, Modern Optics and Dentistry; in: LASERS in Dentistry. Miserendino, LJ, Pick, Rm, cap. 19, p.283-297, 1995).

As características ópticas dos tecidos duros devem ser ampliadas para se entender esses novos métodos de auxílio diagnóstico atualmente existentes. Atualmente, não foram estabelecidos modelos teóricos que permitam a descrição precisa das características ópticas dos dentes. Segundo GRIGORY, há três tipos de interações entre a luz e os tecidos duros dos dentes: Linear, não linear e de alta potência. A interação linear (óptica linear) é característica de fluxos de luz fracos. Nesses casos as características ópticas da substância independe da intensidade da luz. Com o aumento da intensidade da luz, a interação entre ela e a substância passa a ser não linear (óptica não linear), o que significa que as características ópticas da substância mudam momentaneamente sob ação da luz, e retornam ao que eram após a irradiação. Um aumento ainda maior da intensidade, como nos casos de interação de alta intensidade, ocorrem mudanças de caráter irreversível com a substância em questão.

## 2.5-Espalhamento da luz na superfície do Esmalte

O espalhamento e a reflexão da luz no esmalte são muito importantes pois, o espalhamento provê informações sobre a estrutura da camada superficial do esmalte, o que facilita o desenvolvimento de técnicas para avaliar com acuidade e medir as condições da superfície do esmalte.

Consideremos um exemplo; a superfície do esmalte irradiada por raio de luz LASER colimado, esse raio vai ser em parte refletido e espalhado para trás, enquanto que uma parte vai ser absorvida na camada superficial ou penetrar mais profundamente (transmitido) no esmalte. O espalhamento para trás, da luz LASER, inclui um componente quasi-colimado (luz refletida) e um componente de propagação com um ângulo limite (luz espalhada). A luz refletida se propaga na direção próxima ao ângulo da reflexão especular. Esse espectro angular é determinado pela curvatura da superfície do esmalte e macrorrugosidades (várias dezenas de micrômetros). Então a distribuição angular da luz refletida pode variar dependendo da localização do raio incidente na superfície do esmalte e do grau de rugosidade superficial do local. O espectro angular da luz refletida pode ser estimado de acordo com a curvatura de superfície do esmalte no referido ponto.

O espalhamento da luz na superfície do esmalte é outra importante consideração. Em uma primeira aproximação, dois componentes podem ser discernidos. O primeiro componente é a porção da luz espalhada na macrorrugosidade de superfície com dimensões que excedem o comprimento de onda do raio incidente. Essa luz tem uma distribuição angular não uniforme. O segundo componente é a porção da luz espalhada das microrrugosidades de

superfície, cujas dimensões são menores que o comprimento de onda do raio incidente, e é chamada luz difusa (GRIGORI,2000)

## **2.6-Propagação da Luz no Esmalte e Dentina**

O estudo da propagação da luz no esmalte e dentina é de grande importância para auxiliar os cientistas a entender as peculiaridades da propagação da luz nos tecidos duros e determinar parâmetros como: índices de transparência, espalhamento e absorção. ALTSHULER & GRISIMOV, 1990 mostraram que devido à variação da transparência da hidroxiapatita, o dente pode ser descrito como um sistema de guias de onda quasi- colineares fortemente justapostos. A população de guias de onda no esmalte e dentina é constituída pelos prismas e substância intertubular na dentina, respectivamente. Esses guias de onda se distinguem das fibras ópticas convencionais por não serem uniformes e consistirem de partículas de espalhamento, tais como os microcristais de hidroxiapatita. Mesmo assim eles possuem as propriedades de guias de onda, por exemplo, a radiação espalhada no esmalte e dentina pode ser atraída por esses guias de onda naturais e transportada da superfície do esmalte até a câmara pulpar.

Recentes estudos das propriedades ópticas da dentina, esmalte, osso, e hidroxiapatita foram feitos utilizando espectrofotometria em comprimentos de onda do 250 ao 2500nm (WIGDOR et al, 1993) e os métodos padrão utilizados no espectrofotômetro se mostraram inadequados devido à perda de luz por espalhamento; desse modo, os autores fizeram uso de outro acessório para obterem resultados.

O esmalte é um tecido extremamente duro composto por estrutura cristalina (90%) de material inorgânico e aproximadamente 3% de matriz orgânica, além de um teor mínimo de água. Vistos a partir de uma secção transversal, em microscopia eletrônica de varredura, os cristais de hidroxiapatita são hexagonais, ovais ou poligonais, e com uma média de diâmetro de 5  $\mu\text{m}$  (COPENHAVEN et al, 1978). No esmalte sadio, o espectro de absorção, transmissão, e reflexão tem seu pico maior ou vales que descrevem o modo pelo qual a luz penetra nos tecidos. No tocante ao espectro de absorção, ele mostra três picos maiores em 283 nm, 1.434 nm, e 1.944 nm, sendo que os dois últimos coincidem com o pico de absorção da água. O perfil do espectro de reflexão e transmissão é quase o inverso do espectro de absorção; desse modo, cada pico na absorção é agora um vale na transmissão e reflexão. A maior absorção no ultravioleta tem aproximadamente o mesmo nível da maior absorção no infravermelho. De acordo com dados publicados, os comprimento de onda entre 2.700 e 2.900 m são fortemente absorvidos pela água e hidroxiapatita. No que concerne às propriedades de transmissão do esmalte na região do espectro eletromagnético do infravermelho distante há dois comprimentos de onda de interesse. O primeiro comprimento de onda é o de 30570 nm que corresponde ao maior pico onde há aproximadamente 100% de transmissão. A transparência do esmalte nesse comprimento de onda pode ser interessante para aplicações em diagnóstico de cáries. O segundo comprimento de onda em 9.410 nm mostra o maior vale de transmissão. A região entre 90000 nm e 10000nm, corresponde a uma forte absorção para a hidroxiapatita e água, além de coincidir com a região em que

opera o LASER de CO<sub>2</sub>, que por sua vez tem um impacto térmico importante no esmalte.

O espectro de absorção da hidroxiapatita apresenta seu maior pico no comprimento de onda de 1.434 nm e picos menores no 1.994 nm, 2.145 nm, e 2410 nm. É importante notar que na região do ultravioleta, a absorção atinge o maior nível, de cerca de 91%, em um comprimento de onda de 250 nm. Portanto comparando o espectro de absorção da hidroxiapatita e o esmalte, vemos que há diferenças significativas entre ambos. Primeiro, há uma diminuição nos picos de absorção da hidroxiapatita em relação ao esmalte; também alguns dos picos menores de absorção da hidroxiapatita, não estão presentes no espectro de absorção do esmalte, no comprimento de onda de 2.145 nm e 2.410 nm. Baseado na literatura, não há evidência que a hidroxiapatita tenha um pico de absorção no comprimento de onda de 1.434 nm, dessa forma mais estudos devem ser feitos nessa área (MISERENDINO, L; & Pick R.: LASERS in Dentistry, p301,1995).

## 2.6-Espectroscopia

A espectroscopia é a técnica utilizada nos processos de absorção, emissão ou espalhamento por átomos ou moléculas ( ou íons moleculares ou atômicos) para estudar qualitativamente ou quantitativamente os átomos ou moléculas ou ainda os processos físicos. A espectroscopia de emissão, foi estudada desde o início do século XIX, e ainda hoje é útil para análise dos elementos constituintes. Os átomos livres, quando absorvem um fóton de energia, vão para o chamado estado excitado, que por sua vez é instável. O decaimento para o estado fundamental se dá com desprendimento de energia, que pode ser por emissão de luz fluorescente. As linhas de emissão formam um padrão que é característico do átomo que o produziu. A presença de um determinado elemento em uma amostra, é indicada pela presença na luz emitida de uma ou mais linhas características. Desse modo, as características do espectro de emissão auxiliam a análise dos elementos da amostra, e a medida das intensidades das linhas de emissão forma a base da análise quantitativa do elemento em questão.

As características do espectro que um átomo produz, refletem a estrutura atômica desse átomo. Para a obtenção dos espectros de emissão ou de absorção, seja de um líquido, sólido ou gás, utiliza-se um aparelho denominado espectrofotômetro, que é constituído pelos seguintes componentes: fonte de luz, materiais ópticos, monocromador, porta-amostras, detetores, processador e armazenador de sinal.

