

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
CENTRO INTEGRADO DE SAÚDE
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PPG – MESTRADO EM CLÍNICA ODONTOLÓGICA

MARIANE FLORIANO LOPES SANTOS LACERDA

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* DAS ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS E
INFILTRAÇÃO APICAL DE DENTES TRATADOS
ENDODONTICAMENTE ASSOCIADOS À TERAPIA FOTODINÂMICA**

Juiz de Fora

2013

MARIANE FLORIANO LOPES SANTOS LACERDA

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* DAS ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS E
INFILTRAÇÃO APICAL DE DENTES TRATADOS
ENDODONTICAMENTE ASSOCIADOS À TERAPIA FOTODINÂMICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Clínica Odontológica, da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre. Área de concentração: Clínica Odontológica.

Orientador: Prof. Dr. Celso Neiva Campos

Juiz de Fora

2013

DEDICATÓRIA

Ao meu querido marido, Gabriel, pelo constante incentivo ao crescimento profissional, exigindo sempre minha superação. Sem o seu amor e carinho tudo seria mais difícil. Amo você!

AGRADECIMENTOS

Aos meus amados pais, **Franklin e Jucélia**, pelo esforço, apoio, dedicação e compreensão nos momentos de fraqueza e turbulência; por terem acreditado e fornecido condições para que eu concluísse mais uma etapa desta vida. Vocês me ensinaram a descobrir o valor da responsabilidade, indispensáveis para a construção e conquista do meu projeto de vida. Vocês são os meus maiores mestres! Obrigada por tudo!

Ao meu sogro **Tarcísio**, pai emprestado que a vida me deu, obrigada pelo carinho de sempre, pela alegria que compartilha as experiências do consultório e por todo o incentivo que me deu ao escolher a Endodontia como caminho a ser seguido. Você é “ Nota 10 ”!

Aos meus queridos irmãos, **Eduardo, Juliane e Crystal** pelo companheirismo, e incentivo oferecidos antes, durante e seguramente, por toda a minha trajetória de vida e trajetória profissional.

Ao meu orientador **Professor Doutor Celso Neiva Campos**, agradeço pela oportunidade, orientação, compreensão, amizade, confiança e todos os ensinamentos transmitidos durante a realização desse curso e desde os tempos do curso de Especialização em Endodontia, que me fizeram trilhar por um crescimento profissional que julgava impossível em tão pouco tempo. Seus ensinamentos foram guardados e serão fielmente seguidos nos próximos caminhos a serem descobertos!

À **Coordenadora do Curso de Pós-Graduação em Clínica Odontológica da Faculdade de Odontologia de Juiz de Fora, Professora Doutora Maria das Graças Afonso de Miranda Chaves**, pela oportunidade da realização deste curso. Hoje, ao final desta etapa, venho lhe agradecer pelo carinho imenso de sempre, transmitido a mim através desse coração maior que o mundo! Sua atenção, disponibilidade e sua dedicação ao curso, são exemplos a serem seguidos na minha vida acadêmica! Obrigada por tudo! Você é muito especial!

À querida e doce **Professora Doutora Rosangela Almeida**, pelo imenso carinho com que analisou, revisou, criticou, verificou, esmiuçou o trabalho! Sempre me lembrarei de você como exemplo de dedicação e conhecimento inacabável!

Aos **Professores do curso de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora**, que por meio das disciplinas ministradas, contribuíram para meu crescimento profissional.

Aos meus **Professores de Endodontia -Anamaria, Antônio Márcio, Celso, Edson, Leandro, Wagner-** pelos ensinamentos transmitidos durante a Graduação, Especialização e Mestrado. Muito mais que professores, vocês foram - e ainda são - inspiradores da minha paixão à Endodontia, são referência a ser seguida, são amigos sempre dispostos a ajudar, e me deram muitas oportunidades de crescimento profissional e pessoal. Muito obrigada pela amizade e confiança depositada em mim! Vocês também são responsáveis por esta conquista!

Aos **funcionários da FO- UFJF**, por serem sempre prestativos e atenciosos.

À **Secretária do PPG Wanessa Alonso**, pela amizade e ajuda ímpar, durante todo este curso.

À **Secretária Kelly Cristina**, por sua grande amizade e eficiência em remanejar agendas, horários e pacientes, tornando possível conciliar consultório e mestrado. Muito obrigada!

Ao amigo, sócio e padrinho **Sérgio Mota Jr.**, por todos os socorros tecnológicos e por ter compartilhado tantos conhecimentos. Obrigada pela torcida de sempre!

Aos colegas de pós-graduação – **Binato, Flavinha, Patty, Ronaldinho** e a tantos outros colegas, pela companhia e ensinamentos compartilhados, e ainda, pelos auxílios prestados ao longo dessa caminhada.

À querida amiga **Cristiane Alfenas**, pela grande ajuda no momento de maior escuridão; por compartilhar conhecimentos, alegrias e dicas “fashions” durante esse curso e a especialização. Você ajudou-me com muito carinho e fez esta caminhada realmente se tornar mais fácil. Agradeço - por tudo - de coração. Juntas, crescemos, na busca de um ideal!

Ao grande amigo **Mauro Henrique Chagas**, que tenho orgulho e prazer em ter conhecido e mantido amizade. Você é um brilhante profissional, pessoa ímpar e me ensinou muito; agradeço todo o conhecimento, atenção e contribuição que me foram passados durante a convivência na clínica! Ver você trabalhando e ministrando aula é inspirador! Tenha certeza que será um exemplo a ser seguido!

RESUMO

A PDT antimicrobiana é um eficiente método coadjuvante na desinfecção do sistema de canais radiculares, o que torna importante o estudo sobre a possibilidade de alterações morfológicas e permeabilidade provocadas pelo laser de diodo na estrutura dentinária radicular. A proposta deste estudo foi investigar as alterações morfológicas e percentual de infiltração apical radicular após o uso do laser diodo. Quarenta dentes monorradiculares foram instrumentados pelo sistema rotatório Protaper e irrigados com NaOCl 5,25% e EDTA 17%. Depois, foram divididos aleatoriamente em: G1: não receberam PDT (controle); G2: receberam pré-irradiação com fotossensibilizador azul de toluidina e irradiação com laser diodo de AsGaAl. Em seguida, 10 dentes de cada grupo foram analisados por MEV quanto as alterações morfológicas. Os outros 10 dentes foram obturados e corados por Rodamina B para avaliar o percentual de infiltração apical. Os resultados mostraram diferença significativa entre G1 e G2 ($p < 0,001$ - qui-quadrado), verificando maior presença de debris em G1 (controle) e maior ocorrência de túbulos dentinários abertos em G2 (PDT). Erosões e *cracks* foram observadas em ambos os grupos, sem diferença estatística significativa ($p > 0,001$). O percentual de infiltração apical foi significativamente maior em G2 que em G1 ($p < 0,001$ - t student). Concluiu-se que a utilização do laser diodo promoveu a redução de *smear layer* e abertura dos túbulos dentinários, não influenciando na ocorrência de erosão, *cracks* e carbonização. O laser aumentou a permeabilidade da dentina apical.

Palavras-chave: Fotoquimioterapia; Laser Endodontia.

ABSTRACT

The antimicrobial PDT is an efficient method supporting the disinfection of the root canal system, which makes it important to study on the possibility of morphological and permeability caused by the diode laser on the root dentin structure. The purpose of this study was to investigate the morphological and percentage of root apical leakage after using the diode laser. Forty single teeth were instrumented by Protaper rotary system and irrigated with 5.25% NaOCl and 17% EDTA. They were then randomly divided into: G1 not receive PDT (control), G2: received pre-irradiation with toluidine blue photosensitizer and irradiation by GaAlAs laser diode. Then, ten teeth in each group were analyzed by SEM as morphological changes. The other ten teeth were filled and stained with Rhodamine B to evaluate the percentage of apical leakage. The results showed significant difference between G1 and G2 ($p < 0.001$ - chi-square), checking greater presence of debris in G1 (control) and higher incidence of open dentinal tubules in G2 (PDT). Erosions and cracks were observed in both groups, with no statistically significant difference ($p > 0.001$). The percentage of apical leakage was significantly higher in G2 than in G1 ($p < 0.001$ - t student). It was concluded that the use of the diode laser caused a reduction of smear layer and opening the dentinal tubules and does not influence the occurrence of erosion, cracks and carbonization. The laser increased the permeability of the apical dentine.

Key-words: Photodynamic Therapy, Lasers, Endodontics.

LISTA DE SIGLAS

- EDTA: Ácido etilenodiamino tetra-acético
- AsGaAl: Arsênio, Gálio, Alumínio
- MB: Azul de metileno
- TB: Azul de toluidina
- BHI: Caldo de infusão cérebro coração
- NaCl: Cloreto de sódio
- λ : Comprimento de onda
- CT : Comprimento de trabalho
- LPS: Endotoxina lipopolissacarídeo
- Er:YAG: Érbio: Ítrio, Alumínio, Granada
- NaOCl: Hipoclorito de sódio
- He-Ne: Hélio- Neônio
- J: Joules
- mW: MiliWatt
- MEV: Microscópio eletrônico de varredura
- μm : Micrometro
- Nm: Nanometro
- Nd:YAG: Neodímio: Ítrio, Alumínio, Granada
- PMCC: Paramonoclorofenol canforado
- H_2O_2 : Peróxido de hidrogênio
- PQM: Preparo químico-mecânico
- pH: Potencial hidrogeniônico
- kV: Quilovolt
- PCR: Reação em cadeia da polimerase
- SCR: Sistema de canais radiculares
- PDT: Terapia fotodinâmica
- UFC: Unidades formadoras de colônia

