

VALDER BARBOZA GOMES

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA RADIAÇÃO LASER Nd:YAG, FRENTE A ANAERÓBIOS DO SISTEMA DE CANAIS RADICULARES: ESTUDO *IN VITRO*.

Dissertação apresentada à Coordenação do Curso de Mestrado em Odontologia, com área de concentração em Clínica Integrada, Departamento de Prótese e Cirurgia Buco-Facial, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do grau de Mestre em Odontologia.

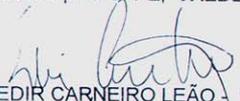
Orientador:
Prof. Dr. Anderson S. L. Gomes
Co-orientador:
Profa. Dra. Eulália Azevedo Ximenes

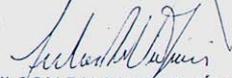
RECIFE
2003

Ata da 34ª Defesa de Dissertação do Curso de Mestrado em Odontologia do Departamento de Prótese e Cirurgia Buco- Facial do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco. Recife, 24 de novembro de 2003.

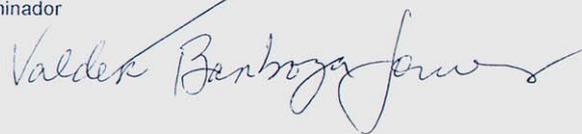
Às dez horas do dia vinte e quatro do mês de novembro do ano de dois mil e três, reuniram-se no auditório do Curso de Odontologia da UFPE, os membros da Banca Examinadora, composta pelos professores: Prof. Dr. EDIR CARNEIRO LEÃO - UFPE, atuando como (presidente), Prof. Dr. NILSON DIAS VIEIRA JUNIOR - INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES /USP, como primeiro examinador, Prof. Dr. GERALDO BOSCO LINDOSO COUTO - UFPE, como segundo examinador, para julgar o trabalho intitulado "ATIVIDADES ANTIMICROBIANA DA RADIAÇÃO LASER Nd:YAG, FRENTE A ANAERÓBIOS, DO SISTEMA DE CANAIS RADICULARES, DE DENTE COM NECROSE PULPAR E REAÇÃO PERIAPICAL: ESTUDO IN VITRO". do mestrando VALDER BARBOZA GOMES, candidato ao Grau de Mestre em Odontologia, na Área de Concentração em CLÍNICA INTEGRADA, sob orientação do Prof. Dr. ANDERSON STEVENS LEONIDAS GOMES e co-orientação da Profª Drª EULÁLIA CAMELO PESSOA DE AZEVEDO XIMENES da Universidade Federal de Pernambuco. Dando início aos trabalhos o Senhor Vice – Coordenador do Programa de Pós Graduação em Odontologia Prof. Dr. CARLOS MENEZES AGUIAR convidou os senhores membros para compor a Banca Examinadora, em seguida foram entregues aos presentes cópias do Regimento Interno do Curso de Mestrado em Odontologia, que trata dos critérios de avaliação para julgamento da Dissertação de Mestrado. O presidente da mesa após tomar posse dos trabalhos e conferir os membros convidou o mestrando, para expor sobre o aludido tema, tendo sido concedido trinta minutos. O candidato expôs o trabalho e em seguida colocou-se a disposição dos Examinadores para arguição. Após o término da arguição os Examinadores se reuniram em secreto para deliberações formais. Ao término da discussão, atribuíram ao candidato os seguintes conceitos: Profª. Dr. NILSON DIAS VIEIRA JUNIOR (**Aprovado**), Prof. Dr. EDIR CARNEIRO LEÃO (**Aprovado**), Prof. Dr. GERALDO BOSCO LINDOSO COUTO (**Aprovado**), O candidato por ter recebido três conceitos (**Aprovado**) é considerado (**Aprovado**), devendo o candidato acatar as sugestões da Banca Examinadora de acordo com o Regimento Interno do Curso. Face a aprovação, fica o candidato, apto a receber o Grau de Mestre em Odontologia, cabendo a UFPE através de sua Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação, tomar as providências cabíveis para os devidos fins. Nada mais havendo a tratar, o Senhor Presidente da Banca Examinadora encerrou a sessão e para constar eu, Oziclere Sena de Araújo Silva, lavrei a presente Ata que vai por mim assinada, pelos demais componentes da Banca Examinadora e pelo recém formado mestre pela UFPE, VALDER BARBOZA GOMES.

Recife, 24 de novembro de 2003.


Prof. Dr. EDIR CARNEIRO LEÃO - UFPE
Presidente,


Prof. Dr. NILSON DIAS VIEIRA JÚNIOR – IPEN-USP
1º Examinador


Prof. Dr. GERALDO BOSCO LINDOSO COUTO
2º Examinador





DEDICATÓRIA

ÀQUELE que habita o meu interior, conhece o meu íntimo e me conduz com segurança de modo que não me sobrevém aflição.

Aos meus orientadores:

Professores Anderson Gomes e Eulália Azevedo Ximenes por terem aceitado a incumbência de orientar um leigo em física e microbiologia e que, por isso, tornou a tarefa mais difícil, requerendo mais paciência e dedicação de ambos.

AGRADECIMENTOS

Tantos foram aqueles que participaram deste trabalho que deixar de mencioná-los seria uma ingratidão irreparável. Todos integraram esta jornada, portanto formaram os elos de uma corrente inquebrantável. Assim, reconhecendo a importância da participação de cada um, nesse percurso de mais de dois anos e que resultou no cumprimento desta laboriosa tarefa, relaciono-os sem detalhar peculiaridades. Muito obrigado!...

Aos meus familiares

Ao Professor Edir Carneiro Leão - Coordenador de Pós-Graduação

Ao Professor Geraldo Bosco Lindoso - Vice-Coordenador de Pós-Graduação

Ao Professor Luiz Antônio Barbosa de Oliveira – Coordenador da Disciplina de Endo II

À Professora Niedje Siqueira de Lima - Disciplinas de Ortodontia e Odontopediatria.

Aos orientadores: Professor Anderson S. L. Gomes e Professora Eulália Azevedo Ximenes

Ao Dr. Luiz Mário Lopes - Centro de Laser em Odontologia. Recife – PE.

Ao Corpo docente do Mestrado em Clínicas Integradas

À Professora Sandra Vianna do Departamento de Física

À Professora Janete Magaly de Araújo do Departamento de Antibiótico da UFPE

À Gilvan Ferreira da Silva - Laboratório de Controle de Qualidade do Departamento de Química Industrial da UFPE

À Teresinha Gueiros da Silva – Laboratório de Análises Clínicas do IMIP

À Maria Virgínia da Silva Barbosa - Laboratório de Química do Departamento de Física da UFPE

À Renato A. S. Oliveira

Ao Dr. Antônio Rolim

Aos colegas do Laboratório de Bioquímica e Microrganismos do Departamento de Antibióticos da UFPE.

À Maria de Fátima Andrade – Secretária do Departamento de Clínica e Odontologia Preventiva da UFPE

Aos Alunos da Disciplina de Periodontia

Aos colegas Professores da Disciplina de Periodontia

Ao colega de Mestrado, Professor Artur José Vasconcelos de Queiroz.

"O crescimento é um processo de experimentação, uma série de tentativas, erros e vitórias ocasionais. As experiências fracassadas são tão parte do processo quanto aquelas que funcionam".

RESUMO

Esta pesquisa procurou investigar, *in vitro*, a capacidade antimicrobiana da radiação laser, pulsada, Nd:YAG, em microrganismos anaeróbios coletados do sistema de canais radiculares, de dente uniradicular, com necrose pulpar e lesão periapical. Dois grupos foram definidos para estudo comparativo. Grupo não irradiado e grupo experimental ou irradiado. Após 8 horas de incubação no meio líquido de cultura, tioglicolato de sódio, 4 cubetas especiais foram preenchidas, cada uma, com 300 μL desse meio inoculado. Depois de identificados, foram irradiados, individualmente, por 3½ minutos, com as respectivas potências de 1,5 W, 2,0 W, 2,5 W e 3,0 W. Em seguida, foram procedidas as diluições em água destilada esterilizada, na proporção 1:10 até a 10^{-6} tanto do grupo controle quanto do grupo irradiado e, disseminados, posteriormente, em placas de Petri contendo o meio sólido tioglicolato enriquecido com hemina e vitamina K. Esta seqüência, foi repetida a cada 4 horas até que fossem completadas 24 horas desde o início da coleta. Uma variante, todavia, foi introduzida na 20ª hora: o tempo de irradiação, para a potência 3 W, foi alterado para 6 minutos. Os parâmetros de irradiação utilizados foram os seguintes: a) 1,5 W, taxa de repetição: 10 Hz, tempo de pulso: 100 μs , energia de pulso: 150 μJ , área efetiva de atuação do laser: $1,1 \times 10^{-2} \text{ cm}^2$ e densidade de energia: 140 mJ/cm^2 ; b) 2,0 W, taxa de repetição: 10 Hz, tempo de pulso: 100 μs , energia de pulso: 200 μJ , área efetiva de atuação do laser: $1,1 \times 10^{-2} \text{ cm}^2$ e densidade de energia: 180 mJ/cm^2 ; c) 2,5 W, taxa de repetição: 10 Hz, tempo de pulso: 100 μs , energia de pulso: 250 μJ , área efetiva de atuação do laser: $1,1 \times 10^{-2} \text{ cm}^2$ e densidade de energia: 230 J/cm^2 ; d) 3,0 W, taxa de repetição: 10 Hz, tempo de pulso: 100 μs , energia de pulso: 300 μJ , área efetiva de atuação do laser: $1,1 \times 10^{-2} \text{ cm}^2$ e densidade de energia: 280 mJ/cm^2 . Os resultados demonstraram que um decréscimo microbiano expressivo ocorreu na 20ª hora, com a potência de 3,0 W por 6 minutos de irradiação: $1,60 \log_{10} \text{ UFC/mL}$ (Unidade Formadora de Colônia por mililitro) e que na 16ª hora, nenhuma das potências empregadas conseguiu reduzir a população de anaeróbios, momento caracterizado pelo maior crescimento bacteriano: $1,47 \log_{10} \text{ UFC/mL}$. Concluindo: há uma distância experimental a ser percorrida, antes que se possa falar em esterilização de canais radiculares, utilizando-se o laser pulsado de Nd:YAG.

Unitermos: laser; anaeróbios; canais radiculares; lesão periapical

ABSTRACT

This research investigated the “*in vitro*” antimicrobial capacity of pulsed Nd:YAG laser radiation in anaerobics collected from root canals, of tooth with a single root, with necrosis and periapical lesion. Two groups were identified for comparative studies. A non-irradiated and a irradiated or experimental group. After 8 hours of incubation in the liquid culture media, sodium thioglycolate, 4 special cuvettes were filled, each one of them, with 300µl of this inoculated medium. After being properly identified, they were individually irradiated for 3 ½ minutes, with respective powers of 1.5 W, 2.0 W, 2.5W and 3.0 W. Following, they were diluted in distilled water in the proportion of 1:10 down to 10^{-6} both from the control as well as the irradiated group and disseminated, later, in Petri dishes containing the solid medium thioglycolate enriched with hemine and K vitamin. This sequence was repeated every 4 hours until the 24 hours since the procedure beginning were fulfilled. One variant, however, was introduced at the 20th hour: the irradiation time, for the 3 W power, was altered to 6 minutes. The utilized irradiation parameters were the following: a) 1.5 W, repetition rate 10 Hz, pulse duration 100 µs, pulse energy: 150 µJ, effective area of laser actuation: $1.1 \times 10^{-2} \text{ cm}^2$ and energy density 140 mJ/cm²; b) 2.0 W, repetition rate 10 Hz, pulse duration 100 µs, pulse energy: 200 µJ, effective area of laser actuation: $1.1 \times 10^{-2} \text{ cm}^2$ and energy density 180 mJ/cm²; c) 2.5 W, repetition rate 10 Hz, pulse duration 100 µs, pulse energy: 250 µJ, effective area of laser actuation: $1.1 \times 10^{-2} \text{ cm}^2$ and energy density 230 mJ/cm²; d) 3.0 W, repetition rate 10 Hz, pulse duration 100 µs, pulse energy: 300 µJ, effective area of laser actuation: $1.1 \times 10^{-2} \text{ cm}^2$ and energy density 280 mJ/cm². The results demonstrated that there was a expressive microbial decrease at the 20th hour, with the 3.0 W power and 6 minutes irradiation: $1.6 \log_{10} \text{ UFC/mL}$ and that at the 16th hour none of the employed powers were able to reduce the anaerobic population, moment characterized by the highest bacterial growth: $1.47 \log_{10} \text{ UFC/mL}$. In conclusion, we would like to state there is an experimental gap to be fulfilled before one can talk about sterilization of the root canals, using a pulsed Nd:YAG laser.

Key words: laser; anaerobics; root canals; periapical lesion

LISTA DE FIGURAS

- Fig. 1 a e b. Representação de duas ondas, com comprimento de ondas e frequências diferentes. Quando o comprimento de onda aumenta (λ), diminui a frequência (ν), de forma que (c), que é a velocidade da luz será sempre constante. Em ambos os casos, a amplitude “a” da onda está indicada. p.42
- Fig. 2. Espectro eletromagnético constituído de radiações infravermelhas, luz visível radiações ultravioletas. p. 43
- Fig. 3. Diagrama do processo de emissão estimulada. p. 44
- Fig. 4. Ressonador laser. p.45
- Fig. 5. Interação da luz laser com os tecidos biológicos. p. 47
- Fig. 6 a -c. Cubeta idealizada para o corpo de prova. O semitubo colado à porção central da lâmina possui um raio de 2mm. Lâmina de vidro com 2.5 cm de largura por 5,5 cm de comprimento. p. 51
- Fig.7. Seringa hipodérmica de 1mL, adaptada com tubo capilar para aspirar o conteúdo líquido das cubetas. p.52
- Fig. 8 a e b. Jarra anaeróbica para transporte das cubetas. À esquerda: disco com fendas identificadas pelas cores branca, amarela, azul e vermelha correspondentes às respectivas potências de 1.5W, 2W, 2.5 W e 3 W onde serão acomodadas as cubetas. À direita: visão interna da altura do disco com relação a base da jarra. p. 53
- Fig. 9 a e b. Abertura coronária do elemento dentário 33 para coleta do exsudato. Radiografia periapical evidenciando área radiolúcida periapical. Dente com giroversão. p. 54.
- Fig. 10 a e b Laser Twinlight da FOTONA (Nd:YAG e Er:YAG). À direita: painel de protocolos e dispositivos para a programação do equipamento. p. 56
- Fig. 11 a e b. Irradiação da cubeta com laser de Nd:YAG. (a) preparação para o início da irradiação. Vê-se a luz guia de coloração vermelha (visível ao olho humano). (b) irradiação pulsátil infravermelha (invisível ao olho humano). A luz avermelhada é um efeito do filme fotográfico. p. 57

LISTA DE QUADRO, ESQUEMA E TABELAS

Quadro 1 - Conforme a elevação da temperatura, fenômenos biológicos podem ocorrer em decorrência dos efeitos térmicos produzidos quando o feixe de luz entra em contato com a superfície tecidual. p.47

Esquema 1 - **Acima**: figura representativa do momento da coleta T_0 . **Ao centro**: início, cíclico, do experimento após 8 horas da coleta. **Abaixo**: processo experimental mostrando crescimento bacteriano. p. 59

Tabela 1 - Parâmetros do laser e da irradiação utilizados para cada potência. p. 57

Tabela 2 - Atividade antimicrobiana do laser. UFC/mL e desvios padrões de crescimento. p. 83.

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1. Espectro de absorção pelos tecidos biológicos (MALDONADO et al., 2000 apud ROCHA, 2000). p. 46
- Gráfico 2. Resultado da leitura espectrométrica UV-Vis-NIR. A absorção pela lâmina plana de vidro para microscopia, na faixa de comprimento de onda de 1064 nm, é, praticamente, nula. p. 50
- Gráficos 3 e 4. Análise espectrométrica UV-Vis-NIR. As absorções do tioglicolato puro e inoculado, nas primeiras horas, no comprimento de onda de 1.064 nm foram, respectivamente, de 0,11 e 0,17, portanto absorção muito baixa. p. 55
- Gráfico 5. Atividade antimicrobiana do laser pulsado de Nd:YAG, na potência de 1,5 W, frente a uma população de microrganismos anaeróbios, ao longo de 16 horas de crescimento. p. 60
- Gráfico 6. Atividade antimicrobiana do laser pulsado de Nd:YAG, na potência de 2,0 W, frente a uma população de microrganismos anaeróbios, ao longo de 16 horas de crescimento. p. 61
- Gráfico 7. Atividade antimicrobiana do laser pulsado de Nd:YAG, na potência de 2,5 W, frente a uma população de microrganismos anaeróbios, ao longo de 16 horas de crescimento. p. 62
- Gráfico 8. Atividade antimicrobiana do laser pulsado de Nd:YAG, na potência de 3,0 W, frente a uma população de microrganismos anaeróbios, ao longo de 16 horas de crescimento. p. 63

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AAE – American Association of Endodontists

A. aeruginosa – *Actinomyces aeruginosa*

ATCC- American Type Culture Collection

BOD – Biochemical Oxigen Demand

bp - púrpura de bromocresol

cm - centímetro

CW- continuous waves (ondas contínuas)

EDTA- ácido tetra acético etilenodiamino

HILT - Hight Intensity Laser Therapy

IgG – imunoglobulina G

kV - kiloVolt

LASER – Light Amplification by Stimulation Emission of Radiation

LILT – Low Intensity Laser Therapy

ms - milissegundo

NCTC - National Collection of Type Cultures

NIR – Near Infra Red (Infra Vermelho Próximo)

nm – nanômetro

pH – potencial hidrogeniônico

pps – pulso por segundo

PTM - Physical Modification Threshold (limiar de modificação física).

spp – specie population

UFC/mL – Unidades Formadoras de Colônias por mililitro

UV – ultravioleta

Vis - visível

YAG – Ytrio Alumínio Granada

μ s - microssegundo

LISTA DE SÍMBOLOS

Å - Angstrom

Ar – Argônio

CO₂ - Dióxido de Carbono

Cr⁺₃ - Cromato

Er - Érbio

He – Hélio

HF – ácido hidrofluorico

Ho - Hólmio

Hz – Hertz

J – Joule

J/cm² – Joule por centímetro quadrado

KI₃ – iodeto de potássio

Kr – criptônio

KrF – Fluoreto de Criptônio

log – logarítmo

log₁₀ – logarítmo decimal

mW - miliWatt

NaOCl – hipoclorito de sódio

Nd – Neodímio

Ne - Neônio

W – Watt = 1 J/s

XeCl – Cloreto de Xenônio

λ - comprimento de onda

ν – frequência

μ - micra

μm – micrômetro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DA LITERATURA	19
2.1 Infecção da polpa dentária e do periápice	19
2.2 Laser em Odontologia	30
2.3 Princípios físicos do laser	42
2.4 Componentes do laser	45
2.5 Interação da luz com os tecidos	46
3 PROPOSIÇÃO	49
4 METODOLOGIA	50
4.1 Confeção da cubeta de vidro	50
4.2 Seringas hipodérmicas adaptadas	51
4.3 Recipiente para transporte das cubetas	52
4.4 Procedimento experimental	53
4.4.1 Coleta	53
4.4.2 Inoculação	54
4.4.3 Equipamento utilizado para irradiação	55
4.4.4 Irradiação	56
4.4.5 Estatística	58
5 RESULTADOS	60
6 DISCUSSÃO	64
7 CONCLUSÕES	68
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69
APÊNDICE	74
ANEXO	77

1 INTRODUÇÃO

A anatomia do sistema de canais radiculares e dos túbulos dentinários predispõe o endodontista a trabalhar em uma área que não é perceptível à visão direta e que serve, comumente, de habitat às bactérias e seus substratos.