### 3.OBJETIVOS

O propósito do presente trabalho é avaliar o estado da arte dos métodos de diagnóstico que utilizam a luz LASER e realizar um estudo comparativo da fluorescência a LASER do esmalte sadio, cariado e desmineralizado, em molares e premolares extraídos, iluminados pelo LASER de Argônio ionizado, emitindo no comprimento de onda de 488 nm. Os dentes utilizados nesse trabalho foram extraídos por necessidades clínicas, e doados pelo serviço de odontologia da Prefeitura do Município de São Paulo, da Unidade Básica de Saúde do Jardim Vista Alegre.

O protocolo de pesquisa foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa com seres Humanos da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo recebeu parecer favorável. Da mesma forma foi apreciado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, por se tratar de um estudo multicêntrico, onde o parecer final também foi favorável.

#### 4- Revisão de Literatura

BENEDICT, 1928, foi o primeiro a detectar diferenças na fluorescência do esmalte sadio e cariado. Sob iluminação na luz ultravioleta a dentina tem maior brilho que o esmalte; e na presença de lesões iniciais de cárie há uma diminuição dessa fluorescência. A partir desses achados o autor concluiu que tal propriedade da dentina estaria associada com sua fração orgânica. STUTBELL, 1933, investigou a fluorescência dos tecidos dentários no ultravioleta, e em 1933, EINSBERG publicou ser a fluorescência resultante da excitação por luz no visível, azul, uma luz de cor violeta. A utilização de uma câmara CCD para coletar as imagens produzidas por amostras dentárias iluminadas no infravermelho, (LONGBOTTOM *et al*,1994.) utilizando um LASER de diodo emitindo no comprimento de onda de 830 nm foram pouco nítidas, no entanto demonstraram claras diferenças de esmalte e dentina, sadio e cariado, apesar de, segundo os autores, ainda não estar claro qual fenômeno de absorção, espalhamento e fluorescência explicaria esses achados.

FOREMAN, 1980, estudando os componentes responsáveis pela fluorescência da dentina, sugeriu a possibilidade de dois fluoróforos. Um deles tem seu espectro de emissão e excitação concordando com os do triptofano. ALFANO & YAO, 1981, estudando espectroscopia de fluorescência no visível, demonstraram um aumento na diferença da fluorescência entre esmalte sadio e cariado, usando luz visível e comparando com o ultravioleta. O mesmo fenômeno foi observado por SUNDSTRÖEM *et al*,1985, empregando o LASER de Argônio

operando no azul/verde no comprimento de onda na faixa de 488 a 540 nm. Eles concluíram que o comprimento de onda de 488 nm, é o mais adequado para a detecção de lesões iniciais de cárie.

O espectro da reflexão do esmalte sadio e cariado foi comparado para servir de parâmetro na associação com a perda de minerais do esmalte por ANALOUI *et al*, 2000. Esse experimento utilizou um espectrofotômetro com luz difusa, e foram feitas mensurações com intervalos de comprimento de onda de 5nm, do 380 nm até o 780 nm, e todas as mensurações foram corrigidas para compensar o espectro de iluminação. Os resultados foram avaliados no tocante à profundidade das lesões, por microrradiografias transversais e análise dos principais componentes, para revelar a perda mineral. Os dados foram submetidos a avaliações estatísticas que sugeriram que esse tipo de estudo pode ser útil na previsão da profundidade e severidade da lesão *in vitro*.

A prevenção é atualmente a principal meta da odontologia moderna. Prevenir a cárie em seus estágios mais iniciais de desmineralização exige métodos mais precisos de detecção de cárie. Os métodos mais utilizados para diagnóstico de cárie nos últimos cinquenta anos, envolvem tipicamente inspeção visual das superfícies dentárias para avaliar a presença de áreas de desmineralização. Esses exames são feitos com o auxílio do espelho bucal, explorador e radiografias. Evidências indicam que as lesões de cárie para serem detectadas por radiografias convencionais, devem ter uma profundidade de no mínimo 300-500 micrômetros (GWINNETT *et al*, 1971; PURDELL-LEWIS, *et al*, 1974).

O uso de sonda exploradora é uma área de atrito entre os pesquisadores (RADIKE, 1968, PITTS, 1993; STOOKEY *et al*, 1999), Segundo PITTS, 1993, o

uso de sonda exploradora pode causar danos iatrogênicos destruindo a zona superficial da lesão inicial, prejudicando dessa forma a possibilidade de remineralização da lesão inicial. LUSI, *et al*, 1993, realizou um estudo onde foi feita uma avaliação estatística comparando o exame visual, sonda exploradora e radiografia oclusal e confirmou que o uso da sonda exploradora é de baixa sensibilidade (apenas 42% dos dentes examinados foram corretamente diagnosticados ) e não melhora o diagnóstico. WHITEHEAD & WILSON (1992) reportaram que a utilização de uma lupa melhora em 52% a acuidade do diagnóstico visual.

Muitas técnicas para detecção e quantificação de perda mineral de lesões iniciais são destrutivas e não podem ser utilizadas clinicamente (ERENDS & TENBOSCH, 1992). O desenvolvimento de novos métodos como fluorescência óptica e medida da resistência elétrica (ECM), para detecção de cáries iniciais em esmalte (ANGMAR-MANSSÖN & TEN BOSCH, 1993) devem melhorar os métodos tradicionais de diagnóstico acima descritos.

As bases que fundamentam a detecção e a quantificação de cáries por métodos ópticos, como foi descrito anteriormente, são as propriedades físicas da lesão de cárie (ANGMAR-MANSSON *et al*, 1996, TEN BOSCH, 1996), pois quando o esmalte é iluminado por uma luz monocromática coerente pode ocorrer: absorção, transmissão e espalhamento. Em superfícies sadias, o espalhamento é mais provável que a absorção. Nas lesões incipientes o esmalte muda de cor e a absorção é aumentada, além do que o retroespalhamento é diminuído, deixando evidente uma área escura facilmente evidenciada.

SPITZER & TENBOSCH, (1975,1976) indicaram que componentes orgânicos são responsáveis pela maior parte da absorção óptica observada no esmalte. HAFSTRÖN-BJORKMAN *et al*, 1991, mostraram que na excitação no ultravioleta, com comprimento de onda de 375 nm, foram encontrados dois picos de emissão (nos comprimentos de onda de 460 nm e 560 nm), o que sugere a presença de dois fluoróforos. Somente parte desse pico de emissão foi considerada como proveniente das substâncias orgânicas, pois componentes inorgânicos incorporados em complexos também contribuem para tal fenômeno. Pesquisas similares da fluorescência do esmalte sadio e cariado (BOOIJ & TEN BOSCH, 1982; NALEWAY *et al*, 1979; ALFANO & YAO, 1981) concordam que as lesões de cárie exibem menor fluorescência que os tecidos sadios. Também encontrou-se fluorescência através de luz visível e ultravioleta ( ALFANO & YAO, 1981; BJELKHAGEN & SUNDSTROM, 1981) e quando o esmalte é iluminado por luz na faixa do verde-azul, observa-se uma fluorescência na faixa do verde, que pode ser facilmente captada por fotografias ou com auxílio de filtros específicos. Entretanto, SUNDSTRÖM *et al* (1985), argumentam que a utilização de lâmpada halógena para detecção de cáries com indução de fluorescência, pode ser mais adequada em relação ao LASER de argônio, pois a fibra óptica utilizada para a polimerização de certos materiais resinosos opera na faixa do azul, tendo menor custo. Entretanto, são necessários filtros bastantes eficientes acoplados às referidas fibras ópticas para suprimir a emissão de comprimento de onda acima de 490 nm.

A estrutura básica clinicamente normal do esmalte sadio, é de um tecido duro e brilhante. Ele consiste em cristais de hidroxiapatita tão intimamente

agrupados que lhes dão um aspecto vítreo. Os cristais, no esmalte, estão agrupadas de uma maneira ordenada formando os primas e esmalte interprismático; cada cristal é separado do vizinho por espaços intercristalinos preenchidos com água e material orgânico. Dentro deste contexto o esmalte pode ser considerado um sólido microporoso. Se o mineral é removido do esmalte através de dissolução cariiosa, os cristais individuais diminuem, o que resulta num alargamento dos espaços intercristalinos que determina um aumento da porosidade do tecido.