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Demarcação da junção amelo-cementária vestibular com auxílio de lápis.....	37
Figura 2: Secção da coroa com auxílio de disco de carborundo montado em micro-motor.	37
Figura 3: Preechimento dos canais com azul de toluidina.	39
Figura 4: Fibra óptica acoplada à ponta da caneta do <i>laser</i>	39
Figura 5: Base com plano inclinado para clivar o dente.	40
Figura 6: Dente clivado em dois fragmentos.	40
Figura 7: Fotomicrografia da superfície da dentina radicular do grupo controle demonstrando a presença de debris e poucos túbulos dentinários abertos.....	44
Figura 8: Fotomicrografia da superfície da dentina radicular do grupo que recebeu aplicação de <i>laser</i> de baixa intensidade demonstrando a ausência de debris e túbulos dentinários abertos.	44
Figura 9: Fotomicrografia da superfície da dentina radicular do grupo controle demonstrando a presença de Cracks (seta).	45
Figura 10: Fotomicrografia da superfície da dentina radicular do grupo que recebeu aplicação de <i>laser</i> de baixa intensidade demonstrando a presença de Cracks (setas).	46
Figura 11: Fotomicrografia da superfície da dentina radicular do grupo controle demonstrando a presença de erosão (setas).....	46
Figura 12: Fotomicrografia da superfície da dentina radicular do grupo que recebeu aplicação de <i>laser</i> de baixa intensidade demonstrando a presença de erosão no grupo 2 (setas)	47
Figura 13. Gráfico apresentando média, desvio-padrão e amplitude da proporção da área infiltrada em relação a área de dentina total nos grupos 1 e 2.....	47
Figura 14: Ausência de infiltração apical no grupo 1 (controle).....	48
Figura 15: Infiltração apical no grupo 2 (dentes que receberam aplicação do <i>laser</i> de baixa intensidade).	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Score relativo à ocorrência de debris nos dentes dos grupos controle (G1) e dentes que receberam aplicação de laser de baixa intensidade(G2).....	43
Tabela 2. Score relativo à ocorrência de túbulos dentinários abertos nos dentes dos grupos controle (G1) e dentes que receberam aplicação de <i>laser</i> de baixa intensidade (G2).....	43
Tabela 3. Presença e ausência de erosões e cracks nos dentes dos grupos controle (G1) e tratado com laser (G2).....	45

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 FUNDAMENTOS TEÓRICOS.....	15
2.1 Substâncias químicas e microbiota endodôntica.....	15
2.2 Terapia fotodinâmica antimicrobiana em canais radiculares.....	21
2.3 Alterações morfológicas da parede dos canais radiculares produzidas pelo laser	30
3 PROPOSIÇÃO	36
4 METODOLOGIA	37
4.1 Seleção e preparo da amostra	37
4.2 Aplicação de laser de baixa intensidade	39
4.3 Alterações morfológicas da dentina radicular	40
4.4 Avaliação da permeabilidade da dentina radicular.....	41
4.5 Análise estatística	42
5- RESULTADOS	43
5.1 Alterações morfológicas da dentina radicular	43
5.2 Permeabilidade da dentina radicular	47
6 DISCUSSÃO	49
7 CONCLUSÃO	56
REFERÊNCIAS.....	57
ANEXO	64

1 INTRODUÇÃO

Micro-organismos presentes no sistema de canais radiculares (SCR) têm se mostrado a principal causa de insucesso da terapia endodôntica, tanto por seus produtos metabólicos como por sua consequente formação de foco de infecção-biofilme, pois podem colonizar os túbulos dentinários, canais acessórios, ístmos e deltas apicais, dificultando a eliminação pela instrumentação, pelo uso de substâncias irrigadoras e pela medicação intracanal (GOMES et al., 2006). Exemplo disso é a colonização por *Enterococcus faecalis*, junto com outros micro-organismos como *Candida albicans*, consideradas espécies resistentes e persistentes nas infecções endodônticas, que podem ser causadores de falhas em alguns tratamentos endodônticos (SJOGREN et al., 1997).

Ainda nessa visão, pode-se citar o fato de a defesa do hospedeiro ou a administração sistêmica de agentes antimicrobianos não serem acessíveis aos micro-organismos remanescentes dentro do complexo radicular (DUNAVANT et al., 2006), fazendo-se necessário a complementação da terapia endodôntica, com novas técnicas, no âmbito das substâncias irrigadoras, das medicações intracanal e da radiação *laser*, que por sua vez, potencializem a descontaminação e a atividade antimicrobiana.

A radiação de *lasers* de baixa intensidade tem sido proposta como uma terapêutica a ser associada ao preparo químico mecânico (PQM) em casos de infecção, considerando a possibilidade de aumentar a eficácia do tratamento endodôntico por meio de sua ação bactericida. A ação antimicrobiana dos *lasers* de baixa intensidade vem sendo estudada em um processo conhecido como terapia fotodinâmica (*Photodynamic therapy – PDT*) (BERGMANS et al., 2006).

Por meio da PDT, os micro-organismos entram em contato com um corante e tornam-se susceptíveis à luz irradiada, a qual induz uma reação fotoquímica com formação de radicais livres de oxigênio singleto -produtos responsáveis pela invasão e ruptura da parede celular bacteriana, levando à destruição do micro-organismo (SCHOOP et al., 2004).

Analisando-se a PDT em dentes portadores de infecções endodônticas antibiótico-resistentes com necessidade de retratamento, os resultados têm comprovado diminuição no número de unidades formadoras de colônias (UFC) de

diversas espécies bacteriana, demonstrando que a PDT pode ser um coadjuvante à terapia endodôntica (GARCEZ et al., 2010; Souza, et al., 2010).

No entanto, fazem-se necessárias, investigações do efeito dessa tecnologia sob as alterações morfológicas no tecido dentinário quando da associação do *laser* de baixa intensidade à terapia endodôntica preconizada, visto que estudos demonstram a grande variabilidade de alterações promovida pela radiação *laser* de alta intensidade, tais como: ablação do tecido dentinário, remoção de *smear layer* e exposição dos túbulos dentinários, fusão de hidroxiapatita, produzindo áreas de recristalização nas paredes do canal radicular e obliteração dos túbulos dentinários (SOUZA et al., 2005).

Uma vez alterados os padrões morfológicos dos túbulos dentinários, a permeabilidade dentinária poderá sofrer alterações e conseqüentemente a capacidade de selamento do cimento obturador também pode estar alterada. Essas alterações no selamento, poderão permitir a reinstalação e reinfecção de micro-organismos no SCR, formando novos focos de infecção e por conseguinte, causarem o insucesso da terapia endodôntica (BASSILI, 2002).

Considerando que a radiação *laser* nas paredes dos canais radiculares promove alterações morfológicas que podem interferir na adaptação das obturações dos sistemas de canais radiculares, o presente estudo visa avaliar *in vitro*, quantitativa e qualitativamente, os efeitos da radiação do *laser* diodo 660 nm, utilizado durante a PDT, quanto às alterações morfológicas e a permeabilidade dos túbulos dentinários, por meio da análise de imagens e percentual de infiltração apical, respectivamente.

2 FUNDAMENTOS TEÓRICOS

Para melhor entendimento e facilidade de leitura, a revisão de literatura será abordada nos seguintes tópicos: Substâncias químicas e microbiota endodôntica; Terapia fotodinâmica antimicrobiana em canais radiculares; Alterações morfológicas da parede dos canais radiculares produzidas pelo laser

2.1 Substâncias químicas e microbiota endodôntica

Um dos objetivos da Endodontia é devolver ao sistema de canais radiculares sua condição asséptica, eliminando-se a microbiota patogênica, para o possível retorno do dente a sua função (SCHOOP et al., 2004).

A preparação do sistema de canais radiculares é reconhecidamente uma das mais importantes etapas do tratamento endodôntico. Ela inclui a remoção de tecidos vitais e necróticos do SCR, além da dentina infectada (HULSMANN, PETERS e DUMMER, 2005).

As buscas por melhores maneiras de se promover a limpeza e antissepsia radicular fizeram com que diversas substâncias fossem testadas no interior dos canais. Baseado no empirismo, e aliado à necessidade de resolver problemas pertinentes à Endodontia, Schreier (1893) utilizou uma mistura de sódio e potássio metálicos como agentes antissépticos, uma vez que, na presença de umidade, geravam hidróxido de sódio e hidróxido de potássio, respectivamente, promovendo a saponificação dos tecidos necrosados.

Miller (1894) observou no tecido necrótico pulpar, cocos, bacilos e espirilos. Também pôde-se observar que as bactérias são os principais micro-organismos colonizadores do tecido pulpar.

Walker (1936) propôs o uso do hipoclorito de sódio (NaOCl) a 5% na irrigação dos canais radiculares, uma vez que acreditava ser, tal substância, eficiente na neutralização de conteúdos sépticos do canal.

Grossman e Meiman (1941) realizaram um estudo comparando vários agentes químicos utilizados na Endodontia até então, quanto à capacidade de

solvência pulpar. Os agentes quantificados foram: ácido sulfúrico aquoso, sódio e potássio metálicos, dióxido de sódio, metilato de sódio, papaína e hipoclorito de sódio a 5%. A conclusão desses autores foi de que o hipoclorito de sódio a 5% demonstrou-se mais eficiente na dissolução pulpar.

Takehashi, Stanley e Fitzgerald (1965) verificaram que polpas de ratos estéreis expostas ao meio bucal não sofreram mortificação, mas sim formação de ponte de dentina, evidenciando o poder reparador do tecido quando isento de infecção. Nos espécimes não-estéreis, foram observados abscessos, extensas áreas inflamatórias e reabsorções ósseas.

Schilder (1974) preconizou uma técnica de instrumentação dos canais radiculares denominada "Cleaning and Shaping" que significa limpando e modelando, onde se buscava uma forma cônica afunilada para os canais. Com essa técnica, pôde-se alcançar maior facilidade de limpeza com o uso de soluções irrigantes, conseguindo-se, durante a obturação do canal, uma adaptação melhor do cone de guta-percha e uma facilidade maior para introduzir o cimento obturador em toda área do canal.

McComb e Smith (1975) em um estudo pioneiro, observaram com microscopia eletrônica de varredura (MEV), o efeito das diversas soluções irrigadoras utilizadas no tratamento endodôntico sobre as paredes dentinárias do canal radicular. Dentes unirradiculares humanos foram instrumentados utilizando-se como solução irrigadora água destilada, hipoclorito de sódio a 1% ou 6%; NaOCl a 6% alternado com peróxido de hidrogênio a 3%, EDTAC a 17% (EDTA associado a Cetavlon, um antibactericida), e ácido poliacrílico 20%. Pela primeira vez observou-se a formação de uma camada amorfa (*smear layer*) aderida às paredes dos canais radiculares como resultado ao preparo biomecânico. Concluíram que o EDTAC foi capaz de remover a camada de *smear layer* do canal radicular, tornando as paredes dentinárias próprias para receber material obturador. A limpeza obtida por tal solução foi proporcional ao tempo em que foi deixada no interior do canal.

Bystrom e Sundqvist (1981) analisando a eficácia da instrumentação durante a terapia endodôntica, concluíram que esta não é capaz de eliminar bactérias sem auxílio de soluções com propriedades bactericidas, mesmo que a instrumentação tenha sido realizada por cinco sessões.

Bystrom et al. (1987) avaliaram a ação do hipoclorito de sódio a 0,5% em estudo *in vivo* por meio da análise de trinta dentes necrosados, unirradiculares.