A cavidade pulpar apresenta-se com características variadas, tanto na distribuição do sistema de canais, quanto no diâmetro cujo volume máximo é da ordem de centésimos de centímetros cúbicos. Isso leva a concluir que o tratamento de canal é um ato operatório que submete o endodontista à dificuldades como limitações técnicas instrumentais e incertezas nos seus resultados clínicos. Este fato, torna obrigatório o que se conhece como fase de preservação. O tratamento endodôntico é considerado uma microcirurgia que tem exigido do profissional um elevado desenvolvimento tátil, grande habilidade manual, um bom imaginário, conhecimentos específicos em matérias básicas além de contar com o auxílio de exames radiográficos periapicais precisos (melhor contraste e mínima distorção), sem os quais é impraticável a endodontia.

Em dentes despulpados, os túbulos dentinários estão contaminados por bactérias que os invadem após a necrose pulpar. Massas de bactérias são revestidas por um filme polissacarídeo, de natureza viscosa, que resiste à ação de desinfetantes químicos, antibióticos e do sistema imunológico. Nas necroses pulpares, com reação periapical, torna-se mais evidente a presença desse biofilme, aumentando a resistência microbiana. Os cuidados biomecânicos e os cimentos obturadores nem sempre se revelam eficientes no controle da infecção endodôntica. Tem sido, portanto, preocupação científica, pesquisar substâncias obturadoras de canal, com amplo espectro de ação antimicrobiana, capazes de neutralizar a maior quantidade possível de bactérias.

Os insucessos nos tratamentos endodônticos são sempre atribuídos a erros técnicos de

manipulação e obturação e, dentre esses casos, há um bom percentual que apresenta reação periapical. Muitos pesquisadores têm mostrado a repetição de casos de obturações incompletas como causas de insucesso no tratamento.

É evidente que a Endodontia tem avançado cientificamente, como na modernização de equipamentos, criação de novas ligas para confecção de limas mais resistentes, na biomecânica, biossegurança, nos fármacos e nos conhecimentos biológicos específicos.

Mesmo no atual estágio evolutivo da Endodontia, ainda ocorre insucesso, principalmente nos tratamentos que envolvem necrose pulpar e lesão periapical crônica. Esse resultado, evidencia a necessidade da desinfecção bacteriana do sistema de canais radiculares antes da obturação. A presença de bactérias anaeróbicas, em grande número, nos canais radiculares com necrose pulpar, tem dificultado a obtenção de melhores resultados terapêuticos.

Muita ênfase é dada, atualmente, às ações da biomecânica e ao vedamento das paredes do conduto radicular com o uso de guta-percha e cimentos obturadores bactericidas.

Apesar de reconhecer que em virtude da adoção de técnicas endodônticas, melhor elaboradas, biologicamente, os índices de insucesso decresceram, cabe trazer à superfície das discussões a afirmação feita por Carrel em 1919: “O mais importante na terapêutica das feridas infectadas é a própria limpeza mecânica, uma vez que os tecidos necrosados servem de refúgio aos microrganismos e os protegem de ação anti-séptica”. Então é pertinente dizer: o que se retira do canal é mais importante do que aquilo que nele se coloca. Assim, quanto melhor desinfetado estiver o canal, melhor será o resultado terapêutico.

Essa conclusão sugere que se deva introduzir meios coadjuvantes que auxiliem na obtenção de melhores resultados. Assim, a aplicação de meios de desinfecção, não químicos, deve ser estudada. Dentre os meios físicos com capacidade de esterilização, a radiação laser é um dos que vêm sendo testados. Comparativamente, apresenta características vantajosas conhecidas na literatura. O laser, dependendo de suas características físicas e de suas

indicações terapêuticas, pode oferecer vantagens ao paciente como: analgesia, propriedades antiinflamatórias, bioestimuladoras, vaporizadora, diminuição da permeabilidade dentinária, antimicrobiana e cirúrgica, dentre outras. Esses efeitos se dão em decorrência da interação existente entre o tecido e a irradiação.

Muitos trabalhos apontam na direção da viabilidade desta pesquisa, pois mostram a atividade antimicrobiana do laser, pulsado, Nd: YAG em uma variedade de bactérias bucais, como: *Prevotella nigrescens*, *Streptococcus sanguis*, *Actinomyces viscosus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* e *Peptostreptococcus micros*. Fibras ópticas de pequeno diâmetro, geralmente entre 200 µm e 300 µm são utilizadas, além de uma grande variedade de parâmetros físicos de acordo com o tipo de laser e a natureza da pesquisa. A elevação da temperatura causada pelos disparos do laser na superfície da dentina é um dos efeitos gerados na interação com os tecidos para eliminar os microrganismos.

Há necessidade de alargar os horizontes da pesquisa nessa área, em virtude dos indicativos literários de que o emprego dessa nova tecnologia poderá trazer benefícios à saúde dos pacientes e à qualidade do serviço profissional. Ao paciente, espera-se a comprovação das vantagens enunciadas e resultados clínicos eficientes. Ao profissional, destinam-se as facilidades no manuseio do equipamento, rapidez na execução do trabalho e conseqüente aumento de produtividade. Caso fique patente a viabilidade desse recurso tecnológico, poderá ser incluído na rotina diária do tratamento endodôntico.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Infecção da polpa dental e do periápice

A polpa dental é um tecido conjuntivo de origem mesodérmica, composta de células, substância fundamental, fibras, vasos sanguíneos, vasos linfáticos e nervos. A situação anatômica desse tecido contido no interior de um canal, delimitado por paredes de dentina nas porções coronárias e radiculares permite que, em condições normais, seja mantida sua esterilidade. No entanto, uma série de fatores físicos, químicos e biológicos pode expor a estrutura à contaminação e proliferação microbianas e, conseqüentemente, favorecer a sua infecção e a extensão do processo infeccioso à região periapical (De UZEDA, 2002).

Jorge (1998), tratando sobre os agentes irritantes para a polpa dental, classifica-os como: mecânicos, térmicos, elétricos, energias radiantes, agentes químicos e microrganismos. Considera, porém, os microrganismos como principais responsáveis por lesões ao órgão pulpar. Quando a polpa é exposta à saliva contaminada com a microbiota bucal, ocorrem alterações patológicas na polpa e tecidos periapicais. As culturas bacterianas são originárias de material de polpa afetada, exposta ou necrosada. O sucesso do tratamento endodôntico é maior nos casos que apresentam cultura bacteriana negativa, comparada àqueles com cultura positiva. Dentre os mecanismos microbianos de agressão existem os de efeitos diretos (competitivo, mecânico, químico e produção de toxinas e enzimas) e os de efeitos indiretos mediados pelo hospedeiro (resposta inflamatória, liberação de enzimas, fenômenos decorrentes da fixação do complemento e fenômenos imunológicos humoral e celular).

Miller (1894), na introdução do seu trabalho: *An introduction to the study of the bacteriopathology of the dental pulp*, afirmou que “As investigações dos últimos dez ou quinze anos ofereceram uma satisfatória explicação do principal fenômeno associado com a cárie dental mas se tem, ainda, muita incerteza quanto ao aspecto bacteriológico das doenças pulpares, do pericementa, etc.”. Seus experimentos tiveram início em 1891. Examinou 250 polpas dentárias, das quais, apenas nas 50 últimas, os resultados foram detalhados. Apesar da precariedade dos métodos de cultura da época, três anos após, obteve os resultados que definitivamente relacionaram a etiologia das doenças pulpares à presença de microrganismos.

Takehashi et al (1965), utilizaram em experiência, 31 ratos “*germ-free*” e 50 ratos convencionais como animais de controle expondo, cirurgicamente, suas polpas dentais. Ambos foram alimentados, identicamente, com dieta de purina e água destilada autoclavadas. Foram sacrificados entre 1 a 42 dias do pós-operatório. No grupo controle, após o oitavo dia do experimento, todos os espécimes apresentaram necrose pulpar com tecido inflamatório crônico e formação de abscessos em áreas periapicais. Alguns espécimes exibiram microrganismos do tecido mole além da forame apical. Em nenhuma instância os tecidos injuriados evidenciaram reparação. Do grupo experimental “*germ-free*”, 18 sobreviveram ao pós-operatório. Uma resposta inflamatória mínima foi observada sem, contudo, encontrar desvitalização, granulomas ou abscessos apicais. Uma ponte de dentina estabeleceu-se no 14º dia e entre o 21º e 28º dias estava completada. A conclusão mostra que a presença ou ausência da flora microbiana é o que determinou a cura ou não da polpa exposta desses roedores.

Sundqvist et al. (1979), realizaram combinações de bactérias, isoladas de canais radiculares, de dentes com necrose pulpar e destruição óssea periapical as quais foram

testadas em suas capacidades de induzir formação de abscesso e infecção transmissível quando inoculados, subcutaneamente, em cobaias. Todas as combinações que resultaram em transmissão de infecção continham *Bacteroides melanogenicus* ou *Bacteroides asaccharolyticus*. O resultado sugeriu que inflamações purulentas na região periapical, em certos casos, poderiam ser induzidas por combinações específicas de bactérias no canal radicular e que a presença de *Bacteroides melanogenicus* ou *Bacteroides asaccharolyticus* em cada combinação é essencial. Todavia, há necessidade de uma quantidade expressiva de microrganismos para apresentar patogenicidade. O resultado indica que *Peptostreptococcus micros* também foi essencial. As seções histológicas das lesões mostraram que todas as combinações bacterianas induziram inflamação aguda com o acúmulo de leucócitos polimorfonucleares e a formação de abscesso. A presença desses *Bacteroides*, nas combinações, resultou no fracasso da resolução do abscesso, aumentando o acúmulo de leucócitos polimorfonucleares.

Ando e Hoshino (1990), investigaram a presença e os tipos de bactérias que invadem as camadas profundas (0,5 – 2 mm da superfície das paredes do canal) da dentina de canais radiculares humanos, infectada com anaeróbicos. Uma amostragem foi realizada, por escolha aleatória, em oito dentes recém extraídos. Mais bactérias foram descobertas após incubação em um meio com condições de anaerobiose depois de haver ficado em incubação naeróbica num ambiente com 30% de CO₂. Dos 256 tipos de bactérias isoladas, 80% ou seja 205 delas foram, predominantemente, anaeróbios estritos. Este achado sugere que as camadas mais profundas de dentina em lesões endodônticas, são anaeróbicas e favorecem seu crescimento. Dentre os anaeróbios isolados estão incluídos os *Lactobacillus* (30%) e *Streptococcus* (13%) os quais foram predominantes e acompanhados pelo *Propionibacterium* (9%) Não apenas anaeróbios estritos mas bastonetes Gram negativos foram isolados. A microflora de camadas

profundas de dentina infectada é relativamente similar às das camadas profundas das lesões cariosas na dentina coronária.

Tronstad; Barnett e Servone (1990), atestaram a existência de bactérias capazes de sobreviverem e se manterem em um processo de doença infecciosa em lesões periapicais de dentes sem vitalidade. Sob uma estrita assepsia cirúrgica, lesões periapicais foram enucleadas e removidas. Cerca de 2 a 3 mm da raiz foi cortada, irrigada com solução salina estéril e o espaço ocupado por um tampão neutro de formalina a 10%. Postas para fixar, as raízes foram desidratadas, secas ao ar e receberam uma cobertura de ouro para condução elétrica, em um evaporador a vácuo. As raízes foram, neste caso, estudadas em microscópio eletrônico de varredura. As superfícies radiculares estavam cobertas com tecido mole, exceto os ápices radiculares onde um corte contínuo, plano e estrutural foi visualizado, aparentemente, próximo ao forame apical. Numa ampliação, de um corte plano, uma variedade de formas de bactérias foi identificada. Uma placa bacteriana foi observada em irregularidades de superfícies, entre feixe de fibras e células e, em cristas e orifícios. A placa que prevaleceu era constituída por cocos e bastonetes.

A maioria das infecções anaeróbicas está associada à contaminação de tecidos pela flora normal da mucosa da boca, da laringe, do trato gastrointestinal ou do trato genital. É típico encontrar múltiplas espécies (cinco, seis ou mais espécies, quando são usadas condições padronizadas de cultura), incluindo anaeróbios estritos e anaeróbios facultativos. As infecções associadas à contaminação por flora normal da mucosa, apresentam uma distribuição relativamente igual de anaeróbios estritos e anaeróbios facultativos como agentes causais. Cerca de 25% apresentam apenas anaeróbios estritos; cerca de 25% só apresentam anaeróbios facultativos e cerca de 50% apresentam tanto anaeróbios estritos quanto anaeróbios

facultativos. As infecções orofaríngeas são exemplo de infecções associadas por *Actinomyces*, *Bacteroides melanogenicus* e espécies de *Fusobacterium* (JAWETZ et al. 1991).

Baungartner e Falkler (1991), removeram os 5 mm apicais de raízes de 10 dentes recém extraídos e os puseram em meio de cultura para anaeróbios. As culturas de anaeróbios foram duplicadas e incubadas, aerobicamente, para comparação. Foram isolados e identificados cinquenta tipos de bactérias. As culturas de bactérias predominantes foram *Actinomyces*, *Lactobacillus*, *Bacteroides melanogenicus*, *Peptostreptococcus*, *Bacteroides não pigmentados*, *Veillonella*, *Enterococcus faecalis*, *Fusobacterium nucleatum* e *Streptococcus mutans*. Das 50 bactérias isoladas, 34 (68%) delas foram anaeróbios estritos. Este estudo demonstrou a predominância de anaeróbios nos 5 mm apicais dos dentes com canais infectados, com cáries, exposição pulpar e lesões periapicais.

Sundqvist (1992), investigou a existência da relação entre microrganismos comensais ou antagonistas dos canais radiculares de dentes com periodontite apical. Sessenta e cinco dentes foram incluídos nesse estudo, todos uniradiculares, contendo polpa necrótica, parede da câmara pulpar intacta e evidência radiográfica de reabsorção periapical. Nenhum paciente tomava antibiótico. O resultado revelou que todos os canais continham bactérias. Um total de 353 cepas foram isoladas. *Fusobacterium nucleatum* foi o microrganismo mais freqüentemente isolado. Outros, como: *Prevotella intermedia*, *Prevotella micros*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Eubacterium alactolyticum*, *Eubacterium lentum* e *Wolinella recta* também foram isolados. Uma fraca correlação entre o número de espécies isoladas do canal e o tamanho da lesão periapical foi observada.

Oguntebi (1994), em uma criteriosa revisão da literatura, sugere que o micro ambiente dos túbulos dentinários favorece a seleção de alguns tipos de bactérias, sem restrição da etiologia do processo de infecção: cárie dentária coronária ou necrose pulpar. Essas bactérias podem constituir em um importante reservatório do qual pode ocorrer infecção do canal radicular seguida de necrose pulpar e reinfecção durante ou após o tratamento endodôntico. Novas estratégias de tratamentos podem incluir agentes, que penetrem nos túbulos dentinários e eliminem estes microrganismos localizados em uma área fora da ação do mecanismo de defesa do hospedeiro e que não podem ser alcançados pela administração sistêmica de agentes antimicrobianos.

Siqueira; DeUzeda e Fonseca (1996), avaliaram, *in vitro*, a invasão dos túbulos dentinários dos canais radiculares por bactérias anaeróbicas e, comumente, isoladas de infecções endodônticas. Cilindros de dentina foram obtidos de incisivos de bovinos os quais foram inoculados com bactéria e a penetração nos túbulos foi demonstrada por microscopia eletrônica de varredura. Os resultados indicaram que todas as bactérias testadas foram capazes de penetrar nos túbulos dentinários mas em diferentes extensões.

Bradshaw et al (1997), observaram que bactérias anaeróbicas são, comumente, encontradas como componentes de biofilmes de cultura mista, em alguns *habitats* aeróbicos, incluindo a boca. Estudos prévios mostraram que anaeróbios poderiam sobreviver em comunidades planktônicas e de biofilmes, em condições aeróbicas, quando parte da comunidade, inclui espécies anaeróbicas facultativas, onde os números de espécies anaeróbicas crescem, proporcionalmente, com a maturidade do biofilme. Os anaeróbicos estritos, na ausência de espécies de anaeróbicos facultativos, são incapazes de crescerem. Nesta cultura, na ausência

de oxigênio, o modo de crescimento do biofilme não deu provimento para estas espécies de bactérias.

Bae; Baumgartner e Nakata (1998), relataram que, majoritariamente, as infecções endodônticas, associadas a origem bacteriana, são induzidas por anaeróbios estritos. Nesta experiência, estes pesquisadores, utilizando o conhecimento sobre metabolismo fermentativo destas bactérias, idealizaram meios cromogênicos nos quais eram revelados o crescimento pela mudança de pH, utilizando para isso, o indicador púrpura de bromocresol. Assim puderam isolar e identificar *Fusobacterium nucleatum* e *Fusobacterium necrophorum*, *Veillonella parvula* e *Peptostreptococcus anaerobicus*.

Leonardo (1998), abordando sobre tratamento de canal radicular, afirma que não termina com a sua obturação ou seja, com a repleção da cavidade pulpar mas sim, após um período de preservação de no mínimo dois a quatro anos, iniciando-se nos primeiros seis meses. É recomendado, principalmente, nos casos de necrose com reação periapical, levando em consideração que muitas lesões periapicais necessitam de 4 a 5 anos para uma completa reparação. [...] É importante ressaltar a grande concentração de anaeróbios em dentes despulpados com lesão periapical. Nestes casos, o preparo biomecânico desempenha um importante papel na desinfecção do canal radicular mas não os coloca em condições bacteriológicas de serem obturados. Por isso, são utilizados curativos de demora com hidróxido de cálcio e p-paramonoclorofenol canforado para destruir tanto aeróbios quanto anaeróbios residuais. Os casos refratários podem ser decorrentes de falhas técnicas.