Um aumento de porosidade leva às alterações nas propriedades ópticas do esmalte que, por sua vez, se torna menos translúcido, o que clinicamente, pode ser observado como mudanças fortemente esbranquiçadas. Portanto, a estimativa da porosidade do esmalte no laboratório, assim como na clínica, é um método muito importante na observação de perdas de mineral. Outros métodos para avaliar a referida perda mineral do esmalte foram desenvolvidos, usando em princípio os raios X. Considerando, no entanto, que o esmalte sadio consiste quase inteiramente em mineral, perda de cálcio uma relativamente pronunciada é necessária, antes que ela possa ser detectada através dessa técnica ( THYLSTRUP & FEJERSKOV, Tratado de Cariologia, cap. 11, p. 196-197).

## QLF

A QLF - Quantificação da fluorescência a LASER; foi idealizada com o intuito de oferecer uma solução para esse problema. Os trabalhos dos escandinavos, especialmente BJELKHAGEN *et al*, 1982, utilizam luz LASER no azul, com o LASER de Argônio, e com o auxílio de filtros para impedir a

passagem do comprimento de onda da luz de excitação. As imagens das lesões de cárie foram obtidas como sombras contrastando com o brilho do esmalte sadio. Estudos laboratoriais estabeleceram uma relação entre a perda mineral da lesão e a diminuição da fluorescência. A esta técnica foi dado o nome de quantitative LASER Fluorescence, e uma de suas limitações era o seu uso em faces oclusais devido ao espalhamento da luz nesta superfície; lesões muito profundas e manchas no esmalte dificultavam as leituras. STOOKEY *et al*, 1999, relatam que em algumas publicações ficou claro que a luz LASER não era mais essencial para esse dispositivo e poderia ser substituída pela lâmpada de xenônio e seu nome passou a ser Quantitative Light Fluorescence. Essa técnica descreve a observação da fluorescência de um dente (SUNDSTRÖEM *et al*, 1995; STOOKEY, *et al*; 1999). O espalhamento da luz é medido pela tonalidade do esmalte cariado que pode ser correlacionado com o grau de perda mineral ( STOOKEY *et al*, 1999). A restrição do uso da luz espalhada para diagnóstico de cáries em superfícies oclusais constitui-se num obstáculo. Uma avaliação clínica desse método foi realizada por FERREIRA-ZANDONÁ *et al*, 1998 ( anteriormente descrito).

## **DELF**

Dye-enhancement LASER Fluorescence, Fluorescência a LASER aumentada por corante, parte dos mesmos princípios do QLF, só que com o auxílio de corantes com fluorescência conhecida. Foram utilizados dois corantes: Pyrromethene 556

e fluoresceína de sódio, para auxiliar a quantificação da perda mineral da lesão. Entretanto a técnica não se mostrou eficiente na evidencição dos diferentes graus de perda mineral, apesar de ser ferramenta importante na detecção de desmineralização inicial.

Estudos com fluorescência a LASER concentraram-se inicialmente no diagnóstico de superfícies lisas. Num modelo de cáries *in vitro*, a fluorescência a LASER, LF, exibiu uma boa correlação ( $r=0,86$ ) com a microrradiografia longitudinal (LMR) na quantificação de mudanças no conteúdo mineral nas secções de esmalte (Hafström-Bjorman et al; 1991). A correlação entre LF e LMR, para a quantificação de perda mineral nas lesões incipientes naturais de cárie foi de  $r=0,73$  (Emami Z. et al; 1996). A LF também tem sido usada para quantificação de remineralização *in situ* das lesões incipientes onde foi possível acompanhar mudanças semanais na mineralização do esmalte e correlacionar LF com microrradiografia transversa (TMR),  $r=0,76$  (AL- KHATEEB S., et al. 1997). Estudos *in vivo* utilizando uma microcâmara com um dispositivo acoplado (CCD) associado a um software analisador de imagens (DE JOSSELIN DE JONG E et al.; 1995) testaram em um modelo de cáries *in vivo* usando um bracket acumulador de placa em pré-molares com extração indicada por motivos ortodônticos. A LF demonstrou claras mudanças tanto no tamanho das lesões, quanto no conteúdo mineral das mesmas em diferentes fases no decorrer do tempo. ANDO et al, 1997, realizando estudos em esmalte bovino, em um modelo *in vitro*, avaliaram QLF ( Quantitative LASER Fluorescence) e DELF ( Dye Enhancement LASER Fluorescence), tendo como validação a microscopia eletrônica de varredura a LASER Confocal e microrradiografias transversas. Os

resultados mostraram que QLF foi capaz de detectar desmineralização nas primeiras oito horas de exposição das amostras à solução desmineralizante, enquanto DELF( estudos realizados no Oral Health Ressearch Institute) o fez nas primeiras duas horas, sendo entretanto, essa última técnica incapaz de quantificar aumentos na quantidade de desmineralização ao longo do tempo. O corante utilizado pelos autores neste estudo foi o Pyromethene 556, que cora de maneira seletiva as lesões de cárie, sendo excitado por LASER de argônio ionizado (488 nm- 515nm) e emitindo fluorescência de comprimento de onda na faixa de 527-584 nm, e que promoveu a melhor sensibilidade entre os métodos de diagnóstico que foram comparados. Banerjee *et al*, 1998, observaram que a autofluorescência da dentina não é diretamente relacionada ao seu componente mineral..

Tranaeus *et al*, 2000, avaliaram *in vivo* a capacidade de se reproduzir os achados clínicos de lesões incipientes de cárie com a QLF, utilizando LASER de Argônio. Foram avaliadas quinze diferentes lesões incipientes de cárie, e as imagens captadas por uma câmara CCD. As avaliações foram feitas utilizando os parâmetros de: área da lesão, média de mudança de fluorescência, e máxima mudança de fluorescência em porcentagem da lesão. Os resultados foram submetidos a testes estatísticos ANOVA, para calcular a confiabilidade intra e inter- examinadores. Os resultados obtidos mostraram que no que concerne à parte analítica do método os resultados foram muito satisfatórios. O monitoramento de cáries secundárias *in vitro* em dentes restaurados, com a utilização de QLF (FONTANA, M. *et al*, 2000) foi realizado em pesquisa *in vitro*, onde parte dos espécimes estudados foi submetida a uma aplicação de verniz com flúor, em outra parte foi aplicado fluorfosfato acidulado, e outra parte recebeu

verniz de clorexidina; o resultado foram validados com a utilização de microscopia de varredura a LASER (Confocal) e demonstraram que essa técnica é promissora na monitoração de remineralização de cáries secundárias.

### **DIAGNOdent**

O Instituto de Tecnologia LASER na Alemanha, desenvolveu um aparato auxiliar de diagnóstico usando um LASER de diodo como fonte de luz, com comprimento de onda de 635 ou 655 nm, transmitido por uma fibra óptica (fibre bundle) com uma fibra central para a excitação e oito fibras para a detecção da emissão de fluorescência (HIBST R., GALL R.; 1998 Abstracts). Os autores, reportaram que a luz LASER de comprimento de onda em 655 nm induzia fluorescência, na região do infravermelho próximo, e as diferenças entre esmalte e dentina sadio e cariado também poderiam ser evidenciadas e quantificadas. Diversos experimentos *in vivo* e *in vitro* foram realizados por Lussi et al, Reich et al e Dundee et al, que por sua vez apresentaram e testaram um dispositivo chamado DIAGNOdent, KaVo, que está comercialmente disponível também no Brasil. (LONGBOTTOM *et al*, 1999; LONGBOTTOM, C; PITTS NB, Deery, J Dent Res,78: 1044,1999). Diversas publicações foram feitas nesses últimos três anos para a avaliação desse dispositivo (ZANIN, F *et al*, 2000; LONGBOTTOM A. C., 2000; HIBST R, PAULUS R,2000; LIZARELLI *et al*, 2000; ZANIN *et al*, 2000; DUARTE D *et al*,2000) em pesquisas *in vitro* e *in vivo* mostrando resultados promissores, já que o referido aparelho possui uma sonda específica para a detecção de cáries oclusais de difícil detecção, o que é uma vantagem em relação à QLF.