Destes dentes, quinze foram irrigados com a solução de hipoclorito de sódio a 0,5% a ser testada e os outros quinze com solução salina. Ambos os grupos receberam cinco sessões de tratamento, com contagem de bactérias após cada uma delas. Ao final do tratamento, doze dos quinze dentes tratados com hipoclorito apresentaram-se livres de bactérias, enquanto que oito de quinze dentes tratados com solução salina apresentavam-se livres de bactérias. Com isso, concluíram que o hipoclorito se mostra mais eficaz quando comparado à solução salina.

Czonstkowsky et al. (1990) em uma revisão de literatura sobre soluções irrigadoras e seus efeitos na descontaminação das paredes dentinárias radiculares, concluíram que a remoção da camada de *smear layer* apresenta mais benefícios do que riscos, recomendando, portanto o uso alternado de hipoclorito de sódio e EDTA durante o preparo biomecânico dos canais radiculares.

Pécora et al. (1993) analisaram a permeabilidade da dentina radicular utilizando vinte incisivos centrais superiores extraídos de humanos e instrumentados manualmente pela técnica *step back* com 1 minuto de instrumentação para cada lima, irrigando o canal com cada substância a ser estudada, após dividi-los nos seguintes grupos: G1: EDTA a 15%; G2: NaOCl a 0,5%; G3: NaOCl a 0,5% + EDTA (proporção de 1:1); G4: ora líquido de Dakin, ora EDTA (5,4 mL de cada). Após análise quantitativa da penetração de íons cobre na dentina radicular, chegaram à conclusão de que apesar de nenhum dos grupos ter removido por completo a *smear layer* e detritos, a solução EDTA + NaOCl a 0,5% foi mais eficiente do que quando utilizados separadamente.

Fachin, Hahn e Palmi (1994) afirmaram que a solução irrigadora ideal deve combinar o maior número possível de propriedades, pois é impossível combinar todas simultaneamente. Os autores descreveram que o hipoclorito de sódio possui capacidade de dissolução de tecido necrótico, atribuída à sua alta alcalinidade e propriedade germicida, relacionada com a formação de ácido hipocloroso pela liberação de cloro na solução. Os autores indicaram o uso de hipoclorito de sódio a 1% por este apresentar equilíbrio entre as propriedades.

Berutti, Marini e Angeretti (1997) mensuraram a capacidade de algumas soluções irrigadoras de penetrar nos túbulos dentinários. Selecionaram 24 incisivos centrais superiores, que foram esterilizados e posteriormente incubados com *Streptococcus faecalis* por vinte dias. A instrumentação dos dentes foi realizada em ambiente asséptico, irrigando-se os canais radiculares, entre a utilização de cada

instrumento, com hipoclorito de sódio a 5,25% e EDTA a 10%. Em metade dos dentes, além das soluções citadas, também foi utilizado um detergente aniônico tensoativo (Triton-X). Os dentes foram descalcificados e analisados por meio de microscopia óptica, onde se observou a presença de bactérias nos túbulos dentinários em diferentes profundidades. No grupo onde não foi utilizado tensoativo, havia a presença maciça de bactérias na profundidade de 300 µm, enquanto no grupo onde o tensoativo foi utilizado, havia uma camada livre de bactérias a partir da luz do canal, que se estendeu por 13 mm. Abaixo dessa zona, havia contaminação. Os autores concluíram que o Triton-X auxilia a penetração do hipoclorito de sódio no interior dos túbulos dentinários.

Heling e Chandler (1998) compararam o efeito antimicrobiano de algumas soluções de uso endodôntico. Utilizando seis raízes de dentes bovinos, os autores obtiveram cortes transversais que foram submetidos ao hipoclorito de sódio e EDTA para remoção de restos pulpares e da camada de *smear layer*. Em seguida, os espécimes foram incubados com *Enterococcus faecalis* por cinco dias e submetidos a diversas substâncias irrigadoras (soro fisiológico, NaOCl a 1%, EDTA a 17%, clorexidina e peróxido de hidrogênio). Os resultados indicaram que o EDTA não é eficiente contra a cepa bacteriana utilizada, do mesmo modo que o soro fisiológico. O hipoclorito de sódio a 1% mostrou-se tão eficiente quanto à clorexidina, e estas soluções foram superiores ao peróxido de hidrogênio na redução de cepas de bactérias.

Koulaouzidou (1999) avaliou a citotoxicidade do NaOCl e EDTA em diversas concentrações e potenciais hidrogeniônicos (pH). O autor utilizou culturas de células submetidas a diferentes soluções irrigadoras e avaliaram, quantitativamente, a viabilidade celular após diferentes intervalos de tempo. Os resultados indicaram grande porcentagem de células mortas nos meios tratados com hipoclorito de sódio e EDTA, independentemente do pH destas soluções, fato este que levou o pesquisador a concluir que ambas as soluções são citotóxicas nas concentrações utilizadas rotineiramente na Endodontia.

Spanó et al. (2001) realizaram um estudo *in vitro* a fim de investigar o efeito solvente de variadas concentrações de hipoclorito de sódio (0,5: 1,0: 2,5 e 5%) sobre o tecido pulpar bovino à temperatura ambiente, e também, para avaliar o teor de cloro residual, pH e tensão superficial antes e após a dissolução pulpar. Após a obtenção dos resultados, os autores concluíram que quanto maior a concentração

de hipoclorito de sódio, maior a velocidade de dissolução do tecido pulpar bovino. O pH e a tensão superficial, após os testes de dissolução com todas as concentrações de soluções de NaOCl, foram reduzidos. O consumo de cloro foi menor quanto menor a concentração de hipoclorito de sódio; e o teor de cloro residual ocorreu em todas as concentrações, sendo diretamente proporcional à concentração durante o processo de dissolução do tecido pulpar.

O uso de medicação intracanal entre sessões, em especial o hidróxido de cálcio, reforça a intenção de redução da população microbiana do canal radicular. As propriedades físico-químicas do hidróxido de cálcio estão associadas à difusão dos íons hidroxila em concentrações adequadas, além da sua permanência por um período sugerido de quatro semanas (MENEZES *et al.*, 2004).

Portenier *et al.* (2005) verificaram a susceptibilidade do *E. faecalis* aos agentes antimicrobianos (solução saturada de hidróxido de cálcio, digluconato de clorexidina a 0,05% e solução de hipoclorito de sódio a 0,0001%) de acordo com a curva de crescimento dos micro-organismos. A susceptibilidade das cepas de *E. faecalis* VP3-80 e A197A aos agentes foi maior na fase logarítmica, quando a morte bacteriana ocorreu no período de 3 a 10 minutos após o contato com a substância. Já na fase estacionária, a mais resistente, não foi observada morte completa das bactérias mesmo após o período de 10 minutos.

Souza (2006) realizou avaliação microbiológica por *checkboard DNA-DNA hybridization* e confirmaram a limitação da atividade antimicrobiana do hidróxido de cálcio como medicação entre sessões, pela modesta redução da prevalência de *E. nodatum*, *F. periodonticum*, *S. intermedius*, *T. forsythensis* e *T. denticola* no final do tratamento.

As áreas como istmos, deltas, ramificações, irregularidades e túbulos dentinários são locais complexos do SCR. Tais áreas são dificilmente alcançadas pelos agentes antimicrobianos utilizados na terapia endodôntica convencional e representam um obstáculo na eficácia do tratamento endodôntico (DUNAVANT *et al.*, 2006).

Basrani *et al.* (2007) descreveram que apesar da limpeza mecânica reduzir consideravelmente o número de micro-organismos, acredita-se que o número de bactérias remanescentes desta etapa possa ser controlado somente com o uso de medicação intracanal durante sessões de preparo do canal.

Siqueira Jr. et al. (2007) avaliaram o poder bactericida da pasta de hidróxido de cálcio com soro fisiológico e hidróxido de cálcio com paramonoclorofenol canforado (PMCC). Constataram que a pasta com soro fisiológico foi inefetiva para o *E. faecalis* e *F. nucleatum*, mesmo após uma semana de exposição. A pasta com PMCC eliminou bactérias dos túbulos dentinários após uma a quatro horas de exposição, exceto para *Enterococcus faecalis* que necessitou de dois dias de exposição.

Em estudo *in vivo*, Vianna et al. (2008) avaliaram a redução microbiana após o preparo químico-mecânico de canais radiculares humanos com necrose pulpar, utilizando como irrigantes endodônticos, hipoclorito de sódio a 2,5% ou gel de clorexidina a 2%. Trinta e seis dentes com necrose pulpar foram divididos em dois grupos de acordo com a solução irrigadora. A presença bacteriana foi determinada através de PCR (reação em cadeia da polimerase) e pela contagem de UFC. Ambas as soluções foram eficazes na redução do número de bactérias.

Khedmat e Shokouhinejad (2008) avaliaram a eficácia na remoção da *smear layer* comparando o efeito do EDTA a 17%, ácido cítrico a 10% e “smear clear”. Utilizaram 48 dentes humanos monorradiculares sem curvatura que foram seccionados em terços coronal, médio e apical. As amostras foram submetidas à irrigação de 1 mL da substância a ser testada durante 1 minuto, seguidas de irrigação com NaOCl a 5,25%. Após analisarem os resultados obtidos, concluíram que 1 mL de cada solução irrigada por 1 minuto não foram eficazes na remoção de *smear layer*, sem discrepância entre as soluções; no entanto, no terço apical, o ácido cítrico foi menos eficiente que as demais soluções testadas.

Retamozo et al. (2010) investigaram a concentração de NaOCl e o tempo de irrigação necessários para a desinfecção de blocos de dentina infectados por *E. faecalis*. Quatrocentos e cinquenta blocos de dentina foram preparados a partir de incisivos bovinos extraídos e tiveram seus túbulos dentinários abertos pela utilização de EDTA a 17% por 4 minutos. Em seguida, os blocos foram irrigados com NaOCl a 5,25%. Os blocos de dentina foram expostos à bactéria e incubados por três semanas em meio de cultura BHI (caldo de infusão cérebro coração). As amostras foram divididas em dois grupos controles (positivo e negativo) e três grupos, de acordo com as concentrações de NaOCl: 1,3%; 2,5% e 5,25%, aplicados por 15, 20, 25, 30, 35 e 40 minutos. As amostras foram incubadas por 72 horas em um tubo contendo 2 mL de BHI e o crescimento bacteriano foi avaliado pela turbidez do meio.

Os dados revelaram que a irrigação mais efetiva foi o NaOCl na concentração de 5,25% por 40 minutos (100%), enquanto que a irrigação nas concentrações mais baixas foram ineficazes na eliminação do *E. faecalis* neste mesmo intervalo de tempo. Os autores concluíram que é necessária alta concentração e longa exposição ao NaOCl para eliminar a bactéria testada.