Peters et al (2001), coletaram dentes com periodontite apical, em duas diferentes localizações geográficas, Amsterdam e Glasgow e estudaram a microbiota dos túbulos

dentínarios radicular destes grupos, em três segmentos distintos, compreendidos entre a extensão da polpa dentinária e cementária. Também realizaram estudos histológicos. Os resultados mostraram que na porção da dentina mais próxima ao ápice foi encontrado um grande número de anaeróbios e bastonetes Gram-positivos, bem como outras espécies. Os cortes histológicos mostraram a penetração de bactérias nos túbulos dentínarios de alguns dentes. Bactérias estavam presentes na dentina e parte final do cimento, em mais da metade das raízes infectadas.

Siqueira (2001), descrevendo sobre infecção do canal radicular afirma que a necrose pulpar é uma consequência da injúria da polpa quando há perda da capacidade de defesa. Como resultado, os microrganismos colonizam o sistema de canais radiculares. A maior parte das patologias pulpares e periradiculares é de doenças inflamatórias de etiologia microbiana. Os microrganismos e seus produtos proporcionam um desenvolvimento essencial para a indução, progressão e perpetuação de cada doença. Mais de 150 espécies de microrganismos foram isoladas de canais radiculares infectados, geralmente infecções mistas consistindo de quatro a sete diferentes espécies e com predominância obrigatória de bactérias anaeróbicas. Estudos têm revelado que a taxa de sucesso do tratamento endodôntico é significativamente aumentada quando a infecção é efetivamente erradicada antes da obturação. Os prováveis microrganismos com significação patogênica em infecção endodôntica incluem *Porphyromonas sp*, *Fusobacterium nucleatum*, o grupo de *Streptococcus anginosus*, *Bacteroides forsythus*, *Treponema denticola*, *Peptostreptococcus*, *Eubacterium* e *Actinomyces*. Adicionalmente, *Enterococcus*, *Pseudomonas*, leveduras e alguns bastonetes entéricos podem estar envolvidos.

Peters; Wesselink e van Winkelhoff (2002), investigaram combinações de bactérias encontradas em infecções do canal radicular de dentes com destruição óssea periapical sem sinais e sintomas clínicos. Amostras endodônticas de 58 canais radiculares foram submetidas à cultura anaeróbica, os microrganismos enumerados e identificados. Oitenta e uma combinações de microrganismos foram encontradas e testadas para uma relação simbiótica usando o teste de Fisher's e o cálculo de proporção de Odds. Os resultados evidenciaram que todas as amostras continham microrganismos com uma média de $4,9 \log_{10}$ UFC/mL por amostra. Espécies anaeróbicas estritas somaram 87% da microflora. A maior prevalência foi de *Prevotella intermedia*, seguida de *Peptostreptococcus micros* (33,29%) e *Actinomyces odontolyticus*, (19%). Após análise estatística pelo cálculo das proporções de Odds foi concluído que existia uma ligação intrínseca entre algumas das bactérias anaeróbicas e que esta relação era extremamente significativa ($p < 0,05$ e > 2). Esta ligação estava presente entre *Prevotella intermedia* *Peptostreptococcus micros*. Esses resultados indicaram que os patógenos endodônticos não ocorrem aleatoriamente, mas em combinações específicas.

Em dentes com necrose pulpar e lesões periapicais, 90% das bactérias isoladas são anaeróbios estritos com diferentes associações entre as espécies, apesar dessa associação não ser absoluta, há o estabelecimento dessa relação entre certas espécies e os sinais e sintomas na infecção do canal radicular. Para eliminar os microrganismos e obter cura e regeneração dos tecidos periapicais, combinações de técnicas endodônticas, como instrumentação, irrigação/aspiração, curativos de demora e obturação da cavidade pulpar, são usadas (FERREIRA et al, 2002).

De acordo com Love (2002a), a invasão bacteriana nos túbulos dentinários é decisiva para a progressão da cárie dental e o desenvolvimento da pulpite e lesão periapical e, pode ainda,

influenciar na progressão da doença periodontal. Contudo, pouco se conhece sobre o hospedeiro ou o mecanismo envolvido na invasão dos túbulos. Um recente trabalho demonstrou que as interações bacterianas com a dentina, saliva e moléculas teciduais influenciam a invasão. As moléculas salivares como as da mucina e imunoglobulina G (IgG) co-agregadas com células bacterianas, inibem a invasão dentinária, durante a deposição dos fluidos moleculares nos túbulos dentinários, isto é, albumina, IgG ou fibrogênio dentro dos túbulos, igualmente, inibem a invasão. A invasão da dentina por *Streptococcus* tem sido demonstrada por estar associada com um crescimento de bactérias responsáveis pela adesão para desmineralizar o colágeno, o qual é mediado por antígenos polipeptídeos I/II da superfície celular do *Streptococcus*. Este processo de adesão, de diferentes propriedades, inclui a ligação de glicoproteína salivar, outras bactérias e o colágeno. Adicionalmente, alguns antígenos polipeptídeos I/II facilitam a co-invasão de bactérias específicas entre *Streptococcus* e anaeróbios estritos que não possuem habilidade para invadirem sozinhas. Um entendimento do mecanismo que envolve a invasão bacteriana, da dentina, parece permitir o desenvolvimento de uma nova estratégia de controle.

A invasão dos túbulos dentinários pelas bactérias, comumente ocorre quando a dentina é exposta, seguida de uma fenda na integridade do esmalte ou cimento. Os produtos bacterianos se difundem através dos túbulos dentinários em direção a polpa e induz mudanças inflamatórias no complexo-dentina-polpa. O processo inflamatório, que é uma reação de defesa orgânica, pode eliminar a injúria bacteriana e bloquear o caminho da infecção. Uma invasão não observada resulta pulpíte e necrose pulpar, infecção do sistema de canais radiculares e lesão periapical. Enquanto várias centenas de espécies de bactérias são conhecidas por habitar a cavidade oral, um seletivo grupo de bactérias está envolvido na invasão dos túbulos dentinários e conseqüente infecção do espaço do canal radicular.

Microrganismos Gram-positivos dominam a microflora dos túbulos dentinários de dentes com e sem cáries. Uma alta concentração de microrganismos anaeróbicos estritos está presente nos túbulos dentinários como: *Eubacterium spp.*, *Propionibacterium spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Peptoestreptococcus micros* e *Veillonella spp.* Bastonetes Gram-negativos, como *Porphyromonas spp.*, são menos, freqüentes. Na infecção, os *Streptococcus* têm um importante papel na invasão da dentina e no reconhecimento dos componentes presentes dentro dos túbulos, como colágeno tipo I, estimulando a adesão e o crescimento bacteriano intratubular. Interações específicas dos *Streptococcus* invasores com outras bactérias podem facilitar a invasão da dentina por seletos grupos bacterianos. A compreensão deste mecanismo poderá servir para o desenvolvimento de materiais com os componentes inibitórios incorporados para uso do endodontista (LOVE; GENKINSON, 2002b).

2.2 Laser em Odontologia

O uso do laser em Odontologia foi sugerido há aproximadamente 35 anos como um meio de energia luminosa para remover ou modificar tecidos moles e duros da cavidade oral (AAE – LASERS IN DENTISTRY, 2003).

Myers e McDaniel (1991), afirmaram que recentes inovações tecnológicas têm permitido o desenvolvimento de lasers apropriados para uso operatório em Odontologia. O laser de dióxido de carbono (CO₂) tem sido usado para cirurgias de tecido mole; o laser de Nd:YAG tem aplicações para tecidos moles e duros. As vantagens do laser sobre os métodos convencionais de tratamento, incluem mínima destruição celular e edema, hemostasia, aumento visual do campo cirúrgico e redução da dor no pós-operatório. Adicionalmente é possível realizar alguns procedimentos sem a necessidade de anestesia. Tanto na experiência clínica, quanto na expansão da investigação científica, aplicações futuras poderão ser incluídas para o desenvolvimento de novos adesivos e sistemas de compósitos, além de novos métodos para controle da cárie e tratamentos endodônticos.

Kimura; Wilder-Smith e Matsumoto (2000), certificaram que desde o desenvolvimento do laser de rubi por Mayman em 1960 e sua aplicação endodôntica por Weichman em 1971, vários trabalhos têm sido publicados sobre o potencial dos lasers em endodontia. Sumariamente, a aplicação do laser em endodontia inclui sua utilização para hipersensibilidade dentinária, capeamento pulpar e pulpotomia, esterilização de canais radiculares, modelagem do canal, obturação e apicetomia.

Eduardo e Gouw-Soares (2001), informam que em Endodontia a laserterapia tem sido usada como tratamento coadjuvante tanto na baixa intensidade (LILT - *Low Intensity Laser*

Therapy) quanto na alta (HILT – *Hight Intensity Laser Therapy*) para aumentar o índice de sucesso do procedimento clínico. Os lasers de baixa intensidade possuem propriedades analgésicas, antiinflamatórias e efeitos bioestimulantes sobre tecidos moles e, por meio disso, um proveitoso processo de restabelecimento que dá ao paciente uma melhor condição no pós-operatório. A irradiação do laser de alta intensidade em tecido mole de maneira desfocada poderá ter similar efeito. Dependendo do comprimento de onda, a irradiação de alta intensidade pode ser usada tanto em tecido dental duro, como na dentina de canais radiculares ou em corte da superfície da dentina, após apicetomia, para produzir mudanças na estrutura morfológica, para remover o “*smear layer*”, para fundir e recristalizar a dentina ou para expor túbulos dentinários. Estudos endodônticos prévios antecederam o uso de diferentes comprimentos de onda do laser de alta intensidade e ficou comprovada a eficiência térmica do processo de ablação dos tecidos duros do dente, na apicetomia como também, na redução de bactérias nos locais cirúrgicos ou, igualmente, em canais radiculares contaminados. O laser tem sido considerado um grande avanço sobre o tradicional procedimento de desinfecção dos canais radiculares.

Gomes (2000), num estudo sobre a aplicação do laser na área da saúde, afirma que particularmente na Odontologia, as primeiras pesquisas datam de 1963, com laser de rubi que se mostrou inadequado e, subsequente, com lasers de Argônio, CO₂ e Nd:YAG. No entanto, foi o entendimento nos processos de interação luz e tecido biológico, através de pesquisas, que permitiu a identificação de comprimentos de onda mais adequados para cada aplicação, particularmente diferenciando entre sua utilização em tecidos moles ou tecidos duros.

O laser pulsado de Nd:YAG foi introduzido em Odontoestomatologia nos anos 90, essencialmente para tratamento de bolsas periodontais. A técnica é realizada pela inserção de uma fibra entre a gengiva e o dente resultando na esterilização da área tratada e na estimulação dos tecidos em volta, causando uma adesão renovada entre a gengiva e o colo dentário. Outra aplicação é na esterilização e no esvaziamento dos canais radiculares pela introdução de uma fibra que, quando irradiada por energia laser, vaporiza e desinfeta o canal, eliminando o risco de dano apical garantindo um completo esvaziamento e esterilização (MEDICAL LASER, 2003).¹

Os lasers de Diodo e de Nd:YAG são atualmente os mais comumente usados em Odontologia. Eles operam num modo pulsado, emitindo pulsos de duração média (<200 μ s), possibilitando, termicamente, a diminuição da tensão tecidual, característica de maior conforto para o paciente. Os lasers de Argônio (Ar) são absorvidos nos tecidos por pigmentos como melanina e hemoglobina. A absorção máxima acontece num comprimento de onda de 488nm, usado para polimerização de resina dental. Excelente hemostasia é também conseguida com o laser de Argônio. O laser de CO₂ é usado para procedimentos cirúrgicos rápidos, preparação de cavidade e endurecimento de superfície dental para resistência à carie. Os lasers de Diodo são absorvidos dentro dos tecidos pigmentados. Os lasers de Érbio:YAG são altamente absorvidos pela água e hidroxiapatita, principais componentes do esmalte. Esses lasers são muitas vezes usados em preparação de cavidade, remoção de cárie e aumento da resistência da superfície do esmalte ou dentina contra cáries. É também valioso para uso em cirurgias de tecidos moles. Os lasers de Ho:YAG tem como ação primária a absorção pela água. Tecidos locais esbranquiçados e cartilagosos ou fibróticos respondem prontamente a sua ação (LASERS IN DENTISTRY, 2003).

¹ Site da Deka que é membro associado da Academy of Laser Dentistry.

Chan e Lai (2003) expuseram culturas de patógenos periodontais à radiações dos lasers de He-Ne, de comprimento de onda de 632 nm, com 30 mW de potência e lasers de diodo de 665 nm e 830 nm respectivamente, ambos com 100 mW, na presença ou ausência de azul de metileno como fotossensibilizador. O grupo controle, não irradiado, também foi corado com o azul de metileno. Os resultados indicaram que a exposição ao laser de diodo de 665 nm, 100 mW, durante 60 s (densidade de energia de 21,2 J/cm²), na presença do fotossensibilizador indicou a melhor fotodinâmico-terapia eliminando, nessas condições, aproximadamente 95% de *Actinomyces actinomycetemcomitans* e *Bacterium fusonucleatum* e 99 a 100% de *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* e *Streptococcus sanguis*. Esse laser de diodo poderá ser usado como um coadjuvante do desbridamento mecânico para prevenir a recolonização de lesões subgengivais.

Hardee et al (1994), realizaram um estudo sobre a ação antimicrobiana do laser Nd:YAG comparado ao hipoclorito de sódio (NaOCl). Os dentes esterilizados em óxido de etileno e inoculados com esporos de *Bacillus stearothermophilus* foram divididos em 5 grupos de 10 canais cada. O grupo controle não recebeu tratamento. Quatro grupos foram expostos ao tratamento que consistiu em irradiação pelo laser pulsado de Nd:YAG ou a 0,5% de NaOCl ou, ainda, um tratamento combinado com ambos. Os canais radiculares foram irrigados com água destilada esterilizada para recuperar esporos. A análise dos dados, indicou uma redução de 2 log₁₀ em unidades formadoras de colônias, nos quatro grupos tratados, quando comparados com o grupo controle mas nenhum dos canais radiculares tratados foi esterilizado

Rooney; Midda e Limming (1994), investigaram o efeito da irradiação pulsada do laser de Nd:YAG sobre uma cultura de *Enterococcus faecalis* em preparações contendo corante "Suomi". Foram empregadas potências que variaram entre de 0,3 até 3,0 W. A liberação da

luz laser foi feita através de uma fibra de 320 µm, durante um intervalo de tempo que variou de 20 a 60 s. O efeito bactericida avaliado através da comparação do grupo controle e do teste contendo o corante, indicou que doses de energia iguais a 54 J ou superiores a esta, eram capazes de reduzir o inoculo em 4,9 log₁₀ UFC/mL, mesmo em preparações sem corantes. Reduções bacterianas, semelhantes, aconteciam quando eram utilizadas doses menores de irradiação, porém em preparações contendo corante. O corante tem influência direta no efeito bactericida do laser.

Fegan e Steiman (1995), estudaram a desinfecção dos canais radiculares após inoculação com *Bacillus stearothermophilus* com o laser de Nd:YAG e verificaram que em todos os grupos tratados com solução de NaOCl, o crescimento desse bastonete foi efetivamente inibido. A instrumentação manual e a ultrassônica com água destilada esterilizada não desinfetou os canais enquanto que o laser de Nd:YAG inibiu o crescimento de *Bacillus stearothermophilus*.

Gutknecht et al (1996b), pesquisaram o efeito bactericida do laser pulsado de Nd:YAG em preparações clássicas de canais radiculares, *in vitro*, utilizando *Enterococcus fecalis* como *microrganismo teste*. Para isso, os seguintes parâmetros foram previamente ajustados: fibra de quartzo flexível de 200 µm de diâmetro para os dentes anteriores e 300 µm para os posteriores; comprimento de onda de 1.064 nm; potência média de 1,5 W; frequência de 15 Hz; tempo de pulso de 100 µs; 100 mJ de energia por pulso; tempo de exposição total de 40 segundos. Os resultados obtidos foram mensurados pelo decréscimo do inóculo original que indicaram uma eliminação de 97,12% destes microrganismos, do interior dos canais radiculares.

Ramskold; Fong e Stromberg (1997), estudaram as propriedades dos efeitos térmicos e antibacterianos do laser de Nd:YAG para esterilizar canais infectados. Inocularam, *in vitro*, os canais radiculares com bactérias melanogênicas. Os resultados indicaram que ciclos de 3 J/s, durante 15 s, seguidos de um intervalo de 15 s, podiam prolongar o período de aplicação, sem risco de danos térmicos aos tecidos adjacentes. A melhor desinfecção foi obtida após 4 ciclos de irradiação, cada um com 3 W, 50 Hz, 60 mJ e 15 segundos.

Klinke; Klimm e Gutknecht (1997), examinaram os efeitos bactericidas da irradiação laser de Nd:YAG na intimidade da dentina do canal radicular. Após a esterilização, a dentina foi fatiada, em seções longitudinais de diferentes espessuras (100 – 1000 µm) e inoculadas em com 4 mL de uma suspensão de *Streptococcus mutans*. Após serem irradiadas, por 4 vezes, durante 10 a 20 segundos, usando o laser de Nd:YAG com 1,5 W, 15 pps, com uma fibra óptica de 200µm colocada em um ângulo de cerca de 5 graus. As bactérias foram removidas da dentina por meio de vibração e, posteriormente, inoculadas em placas com meio de cultura seletiva para *Streptococcus mutans*. Os resultados demonstraram que a dentina irradiada em comparação ao grupo controle, não irradiado, apresentou decréscimo de UFC/mL. Foi observado durante o experimento que, embora a intensidade da irradiação diminuísse após a penetração em uma fatia de dentina de 1000 µm, o modo de ação bactericida ainda era eficiente.

Lan (1999), avaliou a elevação da temperatura na superfície do canal, quando irradiado com o laser de Nd:YAG por causa de seus efeitos esterilizantes e selantes nos túbulos dentinários. Irradiou a área do 1/3 apical de dentes uniradiculares, com 50, 80, 100, 150 e 200 mJ/pulso; 20, 25 e 30 pulsos/s. A elevação da temperatura na superfície radicular foi, simultaneamente, medida e registrada. Apenas quando a saída de energia do laser esteve

abaixo de 100 mJ/pulso e inferior a 20 pulsos/s a elevação da temperatura não excedeu a 10°C.