Especial atenção tem sido dada à face oclusal na área de diagnóstico precoce, dada a complexidade morfológica desse sítio. Duarte et al, 2000, avaliaram a eficiência do DIAGNOdent em quarenta molares decíduos, e concluíram que a fluorescência LASER, DIAGNOdent pode ser usada com sucesso como auxílio diagnóstico. Zanin et al realizaram trabalho semelhante em quarenta molares de adultos (10 a 18 anos) e concluíram que este aparelho foi capaz de detectar com maior eficácia a lacuna deixada pelos métodos tradicionais de exame visual e radiográfico. Em contrapartida, Longbottom, 2000, aponta que há limitações nesta técnica, a presença de manchas nas fissuras, cálculo, particularmente em dentes de pessoas mais velhas, diminui a acuidade do diagnóstico e os clínicos devem utilizá-lo em conjunto com outros métodos para otimizar os resultados. Reich et al, (1998), apontam que o DIAGNOdent responde à fluorescência de alguns materiais dentários, incluindo alguns selantes de fósulas e fissuras, e no tocante à detecção de cáries secundárias em restaurações de amálgama, Forgie et al, 1999, indicaram que a sensibilidade desse aparelho é abaixo de 10% o que não o torna aconselhável para esse fim; e apesar de não possuir sonda específica para detecção de cáries proximais, numa simulação envolvendo 160 dentes posteriores, esses mesmos autores encontraram valores de sensibilidade e especificidade da ordem de 62% e 91% respectivamente, com validação feita por cortes histológicos.

LIZARELLI *et al*, 2000, realizaram um estudo comparativo entre os métodos de diagnóstico com a utilização de LASER, DIAGNOdent, inspeção visual, inspeção visual mais a utilização de sonda exploradora, exame radiográfico convencional, exame radiográfico digital (Digora for Windows), e cortes

histológicos. Os exames foram feitos por examinadores treinados. Houve diferenças estatisticamente significativas entre os métodos acima descritos, e a utilização de LASER para diagnóstico foi o método de detecção de cáries de maior sensibilidade. Esses resultados concordam com avaliações feitas clinicamente (ZANIN. F. *et al*, 2000), em quarenta dentes de pacientes de ambos os sexos com idades de 10 a 18 anos de idade.

As superfícies oclusais de molares foram avaliadas pelo dispositivo a LASER da KAVO, e exame radiográfico. A radiografia foi capaz de identificar 34,61% dos falsos negativos, deixando uma lacuna, ou seja deixando lesões de cárie sem tratamento. Dessa forma, os autores concluíram que o DIAGNOdent foi eficaz na detecção clínica de cáries oclusais escondidas.

Pesquisas para detectar o fluoróforo (s) responsável pelo sinal de fluorescência do DIAGNOdent estão em andamento. Até agora parecem indicar que as porfirinas das bactérias, junto com certos pigmentos presentes em certos alimentos e bebidas poderiam ser os responsáveis (HIBST *et al*, 1999; HIBST *et al*, 2000). ZÁRATE-PEREIRA, P. *et al*, 2000, fizeram um levantamento da literatura, para avaliar de maneira comparativa o desempenho, em relação à especificidade e sensibilidade de diferentes métodos de diagnóstico, visual, visual com utilização de sonda exploradora, LF, DELF, radiografia, LF e marcadores; e concluíram que não há método de diagnóstico de cárie dentária que seja conclusivo quando utilizado isoladamente, pois os valores encontrados para as referidas variáveis estatísticas foram muito semelhantes, sugerindo que tais métodos estariam sujeitos às variações inerentes à prática clínica, mesmo mostrando uma eficiência relativamente alta.

Segundo LONGBOTTOM, 2000, as técnicas que utilizam LASER na detecção de cáries, têm uma perspectiva de evolução futura nos estudos preliminares de HALL & GIRKIN, 1999, sobre a utilização do fenômeno de fluorescência de dois fótons, Essa técnica foi apresentada inicialmente no 4TH Annual Indiana Conference, e um estudo in vitro utilizando LASER emitindo no infravermelho, onde dois fótons são absorvidos ao mesmo tempo e podem produzir o mesmo efeito de fluorescência no dente produzido na região azul do espectro, e tem o potencial de produzir imagens semelhantes àquelas obtidas em tomografias. O mesmo autor cita um outro dispositivo apresentado no Laboratório Nacional de Lawrence Livermore, na Califórnia, 1999 que utiliza também a luz LASER, a chamada Tomografia por Polarização Sensível de Coerência Óptica, e é capaz de produzir imagens tridimensionais das lesões dos dentes, porém ainda são necessárias pesquisas para avaliar de maneira mais precisa, a viabilidade desse novos dispositivos de detecção de cáries incipientes.

## **5. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **5.1 AMOSTRAS**

Foram utilizados três prémolares, e três terceiros molares, quatro deles clinicamente hígidos, dois deles com lesões visíveis de cárie de face lisa, obtidos do serviço de Odontologia da Prefeitura do município de São Paulo, extraídos por motivos clínicos, cuja documentação se encontra disponível no prontuário dos pacientes doadores, e a referida documentação foi apreciada pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo e do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares recebeu parecer favorável. Após seleção prévia dos elementos dentários a serem utilizados, eles foram armazenados em solução de soro fisiológico até o momento do experimento.

### **5.2. PREPARO DAS AMOSTRAS**

Todos os dentes foram submetidos a procedimento de profilaxia com pedra pomes e taça de borracha, os resíduos radiculares de tártaro foram removidos com discos de lixa, e a porção radicular, para facilitar o manuseio das amostras nos experimentos, foi incluída em resina acrílica incolor, até a região do colo, para facilitar a iluminação da porção coronária.

Cada grupo de dentes, era constituído de um premolar e um terceiro molar. O grupo 1 foi composto por dentes hígidos, extraídos por motivos clínicos perfeitamente justificáveis.

O grupo 2, foi submetido por 72 horas à solução desmineralizadora de tenCate.

O grupo 3, foi constituído de dentes extraídos com lesões visíveis de cárie de face lisa.

### 5.3- EQUIPAMENTO UTILIZADO

Foi utilizado como fonte de iluminação, um aparelho de LASER comercial de Argônio, da marca SPECTRA PHYSICS, contínuo, de alta potência (com potência máxima de 12W). A potência média utilizada no experimento foi de 300mW, no comprimento de onda de 488 nm.

Para a captação dos sinais de emissão de fluorescência, foi utilizada uma fotomultiplicadora, acoplada a um monocromador ( SPEX ) de um metro .

As amostras foram posicionadas a 90 ° em relação à fonte de iluminação, e à fotomultiplicadora. Foi utilizado um filtro para impedir a passagem de comprimentos de onda abaixo do 495 nm para a fotomultiplicadora, que por sua vez teve os sinais de emissão enviados a um amplificador lock-in que eliminava o ruído trabalhando na frequência do modulador chopper. Os sinais obtidos foram manipulados por um PC com um software de aquisição de dados (E G &G), para obtenção dos espectros.

As amostras foram irradiadas com 300 mW de potência, modo de emissão do feixe LASER contínuo, modulado por um chopper. O feixe LASER foi focalizado na amostra. Uma representação esquemática do aparato experimental é mostrada na Figura 2.

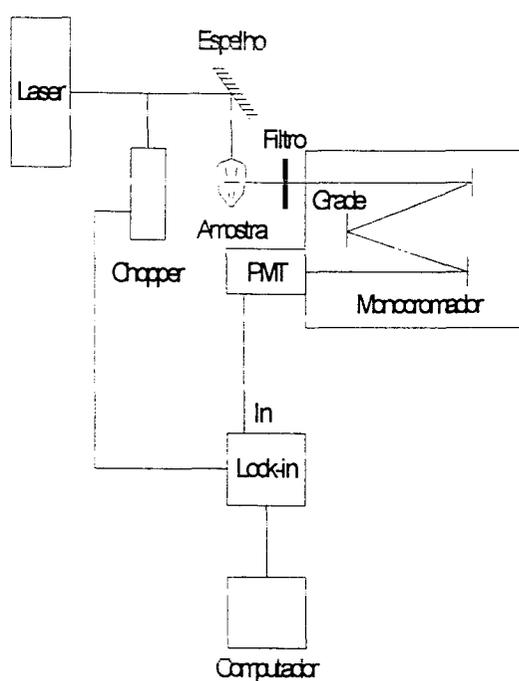


Figura 2: A luz LASER incidente na amostra era modulada por um chopper. O sinal proveniente da fotomultiplicadora era amplificado por um amplificador do tipo lock-in e a aquisição de dados foi feita utilizando-se um software da EG&G.

## 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As figuras de 3 a 5 apresentam os espectros de emissão de fluorescência dos diferentes grupos de dentes iluminados por LASER de Argônio, com potência média de 300mW.

Na Figura 3 é apresentado o espectro obtido do dente sadio. O esmalte sadio apresenta fluorescência predominante em torno de 540 nm e um pico de intensidade bem menor ao redor de 660 nm.