SOUZA et al. (2010) através de estudo *in vitro*, verificaram a redução de bactérias no SCR por meio de três técnicas de irrigação: irrigação convencional com agulhas *NaviTip*; irrigação convencional com agulhas *NaviTip* complementadas pela ativação das substâncias com *Endoactivator* e irrigação com sistema *Endovac*. Nos três tipos de irrigação foram utilizadas as soluções de hipoclorito de sódio a 2,5% e EDTA a 17%. Para o grupo controle, foi utilizado apenas solução salina. Sessenta caninos unirradiculares extraídos de humanos foram contaminados com cepas de *E. faecalis* por sete dias e divididos em quatro grupos experimentais de acordo com as irrigações. As amostras coletadas antes e após o preparo químico-mecânico foram cultivadas e as UFC foram contadas. A redução da população bacteriana foi altamente significativa em todos os grupos experimentais, não havendo diferença significativa entre os grupos.

2.2 Terapia fotodinâmica antimicrobiana em canais radiculares

Em 1941, foi relatado na literatura médica, pela primeira vez, o termo Terapia Fotodinâmica (*PDT-Photodynamic Therapy*) sendo definida como uma reação entre fotossensibilizadores e luz, gerando efeito citotóxico através de reações oxidativas. Nessa terapia, um agente químico (corante) é utilizado e ativado por luz (sensitização) causando morte celular, principalmente, por apoptose. (Ackroyd *et al.*, 2001; Alfenas *et al.*, 2011; Fan *et al.*, 1996; Lee *et al.*, 2004; Machado, 2000; Wainwright, 1998).

Assim, a terapia fotodinâmica é um processo fotoquímico onde a excitação eletrônica do sensibilizador provoca dois mecanismos: tipo I – transferência de elétrons - e tipo II – transferência de energia. No mecanismo tipo I, há a formação de produtos oxidados e ocorre em cerca de 5% da reação. Nos outros 95%, ocorre o mecanismo tipo II, mais desejável e responsável pela apoptose que, diferentemente

da necrose, não provoca injúria aos tecidos adjacentes. Na apoptose, a célula tem uma morte programada com encolhimento da mesma e formação de vesículas (corpos apoptóticos) que são fagocitados por macrófagos posteriormente. Como não há lise celular, não há extravasamento do conteúdo citoplasmático, evitando assim, lesão tecidual. Isso torna a PDT uma terapia eficaz e segura (Gad et al., 2004; Kristiansen e Amaral, 1997; Kübler et al., 1998).

O conceito da Terapia Fotodinâmica foi instituído por Oscar Raab (1900), que publicou o primeiro artigo, após observar que baixas concentrações do corante de acridina, associadas à presença de luz, eram letais aos protozoários causadores de malária. Isso deveu-se ao fato da transferência de energia da luz para o corante.

Tappeiner e Jesionek, em 1903, fizeram pela primeira vez na Medicina, a aplicação tópica de corante eosina associado à exposição de luz para tratamento de câncer de pele.

Von Tappeiner (1907) denominou a associação de corante com exposição de luz de ação fotodinâmica.

Wilson, Dobson, Harvey (1992) ao verificarem que as espécies bacterianas não apresentam fotossensibilizadores, preconizaram a utilização de composto que pudesse atrair a luz e formasse radicais livres. Porém, concluíram que a habilidade de um componente absorver luz, não significa necessariamente que ele possa atuar como fotossensibilizador. Para produzir efeito antimicrobiano, os fotossensibilizadores devem apresentar picos de absorção próximos ao comprimento de onda da luz utilizada e não devem apresentar toxicidade ao hospedeiro.

Wilson et al. (1993) concluíram que células desprovidas de componentes fotossensíveis endógenos podem reverter o quadro tornando-se sensíveis à luz quando coradas com substâncias como o azul de toluidina, azul de metileno, eosina e hematoporfirinas.

Além do azul de toluidina e azul de metileno, outros corantes fotossensibilizadores vêm sendo utilizados na PDT com objetivo de eliminação microbiana intracanal. Moritz et al. (1997) verificaram que a radiação do *laser* de diodo (660 nm) em canais radiculares infectados por *E. coli* e *E. faecalis* demonstrou potente efeito bactericida. Apenas cinco, entre as 44 amostras infectadas, exibiram crescimento bacteriano positivo após a radiação. O parâmetro de radiação mais

efetivo na redução microbiana tinha potência em 4 mW e taxa de repetição de 0,01 e 0,02 segundos.

Walsh (1997) relatou que o *laser* de baixa intensidade, quando utilizado para eliminação de bactérias causadoras de infecção endodôntica, não é letal a essas bactérias, mas por meio da ativação do corante fotoquímico, ocorre liberação de oxigênio singlete, capaz de causar injúrias na membrana e no material genético dos micro-organismos, bem como naqueles resistentes à atividade antimicrobiana. Além disso, relatou também que a PDT não promove resistência bacteriana, bem como efeitos térmicos deletérios aos tecidos adjacentes saudáveis.

Segundo Schackley et al. (1999), o princípio da terapia fotodinâmica exige a presença de fotoativação química por luz dotada de comprimento de onda adequado, associado a oxigênio, uma vez que a energia absorvida pelo corante é transferida à molécula de oxigênio, dando origem a reação oxidativa. Como o oxigênio reage com qualquer macromolécula, qualquer célula pode ser alvo da PDT. Os corantes fotossensíveis mais utilizados são o azul de toluidina e azul de metileno, que são fotossensibilizadores sintéticos. Cada corante fotossensibilizador possui um espectro de ação de luz sobre um comprimento de onda de máxima absorção.

Gutknecht et al. (2000) através de 102 cortes longitudinais de dentina bovina de 100, 300 e 500 μm , avaliaram o efeito antibacteriano em profundidade do *laser* diodo em canais radiculares. Para isso, os fragmentos foram esterilizados e em seguida, em um dos lados, foram inoculados com 5 ml de suspensão de *E. faecalis*. Quatro cortes de cada espessura, foram selecionados para grupo controle e não receberam a radiação, os demais cortes receberam a radiação *laser*, que foi aplicada do lado oposto da lâmina, onde foram inoculadas as bactérias, através de *laser* diodo, emissão contínua, comprimento de onda de 980 nm e auxílio de fibra óptica de 200 μm por um período de 30 segundos. Por meio de vibração, as bactérias foram removidas das lâminas para então, serem cultivadas, plaqueadas e contadas em ágar sangue de ovelha. Os resultados obtidos nos cortes radiados foram então comparados aos resultados encontrados no grupo controle. Os resultados demonstraram que no corte de 100 μm , o *laser* de diodo de 980 nm alcançou redução máxima bacteriana de 95%; com uma espessura de corte de 300 μm , um máximo de 77% das bactérias foi destruída e a redução máxima bacteriana com uma espessura de corte de 500 μm foi de 57%. Concluíram que a radiação com *laser* diodo reduziu o número de bactérias em camadas profundas da parede

dentinária, sendo assim capaz de aumentar a taxa de sucesso na terapia endodôntica

Garcez (2002) avaliou o potencial de redução bacteriana intracanal comparando a PDT com o controle químico. Para isso, utilizou o *laser* de Arseneto, de Gálio e Alumínio atuando em comprimento de onda de 685 nm, potência de 10 mW, acoplado à fibra óptica de 365 µm e corante azuleno 25% associado ao Endo-PTC. Trinta dentes tiveram seus canais radiculares instrumentados e em seguida, foram contaminados com *E. faecalis*. Dez dentes receberam a substância química hipoclorito de sódio a 0,5% por 30 minutos; dez dentes receberam uma pasta a base do corante azuleno por 5 minutos e radiação com *laser* de diodo; dez dentes não receberam tratamento. As coletas microbiológicas foram realizadas através de pinça clínica e cones de papel, que foram mantidos no interior do canal por um minuto. Através do meio de cultura BHI, foi realizada a contagem de UFC após período de 24 horas. Os resultados demonstraram que houve redução bacteriana significativamente mais alta no grupo de aplicação de laser quando comparada ao grupo tratado com o hipoclorito de sódio a 0,5% e o grupo sem tratamento. O autor constatou redução bacteriana significativa na utilização da técnica, considerando o método efetivo na utilização intracanal.

Wilson (2004) verificou o efeito antimicrobiano do *laser* He-Ne (Hélio-Neônio) utilizando-se o fotossensibilizador azul de toluidina na concentração de 100 µg/mL. Para isso, utilizou dentes contaminados por *P. Gingivalis* e *Streptococcus intermedius* e energia do *laser* de 21 J. Após análise dos resultados, concluiu que o laser de He-Ne, além de promover efeito antimicrobiano através da redução em até 50% da atividade proteolítica induzida pela endotoxina lipopolissacarídeo (LPS) de *P. gingivalis*, promoveu uma redução de 5 log do *S. intermedius*.

Gonçalves (2005) relatou que a eliminação de micro-organismos por meio da PDT está relacionada com a ativação do corante depositado no organismo alvo que, após sensibilizado, transforma oxigênio molecular em oxigênio singlete que é citotóxico. Durante esse processo, componentes celulares fotossensíveis passam para um estado excitado quando exposto à luz de comprimento de onda complementar que é caracterizado pela passagem de elétrons para níveis de energia superiores. Neste estado excitado, o fotossensibilizador pode interagir com o oxigênio molecular iniciando a formação do oxigênio singlete altamente reativo (fotoproceto tipo II) ou interagir com outras moléculas como aceptores de elétrons

resultando na produção de hidroxilas e outros radicais orgânicos (fotoproceto tipo I). Os produtos gerados nessas reações podem promover diversos danos nos componentes da célula microbiana.

Wilson et al. (2005) compararam a morte celular bacteriana quando da utilização de antimicrobianos e quando da utilização de *laser* e verificaram que a terapia fotodinâmica atua de forma mais rápida na morte celular bacteriana e, como o corante permanece por um curto período de tempo, o aparecimento de cepas resistentes é menos provável.

Em geral, o processo da PDT causa danos na via oxidativa, na membrana plasmática e material genético da célula microbiana, mas não são tóxicos às células do hospedeiro (ZANIN et al., 2006).

Bergmans et al. (2006) avaliaram o efeito bactericida do *laser* de Neodímio: Ítrio, Arsênio, Gálio (Nd:YAG) (energia: 100 J, potência: 1,5 mW, frequência: 15 Hz, quatro aplicações por 5 segundos e fibra de 300 µm de diâmetro) em canais preparados e irrigados com EDTA a 17% por 2 minutos. Após a radiação intracanal, observaram que houve uma redução significativa do *E. faecalis* (99,7%) e uma pequena destruição em profundidade nas áreas radiadas que entraram em contato com a fibra. Concluíram que o *laser* não pode ser considerado uma alternativa, mas um possível suplemento aos protocolos de desinfecção, pois a aplicação do *laser* possui um efeito aproximado de 1 mm em profundidade na dentina.