Koba et al (1999), investigaram histopatologicamente, os efeitos da irradiação do laser de Nd:YAG durante o tratamento de canais radiculares infectados, em dentes de cães. Depois de induzir infecções dentárias, cada canal radicular foi instrumentado até a lima nº 40, tipo-K; Esses dentes foram corados e, em seguida, irradiados usando os seguintes parâmetros: 1W, 30 pps, por 1 e 2 s; 2 W, 30 pps por 2 s. As condições da inflamação periapical foram examinadas, histopatologicamente, à luz da microscopia, em 2, 4 e 8 semanas. A inflamação da região periapical, no grupo tratado por laser foi, significativamente, pequena com relação àquela do grupo controle, até 4 e 8 semanas ($p < 0.05$). Os resultados sugeriram que o laser de Nd:YAG pulsado é proveitoso para o tratamento de canal radicular de dentes infectados se os parâmetros apropriados forem selecionados.

Armengol; Jean e Marion (2000), compararam, *in vitro*, a elevação da temperatura durante o preparo de cavidade com Er:YAG, Nd:YAP e peça de mão com alta rotação. Dentre seis grupos de dentes selecionados, o grupo 1 foi tratado com uma broca carbide de alta rotação; o grupo 2 foi tratado com laser de Er:YAG, com uma energia de 140 mJ e taxa de repetição de pulso de 4 Hz; o grupo 3 foi tratado com um laser de Nd:YAP com uma energia de 240 mJ e uma taxa de repetição de pulso de 10 Hz. Nestes grupos, não se usou água para resfriamento. Os grupos de 4 a 6 foram tratados identicamente mas com spray de água. O aumento de temperatura foi medido por um micro-termômetro fixado no interior da câmara pulpar. O uso da água para resfriamento foi essencial para reduzir o efeito da temperatura em todos os grupos. O laser de Nd:YAP induziu, significativamente, a elevação da temperatura mais que o laser de Er:YAG ou a peça de mão.

Berkiten; Berkiten e Okar (2000), observaram, *in vitro*, os efeitos antibacterianos do laser de Nd:YAG em canais radiculares e túbulos dentinários contaminados. As amostras foram inoculadas com *Streptococcus sanguis* NCTC 7853 e *Prevotella intermedia* NCTC 93336. Os espécimes foram irradiados com 1,8 W e 2,4 W por 30 s. A potência de 1,8 W esterilizou os túbulos em 86,3% das seções inoculadas com *Streptococcus sanguis* e a potência de 2,4 W, esterilizou 98,5%. Ambas as potências esterilizaram todas as amostras inoculadas com *Prevotella intermedia*. As observações com a microscopia eletrônica de varredura deram apoio a estas descobertas.

Lan et al (2000), compararam as mudanças morfológicas após as irradiações com os lasers de Nd:YAG e CO₂ na superfície dentinária com e sem *smear layer*. As superfícies de dentina foram trituradas, em série de 320, 400 e 600 partículas finas para criar um *smear layer*. Metade das amostras foram tratadas com EDTA, por 2 min, para remover o *smear layer*. Os lasers foram aplicados em cada amostra, por 4 s, perpendicularmente, a 1 mm de distância do foco para a superfície da dentina. Os parâmetros para o laser de Nd:YAG foram 50 mJ, 100 mJ e 150 mJ com, respectivamente, 10 pps, 20 pps e 30 pps e, para o laser de CO₂, foram 2 W, 3 W e 4 W até 5 ms x 20 pps, 10 ms x 10 pps, 20 ms x 20 pps, 50 ms x 2 pps, 100 ms x 2 pps e 200 ms x 2 pps. O resultado mostrou que o laser de Nd:YAG causou cratera e fusão da superfície dentinária, especialmente em amostras de dentina com *smear layer*. O laser de CO₂ produziu extensas rachaduras na superfície dentinária com *smear layer*. Concluiu-se que em ambos os tipos de lasers, o *smear layer* teve uma significativa influência nas mudanças morfológicas das superfícies dentinárias irradiadas por eles.

Goya et al (2000), instrumentaram dentes uniradiculares, extraídos de humanos. Depois dividiram-nos em 3 grupos de 20 dentes cada. O grupo 1 foi o controle, não irradiado. O

grupo 2 foi tratado com o laser pulsado de Nd:YAG e, o grupo 3, teve os dentes corados e tratados com o mesmo laser. A potência usada foi 2 W e 20 pp 2 s. A irradiação foi realizada 2 vezes com intervalo de 30 s. Em cada grupo, 10 dentes foram obturados e imersos em solução de rodamine B, por 48 h a 37°C, para observar o extravasamento apical após obturação do canal e os outros 10 foram usados para avaliar o “*smear layer*” remanescente. Todos os dentes foram cortados longitudinalmente e observados por estereoscopia ou microscópio eletrônico de varredura. Os resultados mostraram que no grupo irradiado com laser, o “*smear layer*” quase foi fundido ou evaporado, portanto foi removido, significativamente ($p < 0,05$), quando comparado ao grupo controle. O extravasamento foi observado em 60% da amostra do grupo 1 e, 20%, do grupo 2. Não foi observado extravasamento no grupo 3. Uma diferença significativa ($p < 0,05$) foi observada neste grupo em relação ao grupo controle. Os resultados sugerem a conclusão de que a irradiação do laser pulsado de Nd:YAG, na presença de corante, aumenta a remoção do “*smear layer*” comparado ao grupo sem corante e, também, reduz o extravasamento apical após obturação.

Souza-Gugelmin et al (2001), estudaram a ação antimicrobiana dos lasers de Nd:YAG, CO₂ e Er:YAG em limas endodônticas contaminadas por *Enterococcus faecalis* ATCC 10541 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 2337, cujos parâmetros de radiação utilizados foram: para o laser de Nd:YAG, 1.064 nm, 4,5 W, 30 Hz, 150 mJ, através de uma fibra óptica de 0.8 mm de diâmetro; para o laser de CO₂, 10.600 nm, 5 W em CW através de uma ponta reta com 1 mm de diâmetro de raio; para o laser de Er:YAG, 2.940 nm, 15 Hz, 140 mJ e ponta com diâmetro de 1 mm. Cada lima foi irradiada, uniformemente, por 3 segundos. Os resultados mostraram que para as *Pseudomonas aeruginosa* todos os tipos de lasers foram efetivos em 100% das limas irradiadas. Para as limas contaminadas por *Enterococcus faecalis*, o laser de Nd:YAG esterilizou 100% delas, seguido pelo Er:YAG, 90% e do CO₂, 30%.

Kaitsas et al (2001), observaram as mudanças morfológicas e histológicas das paredes do canal radicular após o uso da irradiação do laser de Nd:YAG. Canais de dentes uniradiculares humanos, foram, devidamente, instrumentados, limpos e irrigados. Dez dentes (grupo controle) não foram irradiados enquanto que outros dez, foram irradiados pelo laser de Nd:YAG, com uma potência de 1,5 W e uma frequência de 15 Hz, durante 5 s, por meio de uma fibra de 320µm, inserida no canal radicular até 1 mm aquém do ápice e posteriormente retirada, com movimentos rotatórios. O grupo controle mostrou debris e “*smear layer*” na superfície do canal, obscurecendo os túbulos dentinários. As paredes do canal radicular irradiado com laser de Nd:YAG apresentou uma clara vitrificação da superfície, alguns túbulos dentinários abertos e algumas crateras superficiais e rachaduras. Os resultados confirmam que o “*smear layer*” e os debris foram removidos com laser, todavia a limpeza de todas as paredes do canal radicular ainda é difícil.

Cecchini (2001), investigou, ainda, o efeito da irradiação laser intracanal na desinfecção de túbulos dentinários de dentes bovinos recém extraídos que foram preparados e inoculados com *Enterococcus faecalis*. Foram divididos em 5 grupos experimentais e três grupos controle. Para irradiação, foram utilizados os lasers pulsados de Ho:YAG (2,1 µm); Nd:YAG (1.06 µm); Er:YAG (2,94 µm) com e sem refrigeração ar/água. Os parâmetros escolhidos foram: Ho:YAG – máximo de 50 mJ, 10 Hz, 66 J/cm² e 120 s; Nd:YAG – máximo de 100 mJ, 10 Hz, 119 J/cm², 120 s; Er:YAG – máximo de 50 mJ, 10 Hz, 64 J/cm², 120 s. Os grupos tratados receberam três parâmetros diferentes de irradiação para cada tipo de laser. O grupo 5 recebeu 7 dias de tratamento com hidróxido de cálcio. Como controles, três amostras para cada grupo receberam água estéril (controle negativo), três receberam KI₃, após exposição à bactéria (controle negativo) e três que não receberam tratamento após a inoculação (controle positivo). A análise estatística mostrou uma redução bacteriana como segue: > redução no

grupo irradiado pelo Ho:YAG (50 mJ, 10Hz, 66 J/cm², por 120 s), seguida pelo Ho:YAG (50 mJ, 10 Hz, 33 J/cm² por 60 s) e pelo grupo que recebeu hidróxido de cálcio. Os dois últimos grupos não apresentaram diferenças estatísticas significativas. O estudo espectrométrico revelou uma baixa absorção do *Enterococcus fecalis* na faixa de radiação infravermelho próximo. Ainda Cecchini (2001), *ibid* p. 95, afirma que o aumento térmico promovido durante a irradiação intracanal pelos lasers de Er:YAG e Nd:YAG quando emitiram energia por pulso (E/pulso) de 40 a 100 mJ e taxa de repetição de 10 a 15 Hz, produziram elevações térmicas na superfície radicular com valores inferiores a 5°C.

Piccolomini et al (2002), inocularam canais radiculares com *Actinomyces naeslundii* CH-12 em 30 deles e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 em outros 30 e os incubaram por 24h. Os dentes foram subdivididos em três subgrupos: o subgrupo A, não recebeu tratamento; o subgrupo B foi irradiado com laser Nd:YAG (5 Hz/15 s ou 10 Hz/15 s), e o subgrupo C foi irrigado com solução de NaOCl a 5,25 %. O resultado indicou um decréscimo de 34,0% de unidades formadoras de colônias para *Actinomyces naeslundii* e 15,7 % para *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 tratados com laser de Nd:YAG (5 Hz/15 s) e para o laser utilizado na frequência de 10 Hz, houve um decréscimo de 77,4 % para *Actinomyces naeslundii* e 85,8 % para *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 respectivamente. Nos canais tratados com NaOCl a 5,25 %, não foram detectadas bactérias, mostrando que o NaOCl a 5,25% fora mais efetivo que as aplicações de laser.

Folwaczny et al. (2002), estudaram, *in vitro*, a redução de bactérias dos canais radiculares, sem uso de fotossensibilizante, utilizando um equipamento laser de Nd:YAG com um comprimento de onda de 1.064 nm, uma duração de pulso de 100 µs e uma taxa de repetição de pulso de 20 pps. A mudança de temperatura nos canais radiculares foi determinada durante

a irradiação. As amostras de dentes humanos uniradiculares, foram instrumentadas, esterilizadas e, aleatoriamente, designados para duas unidades experimentais. A amostra de cada unidade experimental foi inoculada com *Escherichia coli* (ATCC 25922) ou *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) respectivamente e divididos em 2 subgrupos de 13 dentes cada, para irradiação por 20 s até 100 mJ ou 200 mJ. Um subgrupo, não tratado, como controle positivo e outro, que foi irrigado com 0,5 ml de hipoclorito de sódio (NaOCl). Após o tratamento com laser ou hipoclorito de sódio, o número de bactérias de cada canal radicular foi determinado. A análise estatística dos resultados foi realizada com ANOVA e o teste Scheff até um nível de significância de 5% ($p < 0.05$). A conclusão demonstrou que tanto o hipoclorito de sódio quanto a irradiação laser, na ausência de corante fotossensibilizador, tiveram efeito antimicrobiano mas o laser causou um considerável aumento de temperatura.

2.3 Princípios físicos do laser

Uma fonte de radiação eletromagnética ou fonte de luz, produz radiação cujas características foram entendidas ao longo dos anos, permitindo um controle na geração e manipulação destas fontes de energia. Tais fontes se caracterizam por um comprimento de onda, frequência e amplitude.

O comprimento de onda, λ , é a medida da distância de um pico a outro, dimensionada em micrômetro (μm), nanômetro (nm) ou angstrom (Å). As frequências de oscilações (ν) significam o número de vezes que a onda se repete por unidade de tempo, medida em Hz ou um submúltiplo (Fig. 1).

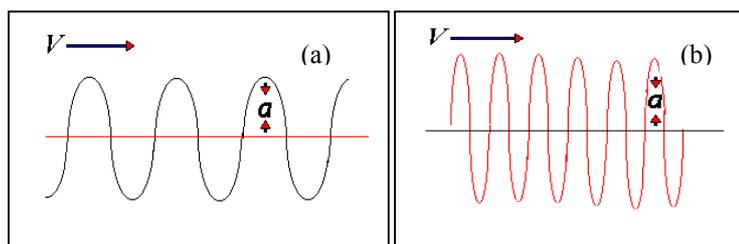


Fig. 1a e b. Representação de duas ondas, com comprimento de ondas e frequências diferentes. Quando o comprimento de onda aumenta (λ), diminui a frequência (ν), de forma que (c), que é a velocidade da luz, será sempre constante. Em ambos os casos, a amplitude “a” da onda está indicada (YOUNG, 1998 modificado por GOMES,2000).

A amplitude da onda está relacionada ao valor máximo do pico e também a intensidade da radiação emitida. O espectro eletromagnético é composto por radiações conhecidas: raios X, luz visível, ondas de rádio e televisão. Todas consistem do mesmo tipo de energia, sendo o λ o que as diferencia. O espectro eletromagnético é dividido em três partes: as radiações infravermelhas (invisíveis ao olho nu), a luz visível e as radiações ultravioletas as quais possuem fótons de altíssima energia capazes de causar ionização (Fig. 2).

A radiação infravermelha, invisível, é caracterizada pela energia de seus fótons cuja interação com o tecido gera calor, efeito este, muitas vezes desejável e não mutagênico. As fontes de radiação também são caracterizadas pelo tipo de emissão: espontânea ou estimulada (LOPES; EDUARDO, 2000).

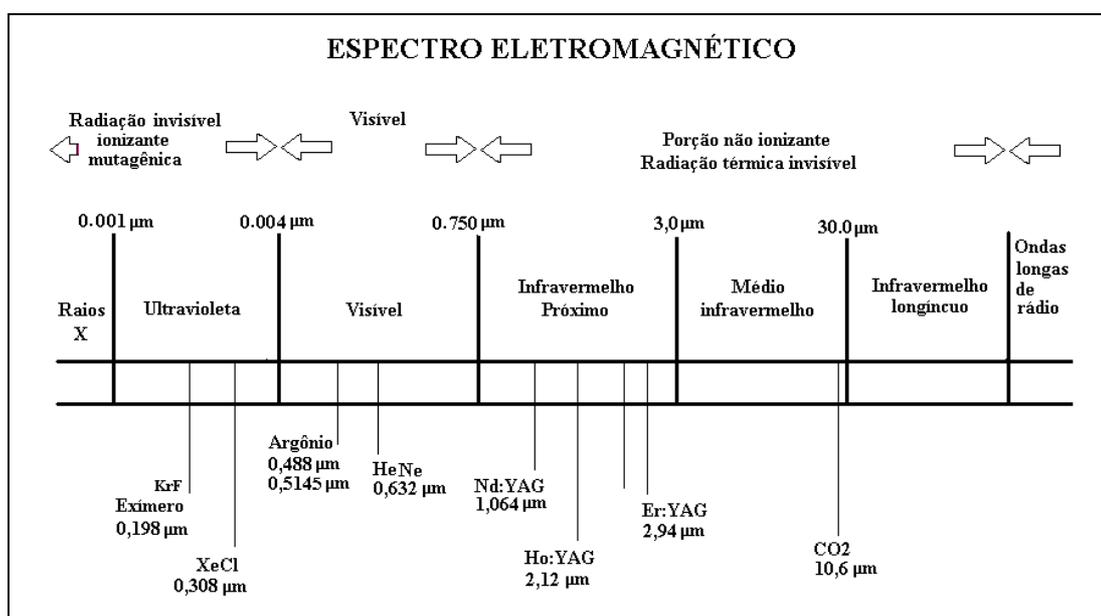


Fig. 2. Espectro eletromagnético constituído de radiações infravermelhas, luz visível e radiações ultravioletas (YOUNG, 1998 modificado por GOMES,2000).

O laser é um tipo completamente diferente de fonte de luz. A palavra LASER é um acrônimo para Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation. No processo de indução estimulada de energia, princípio de ação do laser, um quantum adicional de energia estimula um átomo em seu estado elevado de energia, causando a liberação de dois quanta de energia, quando este retorna para o seu estado mais estável (Fig. 3). Trata-se do processo de estimulação ou amplificação de energia, o qual ocorre quando há um maior número de átomos excitados do que não excitados, uma condição conhecida como inversão de população. Suas

características intrínsecas são: monocromaticidade, direcionalidade, potência, coerência, luminosidade e densidade de potência.

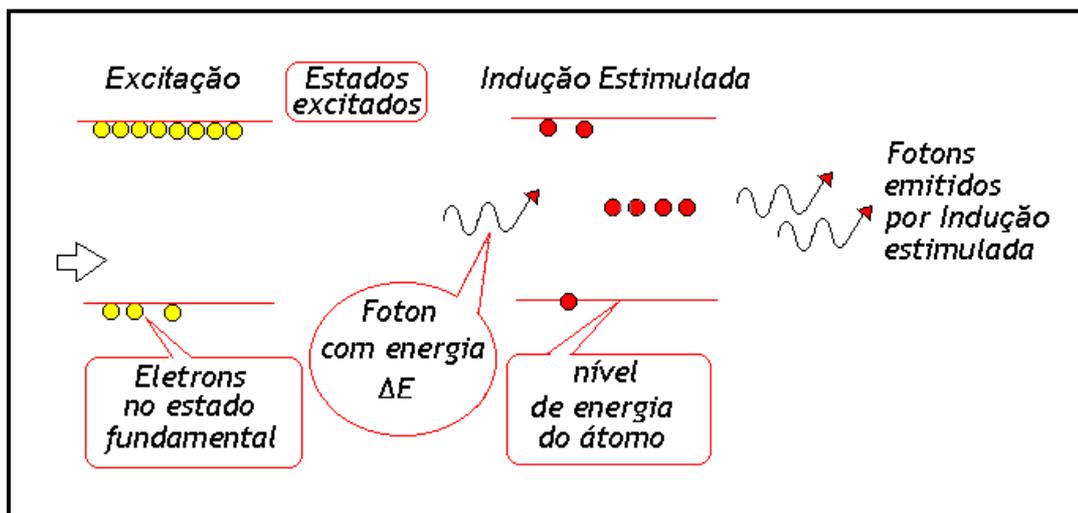


Fig.3. Diagrama do processo de emissão estimulada (YOUNG, 1998 modificado por GOMES,2000).