A Figura 4 mostra o espectro de emissão obtido do esmalte submetido à solução de desmineralização de tenCate, por 72 horas. O esmalte desmineralizado apresenta, além da emissão em 540 nm, dois outros picos significativos em 600 e 660 nm. respectivamente.

O espectro de emissão obtido dos dentes cariados é mostrado na Figura 5. Foram selecionados dois dentes com lesões visíveis de cárie de face lisa. Os espectros obtidos mostram um aumento acentuado da fluorescência em 610 e 680 nm aproximadamente. Nos dois espectros apresentados há uma diferença na relação entre as intensidades dos picos. Essa diferença pode ser atribuída a diferenças de coloração inerentes às lesões crônicas de cárie.

A intensidade de fluorescência do esmalte sadio é visivelmente mais alta que a do esmalteariado.

Esses resultados obtidos para o esmalte sadio eariado concordam com estudos previamente realizados por outros autores (Sundstrom et al, 1985) que também utilizaram o LASER de Argônio em 488 nm como fonte de excitação. O espectro de fluorescência do esmalte desmineralizado, obtido nesse trabalho, não havia sido obtido anteriormente.

A intensidade de fluorescência do esmalte sadio, foi visivelmente mais alta em relação ao esmalte desmineralizado. Na iluminação da amostra de esmalteariado, houve maior absorção de luz, e a fluorescência foi mais fraca.

Os espectros, obtidos a partir de um software de aquisição de dados da EG&G, estão mostrados nas figuras de 3 a 5.

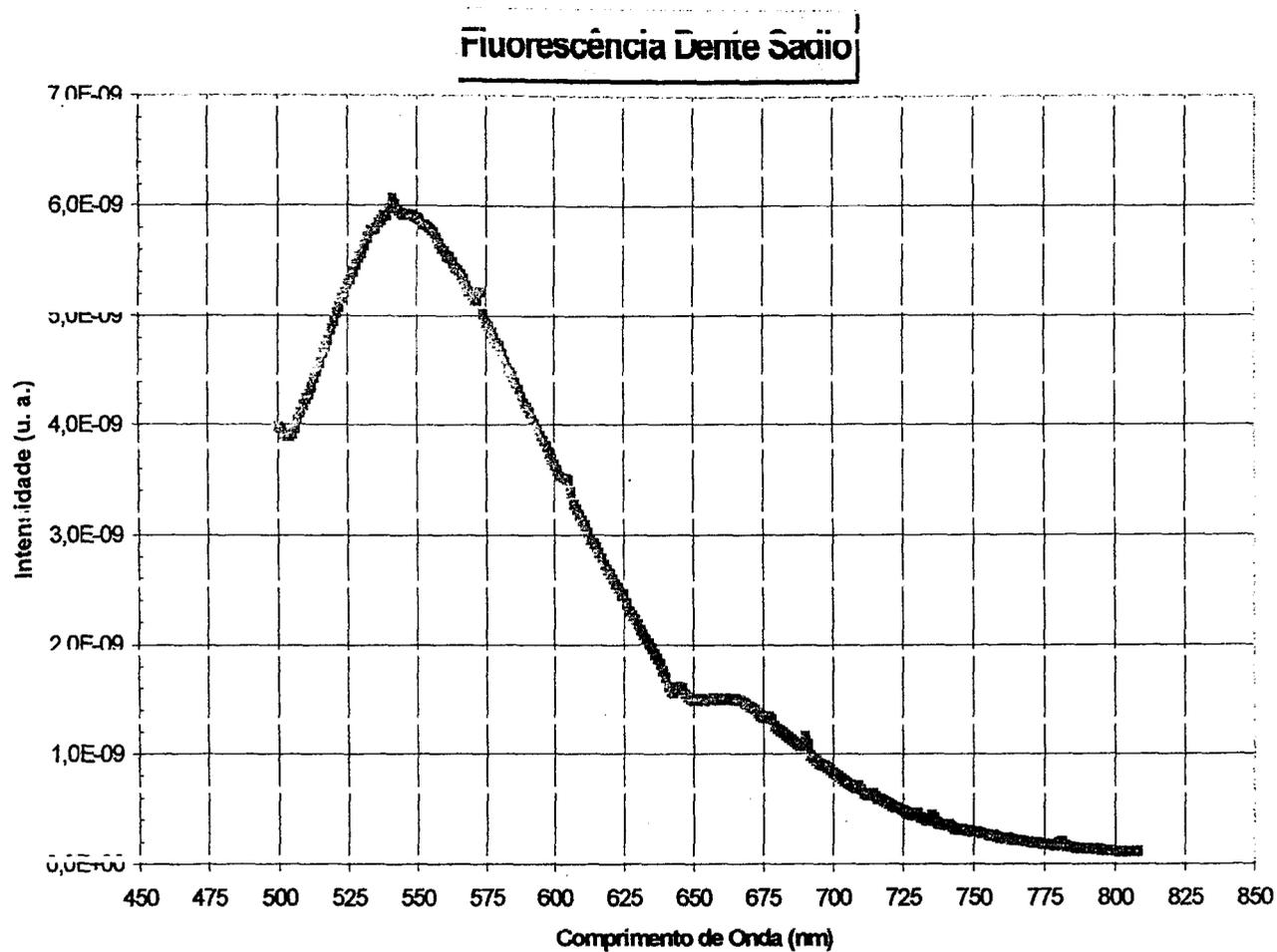


Figura 3: Espectro de fluorescência do dente sadio, obtido com iluminação em 488 nm

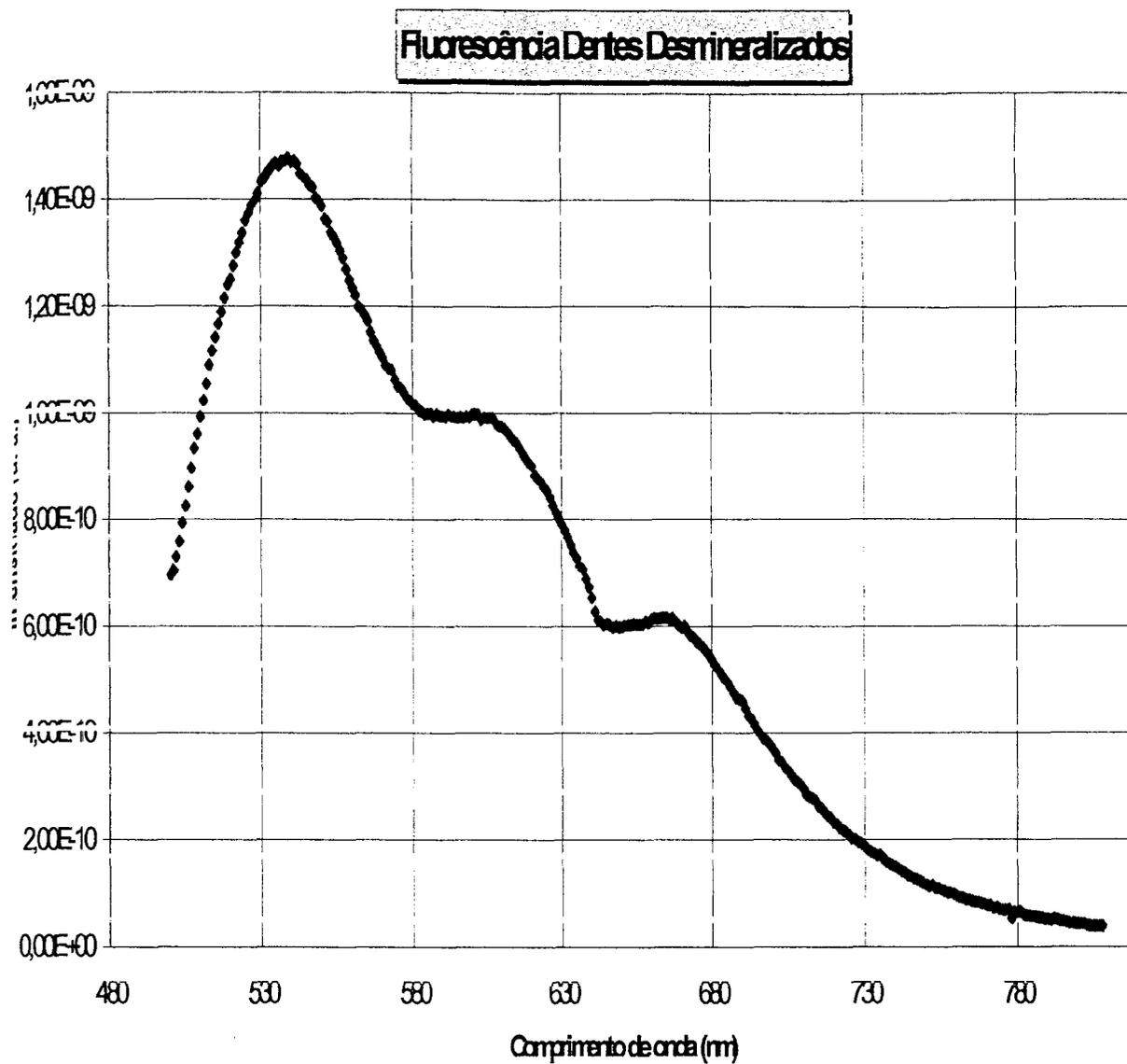


Figura 4: Dentes desmineralizados: espectro de fluorescência do dente desmineralizado, obtido com iluminação em 488 nm