Souza (2008) verificou, *in vitro*, o grau de desinfecção em profundidade na dentina provocado pelo uso de radiação *laser* diodo, após preparo químico-cirúrgico e inoculação com *E. faecalis* por quatro semanas, em trinta raízes de dentes humanos unirradiculares. As raízes foram divididas em três grupos. Grupo 1: radiação com *laser* de diodo com comprimento de onda 830 nm, na potência de 3 mW por 5 segundos e quatro repetições; Grupo 2, substância química sem radiação e o Grupo 3 (controle), apenas irrigação com 20 mL de solução fisiológica estéril. Os resultados mostraram uma redução de 100% da microbiota provocada no Grupo 1 e de 98,39% no Grupo 2, ambas em relação ao Grupo 3. Concluiu que a radiação do *laser* diodo, nos parâmetros e amostras testadas, foi eficaz na redução da contaminação em profundidade da dentina radicular frente ao *E. faecalis*.

Fimple et al. (2008) analisaram a resposta da PDT sobre o biofilme de cinco espécies bacterianas. Cento e vinte dentes unirradiculares extraídos de humanos, sensibilizados com azul de metileno foram contaminados com as seguintes espécies

A. israelii, *F. nucleatum*, *P. gingivalis* e *P. intermedia*. A radiação foi realizada com *laser* diodo em uma potência de 1 mW e comprimento de onda de 665 nm. O sistema foi acoplado em fibra óptica de polimetilmetacrilato com diâmetro de 250 µm, distribuindo a luz de forma a atingir 360 graus das paredes. Três unidades da amostra foram analisadas em MEV para confirmação da infecção, e as demais tiveram as culturas bacterianas contadas por meio de UFC e analisadas pela hibridização de DNA-DNA *checkerboard*. Concluíram que a PDT é um eficaz método na redução de micro-organismos presentes no interior do canal, quando associado à aplicação de azul de metileno como fotossensibilizador.

Xu et al. (2009) avaliaram, *in vitro*, o efeito sinérgico do azul de metileno e da luz vermelha em fibroblastos e osteoblastos humanos, utilizando os parâmetros similares aos aplicados durante a PDT para desinfecção endodôntica. Ambas as células foram sensibilizadas com 50 µg/mL de azul de metileno e em seguida, foram expostas à luz vermelha, com comprimento de onda de 665 nm por 5 minutos com radiação de 10, 20, e 40 mW. Após a PDT, as atividades mitocondriais das células foram avaliadas, bem como se após a PDT houve indução de apoptose por meio de exame “western blot”, utilizando anticorpos polimerase específicos. Os resultados obtidos revelaram que nenhum sinal de apoptose para nenhum dos dois tipos celulares foi observado, concluindo que a PDT é um método seguro para inativar patógenos endodônticos, sem no entanto, causar injúrias nas células adjacentes.

Garcez et al. (2010) avaliaram o efeito da PDT em pacientes com diagnóstico de necrose pulpar, portadores de micro-organismos resistentes à profilaxia antibiótica previamente instituída ao tratamento endodôntico. Trinta dentes anteriores de 21 pacientes portadores de lesão periapical receberam tratamento endodôntico convencional associado à antibioticoterapia. Amostras microbiológicas foram coletadas após acesso intracanal, terapia endodôntica convencional e PDT. Para a terapia fotodinâmica o protocolo utilizado foi: cloridrato de poliestireno como fotossensibilizador e *laser* diodo (P = 40 mW, tempo = 4 minutos, energia = 9,6 J). Todos os pacientes apresentaram pelo menos um micro-organismo resistente ao antibiótico. A terapia endodôntica convencional reduziu significativamente o número de espécies microbianas, porém, apenas três dentes se apresentaram livres de bactérias, enquanto que a combinação da terapia endodôntica com a PDT eliminou todas as espécies antibiótico-resistentes e todos os dentes apresentaram-se livres de bactérias. Concluíram que o uso da PDT associada à terapia endodôntica

convencional apresentou melhores resultados na redução microbiana e que a PDT é um eficiente método de tratamento para eliminar bactérias antibiótico-resistentes.

Souza et al. (2010) investigaram, *in vitro*, os efeitos antibacterianos da terapia fotodinâmica com azul de metileno (MB) ou azul de toluidina (TB) (ambas a 15 µg/mL) como um suplemento para a instrumentação e irrigação de canais radiculares experimentalmente contaminadas com 5 mL de *E. faecalis*. Setenta dentes monorradiculares extraídos de humanos tiveram os canais contaminados com cepa de *E. faecalis* por sete dias, dos quais dois dentes foram submetidos à análise com MEV para confirmação do padrão de instalação das cepas. Os 68 dentes foram então instrumentados com limas rotatórias de níquel-titânio e irrigados a cada troca de instrumento com hipoclorito de sódio a 2,5% ou com NaCl a 0,85%, de acordo com a distribuição aleatória em quatro grupos experimentais: G1: PDT com MB/irrigação com NaOCl a 2,5; G2: PDT com TB/irrigação com NaOCl a 2,5%; G3: PDT com MB/irrigação com NaCl a 0,85% e G4: PDT com TB / irrigação com NaCl 0,85%. Para a PDT, o fotossensibilizador, na concentração de 5 µg/ml, permaneceu no canal por 2 minutos antes da exposição à luz vermelha emitida a partir de um *laser* de diodo, durante 4 minutos, em movimentos em espiral. Amostras foram tomadas antes e após a instrumentação/PDT. Em seguida, foram semeadas em ágar mitis salivaris e as unidades formadoras de colônias contadas. Apesar do irrigante utilizado (NaOCl ou NaCl) durante a instrumentação reduzir significativamente as contagens bacterianas, o NaOCl foi significativamente mais eficaz do que o NaCl, e esta diferença persistiu após a PDT, independentemente do fotossensibilizador utilizado. Não foram observadas diferenças significativas entre os dois fotossensibilizadores. Concluíram que a PDT com MB ou TB reduziu a população bacteriana intracanal sem, no entanto, apresentar diferença significativa suplementar à instrumentação e irrigação convencional. Ajustes no protocolo da PDT podem ser necessários para aumentar a capacidade de prevenir a infecção bacteriana.

Carvalho et al. (2011) avaliaram a eficácia de algumas substâncias químicas na remoção do azul de metileno após a PDT. Quarenta dentes unirradiculares preparados endodonticamente foram preenchidos com azul de metileno 0,01% por um minuto e radiados com *laser* diodo, $\lambda = 660$ nm, $P = 40$ mW, $E = 9,6$ J, por 240 segundos. Os espécimes foram divididos em quatro grupos de acordo com a substância utilizada para remover o corante: G1- NaOCl 2,5%; G2- NaOCl e endo-

PTC; G3- álcool etílico 70%; G4- solução salina (controle). As coroas foram seccionadas e fixadas em estativa e fotografias foram tiradas antes, imediatamente depois da PDT e após a remoção do corante. As alterações cromáticas foram avaliadas usando o *software* Adobe Photoshop e valores foram determinados em quatro pontos fixos de cada coroa. Os grupos G1 e G2 foram eficazes em evitar o manchamento das coroas. Segundo os autores, protocolos devem ser aplicados após a PDT a fim de minimizar o manchamento dental.

Garcez et al. (2011) realizaram estudo utilizando o azul de metileno associado à PDT, na presença de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), para eliminar *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, e *Candida albicans*. Quando o H_2O_2 foi adicionado ao azul de metileno e associado ao *laser*, houve um aumento do efeito antimicrobiano, devido a uma alteração no tipo de oxigênio singleto gerado, bem como maior absorção de azul de metileno pela microbiota. Para certificar o mecanismo, a produção de oxigênio singleto foi investigada na presença e ausência de H_2O_2 . Observou-se que a produção de oxigênio singleto foi quase inibida quando as células de H_2O_2 não estavam presentes. Portanto, os autores concluíram que a combinação de um fotossensibilizador, como azul de metileno e H_2O_2 é uma abordagem interessante para melhorar a eficiência da PDT.

Ng et al. (2011) avaliaram em *ex vivo* a utilização da PDT com azul de metileno quanto ao seu potencial antimicrobiano. Cinquenta e dois dentes monorradiculares extraídos de humanos, portadores de polpa necrótica e lesão periapical visíveis em radiografia foram utilizados. Os dentes foram divididos em dois grupos de acordo com o uso ou não da PDT. Em ambos os grupos, os canais foram irrigados com hipoclorito de sódio a 6%, sendo que em metade deles foi aplicado o protocolo de PDT com azul de metileno na concentração de 50 $\mu\text{g/mL}$ sob *laser* diodo na potência e comprimento de onda de 665 nm, com fluência de energia a 30 J. Foi realizada pré-irradiação de 5 min e irradiação em duas etapas de 2,5 min com intervalo de 2,5 min entre elas. Duas coletas do conteúdo intracanal foram realizadas: uma no acesso ao SCR e a outra após o PQM e PDT (quando houve aplicação da última). Realizou-se a contagem de UFC e hibridização de DNA-DNA *checkerboard*, onde detectou-se 39 espécimes bacterianas. Concluíram que o tratamento endodôntico associado à terapia fotodinâmica se mostrou mais eficiente quanto à desinfecção dos canais radiculares.

Rodriguez et al. (2011) estudaram os efeitos da PDT em dentes extraídos de

humanos contaminados com biofilme bacteriano de *E. faecalis* utilizando o azul de metileno na concentração de 60 μM associado ao laser diodo com comprimento de onda de 660 nm, de duas marcas diferentes: Twin Laser MMOptics (São Carlos, SP, Brasil) e PhotonLaser II DMC (São Carlos, SP, Brasil). Ambos os lasers foram utilizados acoplados ou não à fibra óptica e ainda, aplicados em dentes com coroa e diretamente sobre o canal radicular, no acesso endodôntico. Os resultados mostraram redução de 99% para os grupos irradiados diretamente sobre o canal radicular; 85% para os grupos irradiados através da coroa e 99,99% para os grupos irradiados com fibra óptica, tanto diretamente sobre o canal radicular quanto através da coroa. Não houve diferença significativa quando compararam-se as marcas em nenhuma das situações. Os autores concluíram que o uso da fibra óptica aumenta significativamente a eficiência da PDT.