A monocromaticidade caracteriza uma luz pura, com uma faixa muito estreita de comprimento de onda, o que estabelece concentração de energia. A direcionalidade da luz é caracterizada por um feixe colimado, bastante estreito e paralelo. A potência emitida pelo laser pode ser bastante alta, podendo chegar facilmente a 100 W ou mais. Coerência é um termo usado na física óptica para expressar monocromaticidade e colimação. As ondas do feixe estão ordenadas em espaço e correlacionadas em tempo. Analogamente é comparável a grupos de soldados marchando em ritmo sincrônico. A luminosidade do laser reflete a quantidade de luz concentrada em um ponto focal. As aplicações cirúrgicas do laser exploram esta propriedade. A densidade de potência do raio laser é por si só alta mas, mesmo assim, pode focalizar em um ponto cujo diâmetro é o do comprimento de onda da radiação (FOTONA FIDELIS PLUS, 2003).

2.4 Componentes do laser

O funcionamento do laser depende de três elementos essenciais: mecanismo de bombeamento, meio ativo e a cavidade óptica ressonante. O mecanismo de bombeamento se dá através de uma fonte externa de energia que pode ser elétrica ou luminosa e alimenta o sistema de três modos distintos: contínuo, pulsado e desencadeado ou “Q-switched”. O meio ativo pode ser constituído por diversos materiais e para cada um, se obtém um tipo de laser. Eles podem ser gasosos (CO_2 , Argônio, Criptônio, Hélio-Neônio); isolantes dopados (Cr_3^+ , cristais de Nd:YAG, Er:YAG e Ho:YAG); corantes orgânicos dissolvidos em solventes líquidos (Rodamina 6G e Cumarina 2); semicondutores (vários tipos de diodo) e excímeros (moléculas diatômicas, como: KrF, XeCl e químicos produzidos por reações exotérmicas que incluem o HF e o CO_2). A cavidade óptica ressonante, tipo Perot-Fabry, consiste de uma câmara contendo o meio ativo. Seu tamanho e sua forma são variáveis de acordo com a potência e o meio. Nela existem dois espelhos, com níveis de reflexão diferentes (100% e <100%), colocados opostamente (Fig. 4).

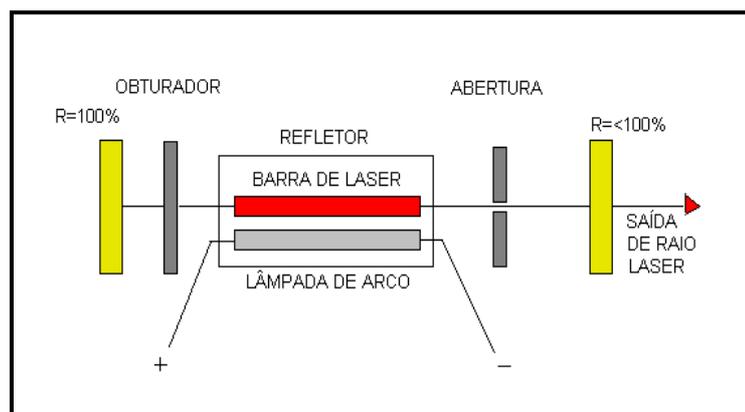


Fig.4. Ressonador laser (YOUNG, 1998, modificado por GOMES, 2000).

A diferença de reflexão é o que permite a saída da radiação de dentro da cavidade, formando o raio laser (PÉCORÁ; BRUGNERA JR, 1999).

2.5 Interação da luz com os tecidos

Rocha (2000), referindo-se a interação do laser com os tecidos, afirma que sistemas biológicos são complexos e compostos de uma grande variedade de elementos celulares e fluidos teciduais, cada qual com diferentes características de absorção. Uma vez que o corpo humano é majoritariamente constituído por água, a absorção da luz pela água é de fundamental importância para aplicações biomédicas. Os elementos dos tecidos que exibem um alto coeficiente de absorção de um particular comprimento de onda, ou por uma região do espectro, são chamados cromóforos. Além da água, cromóforos como a melanina, a hemoglobina e nos casos do tecido dental, a hidroxiapatita, exercem significativa influência sobre a interação da radiação e o tecido (gráfico 1). As interações que podem ocorrer quando a radiação laser é absorvida pelos tecidos biológicos, são: efeitos fototérmicos (quadro 1), efeitos fotoquímicos, efeitos fotomecânicos, fotoelétricos e efeitos quânticos.

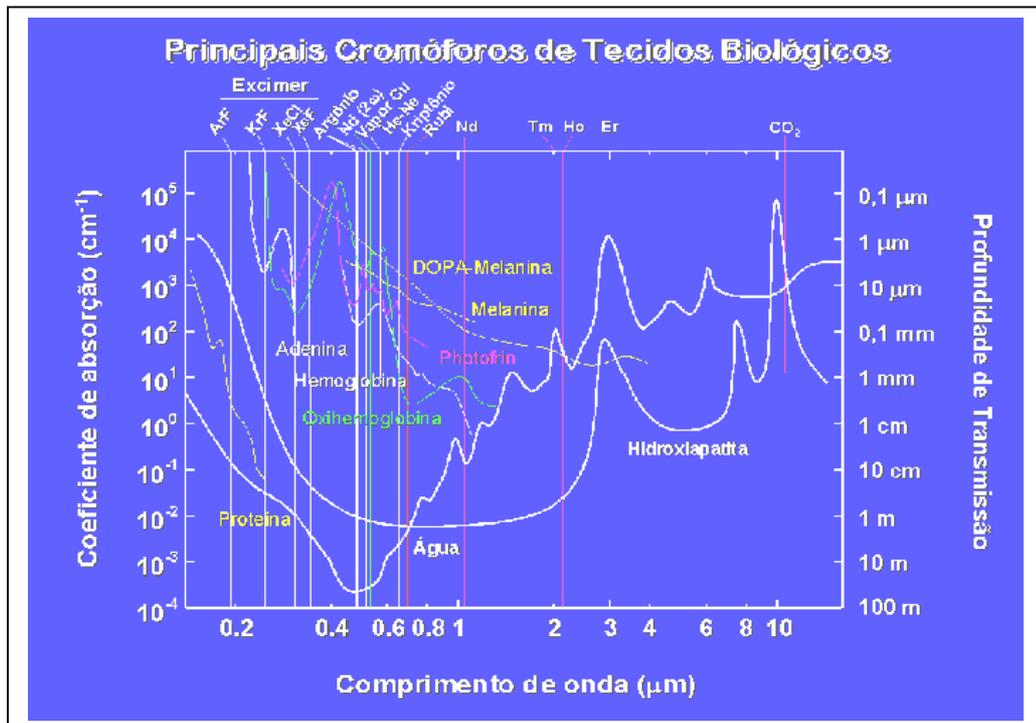


Gráfico 1. Espectro de absorção dos lasers pelos tecidos biológicos (MALDONADO et al., 2000 apud ROCHA, 2000).

Efeitos da temperatura nos tecidos

Temperaturas	Efeitos teciduais
37° - 60° C	Aquecimento, ausência de mudança visual;
60° - 100°C	Desnaturação protéica e coagulação, encolhimento tecidual e hemostasia;
> 100°C	Vaporização, desintegração tecidual, corte e ablação;
> 400°C	Carbonização e queima.

Quadro 1. Conforme a elevação da temperatura, fenômenos biológicos podem ocorrer em decorrência dos efeitos térmicos produzidos quando o feixe de luz entra em contato com a superfície tecidual. Valores que se aplicam a áreas estritas e consideram a temperatura fisiológica do corpo humano de 36,5° C.

Quando a radiação laser entra em contato com os tecidos pode ocorrer reflexão, refração, dispersão e absorção (Fig. 5).

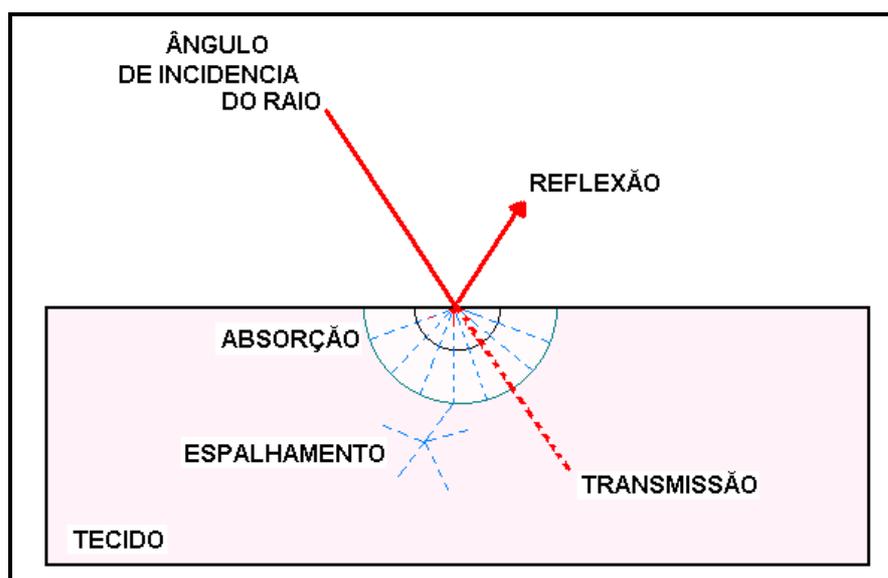


Fig. 5. Interação da luz laser com os tecidos biológicos (YOUNG, 1998 modificado por GOMES, 2000).

A reflexão se dá quando parte do feixe de luz que incide sobre um meio, reflete formando um ângulo igual ao da incidência. Cerca de 4 % da luz é refletida em uma aplicação típica de laser em uma pele sem oleosidade. A refração depende da relação entre o índice de refração

do meio de origem da luz e o índice de refração do meio de destino da luz. Dá-se o nome de espalhamento, a interação do laser com os meios heterogêneos. O processo de refração nos substratos biológicos torna-se responsável pelo espalhamento da luz nestes meios. A absorção do laser pelos tecidos é quantificada pelo coeficiente de absorção. As moléculas, as quais compõem a região de aplicação do laser são determinantes no valor do coeficiente de absorção do mesmo. A profundidade de penetração do laser é função do seu comprimento de onda e do coeficiente de absorção do meio (MANUAL dos EQUIPAMENTOS LASER 632 e LASER 904, 2003).

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo desta investigação científica foi estudar, *in vitro*, o efeito antimicrobiano da irradiação do laser de Nd:YAG, pulsado, numa população microbiana incubada, em condições anaeróbicas, coletada do sistema de canais radiculares, de elemento dentário uniradicular, com diagnóstico de necrose pulpar e lesão periapical.

4 METODOLOGIA

4.1 Confeção da cubeta de vidro

A construção de uma cubeta de vidro a qual possuísse uma superfície plana², para irradiação com laser, foi idealizada. A confecção dessa cubeta, requereu a utilização de uma lâmina de vidro plana, para microscopia, com 1mm de espessura e tubo de vidro, boro silicato, de 4mm de diâmetro (secionado, resultando em semitubo de 2 mm de raio). A lâmina de vidro foi, previamente, submetida a análise espectroscópica a fim de observar seu grau de absorção frente ao comprimento de onda, 1064 nm, correspondente ao emitido pelo laser Nd:YAG, na faixa do infravermelho próximo e, cujo resultado, foi considerado desprezível ou seja, < 1% (gráfico 2)

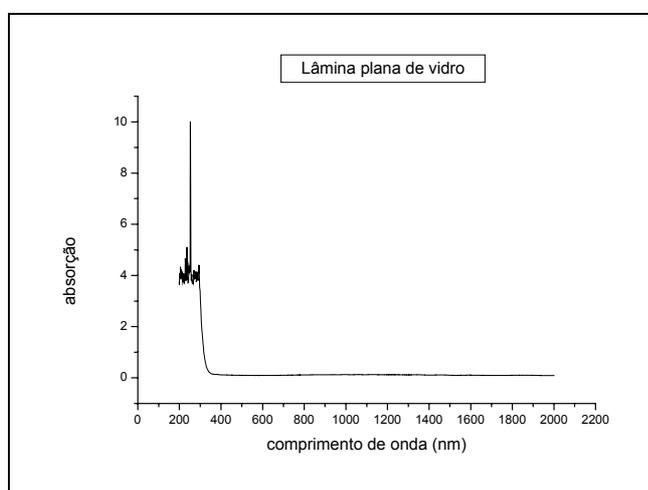


Gráfico 2. Resultado da leitura espectrométrica UV-Vis-NIR. A absorção pela lâmina plana de vidro para microscopia, na faixa de comprimento de onda de 1064 nm, é, praticamente, nula.

² A superfície plana minimiza a refração da luz. Esta cubeta é transparente para não absorver, significativamente, a radiação. Tem área pequena para uma eficiente ação do laser e ao mesmo tempo, conter um volume suficiente da cultura (300µl) que oferece condições técnicas para uma boa reprodutibilidade. Era requisito primordial antes da manipulação do material biológico propriamente dito.

A lâmina e o tubo foram, igualmente, cortados com o comprimento de 5,5 cm. Pequena faixa de vidro plano, de 2,5 cm de extensão, igual a largura da lâmina, por 3 mm de altura, teve de ser preparada para compor o fundo da cubeta. A tampa foi confeccionada com resina acrílica, incolor, de polimerização química. Para colagem do semitubo à região central da lâmina de vidro e do fundo da cubeta, foi utilizada a cola de composição química: polidimetilsiloxano e sílica, conhecida, comercialmente, como silicone de cura acética, 100% pura e vulcanizada em 24 horas, à temperatura ambiente (fig. 6 a-c)³.

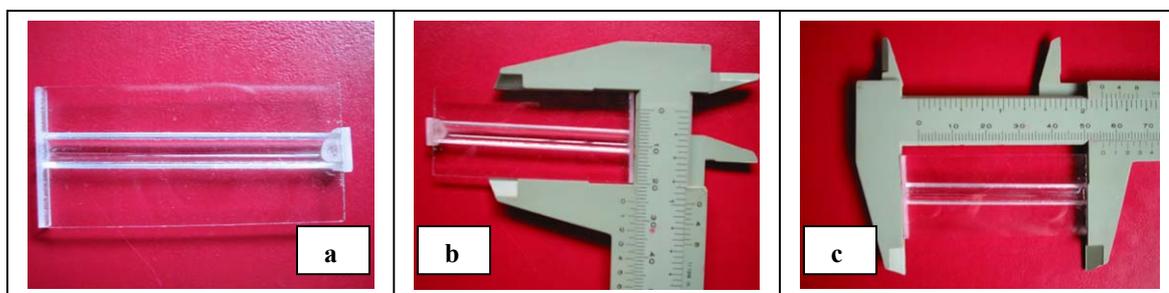


Fig.6 a -c. Cubeta idealizada para irradiação com laser. O semitubo colado à porção central da lâmina possui um raio de 2mm. Lâmina de vidro com 2.5 cm de largura por 5,5 cm de comprimento.

4.2 Seringas hipodérmicas adaptadas

Seringas hipodérmicas BD, de 1 mL, descartáveis, esterilizadas a óxido de etileno, foram adaptadas nas extremidades onde, tubos capilares, foram fundidos ao plástico por aquecimento no bico de Bunsen (fig. 7).

A esterilização das seringas, em autoclave, foi bem sucedida não comprometendo a sua funcionalidade. Esse procedimento se deu em face da inexistência de uma ponteira com

³ A cubeta foi submetida à esterilização em autoclave e demonstrou resistência ao descolamento e ao vazamento de líquidos.

diâmetro e comprimento compatíveis com as medidas da cubeta, ideais para pipetar todo o seu conteúdo de uma única vez.

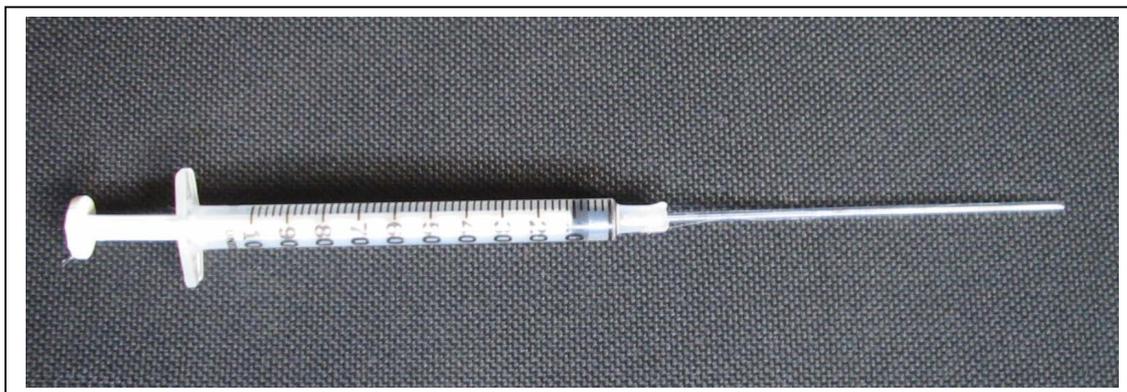


Fig.7. Seringa hipodérmica de 1 mL, adaptada com tubo capilar para aspirar o conteúdo líquido das cubetas

4.3 Recipiente para transporte das cubetas

Para transportar as cubetas a serem irradiadas, com segurança, foi idealizado um recipiente que pudesse receber adaptações adequadas ao meio de anaerobiose. Assim, foi construído: um disco de plástico rígido, de polietileno, com 1cm de espessura por 8 cm de diâmetro, com 4 ranhuras distribuídas uniformemente e identificadas pelas cores branca, amarela, azul e vermelha correspondentes às potências 1.5 W, 2 W, 2.5 W e 3 W respectivamente utilizados nos experimentos. Nessas ranhuras foram alojadas, verticalmente, as cubetas, na seqüência a ser irradiada.

Num pote de resina transparente, com tampa de vedação hermética, medindo 10,5 cm de altura por 13 cm de diâmetro, o disco plástico foi fixado, de maneira concêntrica, a uma

distância de 3 cm de sua base, sobrando espaço interno para acomodar as cubetas e alguns chachets de Anaerocult A⁴ (fig. 8).