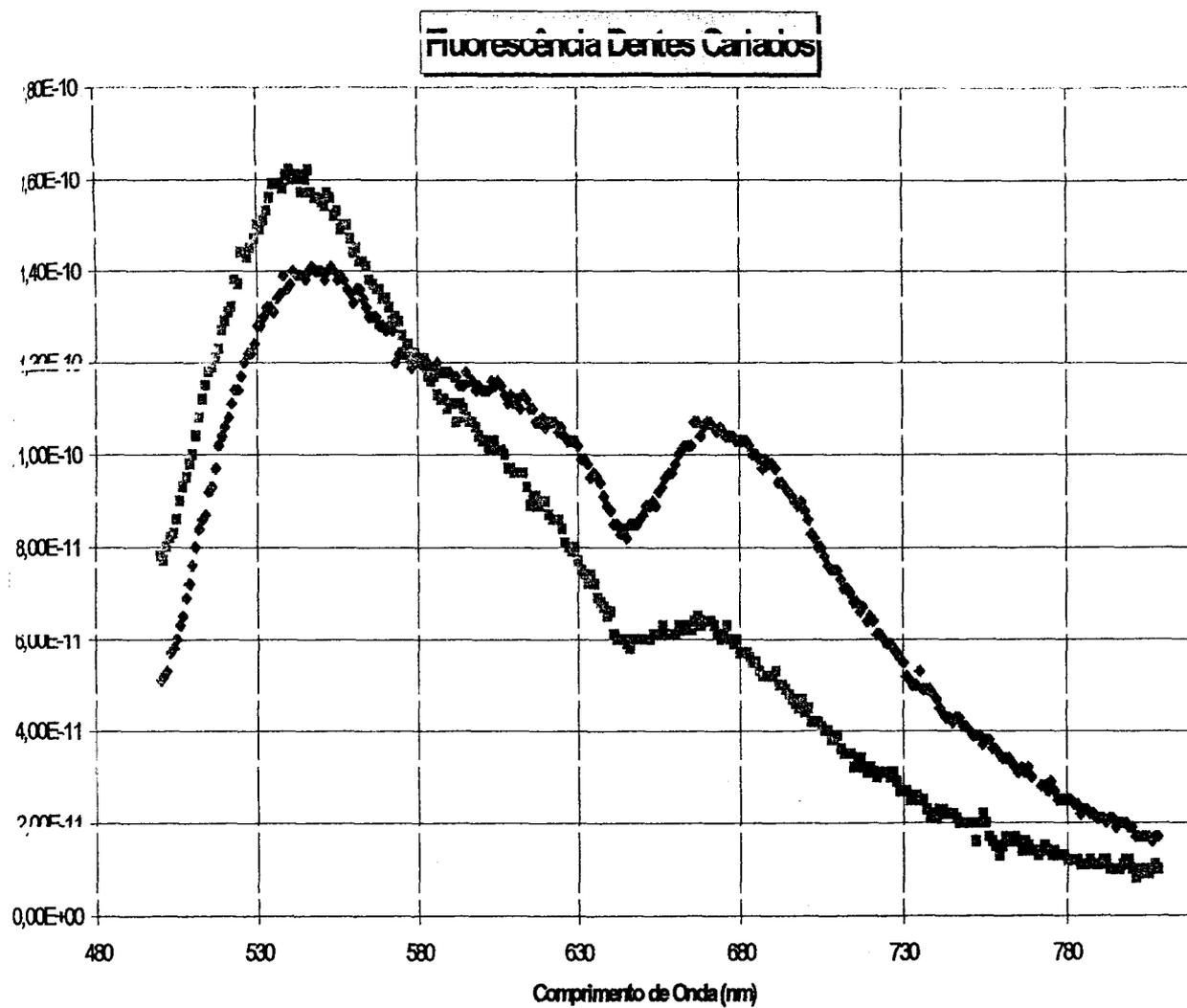


Figura 5: Espectro de dentes cariados com lesões crônicas de face lisa, iluminados por LASER de Argônio em 488 nm

Em todas as amostras, ficou evidente a modificação dos sinais de fluorescência descritos graficamente como se seguem as figuras abaixo.

Os espectros obtidos concordam com aqueles já apresentados na literatura (Alfano et al, 1981; Sundström et al, 1985), evidenciando maiores diferenças entre esmalte sadio e cariado nessa região do espectro eletromagnético.

Na Figura 5, cárie de face lisa, houve maior absorção de luz tornando a intensidade da emissão de fluorescência mais fraca, o mesmo foi observado por Sundström et al, 1985. Todavia essas evidências não se repetiram da mesma forma quando se examinou o esmalte submetido à desmineralização *in vitro*.

O tempo de exposição à solução desmineralizadora também é importante na quantificação de perda mineral que auxilia o monitoramento das lesões de desmineralização de esmalte (Ando et al, 1997). O presente estudo se utilizou de 72 horas de exposição para garantir a aquisição de dados. Estudos anteriores se utilizaram de períodos determinados de exposição à solução desmineralizadora, entre 2 horas e 24 horas, e os resultados obtidos mostraram haver diferenças na sensibilidade de diagnóstico do QLF e DELF, já que DELF se baseia na hipótese que o aumento de perda mineral resultaria em uma maior absorção de corante e dessa forma teria a intensidade de fluorescência aumentada, o que não ocorreu na prática experimental. Alguns autores sugerem que essa técnica seja melhorada através da mudança no regime de absorção do corante, e também a avaliação da distribuição do conteúdo mineral da lesão e do peso molecular do corante utilizado, pois o peso molecular do corante provavelmente restringe sua difusão na lesão de cárie incipiente. Dessa forma, novos estudos devem ser feitos para correlacionar o conteúdo mineral da lesão e a absorção de corante, assim

como as características dos espectros de emissão de diferentes profundidades de lesões incipientes de cárie.

### ***Estado da arte do métodos de diagnóstico que utilizam luz LASER***

Os estudos clínicos de sensibilidade e especificidade da acuidade de diagnóstico dos diferentes aparatos de detecção de cárie com a utilização da luz LASER, segundo Zárate-Pereira *et al* (2000), não apresentaram diferenças significativa. Tanto a LASER Fluorescence (LF), como a Quantitative LASER Fluorescence (QLF), apresentaram desempenhos clínicos igualmente satisfatórios nos estudos até então realizados. A técnica de Dye-enhancement LASER Fluorescence (DELF), apresentou maior sensibilidade em relação às outras já citadas, porém em estudo longitudinal, foi ineficaz para a quantificação da perda mineral. Stookey *et al*, 1999, concluíram que até o momento nenhum dos métodos de diagnóstico estudados, aparenta ser definitivo, portanto devem ser utilizados de maneira complementar. Sundström *et al* (1985), ponderam que quando há uma área grande de esmalte a ser iluminada e esta região apresenta esmalte sadio e cariado, o espectro típico do esmalte cariado pode não se destacar em relação ao esmalte sadio. Como na prática clínica há necessidade de diferenciar os locais específicos onde a lesão incipiente de desmineralização está se desenvolvendo, e por conseguinte seu acompanhamento, há necessidade de registros bidimensionais do espectro de fluorescência. A QLF, com o sistema computadorizado de captação de imagens, com uma câmara CCD, que é um dispositivo dual, capaz de fazer registros bidimensionais, tem uma vantagem em relação ao DIAGNOdent, que com seu feixe de fibras, só é capaz de captar os sinais de emissão sem distingui-los, dificultando um mapeamento da região examinada.