Silva *et al.* (2012) avaliaram *in vivo* a resposta do tecido periapical de dentes portadores de periodontite apical após tratamento endodôntico em sessão única, associado ou não a terapia fotodinâmica antimicrobiana. Sessenta canais radiculares de cães com periodontite experimental induzida foram instrumentados e distribuídos em quatro grupos, de acordo com a aplicação ou não de PDT e com a obturação ou não do canal: grupo A: PDT com obturação na mesma sessão (n = 20), com 10 $\mu\text{m}/\text{mL}$ do fotossensibilizador cloridrato de fenotiazida por 3 minutos e laser diodo (comprimento de onda = 660 nm, P = 60 mW) por 1 minuto; grupo B: PDT sem obturação (n = 10); grupo C: sem PDT e com obturação na mesma sessão (n = 20); grupo D: sem PDT e sem obturação (n = 10). Os dentes foram restaurados e os animais foram eutanaziados decorridos noventa dias. Secções na maxila e mandíbula foram coradas com hematoxilina-eosina e tricrômico de Mallory para serem examinadas em microscopia de luz, quanto à presença de tecido mineralizado apical recém-formado, infiltrado inflamatório periapical, espessura do ligamento periodontal apical e reabsorção do tecido mineralizado. Para análise quantitativa, foram avaliados o tamanho da lesão periapical e o número de células inflamatórias. Nos grupos tratados com PDT, a região periapical foi moderadamente ampliada com ausência de células inflamatórias e menores lesões periapicais. Embora não tenha sido alcançada a reparação da reabsorção radicular externa, a ausência de células inflamatórias na região periapical, nos grupos tratados com PDT, indica que essa pode ser uma terapia coadjuvante promissora para a limpeza e modelagem dos canais portadores de periodontite apical.

2.3 Alterações morfológicas da parede dos canais radiculares produzidas pelo laser

Hibst e Keller (1991) ao compararem a ação do *laser* de CO₂ e Er::YAG sobre a estrutura da dentina, concluíram que o *laser* de CO₂ causava fusão, carbonização e fissuras. Esses achados não eram observados quando se usava o *laser* Er::YAG.

Widgor et al. (1995) estudaram *in vitro* os efeitos do *laser* Er:YAG, Nd:YAG e de CO₂ sobre a dentina. Verificaram que o *laser* de alta potência Er::YAG causa limitados efeitos térmicos na dentina, sem carbonização ou zonas de necrose, apresentando menores danos.

Dederich et al. (1995) quantificaram os parâmetros necessários para promover a fusão da dentina radicular através do *laser* Nd:YAG. Dezoito dentes foram seccionados de forma transversal, em pequenos círculos que, em seguida, foram imersos em tinta preta da Índia. Decorridas 24 horas, os círculos foram irradiados com *laser* Nd:YAG com potência de G1: 5 mW, 0,1 s; G2: 90 mW, 0,1 s; G3: 4 mW 1 s; G4: 90 mW, 1 s. As amostras foram analisadas com MEV, onde verificaram rachaduras e fusão dentinária. Concluíram que tanto a potência, quanto o tempo de irradiação, são capazes de promover alterações morfológicas na dentina.

Anic, Tachibana e Masumoto (1996) avaliaram a permeabilidade, alterações morfológicas e mudanças de temperatura da superfície radicular após a utilização de três diferentes tipos de *laser*. Para isso, selecionaram 140 dentes unirradiculares de humanos, que foram instrumentados, irrigados com NaOCl a 5% entre as trocas de limas, receberam como irrigação final EDTA 14% por 2 minutos e em seguida, foram neutralizados com água destilada por 4 minutos. Posteriormente, foram divididos em três grupos experimentais, de acordo com o *laser* a ser aplicado: G1: Nd:YAG; G2: CO₂; G3: *laser* de argônio. Para análise da permeabilidade, os dentes tiveram seus forames apicais vedados com cera vermelha e em seguida, foram irrigados com seringa e agulha de insulina, com solução de azul de metileno a 1%, por 60 minutos. Secções longitudinais foram realizadas em cada amostra para que pudessem ser

feitas mensurações nos terços cervical, médio e apical através de estereomicroscópio. As alterações de temperatura, durante e após o tratamento com *laser*, foram mensuradas pelo sistema infravermelho “Thermal Image Computer System”, enquanto que as alterações morfológicas foram analisadas com MEV, após desidratação sequencial de álcool etílico absoluto e secagem com “Critical Point”. Magnificâncias de 35X e 3500X foram processadas e analisadas. Os autores concluíram que nas amostras em que a *smear layer* produzida durante a instrumentação foi removida pela aplicação do *laser*, a permeabilidade aumentou, enquanto que nas amostras onde a *smear layer* derreteu e obliterou os túbulos dentinários, a permeabilidade diminuiu. A maior elevação de temperatura foi constatada pela aplicação do *laser* de argônio, seguido pelo Nd:YAG e, por fim, o CO₂.

Israel et al. (1997) compararam usando MEV, os efeitos dos *lasers* de CO₂, Nd:YAG e Er:YAG sobre a superfície radicular de dentes extraídos e verificaram que o *laser* Nd:YAG e o de CO₂ produziram uma camada vitrificada e induziram alterações na superfície, tais como: cavitação, formação de glóbulos minerais derretidos e ressolidificados e carbonização da camada superficial do canal radicular, proporcionando a fusão dentinária, enquanto que o *laser* Er:YAG deixou canalículos dentinários abertos, promoveu a remoção de *smear layer* e expôs fibras colágenas, sem apresentar sinais de derretimento ou carbonização de superfície, num efeito que segundo os autores é semelhante à aplicação de ácido. Concluíram que o laser de alta potência, independente do tipo, causa alterações ultraestruturais nas estruturas dentinárias.

Tanji et al. (1997) analisaram a capacidade de remover a *smear layer* do *laser* Er:YAG no tecido dentinário, utilizando diferentes tipos de energia aplicadas em três grupos de estudo: G1: 8,64 J/ cm²; G2: 11,29 J/ cm²; e G3: 14,11 J/ cm². A análise por microscopia eletrônica de varredura, verificou que a menor energia utilizada revelou ausência de danos estruturais, derretimento ou rachaduras, no entanto, apenas a maior energia mostrou-se livre de *smear layer*, com os túbulos completamente desobstruídos.

Cussioli (1999) avaliaram, *in vitro*, o efeito da aplicação de *laser* Nd:YAG sobre a dentina, quanto à adesividade de diferentes cimentos obturadores. Para isso, quarenta dentes foram instrumentados utilizando-se soro fisiológico durante as trocas de instrumentos e em seguida, os dentes receberam a aplicação do *laser*. Os

cimentos foram espatulados conforme orientações do fabricante e foram depositados sobre a dentina, sendo: G1: cimento à base de óxido de zinco e eugenol; G2: cimento à base de resina epóxica. Os resultados demonstraram que no G1 não houve diferença estatística quando da utilização ou não do laser, enquanto que no G2 a adesividade se mostrou aumentada quando da utilização do *laser*.

Carvalho (1999) avaliou o selamento marginal apical das obturações de canais radiculares, realizadas após a utilização de EDTA ou após a radiação das paredes com dois diferentes tipos de *lasers*: G1: Nd:YAG (100 J, 15 Hz, 1,5 W) e Er:YAG (120 J, 10 Hz, 1,2 W). Os resultados demonstraram maiores infiltrações no grupo Er:YAG, seguido do grupo EDTA e, por fim, do grupo Nd:YAG.

Carvalho et al. (2000) avaliaram, *in vitro*, a permeabilidade dentinária do conduto radicular após a aplicação do *laser* Nd:YAG, com energia de 100 J, potência de 1,5 W e frequência de 15 Hz. Para isso, selecionaram cinquenta dentes monorradiculares, extraídos de humanos, que foram instrumentados e em seguida, divididos em dois grupos: G1: com aplicação de *laser*, e G2: sem aplicação de *laser*. Em seguida, os canais dos dois grupos foram obturados, imersos em recipiente contendo corante azul de metileno por 48 h, e analisados por microscopia óptica. Os autores constataram uma maior adaptação do material obturador à superfície radicular e maior infiltração do corante nos dentes que receberam a aplicação de *laser*.

Matsuoko et al. (2000) realizaram estudo para avaliar a limpeza e modelagem dos canais radiculares realizada apenas com *laser*, sem auxílio de qualquer tipo de lima ou substância química auxiliar. Cinquenta dentes monorradiculares de humanos foram selecionados e divididos em dois grupos: G1: dentes instrumentados com limas rotatórias Mtwo e irrigados com NaOCl; G2: dentes que receberam apenas a aplicação do *laser*, sem utilização de limas e de substâncias químicas auxiliares. Para a aplicação do *laser*, foi utilizado o seguinte protocolo: *laser* Er:YAG com 2 Hz e 170-230 mJ de energia, bem como uma fibra óptica acoplada ao *laser*. Concluíram que no grupo G2 não houve presença de remanescentes pulpares e que o tempo de preparo foi muito menor, quando comparado à instrumentação rotatória.

Pécora et al. (2000) avaliaram a permeabilidade dentinária dos dentes após a instrumentação do SCR, com ou sem utilização de *laser* de Er:YAG. Após instrumentação de cinquenta dentes e utilizando água destilada como solução irrigadora entre as trocas de instrumentos, os dentes foram divididos em dois

grupos: G1: que recebeu aplicação de *laser*; e G2: que não recebeu a aplicação do *laser*. Concluíram que a instrumentação e a aplicação do *laser* de Er:YAG apresentaram maior permeabilidade dentinária quando comparado aos dentes que não receberam aplicação de *laser*.

Pécora et al. (2001) avaliaram os efeitos do uso de *laser* Er:YAG e da substância EDTA sobre a adesividade de seis cimentos endodônticos às estruturas dentinárias. Selecionaram 99 molares humanos que foram aleatoriamente divididos em três grupos: G1: radiados com *laser* Er:YAG (2,25 w; 4 Hz, 200 mJ, 62 J); G2: irrigados com EDTA por 5 minutos; G3: grupo controle, que não recebeu nenhum tipo de tratamento. Os cimentos utilizados foram AH plus®, Top seal, Sealer 26, AH 26, Sealer plus e FillCanal. Os resultados demonstraram que houve aumento significativo na adesividade nos dentes que receberam *laser* e EDTA, quando comparados ao grupo controle. A adesividade do cimento endodôntico Sealer 26 às estruturas dentinárias, quando da aplicação do *laser*, foi significativamente superior ao grupo que recebeu irrigação com EDTA. Os demais cimentos endodônticos não demonstraram diferença significativa entre os grupos G1 e G2.

Ebihara et al. (2002) determinaram os efeitos de diferentes parâmetros de *laser* sobre a dentina radicular. Utilizaram o *laser* Er:YAG com 10 J/cm², 20 J/cm² e 30 J/cm² na frequência de 30 Hz, com ou sem spray de água. Concluíram que não houve acúmulo de debris nas superfícies irradiadas em nenhuma das condições radiadas. No entanto, derretimento, recristalização e túbulos dentinários abertos foram visualizados quando da utilização de três pulsos sem spray de água.