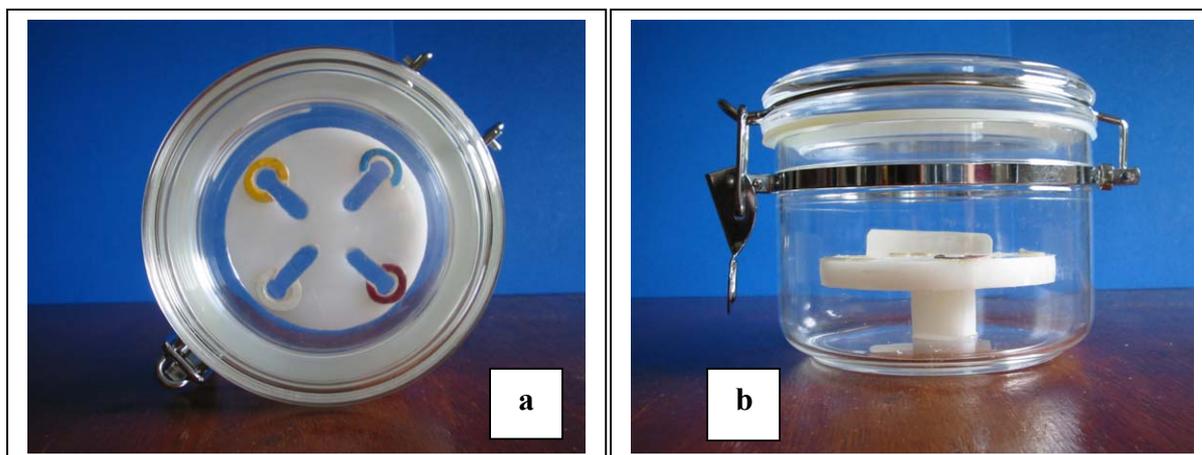


Fig. 8 a - b. Jarra anaeróbica para transporte das cubetas. À esquerda: disco com fendas, identificadas através das cores: branca, amarela, azul e vermelha, correspondentes às respectivas potências de 1.5W, 2 W, 2.5 W e 3 W, onde foram acomodadas as cubetas. À direita: visão interna da altura do disco com relação a base da jarra.

4.4 Procedimento experimental

4.4.1 Coleta

Foi coletado o exsudato do interior do canal radicular de um canino inferior esquerdo, de um paciente adulto, com diagnóstico de necrose pulpar e reação periapical observada radiograficamente (fig 9 a-b). A escolha de um dente uniradicular obedeceu ao critério anatômico da amplitude do canal e a facilidade da coleta do material. Para isso, todos os critérios clínicos de proteção biológica foram assumidos, incluindo o isolamento absoluto no momento da coleta. A esterilização dos cones de papel absorvente, pinças clínicas, luvas,

⁴ Anaerocult A – redutor de oxigênio formulado com: sílica, ferro em pó, ácido cítrico e carbonato de sódio para cultivo de anaeróbios estritos e facultativos. Esses componentes fixam, quimicamente, o oxigênio. Em pouco tempo, produz um meio isento de oxigênio (anaeróbio), incluindo uma atmosfera de CO₂.

máscaras, e o meio de cultura, realizou-se em autoclave, a 125°C de temperatura, durante 25 minutos. Cones de papel absorvente nº 15, foram utilizados para facilitar o acesso próximo à região periapical, onde predomina a presença de microrganismos anaeróbicos.



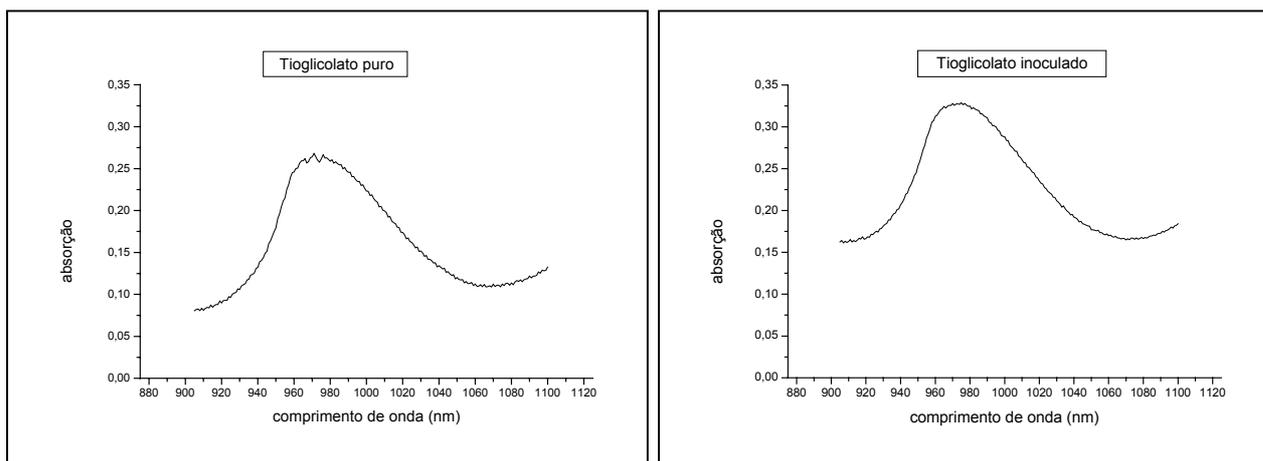
Fig. 9 a-b. Abertura coronária do elemento dentário 33 para coleta do exsudato. Radiografia periapical evidenciando área radiolúcida periapical. Dente com giroversão.

4.4.2 Inoculação

Um frasco de Erlenmeyer, contendo 100 mL de meio de cultura líquido tioglicolato de sódio, foi utilizado como receptáculo para os três cones de papel contaminados. Este frasco foi imediatamente transferido para uma estufa bacteriológica e incubado a 37°C por 8 h, 12 h, 16 h, 20 h e 24 h. No momento da inoculação foi retirada uma amostra e esta foi semeada em agar tioglicolato, enriquecido com 5% de hemina e vitamina K. O objetivo desse semeio foi o de observar algum crescimento bacteriano. Em experimento anterior, que serviu como teste piloto, foi observado que, apenas após 8 horas de incubação, o inóculo era suficiente para demonstrar algum crescimento em meio sólido⁵. Testes espectrométricos foram realizados para observar o grau de absorção do meio líquido de tioglicolato de sódio esterilizado e o

⁵ A quantidade de microrganismos entre o tempo zero da coleta e as primeiras 8 horas de crescimento foi insuficiente para efetuar qualquer contagem, isto é, não foram visualizadas colônias no meio sólido de cultura.

meio líquido de tioglicolato de sódio inoculado, na primeira hora, na faixa de comprimento de ondas de 1064 nm, correspondente a radiação laser do Nd:YAG. Neste comprimento de onda utilizado, a absorção foi mínima (gráficos 3 e 4).



Gráficos 3 e 4. Análise espectrométrica UV-Vis-NIR. As absorções do tioglicolato puro e inoculado, nas primeiras horas, no comprimento de onda de 1.064 nm foram, respectivamente, de 0,11 e 0,17, portanto absorção muito baixa.

4.4.3 Equipamento utilizado para irradiação

Para esta etapa, foi utilizado um equipamento de laser, Twinlight, FOTONA (fig. 10 a e b). Este aparelho possui indicações para uma variedade de procedimentos em Odontologia. Está equipado com os lasers de Er:YAG e Nd:YAG. A operação das funções do sistema é controlada por um microprocessador. As características do laser de Nd:YAG usados no experimento, incluem: pulso com duração de 100 μ s, potência média de saída de 8 W, em passos de 0.25 W; modo de operação pulsado; frequência de pulsações entre 10 e 25 Hz, em aumentos de 5Hz; comprimento de onda de 1064 nm; fornecimento do feixe de luz através de fibra óptica; fibras de conexão entre 200 μ m e 320 μ m; sistema de esfriamento por circulação de ar; temperatura de refrigeração entre 0°C e 70°C; temperatura operativa entre 5°C e 25°C;

umidade não condensável de 5% a 95% e apontador de diodo vermelho 650 nm-1mW. Em sua aplicabilidade clínica está incluído o tratamento endodôntico (FOTONA TWINLIGHT ESPECIFICACIONES TÉCNICAS, 2003).

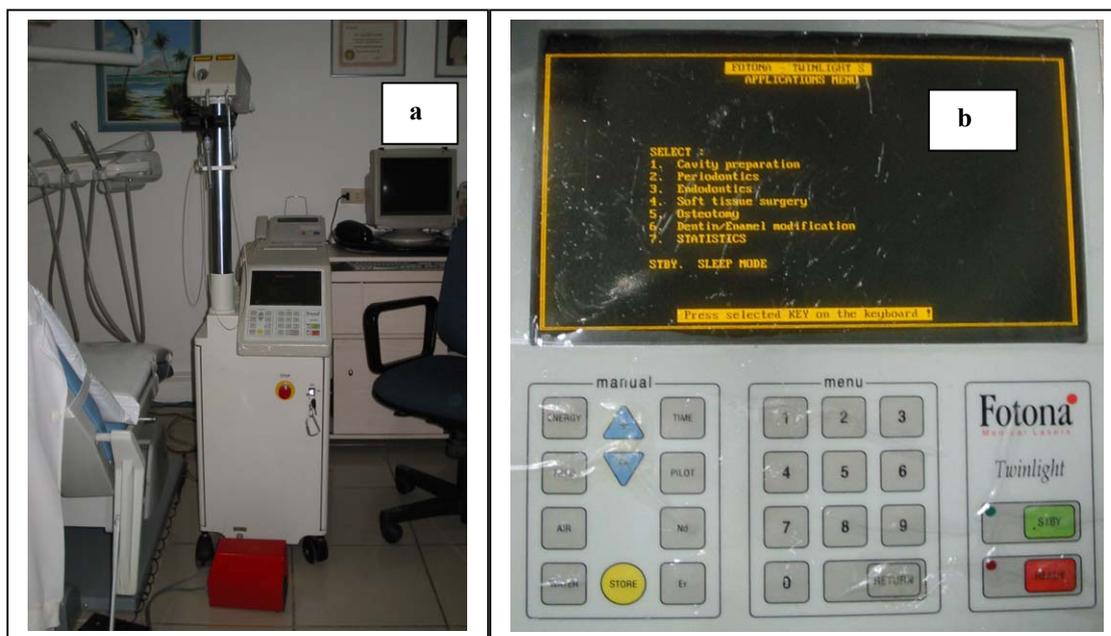


Fig. 10 a - b. Laser Twinlight da FOTONA (Nd:YAG e Er:YAG). À direita: painel de protocolos e dispositivos para a programação do equipamento.

4.4.4 Irradiação

A cada 4 horas, a partir da 8ª hora, portanto 8, 12, 16, 20 e 24 horas, trezentos micro litros (300 μ L) da cultura, foi introduzido em cada uma das 4 cubetas destinadas a irradiação. Os parâmetros estabelecidos foram a fixação do tempo de varredura do laser de Nd:YAG sobre a superfície da cubeta, em 3 ½ minutos e a variação da potência média de 1,5 W, 2,0 W, 2,5 W e 3,0 W respectivamente. Propositadamente, foi exceção, dessa regra esquemática, o tempo de irradiação da 20ª hora, na potência de 3 W, cujo tempo foi acrescido para 6 minutos. Todo o trajeto de varredura do laser de Nd:YAG foi efetuado, manualmente, de forma padronizada, em contato com o vidro, com movimentos ondulatórios lentos e estreitos,

concentrando, milimetricamente, a energia em cada área do percurso. Uma fibra óptica de quartzo (320 μm), em contato com o vidro, foi utilizada (fig. 11 a e b). A tabela 1 mostra todos os parâmetros do laser e da irradiação utilizados para cada potência.

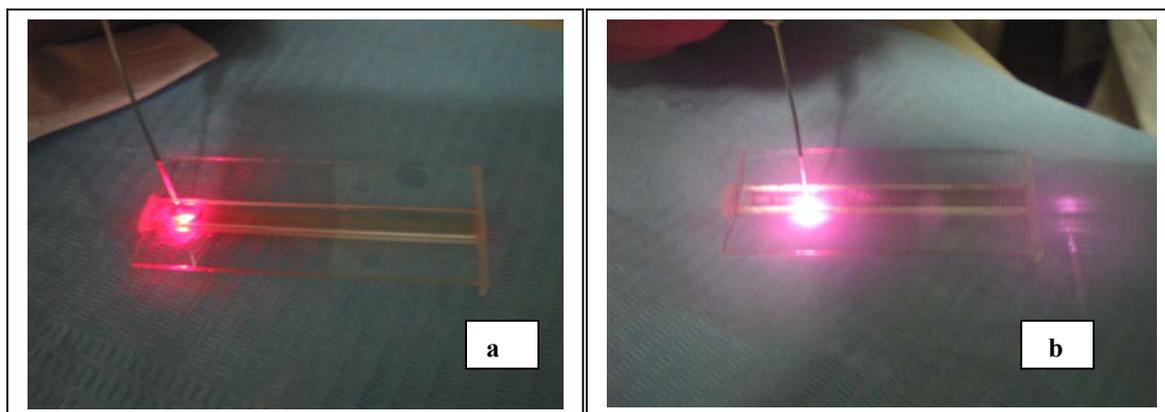


Fig. 11 a - b. Irradiação da cubeta, contendo a cultura de microrganismos, pelo laser de Nd:YAG. (a) preparação para o início da irradiação. Vê-se a luz guia de coloração vermelha (visível ao olho humano). (b) irradiação pulsátil infravermelha, (invisível ao olho humano). A luz avermelhada é um efeito do filme fotográfico.

Um grupo controle (sem irradiação) foi inserido neste estudo. Após as irradiações, estas culturas foram transportadas para o Laboratório de Fisiologia e Bioquímica de Microrganismos, acondicionadas em recipiente hermeticamente fechado, contendo um gerador de CO_2 .

Tabela 1. Parâmetros do laser e da irradiação utilizados para cada potência.

$P_{\text{média}}$ (W)	Taxa de repetição (tr Hz)	T_{pulso} (μs)	E_{pulso} (μJ)	$E_{10 \text{ Hz}}$ (mJ)	Área efetiva de atuação do laser	Densidade de energia (mJ/cm^2)
1,5	10	100	150	1,5	$1,1 \times 10^{-2} \text{ cm}^2$	140
2,0	10	100	200	2,0	$1,1 \times 10^{-2} \text{ cm}^2$	180
2,5	10	100	250	2,5	$1,1 \times 10^{-2} \text{ cm}^2$	230
3,0	10	100	300	3,0	$1,1 \times 10^{-2} \text{ cm}^2$	280

$$T_{\text{pulso}} = \text{tempo de duração do pulso} \quad E_{\text{pulso}} = P_{\text{média}} \times T_{\text{pulso}} \quad E_{10 \text{ Hz}} = E_{\text{pulso}} \times T_{\text{repetição}}$$

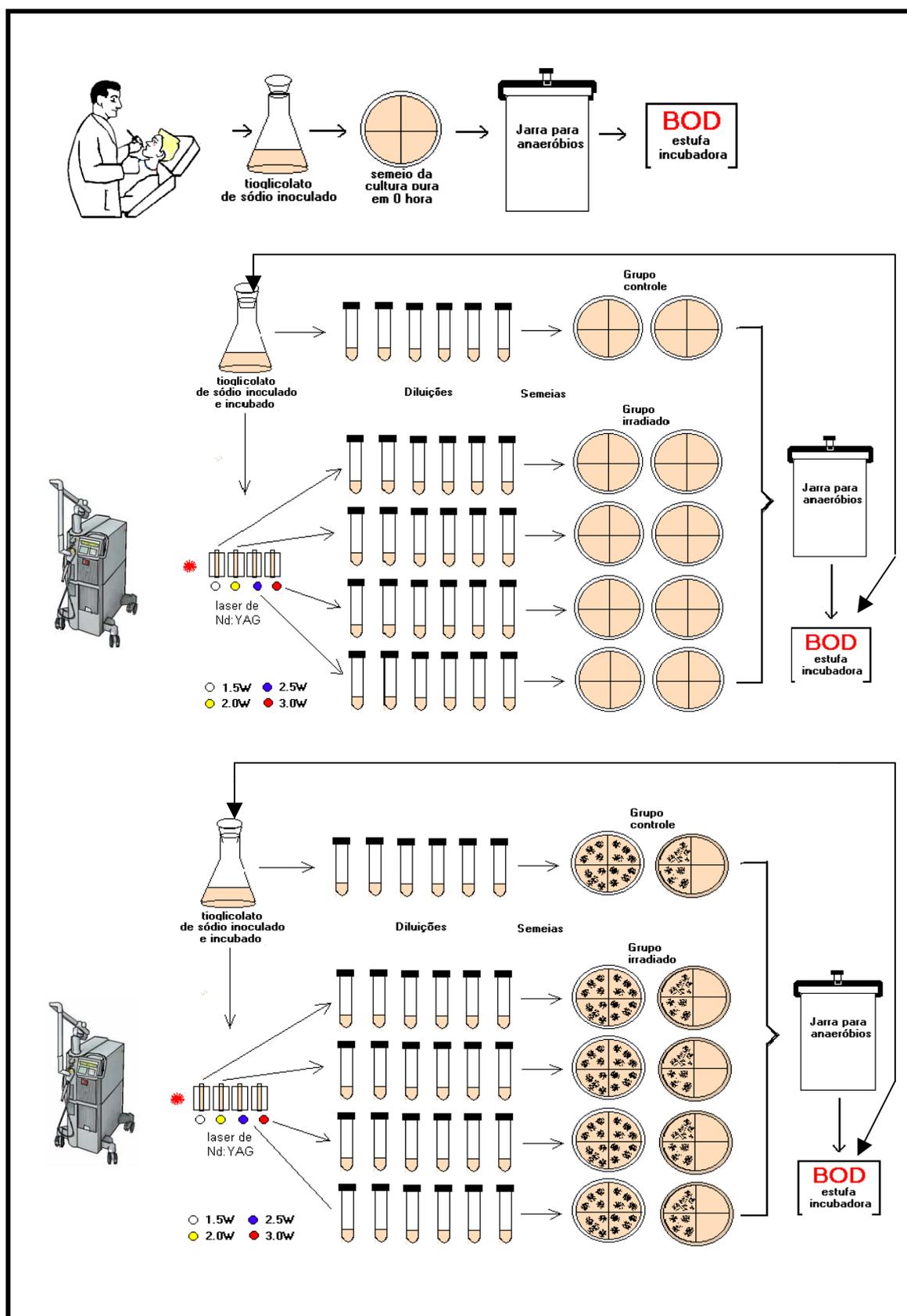
$$A_{\text{efetiva}} (\text{cm}^2) = \text{medida no ar a 2mm de distância da fibra} \quad D_{\text{energia}} = E_{10 \text{ Hz}} / A_{\text{efetiva}}$$

$$D_{\text{(dose)}} = E_{\text{pulso}} \times \text{frequência} / A_{\text{efetiva}}$$

O conteúdo de cada cultura irradiada e da cultura controle foi diluído, seriadamente, 1:10 até 10^{-6} e plaqueadas em meio tioglicolato enriquecido. As placas foram acondicionadas em jarra de Gaspak, contendo sachets de Anaerocult A e incubadas a 37° C. Essa seqüência de procedimentos foi realizada ao longo das 24 horas. O esquema 1 representa a metodologia aplicada ao experimento.