A utilização de corantes e de substância fluorescentes excitadas por comprimentos de onda conhecidos, como é o caso do Pyrometheme 550, é de grande utilidade na clínica, pois aumenta a sensibilidade do diagnóstico (Zandoná *et al*, 1998 ). Entretanto apresenta a desvantagem de apresentar risco de manchar o esmalte de maneira irreversível, ou então de corar manchas preexistentes,

classificando-as como cárie, diminuindo a especificidade. Uma das vantagens do Pyrrrometheme, é a sua solubilidade em água. Por outro lado, seu alto peso molecular (466.19) provavelmente diminui a sua capacidade de difusão na lesão, o que segundo FEATHERSTONE dificulta sua penetração nos poros do esmalte lesionado, o que explica a dificuldade dessa técnica em quantificar a perda mineral longitudinalmente.

A luz do LASER de Argônio, também utilizada para cura de resinas fotoativadas, clareamento dentário e diagnóstico de cáries por transiluminação dos dentes (O'Brien et al, 1983), foi considerado um método útil em dentes anteriores. A QLF, e o DIAGNOdent, também buscam obter maior acuidade no diagnóstico precoce. Estudos vêm sendo encaminhados para a detecção do cromóforo específico para a fonte iluminadora. Todavia, as características da emissão de fluorescência e suas diferenças para o esmalte sadio e cariado são sem dúvida os alicerces nos quais tais técnicas se fundamentam. Zárate-Pereira et al, 1999, avaliando os diferentes métodos de diagnóstico de cárie, quanto à sensibilidade e especificidade, concluíram que não há método que seja perfeitamente conclusivo, pois as dificuldades em diagnosticar podem variar dependendo da situação clínica; e comparativamente, os métodos convencionais de exame visual, exame visual com sonda exploradora, exame radiográfico, LASER fluorescence, Dye-enhancement LASER fluorescence, LASER fluorescence e marcador, apresentam índices de sensibilidade e especificidade semelhantes

Para avaliação de superfícies lisas de cárie, foi feito um estudo comparativo entre o DIAGNOdent e QLF, sendo que como fonte de iluminação do QLF utilizou-se tanto LASER de Argônio como a lâmpada de Xenônio, e os resultados indicaram que para quantificação das cáries de superfície lisa, ambos os métodos apresentaram resultados bastante satisfatórios, porém o QLF oferece uma vantagem de apresentar melhor correlação com as alterações do conteúdo mineral das lesões estudadas (Shi & Angmar-Mansson, 2001). Pereira et al, 2001, também compararam o desempenho de diferentes métodos de diagnóstico de cáries como auxílio na decisão da utilização ou não de técnica invasiva de selante, e os resultados obtidos, em relação à sensibilidade e especificidade,

confirmaram a alta reprodutibilidade das amostras submetidas ao DIAGNOdent, já demonstrada por outros autores (LUSSI *et al*, 1990; MIALHE *et al*, 2000). No entanto, no que concerne ao auxílio na decisão de aplicar ou não técnica invasiva de selantes, os autores concluíram que o ECM (Electrical Conductivity Measurements) mostrou melhores resultados. Da mesma forma, quando se comparou o desempenho do QLF em relação ao DIAGNOdent, o primeiro mostrou-se mais útil para propósitos científicos, pois tem a habilidade de monitorar a desmineralização e remineralização das lesões incipientes de esmalte em face lisa, e sem dúvida as características do espectro de emissão de fluorescência são importantes para esse monitoramento, por refletirem as alterações das propriedades ópticas da luz LASER, em diferentes condições do tecido mineralizado do esmalte. A natureza da perda mineral de uma lesão incipiente levanta questões como quais os constituintes dessa lesão, e em qual estágio a remineralização é mais efetiva. Também, a detecção de cáries não está mais confinada apenas à lesão primária, avalia-se o indivíduo como um todo, e especialmente o risco de cárie que ele possui.

## 8.CONCLUSÃO

O uso da tecnologia do LASER, no diagnóstico das lesões cáries iniciais, que sempre se iniciam com a desmineralização do esmalte, certamente melhoraram as técnicas existentes, além de aumentar a oferta de técnicas não invasivas. Apesar do alto custo do equipamento, e da necessidade de maior formação do profissional para utilizá-la, o uso do LASER em diagnóstico de cárie é uma tendência irreversível.

As mudanças das propriedades ópticas do tecido cariado e desmineralizado, auxiliam a quantificação da perda mineral do processo evolutivo da cárie. Dentre os métodos de diagnóstico que se utilizam de luz LASER, nenhum deles se mostra definitivo, devendo ser utilizados conjuntamente com os métodos tradicionais.

A espectroscopia é uma ferramenta importante nesse processo, pois as características espectrais do esmalte desmineralizado devem ser estudadas com maior cuidado para se estabelecer uma relação segura entre o conteúdo mineral do esmalte sadio e as alterações estruturais passíveis de evoluírem para uma lesão subsuperficial.

Dessa forma, fica evidente que ainda não há método conclusivo na detecção de cárie dental; as dificuldades no diagnóstico dependem da situação clínica e das informações que o clínico dispõe em relação ao risco potencial de cárie do seu paciente. Os métodos ópticos de detecção são excelentes complementos para a decisão terapêutica a ser tomada, pois seu desempenho tanto experimental, como na prática clínica têm se mostrado igualmente satisfatórios. Portanto novos estudos devem ser feitos para se determinar as alterações das características de emissão de fluorescência dos diferentes estágios de desmineralização e conseqüente desestruturação dos prismas de esmalte, que configuram lesões iniciais de cárie passíveis de reversibilidade.

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alfano RR, Yao SS: Human teeth with and without dental caries studied by visible luminescent spectroscopy. **J Dent Res**: v 80, p. 120-122; 1981.
2. Al-Khateeb S, ten Cate JM, Angmar-Manssön B, *et al*: Quantification of formation and remineralization of artificial enamel lesions with a new portable fluorescence device. **Adv Dent Res** v11: p 502-506, 1997.
3. Altshuler GB, Grisimov VN: Effect of waveguide light propagation in human tooth [[ in Russian]. **Dokl Acad Sci**, v.3, p. 1245-1248, URSS, 1990.
4. Amaechi B. T.; Higham S. M.; de Josselin de Jong E.: Possible Factors Influencing the Use of Quantitative Light –Induced Fluorescence for Caries Detection and Assessment. {Abstract} **Caries Res**. V.34; p.325, 2000.
5. American Dental Association, Council of Dental Materials, Instruments, and Equipment. Visible light-cured composites and activating units. **JADA**, v. 100: p. 100-103;1985.
6. Analoui M., Ando M., Stookey G. K.: Use of Refletance Spectrum as an Indicator of Enamel Demineralization. Abstracts. **Caries Res**. 2000; 34; 328.
7. Banerjee A, Boyde A.: Autofluorescence and mineral Content of Carious Dentine: Scanning Optical and Backscattered Electron Microscopic Studies. **Caries Res**.; 32; 219-226, 1998.

8. Ando M., de Josselin de Jong E., Fontana M., Stookey G. K., Zero D. T.: Evaluation of the Effect of Dehydration on demineralized Enamel with Quantitative Light-Induced Fluorescence (QLF). Abstracts. **Caries Res** 34;326,2000.
9. Ando M., Hall A. F., Eckert G. J., Schemehorn B. R., Analoui M., Stookey G. K.: Relative Ability of Laser Techniques to Quantitative Early Mineral Loss *in vitro*. **Caries Res** 1997,31(2):125-131
10. Benedict HC: Note on fluorescence of teeth in ultra-violet rays. **Science**, vol. 67: p 422,1928.
11. Dean, HT; Jay, P; Arnold jr.; Elvove E: Domestic water and dental caries. II. A study of 2832 white children aged 12-14 years, of 8 suburban Chicago communities, including *Lactobacillus acidophilus* studies of 1761 children. **Public Health Rep**, v. 56; p. 761-792, 1941.
12. Dodds M: Dilemmas in caries diagnosis- applications to current practice and need for Research. **J Den Educ**, v 57: p 433-438, 1993.
13. Duarte, D.; Piarengeli, Y.; Fonseca, C; Zanin F.; Brugnera Jr: Deciduous Teeth Occlusal Caries Detection with 655 nm Diode LASER Confirmed by Surface Scanning Electron Microscopy; In LASERS in Dentistry VI, John D. B. Featherstone, Peter Rechmann, Daniel Fried, Editors, **Proceedings of SPIE**, vol. 3910; p. 1017 – 2661, 2000.