Brugnera Jr. et. al. (2003) avaliaram o efeito de diferentes *lasers* sobre a permeabilidade da dentina radicular quando da utilização de água destilada e NaOCl como soluções irrigantes. Trinta caninos superiores humanos foram divididos aleatoriamente em seis grupos, após terem sido instrumentados pela técnica “step-back”: G1: irrigação com água destilada; G2: irrigação com NaOCl 1%; G3: irrigação com água destilada associada a aplicação de *laser* Er:YAG (140 mJ, 15 Hz, 300 pulsos); G4: irrigação com NaOCl 1% e aplicação de *laser* Er:YAG; G5: irrigação com água destilada e aplicação de *laser* Nd:YAG (150 mJ, 15 Hz, 2,25 W); G6: irrigação com NaOCl 1% e aplicação de *laser* Nd:YAG. O movimento da aplicação do *laser* foi helicoidal do ápice até a porção cervical. Em seguida, os dentes foram imersos em solução de sulfato de cobre a 10%, por 30 minutos, secos com pontas de papel e imersos em solução de ácido rubeânico a 1%, que forma um composto

de cor que varia de azul escuro a preto, de acordo com a quantidade de íons cobre que penetraram no interior do dente. Na sequência, os dentes foram colocados em blocos de resina acrílica e seccionados no sentido transversal, em lâminas de 150 µm de espessura, para serem analisadas em microscópio óptico quanto ao grau de permeabilidade. Concluíram que a água destilada associada ao *laser* Er:YAG proporcionou maior permeabilidade dentinária, quando comparada aos demais grupos.

Santos et al. (2005) avaliaram as alterações morfológicas da dentina radicular após ser irradiada com *laser* Nd:YAG através de diferentes parâmetros e ângulos de incidência. Quarenta e oito caninos superiores extraídos de humanos tiveram suas coroas removidas na junção amelo-cementária, suas raízes instrumentadas, e divididos em quatro grupos, de acordo com o protocolo de radiação: G1: 1 W e 10 Hz; G2: 1 W e 20 Hz; G3: 3 W e 10 Hz; G4: 3 W e 20 Hz. Dois dentes de cada grupo foram seccionados em sentido longitudinal e o *laser* foi aplicado perpendicular ao canal. As demais aplicações de *laser* foram feitas com auxílio de fibra óptica acoplada à ponteira do *laser*, que foi movimentada de apical para cervical em movimentos de sentido horário, num intervalo de tempo de 1 minuto. Em seguida, todas as amostras foram fraturadas no sentido longitudinal e analisadas com MEV, com fotomicrografias do terço cervical, médio e apical, com magnificação de 200X e 1.500X. Os resultados demonstraram que o aumento da frequência e da potência, produziram mais alterações que caracterizam a aplicação de *laser*, tais como formações globulares, derretimento, ebulição e remoção de *smear layer*, permitindo melhor visualização de túbulos dentinários por MEV.

Marchesan et al. (2008) realizaram uma análise estrutural da dentina radicular irradiada com *laser* diodo 980 nm em diferentes parâmetros. Setenta e dois caninos superiores extraídos de humanos foram seccionados e seus canais instrumentados com sistema rotatório K3. Os dentes foram irrigados com 2 mL de água destilada entre as trocas de instrumentos e, como irrigação final, 10 ml de água destilada. Os dentes foram divididos aleatoriamente em cinco grupos (oito dentes em cada), de acordo com os parâmetros do *laser* diodo: G1: sem emissão de *laser* (controle); G2: 1,5 W modo contínuo; G3: 1,5 W/100 Hz; G4: 3 W modo contínuo; G5: 3 W/100Hz. O *laser* foi aplicado em movimentos helicoidais, paralelo à parede do canal, por 20 segundos. Os 32 dentes restantes foram seccionados longitudinalmente e a radiação do *laser* foi aplicada no sentido perpendicular, a 1 mm de distância focal,

com os mesmos parâmetros e tempo descritos para os demais dentes. Concluíram, após análise em MEV, que diferentes energias utilizadas não apresentam diferenças estatísticas nas alterações morfológicas, porém, diferentes métodos de aplicações do *laser*, causam modificações variadas na fusão dentinária e na remoção de *smear layer*, sendo que a aplicação perpendicular, em todos os parâmetros, se mostrou mais eficaz do que a aplicação em paralelo.

Marchesan et al. (2008) avaliaram o efeito do *laser* diodo na permeabilidade do canal radicular após o tratamento da dentina com diferentes soluções químicas. Setenta e cinco dentes caninos extraídos de humanos foram seccionados a 15 mm do ápice e, em seguida, instrumentados pelo sistema rotatório K3. Como solução irrigadora foi utilizado 2 ml de água destilada e como irrigação final foram utilizadas as seguintes substâncias: G1: água destilada; G2: NaOCl a 1%; G3: EDTA a 17%. O *laser* foi aplicado com 1,5 W em ondas contínuas. Os dentes foram processados para análise histoquímica e o percentual de íons de cobre que penetraram na dentina foi contado. Quando o *laser* foi associado à água destilada, houve um aumento da permeabilidade, enquanto que na associação com EDTA, houve decréscimo.

Toro et al. (2012) avaliaram o uso do *laser* Er:YAG na remoção de dentina desmineralizada e sua influência na permeabilidade dentinária. Para isso, selecionaram trinta fragmentos de dente humano, que foram imersos em solução desmineralizadora por vinte dias e em seguida foram divididos nos seguintes grupos: G1: *laser* Er:YAG (200 mJ, 6 Hz; por 12 minutos); G2: broca; e G3: cureta. Os fragmentos foram imersos em solução de sulfato de cobre para serem analisados em microscopia óptica, para mensuração do nível de cobre infiltrado. Concluíram que não houve diferença estatística quanto à remoção de tecido desmineralizado. No entanto, o grupo que recebeu a aplicação de *laser* apresentou maior permeabilidade que os demais grupos.

3 PROPOSIÇÃO

Este estudo se propôs a avaliar qualitativa e quantitativamente as alterações morfológicas e a permeabilidade dos túbulos dentinários na superfície da dentina radicular após utilização da terapia fotodinâmica com laser de diodo de 660 nm em associação com o preparo químico-mecânico do sistema de canais radiculares.

4 METODOLOGIA

4.1 Seleção e preparo da amostra

Para atender às normas e diretrizes da Resolução número 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, o presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Juiz de Fora, através da Plataforma Brasil sob o número 231.326 (Anexo).

Quarenta dentes monorradiculares extraídos de humanos foram selecionados do banco de dentes da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), após exame radiográfico no sentido méso-distal, através de sensor digital, do sistema de radiografia digital direta Visualix eHD (Gendex, Des Plaines, EUA). Nesse exame, como critério de inclusão, os dentes apresentaram canal único sem qualquer tipo de intervenção endodôntica, bem como ausência de qualquer sinal de calcificação ou reabsorção.

Todos os dentes tiveram as coroas removidas ao nível da junção amelo-cementária vestibular, através de disco de carborundo montados em micro-motor de baixa rotação (Figura 1 e Figura 2).



Figura 1: Demarcação da junção amelo-cementária vestibular com auxílio de lápis.



Figura 2: Secção da coroa com auxílio de disco de carborundo montado em micro-motor.

O comprimento de trabalho (CT) foi estabelecido introduzindo-se uma lima K#10 (Flexofile Dentsply/Maillefer S.A., Petrópolis, Rio de Janeiro, Brasil) no interior do canal até que sua ponta pudesse ser vista no forame apical. Esse procedimento foi realizado com auxílio de uma lupa com aumento de dez vezes. O cursor da lima foi então tocado na borda do dente e o instrumento removido do canal. A distância da ponta do instrumento ao cursor foi medida com régua milimetrada e, da medida obtida, foi subtraído 1 mm, obtendo assim o comprimento de trabalho de cada dente.

Na sequência, os dentes foram instrumentados por um único operador, especialista em Endodontia, através de instrumentação rotatória utilizando limas de níquel-titânio Protaper (Dentsply/Maillefer S.A., Ballaigues, Suíça), através da técnica “free tip preparation” (PÉCORA et al., 2003), sendo utilizado um conjunto novo de limas para cada oito dentes. A velocidade de instrumentação utilizada foi de 300 rpm e o torque de 4,5 N/cm², produzida por motor elétrico X-Smart (Dentsply/Maillefer S. A., Ballaigues, Suíça), que foram mantidos constantes para todas as limas. Foram utilizadas de forma sequencial as limas SX, S1, S2, F1 e F2, sendo as quatro últimas levadas até o CT. A lima F3 não foi utilizada em nenhum dos dentes com intuito de evitar fratura do instrumento nos canais atrésicos.

Todo o procedimento de instrumentação dos canais foi realizado em presença de soluções químicas auxiliares. Para irrigação, foi utilizada a solução de hipoclorito de sódio na concentração de 5,25%, em seringa tipo Luer de 5 ml equipada com *Capillary tip* (cor azul). As pontas foram inseridas o mais profundamente possível no interior do canal. A cada troca de instrumento utilizado no interior do canal, 5 ml da substância irrigadora foi injetada com a seringa acima descrita e aspirada através de cânula de sucção, num tempo, de aproximadamente, 30 segundos.

Ao final da instrumentação, o canal foi irrigado com 5 ml da solução de EDTA a 17% e pH 7,5, permanecendo no interior do canal por um período de 5 minutos. Em seguida, foi realizada a neutralização do quelante, através da lavagem com 10 ml de água destilada. A secagem do canal foi realizada com pontas de papel absorventes F2 (Protaper Point – Dentsply/ Maillefer S.A., Petrópolis, Rio de Janeiro, Brasil).

Em seguida, os dentes foram impermeabilizados externamente com duas camadas de verniz de unha, através de pincel, em toda a extensão radicular, com exceção da embocadura do canal, na cervical. O intervalo de tempo entre uma aplicação e outra foi de 30 minutos (GARCEZ et al., 2007).

Após todos os procedimentos descritos, os quarenta dentes foram divididos aleatoriamente em dois grupos experimentais, com vinte dentes cada:

Grupo 1: dentes que foram submetidos apenas à instrumentação e irrigação com hipoclorito de sódio a 5,25% e solução final irrigadora de EDTA a 17%.

Grupo 2: dentes que foram submetidos à instrumentação e irrigação com hipoclorito de sódio a 5,25%, solução final irrigadora de EDTA a 17% e, em seguida, receberam aplicação de *laser* de baixa intensidade.

4.2 Aplicação de laser de baixa intensidade

Para a aplicação do laser de baixa intensidade, os dentes do G2, tiveram seus canais preenchidos, através de seringa de insulina de 0.33 cc, com azul de toluidina (TBO) 6 µg/mL (Fórmula & Ação, São Paulo, Brasil), durante um período de 5 minutos (SOUKOS et al., 2006) (Figura 3).