4.4.5 Estatística

Os dados estatísticos foram realizados para descrição do comportamento individual das variáveis em estudo (médias e desvios padrões) e para comparação entre as médias de amostras independentes, utilizando o test “T de Student”, cujo nível de significância foi igual ou inferior de 0,01.



Esquema 1. **Acima:** figura representativa do momento da coleta e do semeio da cultura pura (T_0). **Ao centro:** ciclo do experimento após 8 horas da coleta. **Abaixo:** continuidade do processo experimental mostrando crescimento bacteriano.

5 RESULTADOS

Os gráficos de 5 a 8 representam os resultados obtidos para as atividades antimicrobianas da radiação laser de Nd:YAG pulsado, em diferentes potências, sobre uma população microbiana anaeróbica. Estes resultados, estão expressos pelo logaritmo decimal das unidades formadoras de colônias por mililitro.

A irradiação Nd:YAG de 1,5 W provocou uma redução significativa do inóculo igual a $1,04 \log_{10}$ UFC/mL da população incubada por 8 horas quando comparada ao controle sem irradiação, $p \leq 0,01$. Esta atividade diminuiu com o aumento da concentração microbiana, advindo do crescimento exponencial.

Entre a 16^a e a 20^a hora, esta população não demonstrou sensibilidade quando exposta à potência de 1,5 W. Durante este período, um crescimento superior ao do controle foi visualizado e equivalente a $0,28 \log_{10}$ e $0,16 \log_{10}$ UFC/mL, respectivamente (gráfico 5).

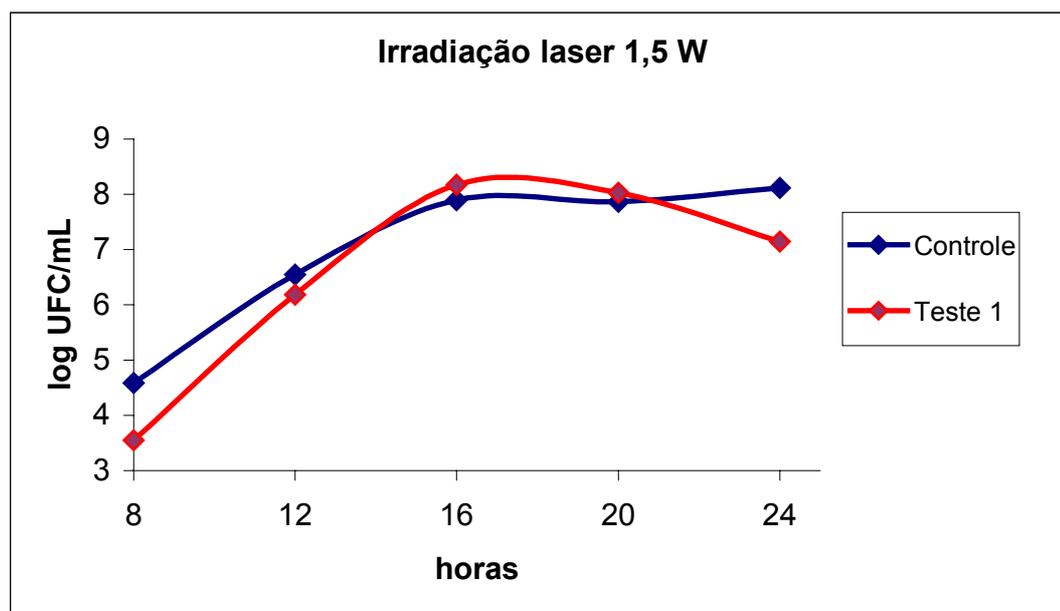


Gráfico 5. Atividade antimicrobiana do laser pulsado de Nd:YAG, na potência de 1,5 W, frente a uma população de microrganismos anaeróbios, ao longo de 16 horas de crescimento.

A potência 2,0 W da radiação do laser de Nd:YAG induziu um decréscimo inexpressivo na população submetida à incubação anaeróbica por 12 horas. A partir deste período, ocorreu um crescimento progressivo. Foi observado na 16ª hora, crescimento equivalente a 0,53 log₁₀ UFC/mL. Vale salientar que, neste período, a população bacteriana entra na fase estacionária, fase esta, caracterizada por um equilíbrio entre a multiplicação e a morte dos indivíduos. A submissão da população teste a esta irradiação durante a fase estacionária de crescimento, estimulou a seleção de uma nova população, a qual manteve um crescimento equivalente a 0,22 log₁₀ UFC/mL, superior ao controle, na 20ª hora e que culminou em um decréscimo de 0,92 log₁₀ UFC/mL ao final da 24ª hora (gráfico 6).

O mesmo perfil da atividade antimicrobiana foi obtido, quando foram comparados os resultados da irradiação laser de Nd:YAG nas potências 2,0 W e 2,5 W.

Para a irradiação de 2,5 W foi observado um decréscimo de 0,40 log₁₀ e 0,34 log₁₀ UFC/mL, entre 8ª e a 12ª horas. Ocorreu um acréscimo da população microbiana, a partir das 14ª até a 20ª hora, atingindo um crescimento máximo de 0,53 log₁₀ UFC/mL na 16ª hora. Entre a 20ª e a 24ª hora houve um decréscimo de 0,92 log₁₀ UFC/mL (gráfico 7).

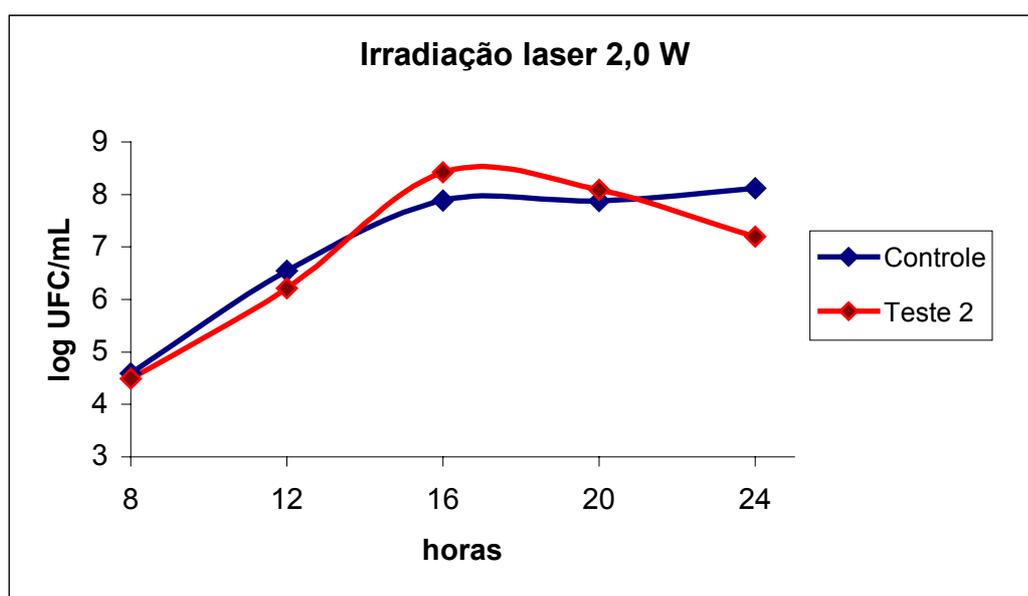


Gráfico 6. Atividade antimicrobiana do laser pulsado de Nd:YAG, na potência de 2,0 W, frente a uma população de microrganismos anaeróbios, ao longo de 16 horas de crescimento.

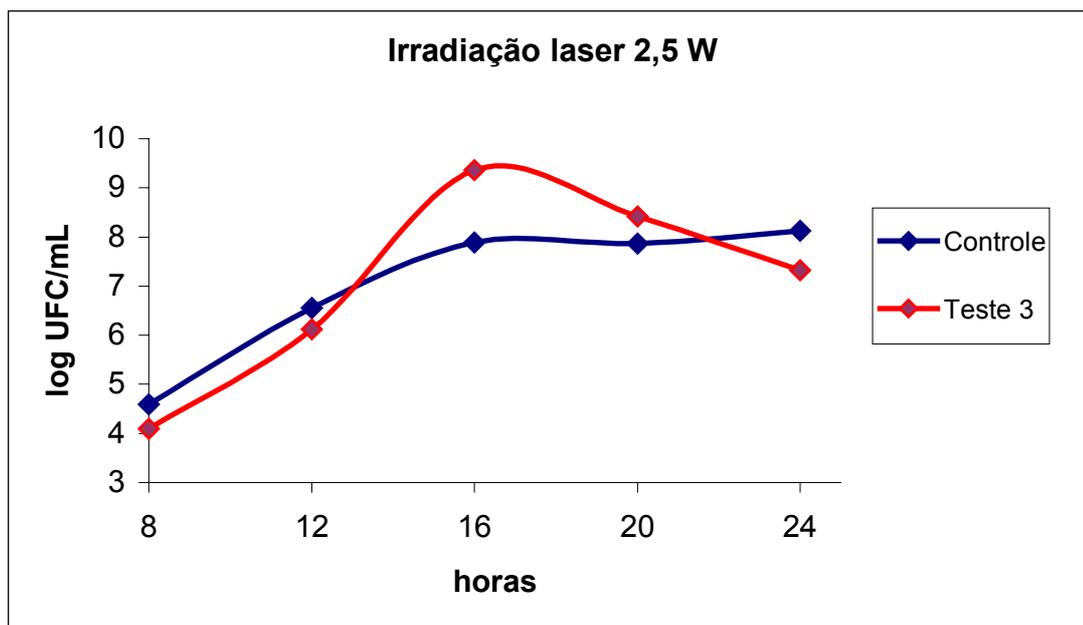


Gráfico 7. Atividade antimicrobiana do laser pulsado de Nd:YAG, na potência de 2,5 W, frente a uma população de microrganismos anaeróbios, ao longo de 16 horas de crescimento.

A aplicação da potência de 3,0 W, do laser pulsado de Nd:YAG, produziu um decréscimo da população microbiana, entre 8 horas e 12 horas, de 0,24 \log_{10} e 0,96 \log_{10} UFC/mL respectivamente. Entre 15 horas e 17 horas, houve discreto crescimento microbiano culminando às 16 horas com 0,19 \log_{10} UFC/mL.

Em conseqüência da duração do tempo de aplicação do laser, de 3 minutos para 6 minutos, na 20ª hora, houve um decréscimo, significativo, na taxa de crescimento bacteriano de 1,60 \log_{10} UFC/mL, $p \leq 0,01$. Retornando ao tempo de 3 minutos de aplicação da irradiação laser, com 3,0 W de potência, o decréscimo de microrganismos continuou, em menor escala, ainda assim, significativa. Culminou às 24 horas numa diminuição de 1,02 \log_{10} UFC/mL (gráfico 8).

Esta fase de exposição da cultura de microrganismos à irradiação laser de 3,0 W, foi a que apresentou menor crescimento da população microbiana (0,19 \log_{10} UFC/mL na 16ª hora) e

ao, mesmo tempo, os maiores decréscimos ($1,60 \log_{10}$ e $1,2 \log_{10}$ UFC/mL), nas 20^a e 24^a horas, respectivamente.

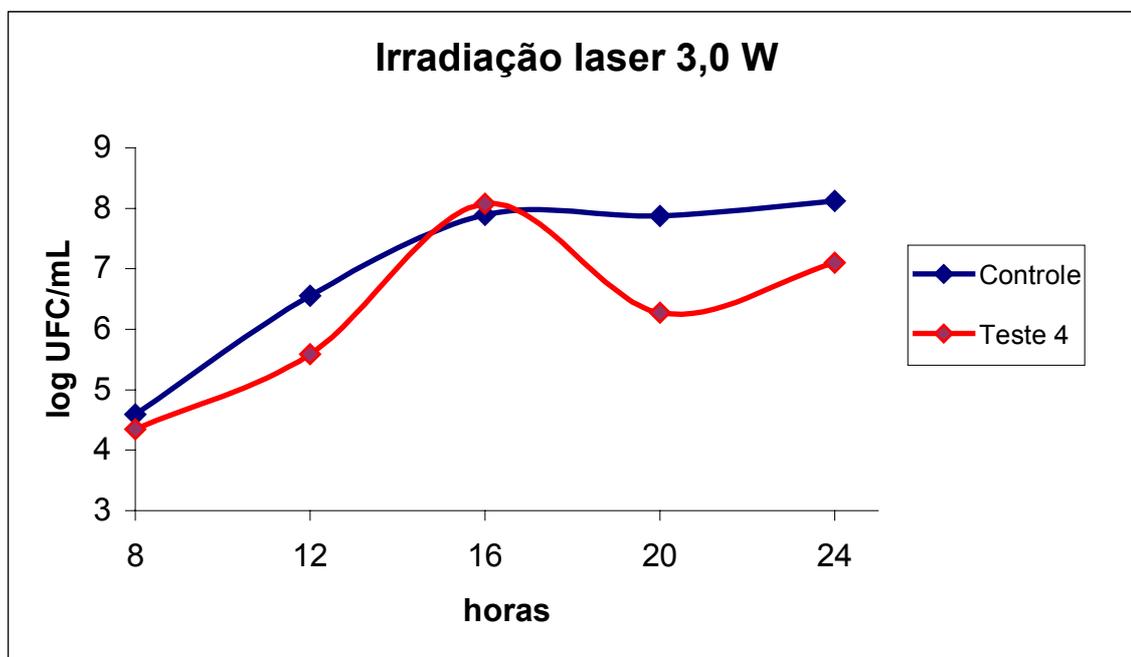


Gráfico 8. Atividade antimicrobiana do laser pulsado de Nd:YAG, na potência de 3,0 W, frente a uma população de microrganismos anaeróbios, ao longo de 16 horas de crescimento.

Os resultados da evolução de todo o processo experimental, com as respectivas médias e logaritmos decimais das UFC/mL, com seus respectivos desvios padrões de crescimento bacteriano, foram demonstrados na tabela 2, constante no apêndice.

6 DISCUSSÃO

A terapia endodôntica evoluiu, principalmente, na última década, com a utilização do hidróxido de cálcio que possui ação bactericida, como também, com o desenvolvimento da biomecânica e dos cuidados de bioproteção mas ainda não pode ser considerado um tratamento com resultados efetivos, principalmente nos casos de necrose e infecção pulpar com reação periapical. Enquanto tratamentos mais eficientes não forem descobertos, continua valendo a observação clínica e radiográfica a partir dos seis meses pós repleção da cavidade pulpar. Nos casos de necrose com lesão periapical, Leonardo (1998), recomenda uma preservação de pelo menos 4 anos para considerar um caso como sucesso ou fracasso. Este fato, obriga a comunidade científica odontológica a buscar resultados terapêuticos mais significativos para o tratamento dos canais radiculares.

Registros oficiais de saúde e serviço social foram verificados por Gutknecht et al (1996a), os quais constataram que os tratamentos endodônticos apresentaram apenas alguns bons resultados primários pois o sucesso, ao longo prazo, foi muito limitado. Vale salientar que, neste estudo, uma lesão foi considerada curada quando houve regeneração anatômica periapical e a ausência de sintomatologia, o que, longitudinalmente, pode ser considerado um bom prognóstico. Sendo assim, resolveram utilizar, como meio coadjuvante, o laser de Nd:YAG e, dessa forma, evitar intervenções cirúrgicas periapicais, em casos complicados de endodontia. O resultado levou a concluir que o laser pode representar uma melhoria decisiva na eficiência do tratamento endodôntico conservador. Esse resultado e muitos outros publicados nos últimos dez anos inspirou a busca dessa confirmação.

A diversidade metodológica empregada nos experimentos revistos na literatura dificultou o estabelecimento de parâmetros comparativos viáveis entre todos, a não ser o fato comum da obtenção de maior ou menor êxito. O mesmo ocorreu com os resultados desta pesquisa que

buscou respostas para a atividade antimicrobiana da radiação laser, pulsada, de Nd:YAG em microrganismos anaeróbios obtidos do interior de canais radiculares e que, também, se encontram presentes nos túbulos dentinários e região periapical. Estes tipos de microrganismos são predominantes nas necroses pulpare e nas periapicopatias e, por sua localização, são difíceis de serem eliminados, realimentando muitas vezes, os recidivantes fracassos no tratamento endodôntico.

Para desenvolver este experimento, *in vitro*, foram idealizadas cubetas de vidro que se adequaram a metodologia escolhida. Estas cubetas possuíam características especiais como uma acentuada transparência para não absorver, significativamente, a radiação e, também, uma superfície plana para minimizar a refração da luz. Outro aspecto considerado importante foi a definição da área a ser irradiada pelo laser eficientemente e, ao mesmo tempo, conter um volume suficiente da cultura (300µL) o qual oferece condições técnicas para uma boa reprodutibilidade. Foi um requisito primordial antes da manipulação do material biológico propriamente dito.

Após a realização de um trabalho piloto, em que foram feitas 10 coletas intracanalais de dentes uniradiculares, despulpados, que apresentavam, radiograficamente, reação periapical, apesar de estarem assintomáticos, em fase de conclusão, obedecendo todos os critérios biológicos de um bom tratamento e, mesmo assim, continham anaeróbios, foi decisivamente, iniciada a atual pesquisa. Nela, não houve a preocupação de identificar os tipos de anaeróbios mas a existência deles e a possibilidade de eliminá-los com a ajuda do laser. Bradshaw et al (1997), salientam que estes microrganismos sobrevivem numa microbiota associada a anaeróbios facultativos dos quais depende a atmosfera anaeróbica.

Os resultados mostraram que de acordo com a metodologia empregada a quantidade de microrganismos entre o tempo zero da coleta e as primeiras oito horas de crescimento foi insuficiente para efetuar qualquer contagem, isto é, não foram visualizadas no meio sólido de

cultura. Contudo, a partir da 8ª hora, foram observados momentos de decréscimo e outros de crescimento bacteriano.

Aplicado o laser de Nd:YAG, nas potências de 1,5 W, 2,0 W, 2,5 W e 3,0 W, durante 3½ minutos, sobre as superfícies das cubetas contendo o inóculo de anaeróbios, em crescimento, por 12 horas, foi observado um decréscimo que variou entre 0,24 log₁₀ UFC/mL a 1,04 log₁₀ UFC/mL. Neste interregno, até a 12ª hora, a potência mais significativa na 8ª hora foi a de 1,5 W com 1,04 log₁₀ UFC/mL, $p \leq 0,01$ e a menos expressiva foi a de 3,0 W com 0,24 log₁₀ UFC/mL. Na 12ª hora a situação se inverteu, tendo o maior decréscimo ocorrido em 3,0 W com 0,96 log₁₀ UFC/mL e em 1,5 W com 0,37 log₁₀ UFC/mL. Neste período, a população microbiana estava na fase de crescimento exponencial, levando a conjectura de que o aumento da potência da irradiação teria que ser proporcional ao crescimento da microbiota local.