14. Emani Z, Al-Khateeb S de Josselin, *et al*: Mineral loss in HaaK R., Hellmich M., Wicht M.: Design Parameters of Multi-Reader ROC Studies Comparing Multiple Modalities for Caries Detection. Abstracts: **Caries Res.**; 34:323, 2000.
15. Everett, E.; Polarization Sensitive Optical Coherence Tomography Detection Method. **Proceedings of 4<sup>TH</sup> Annual Indiana Conference**, May, 19- 22, 1999 (In Press).
16. Fontana, M.; González-Cabezas, C.; Stookey, G. K.: QLF Monitoring of Therapies for Early Secondary Caries Arrestment and Remineralization. In **LASERs in Dentistry VI**, John D. B. Featherstone, Peter Rechmann, Daniel Fried, Editors, **Proceedings of Spie**, vol. 3910, p. 261- 268, 2000.
17. Ferreira Zandoná A G., Analoui M., Beiswanger B. B., Isaacs R. L., Kafrawy A H., Eckert G. J., Stookey G. K.: An in vitro Comparison between LASER Fluorescence and visual Examination for Detection of Demineralization in Occlusal Pits and Fissures. **Caries Res**, v. 32: p. 210-218, 1998.
18. Ferreira- Zandoná A, Van der Veen M, Eckert G *et al*; Clinical repetability of light induced fluorescence for caries detection { Abstracts}. **J Den Res**, v. 77: p 632, 1998.
19. Foreman P C; The excitation and emission spectra of fluorescent components of human dentine; **Arch Oral Biol**, v.25, f.10: p.641 – 647, 1980.

20. Forgie, A.; Pine, C.M.; Pitts N.B.: "LASER fluorescence detection of approximal caries: initial in vitro results"; **J Dent Res**, vol. 78, p. 1044, 1999.
21. Freire Jr. e Carvalho Neto em "O Universo dos Quanta" 1997.
22. Granath, L., Kahlmeter, A., Mattson, L. & Schröder, U: Progression of approximal enamel caries in early teens related to caries activity. **Acta Odont. Scand.**, v.38, p. 247-252, 1980.
23. Grondahal H J : Teste do Diagnóstico *in* Tratado de Cariologia, Thylstrup A, Fejerskov O; Trad. Coord. Weyne S.- Rio de Janeiro: Cultura Médica, cap. 2, p.5, 11,15,1988.
24. Gyu L, Rizoui I: New Concepts in LASER-Tissue Interaction; in **LASERs in Dentistry**, Miserendino LJ & Pick R, cap.20, Part III; p.299-313, 1997.
25. Gwinnett AJ: A comparison of proximal carious lesion as seen by clinical radiography, contact, and microradiography and light microscopy; **JADA**, v.83, p. 1078-1080,1971.
26. Grondahal H J : Teste do Diagnóstico *in* Tratado de Cariologia, cap 2; Thylstrup, 1988

27. Hafström-Bjorkman U, Sundström F, Angmar-Mansson B: Initial caries diagnosis in rat molars, using LASER fluorescence. **Acta Odontol Scand** v. 49: p. 27-33, 1991.
28. Hall, A F.; Girkin, J.: Two-photon LASER fluorescence caries detection method. **Proceedings of 4<sup>TH</sup> Annual Indiana Conference**, May, 19- 22, 1999 (in Press).
29. Hibst R, Gall R: Development of a Diode LASER- Based Fluorescence Caries Detector. **Caries Res**, v. 32,p294 {Abstracts}, 1998.
30. Hibst, R.; Paulus, R.: "Caries detection by red excited fluorescence: investigations on fluorophores", **Caries Res**, vol 33, p. 295, 1999.
31. Hibst R., Paulus R.: Molecular Basis of Red Excited Caries Fluorescence. **Caries Res**; v. 34,p.323, 2000.
32. Hume W, Need for change in standards of caries diagnosis-perspective based on the structure and behavior of caries lesion. **J Den Educ**, v.57: p.439-443, 1993.
33. Longbottom, C; Colles, J: In vitro investigation employing an infra-red LASER and an infra-red camera for caries diagnosis. **Caries Res** 28: 194, 1994.

34. Longbottom C, Pitts NB, and Lussi A: Comparison of Visual and Electrical Methods with a New Device for Occlusal Caries Detection. **Caries Res**, v.32, p. 298 {Abstracts}, 1998.
35. Lussi A: Comparison of different methods for diagnosis of fissure caries without cavitation. **Caries Res**, v. 2: P. 409-416, 1993.
36. Lussi A, Longbottom C. Reich E, et al: Performance of a LASER Fluorescence System for Detection of Occlusal Caries. **Caries Res**, v. 32: p. 297, 1998.
37. MIALHE, F L; Pardi, V; Pereira, AC; Meneghim et al; Comparação *in vitro* de quatro métodos de diagnóstico para cárie oclusal- visual, videoscópico, FOTI e fluorescência a LASE; **RPG Rev Pós Grad**, v.7, n.2, p. 125-132, abr/jun, 2000.
38. Pereira, A.C.; Verdonschot, E.H.; Huysmans M.C.D.N.J.M: Caries Detection Methods: Can they Aid Decision Making for Invasive Sealant Treatment. **Caries Res**, v. 35, p. 83-89, October 2000.
39. Pitts NB: Current methods and criteria for caries diagnosis in Europe. **J Dent Ed**, v. 57, p.409-414, 1993.
40. Purdell-Lewis DJ, Groeneveld A, Port T et al: Proximal carious lesion: a comparison of visual, radiographic and microradiographic appearance. **The Netherlands Dent. J.**; v.81, p. 6-15, 1974.

41. Reich E, Al Marrawi, Pitts N, Lussi A: Clinical Validation of a LASER Caries Diagnosis System. **Caries Res**, v. 32: p.297, 1998.
42. Reich, E.; Al Marawi F.; Longbottom, C. and Lussi A: "Fluorescence of different dental materials in a LASER diagnostic system", **J Dent Res**, vol. 77, p.: 821,1998.
43. Roberts; A M. & Stewart; H.: Trends in LASER applications: Public Health Implications. **A J. P.H.**; vol. 61; n. 11, 1971.
41. Stookey, G. K.; Analoui, M.: Use of LASER Fluorescence for the Early Detection of Dental Caries. **SPIE**, vol. 3248, p. 126 – 129, 1998.
42. Stookey G, Jackson D, Analoui M, Zandoná AF: Dental Caries Diagnosis, **The Dental Clinics of North America**, v.43, n. .4, October, 1999.
43. Stutbell, H, "Die fluoreszone tierische geweb in ultra-violettum licht" **Pfingers Arch Physiol**, v.141: p.: 1- 14, 1911.
44. Sundström F, Fredriksson K, Montan S, Hafstrom-Bjorkman U, Strom J; LASER-induced fluorescence from sound and carious tooth substance: Spectroscopic studies. **Sweed Dent J**, 9(2): 71- 80, 1985.

45. Thylstrup A. & Fejerskov: Tratado de Cariologia; Trad. Coord. Sergio Weyne,- Rio de Janeiro: Cultura Médica, ,1998.
46. Tranaeus,S.; Shi, Xie-Qi, Trollsas, K.; Lindgren, L. Angmar-Mansson, B.: *In vivo* quantification of natural incipient caries lesions using the Quantitative Light-induced Fluorescence method – a reproducibility. In LASERs in Dentistry VI, John D. B. Featherstone, Peter Rechmann, Daniel Fried, Editors, **Proceedings of SPIE**, vol. 3910,p. 235-241, 2000.
47. Zanin, F; Pinheiro,A; Souza Campos, D.H; Pécora, J.D; Brugnera Junior, A:L: Caries diagnosis using diode LASER 655 nm. **ISLD 7<sup>th</sup> Congress (ABSTRACTS)** 2000.
- 48- Wenzel A, Borg E, Hintze H, Grondahl H-G: Accuracy of caries diagnosis in digital images from charge coupled device and storage phosphor systems: an *in vitro* study. **Dentomaxillofac Radiol**; v. 24; p. 250-254, 1995.
49. WhiteheadSA, Wilson NAF: Restorative dental making behavior with magnification. **Quintess. Internat.**; v. 23, p. 667-671, 1992.



M22293



***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.