A 16ª hora foi caracterizada pelo destaque no crescimento bacteriano, onde nenhuma das potências aplicadas na unidade de tempo determinada, surtiu efeito satisfatório. O aumento populacional chegou a 1,47 log₁₀ UFC/mL sob a potência de 2,5 W. Justificativas para esse fenômeno podem ser largamente discutíveis pois de acordo com Karu (1998), os espectros monocromáticos visíveis até o infravermelho próximo da radiação laser podem estimular diversas respostas metabólicas da célula. Almeida-Lopes (1999), comentando sobre os trabalhos de Passarela et al e Colls mostra que as organelas não absorvem luz infravermelha, apenas as membranas apresentam resposta à este estímulo (as bactérias não possuem organelas). As alterações no potencial de membrana causada pela energia de fótons no infravermelho próximo induzem a efeitos foto-físicos e foto-elétricos, causando o choque entre células que se traduz intracelularmente por um incremento na síntese de ATP. O aumento de ATP favorece um grande número de reações que interferem no metabolismo celular.

Na 20^a hora, uma variante foi introduzida para observar a relação tempo/potência nos resultados. As potências 1,5 W, 2,0 W e 2,5 W por 3½ minutos, não conseguiram reduzir a quantidade de anaeróbios, enquanto que a potência de 3,0 W durante 6 minutos, reduziu o crescimento bacteriano, significativamente, em 1,60 log₁₀ UFC/mL, supondo-se que, quanto maior o tempo de aplicação do laser, mais efetivo é o efeito antimicrobiano. A elevação do tempo de aplicação do laser, provavelmente tenha aumentado a temperatura, dissipando o calor ao longo da cubeta, o que possivelmente possa ser discutido como um fator letal aos microrganismos. Rocha (2000), reportando sobre as interações que podem ocorrer quando a radiação laser é absorvida pelos tecidos biológicos, cita como exemplo: os efeitos foto-térmicos.

Na 24^a hora, caracterizando, ainda, uma fase estacionária de crescimento dos anaeróbios, foi observado que ocorreu decréscimo da população de microrganismos em todas as potências aplicadas, com destaque para 3,0 W com o expressivo número de 1,02 log₁₀ UFC/mL. Vale salientar que a relação tempo-potência voltou, nesta fase, aos padrões pré-estabelecidos no início da pesquisa. É possível que neste período tenha havido uma diminuição da atividade metabólica celular, assinalando o término do ciclo vital bacteriano.

7 CONCLUSÕES

Ficou evidenciado que o laser de Nd:YAG, nos parâmetros escolhidos, determinou, em momentos desta pesquisa, sua efetividade no combate ao crescimento de microrganismos anaeróbios em comparação ao grupo controle, principalmente quando o tempo de irradiação foi aumentado de 3½ minutos para 6 minutos na potência de 3,0 W, na 20ª hora (<20,33%). Todavia, em outros momentos, 16ª hora do experimento, por exemplo, houve um pico de crescimento bacteriano que nenhuma das potências utilizadas conseguiu reduzir em 3½ minutos. Este fato, sugere, dentre outras possibilidades, que o laser de Nd:YAG estimulou o crescimento da população microbiana, através do aumento da atividade metabólica de seus indivíduos, quando comparado ao grupo controle.

Os resultados obtidos com os parâmetros desta pesquisa, utilizando o laser de Nd:YAG, mostram que há uma distância a ser percorrida, antes que se possa falar, definitivamente, em esterilização de canais radiculares mas norteiam no sentido positivo da continuidade experimental.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AAE – Lasers in Dentistry. Position statement on the use of lasers in dentistry. Disponível em: <<http://www.aae.org.lasers.html>>. Acesso em: 26 jun. 2003.

ALMEIDA-LOPES, LUCIANA. Análise *in vitro* da proliferação celular de fibroblastos de gengiva humana, tratados com laser de baixa potência. Dissertação para obtenção do título de Mestre em Ciências do Curso de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba. São José dos Campos, SP, 1999. Disponível em:< <http://216.239.37.10.../fibroblastos.html>>. Acesso em: 23 out. 2003.

ANDO, N.; HOSHINO E. Predominant obligate anaerobes invading the deep layers of root canal dentin. **Int Endod J.**, v. 23, n. 1, p. 20-27, jan. 1990.

ARMENGOL, V.; JEAN, A.; MARION, D. Temperature rise during Er:YAG and Nd:YAP laser ablation of dentin. **J Endod.**, v. 26, n. 3, p. 138-141, mar. 2000.

BAE, K. S.; BAUMGARTNER, J. C.; NAKATA, T. T.. Development of an anaerobic leakage model. **J. Endod.**, n. 24, p. 233-238, 1998.

BAUNGARTNER, J. C.; FALKLER, W. A. Bacteria in the apical 5 mm on infected root canals. **J Endod.**, v. 17, n. 8, p. 380-383, aug. 1991.

BERKITEN, M.; BERKITEN, R.; OKAR, I. Comparative evaluation of antibacterial effects of Nd:YAG laser irradiation in root canals and dentinal tubules. **J Endod.**, v. 26, n. 5, p. 268-270, may. 2000.

BRADSHAW, D. J. et al. Oral anaerobes cannot survive oxygen stress without interacting with facultative/anaerobic species as a microbial community. **Letters Applied Microbiol.**, v. 25, p. 385-387, 1997.

CECCHINI, S. C. M. **Desinfecção da dentina radicular pela irradiação dos lasers de Nd:YAG, Ho:YAG e He:YAG:** um modelo *in vitro*. 2001. 136 f. Dissertação (Doutorado em Endodontia)-Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

CHAN, Y.; LAI, C. H. Bactericidal effects of different laser wavelengths on periodontopathic germs in photodynamic therapy. **Lasers Med Scie.**, Pennsylvania, v.18, n. 1, p. 51-55, 2003.

DE UZEDA, M. Participação microbiana nas infecções da polpa dental e do periápice. In: _____. **Microbiologia Oral: Etiologia da cárie, doença periodontal e infecção endodôntica.** Rio de Janeiro: MEDSI, 2002, p. 89-100.

EDUARDO, C. de P.; GOUW-SOARES, S. The use of lasers for endodontic applications in dentistry. **Medic Laser Applic**, v. 16, n. 3, p. 231, june, 2001. Abstract.

FEGAN, S. E.; STEIMAN, H. R. Comparative evaluation on the antibacterial effects of intracanal Nd:YAG laser irradiation: an in vitro study. **J Endod.**, v. 21, n. 8, p. 415-417, aug. 1995.

FERREIRA, C. M. Activity of endodontic antibacterial agents against selected anaerobic bacteria. **Braz Dent J.**, v. 13, n. 2, p. 118-122, 2002.

FOLWACZNY, M. et al. Antibacterial effects of pulsed Nd:YAG laser radiation at different energy settings in root canals. **J Endod.**, v. 28, n. 1, p. 24-29, jan. 2002.

FOTONA Fidelis Plus. Propiedades del láser médico. Disponível em: <<http://www.surdent.cl/marcos/fotona/teoria/teoria.htm>> . Acesso em: 14 set. 2003.

FOTONA Twinlight Especificaciones Técnicas. Disponível em: <<http://www.laserdental.org/Tecnologia/TwinlightEspecificaciones.html>>. Disponível em: 7 set. 2003.

GOMES, A. S. L. O laser e sua interação com tecidos biológicos. In: _____. **Lasers e Aplicações na Odontologia.** Manual adotado no Departamento de Física da UFPE para alunos de Odontologia. Recife, 2000. p. 3.

GOYA, C. et al. Effects of pulsed Nd:YAG laser irradiation on smear layer at the apical stop and apical leakage after obturation. **Int Endod J.**, v. 33, n. 3, p. 266-271, may. 2000.

GUTKNECHT, N. et al. Long-term clinical evaluation of endodontically treated teeth by Nd:YAG lasers. **J Clin Laser Med Surg.**, v. 14, n. 1, p. 7-11, feb. 1996a.

GUTKNECHT, N. et al. Bactericidal effect of the Nd:YAG laser in vitro root canals. **J Clin Laser Med Surg.**, v. 14, n. 2, p. 77-80, apr. 1996b.

HARDEE, M. W. et al. Evaluation of the antibacterial effects of intracanal Nd:YAG laser irradiation. **J Endod.**, v. 20, n. 8, p. 377-380, aug. 1994.

JAWETZ, E. et al. Infecções causadas por bactérias anaeróbicas. In: _____. **Microbiologia Médica**. 18. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. p. 211-215.

JORGE, A. O. C. Microrganismos causadores de infecções pulpares e periapicais. In: _____. **Microbiologia Bucal**. 2. ed. São Paulo: Santos, 1998, p. 93-104.

KAITSAS, V. et al. Effects of Nd:YAG laser irradiation on the root canal wall dentin of human teeth: a SEM study. **Bull Group Int Rech Sci Stomatol Odontol.**, v. 43, n. 3, p. 87-92, sept.- dec. 2001.

KAKEHASHI, S. et al. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. **Oral Surg, Oral Med, Oral Path.**, v. 20, n. 3, p. 340-349, sept. 1965.

KARU, T. I. Cellular mechanisms of low power therapy: new questions. In: _____. **The science of low power laser therapy**. Amsterdam, Netherlands: Gordon and Breach Science Publishers, OPA, 1998, p.88.

KIMURA, Y.; WILDER-SMITH, P.; MATSUMOTO, K. Lasers in endodontics: a review. **Int Endod J.**, v. 33, n. 3, p. 173-85, may. 2000.

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, feb. 1997.

KOBA, K. et al. A histopathological study of the effects of pulsed Nd:YAG laser irradiation on infected root canals in dogs. **J Endod.**, v. 25, n. 3, p. 151-154, mar. 1999.

LAN, W. H. Temperature elevation on the root surface during Nd:YAG laser irradiation in the root canal. **J Endod.**, v. 25, n. 3, p. 155-156, mar. 1999.

LAN, W. H. et al. A comparison of the morphological changes after Nd-YAG and CO₂ laser irradiation of dentin surfaces. **J Endod.**, v. 26, n. 8, p. 450-453, aug. 2000.

LOPES, I. M. L.; EDUARDO, C. de P. Laserterapia em periodontia. Disponível em: <http://www.sobrape.org.br/laserterapia_em_periodontia/laserterapia_em_periodontia.html>. Acesso em: 12 out. 2003.

LASERS in Dentistry. Characteristics of commonly used wavelengths. Disponível em: <http://www.dentalreference.com/html/body_lasers_in_dentistry.html>. Acesso em: 26 jun. 2003.

LEONARDO, M. R. Reparo apical e periapical após tratamento endodôntico. Proservação. In: _____. LEONARDO, M. R.; LEAL, J. M. **ENDODONTIA. Tratamento de canais radiculares**. 3. ed. São Paulo: Panamericana, 1998, p. 661-711.

LOVE, R. M. Bacterial adhesions – their role in tubule invasion and endodontic disease. **Aust Endod J.**, v. 28, n. 1, p. 25-28, apr. 2002a.

LOVE, R. M.; JENKINSON, H. F. Invasion of dentinal tubules by oral bacteria. **Crit Rev Oral Biol Med.**, v. 13, n. 2, p. 171-183, 2002b.

MANUAL dos Equipamentos Laser 632 e Laser 904. Disponível em:<<http://htmeletronica.com.br>>. Acesso em: 12 set. 2003.

MERAL, G. et al. Factors affecting the antibacterial effects of Nd:YAG laser in vivo. **Lasers Surg Med.**, v. 32, n. 3, p. 197-202, 2003.

MILLER, W. D. An introduction to the study of the bacterio-pathology of the dental pulp. **Dent Cosmos**, Philadelphia, v. XXXVI, n. 7, p. 505-528, july, 1894.

MEDICAL Laser. Dentistry. Disponível em:<<http://www.dekamela.com/medical5.htm>>. Acesso em: 26 jun. 2003.

OGUNTEBI, B.R. Dentine tubule infection and endodontic therapy implications. **Int Endod J.**, v. 27, n. 4, p. 218-222, july, 1994.

PÉCORRA, J. D.; BRUGNERA JR, A. Noções sobre a física do laser. Disponível em: <<http://www.forp.usp.br/restauradora/laser/intera.html>>. Acesso em: 13 set. 2003.

PETERS, L. B. et al. Viable bacteria in root dentinal tubules of teeth with apical periodontitis. **J Endod.**, v. 27, n. 2, p. 76-81, feb. 2001.

PETERS, L. B.; WESSELINK, P. R.; van WINKELHOFF, A. J. Combination of bacterial species in endodontic infections. **Int Endod J.**, v. 35, n. 8, p. 698-702, aug. 2002.

PICCOLOMINI, R. et al. Bacteriologic evaluation of effect of Nd:YAG laser irradiation in experimental infect root canals. **J Endod.**, v. 28, n. 4, p. 276-278, apr. 2002.

RAMSKOLD, L. O.; FONG, C. D. e STROMBERG, T. Thermal effects an antibacterial properties of energy levels required to sterilize stained root canals with an Nd:YAG laser. **J Endod.**, v. 23, n. 2, p. 96-100, feb. 1997.

ROCHA, D. V. **Lasers de baixa intensidade em Odontologia.** Apostila do curso de Mestrado profissionalizante: Lasers em Odontologia. Puig, [2000]. p. 1- 7.

ROONEY, J.; MIDDIA M.; LEEMING, J. A laboratory investigation of the bacterial effect of a Nd:YAG laser. **Br Dent J.**, v. 176, n. 2, p. 61-64, jan. 1994.

SIQUEIRA JR, J. F. Strategies to treat infected root canals. **J Calif Dent Assoc.**, v. 29, n. 12, p. 825-37, dec. 2001.

SIQUEIRA, J. F.; DE UZEDA, M.; FONSECA, M. E. A scanning electron evaluation of in vitro dentinal tubules penetration by selected anaerobic bacteria. **J Endod.**, v. 22, n. 6, p. 308-310, june, 1996.

SOUZA-GUGELMIN, M. C. et al. Estudo da ação antimicrobiana dos lasers de Nd:YAG, CO₂ e Er:YAG, na descontaminação de limas endodônticas. **Rev Odont Univ Ribeirão Preto**, v. 4, n. 1, p. 15-19, 2001.

SUNDQVIST, G. Associations between microbial species in dental root canal infections. **Oral Microbiol Immunol.**, v. 7, p. 257-762, 1992.

SUNDQVIST, GÖRAN K. et al. Capacity of anaerobic bacteria from necrotic dental pulps to induce purulent infections. **Infect Immun**, v. 25, n. 2, p. 685-693, aug. 1979.

TRONSTAD, L. ; BARNET, F. ; CERVONE F. Periapical bacterial plaque in teeth refractory to endodontic treatment. **Endod Dental Traumatol.**, v. 6, n. 2, p. 73-77, apr. 1990.

YOUNG, MATT. In: _____. **Optica e lasers.** São Paulo: Edusp, 1998, 448 p.

APÊNDICE

APÊNDICE 1**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Eu, _____, portador da Carteira de Identidade nº _____, autorizo coletar para pesquisa, material do meu canal radicular que será submetido a tratamento endodôntico. Tenho, por esclarecimento do pesquisador, a convicção de que o simples ato de retirar material séptico do dente, em nada afetará a minha saúde nem a minha dignidade ou mesmo me trará quaisquer gastos financeiros. Também estou ciente dos benefícios que esta pesquisa poderá trazer aos pacientes, caso seus resultados sejam positivos. Fui esclarecido que o material coletado servirá para testar a possível atividade bactericida da radiação laser sobre os microrganismos existentes no canal. Sei que tal fato não acarretará prejuízos ao meu tratamento, uma vez que não impedirá a sua continuidade.

Assim sendo, consinto livremente a minha participação.

Recife, _____ de _____ de _____.

Assinatura do voluntário

Nome do Voluntário

Testemunha

Testemunha

APÊNDICE 2

Tabela 2. Atividade antimicrobiana do laser de Nd:YAG frente a microrganismos anaeróbicos do sistema de canais radiculares em dente com necrose pulpar e lesão periapical.

Tempo	Controle		Irradiação 1.5 W		Irradiação 2.0 W		Irradiação 2.5 W		Irradiação 3.0W	
	\bar{X}	σ	\bar{X}	σ	\bar{X}	σ	\bar{X}	σ	\bar{X}	σ
8 h	4.59	±0.07	3.55	±0.38	4.49	±0.10	4.09	±0.06	4.35	±0.04
12 h	6.55	±0.04	6.18	±0.05	6.21	±0.08	6.12	±0.06	5.59	±0.10
16 h	7.89	±0.02	8.17	±0.06	8.42	±0.07	9.36	±0.03	8.08	±0.09
20 h	7.87	±0.03	8.03	±0.06	8.09	±0.05	8.42	±0.08	6.27	±0.38
24 h	8.12	±0.11	7.14	±0.06	7.20	±0.06	7.32	±0.03	7.10	±0.08

\bar{X} = média dos resultados obtidos em Log_{10} UFC/mL

σ = desvio padrão



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências da Saúde
Comitê de Ética em Pesquisa

Ofício nº 258/2002 - CEP/CCS

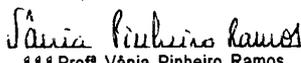
Recife, 04 de setembro de 2002.

Senhor(a) Pesquisador (a),

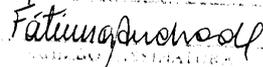
Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco - CEP/CCS/UFPE analisou o Protocolo de pesquisa n.º 026/2002-CEP/CCS, intitulado "Atividade bactericida da radiação laser nd-yag em microorganismos anaeróbios obtidos em sistemas de canais radiculares infectados. Estudo in vitro", aprovando-o, de acordo com a Resolução nº196/96 do Conselho Nacional de Saúde, em 04 de setembro de 2002, liberando para início da coleta de dados.

OBS: relatório do Pesquisador responsável previsto para 04.11.02

Atenciosamente,


 Profª Vânia Pinheiro Ramos
 Vica-coordenadora do Comitê de Ética
 em Pesquisa CCS/UFPE

Ao
 Prof. Valder Barboza Gomes
 Depto de Clínica e Odontologia Preventiva

RECEBI O ORIGINAL
 em 17 / 09 / 2002

 COORDENADOR

Este trabalho foi redigido de acordo com as normas da ABNT-2002.