O *laser* de diodo AsGaAl (Arsênio, Gálio, Alumínio), de baixa intensidade, modelo *Photon Lase III* (DMC Equipamentos Ltda., São Carlos, SP, Brasil) foi utilizado em emissão contínua, na faixa espectral do vermelho, com comprimento de onda de 660 nm, em uma banda de aproximadamente 10 nm, potência de 100 mW e energia de 12 J, por um período de tempo de 5 minutos. (PRATES et al., 2007). Um sistema de fibra óptica foi acoplado à ponta da caneta do *laser*.

A fibra óptica de 400 µm foi introduzida no canal radicular até o CT e, em seguida, o *laser* foi irradiado. Neste período, a fibra óptica foi deslocada lentamente até a borda cervical, em contato com a face vestibular. A seguir, a operação repetiu-se de modo que a fibra entrasse em contato com a parede palatina, depois com a mesial e por fim, com a distal (Figura 4).



Figura 3: Preenchimento dos canais com azul de toluidina.

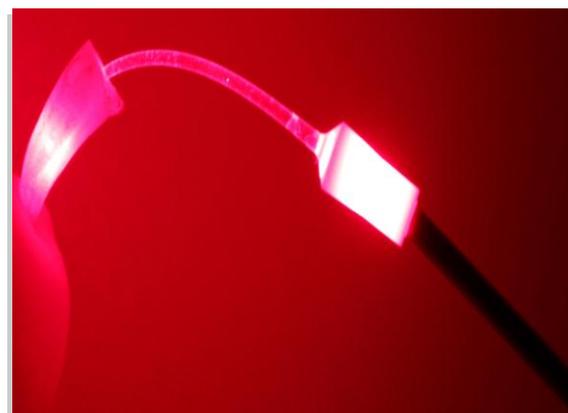


Figura 4: Fibra óptica acoplada à ponta da caneta do *laser*.

Uma vez preparados, os dentes foram submetidos às seguintes análises: alterações morfológicas através de microscopia eletrônica de varredura e percentual de infiltração apical.

4.3 Alterações morfológicas da dentina radicular

A microscopia eletrônica de varredura foi realizada no Núcleo de Microscopia e Microanálise-NMM da Universidade Federal de Viçosa.

Dez dentes de cada grupo foram selecionados aleatoriamente. Canaletas foram confeccionadas através de disco de carborundo, no sentido longitudinal da raiz, até as proximidades do canal, e usando-se cinzel e martelo, sob uma base com plano inclinado, os dentes foram clivados em dois fragmentos (Figura 5 e Figura 6).



Figura 5: Base com plano inclinado para clivar o dente.



Figura 6: Dente clivado em dois fragmentos.

Cada um dos fragmentos das raízes foi fixado, através de fita adesiva, em pequenas bases de metal “stubs” com 1 cm de altura e 0,9 cm de diâmetro, de modo que a face do conduto radicular ficasse voltada para o operador.

Procedeu-se a metalização em metalizadora (Balzers-FDU 010), a qual recobriu os dentes com uma camada de ouro de 20 nm de espessura.

Através do microscópio eletrônico de varredura (MEV), modelo JEOL JSM-T220 A, operando com 15 kV, fotomicrografias foram feitas, com magnificação de 500X e 3000X. Uma tela contendo um quadrado central de 20 x 20 cm foi colocada sobre o monitor do computador do MEV, de modo a determinar a área da fotografia a ser submetida à análise. Isso permitiu que o terço apical de cada amostra pudesse ser observado de forma padronizada, através do *software* “Meazure. v.2.0.build.158”, sem indução da área a ser selecionada.

Para análise dos fragmentos, dois pesquisadores especialistas em foram previamente calibrados, através de imagens as quais apresentavam padrões característicos para cada alteração morfológica. Para calibragem, as imagens foram avaliadas individualmente, em horários e dias alternados (três vezes ao dia, por três dias) e após em conjunto, permitindo dessa maneira estabelecer um padrão de observação sobre as alterações morfológicas a serem ranqueadas.

Cada um dos fragmentos foi analisado, e em seguida, escores diferentes foram atribuídos segundo às alterações morfológicas identificadas:

- 1- Presença de debris: nenhuma (0); baixa (1); média (2); alta (3).
- 2- Presença túbulos dentinários abertos: nenhuma (0); baixa (1); média (2); alta (3).
- 3- Erosões nos túbulos dentinários: ausente (0); presente (1).
- 4- *Cracks* (fraturas) nos túbulos dentinários: ausente (0); presente (1).
- 5- Carbonização dos túbulos dentinários: ausente (0); presente (1).
- 6- Demais alterações: ausente (0); presente (1).

4.4 Avaliação da permeabilidade da dentina radicular

Dez dentes de cada grupo foram obturados por meio da técnica híbrida de *Tagger*, utilizando-se cone de guta-percha F2 (Protapper – Dentsply/Maillerfer S.A. Ballaigues, Suíça) e cimento endodôntico (Endofill). Foi estabelecido o calibre #50 para o condensador de guta-percha a ser utilizado, através do acionamento de micro-motor de baixa rotação, por 7 segundos.

Após a obturação, a cervical dos dentes foi impermeabilizada, utilizando o mesmo procedimento realizado para impermeabilização externa do dente.

Os dentes foram imersos em solução de Rodamina B a 0,5% (Laboratório Synth-São Paulo, SP, Brasil) por 48 horas a 37°C, através de cuba ultrassônica. Em seguida, procedeu-se a irrigação com água destilada, quando, então, foram secos com cones de papel absorventes calibre F2.

As raízes foram seccionadas longitudinalmente, pela técnica já descrita anteriormente e em seguida, o material obturador foi removido, de ambos os fragmentos, com auxílio de pinça clínica.

Através de uma câmera fotográfica (Canon T3i) acoplada em uma estativa, os fragmentos, posicionados sobre uma folha quadriculada, foram fotografados. Utilizou-se uma distância focal fixa de 40 cm.

Através da ferramenta de morfometria computadorizada do *software* “Image J”, as fotografias foram analisadas, no Laboratório de Tecnologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, e realizadas as seguintes mensurações:

- 1- área total de dentina radicular;
- 2- área de dentina radicular impregnada pelo corante.

A partir destas medidas obtidas, calculou-se o percentual de infiltração através da divisão do valor da área de dentina corada (2) pela área total de dentina (1) (MELLO et al., 2006).

4.5 Análise Estatística

Os dados qualitativos referentes ao *score* atribuído às alterações morfológicas foram avaliados pelo teste do qui-quadrado. Já os dados relativos ao percentual de infiltração apical foram submetidos ao teste T de Student para amostras independentes, comparando-se os grupos controle e dentes que receberam aplicação de *laser* de baixa intensidade.

Ambos os testes foram executados no *software* R (R CORE TEAM, 2013), ao nível de 5% de significância.

5- RESULTADOS

5.1 Alterações morfológicas

A ocorrência de debris nos dentes que receberam aplicação de *laser* de baixa intensidade e controle foi significativamente diferente ($\chi^2 = 27$; $p < 0,0001$). Verifica-se maior presença de debris nos dentes do grupo controle (Tabela. 1; Figuras 7 e 8).

Tabela 1. Score relativo à ocorrência de debris nos dentes dos grupos controle (G1) e dentes que receberam aplicação de *laser* de baixa intensidade (G2).

Ocorrência de Debris	Score			
	0	1	2	3
G1	0	3	2	5
G2	4	6	0	0

Com relação à presença de túbulos dentinários abertos, também verificou-se que os valores observados foram significativamente diferentes ($\chi^2 = 60$; $p < 0,0001$), indicando que o dentes que receberam aplicação de *laser* de baixa intensidade promoveu maior ocorrência de túbulos dentinários abertos (Tabela 2; Figuras 7 e 8).

Tabela 2. Score relativo à ocorrência de túbulos dentinários abertos nos dentes dos grupos controle (G1) e dentes que receberam aplicação de *laser* de baixa intensidade (G2).

Ocorrência de túbulos dentinários abertos	Score			
	0	1	2	3
G1	4	4	2	0
G2	0	0	1	9

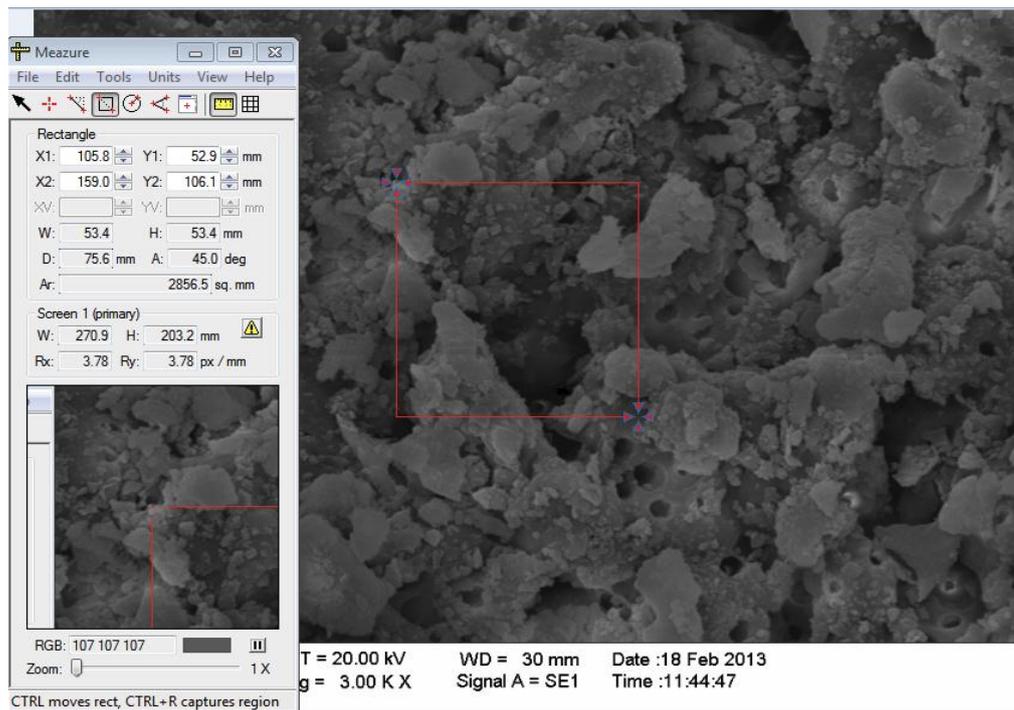


Figura 7: Fotomicrografia da superfície da dentina radicular do grupo controle demonstrando a presença de debris e poucos túbulos dentinários abertos.

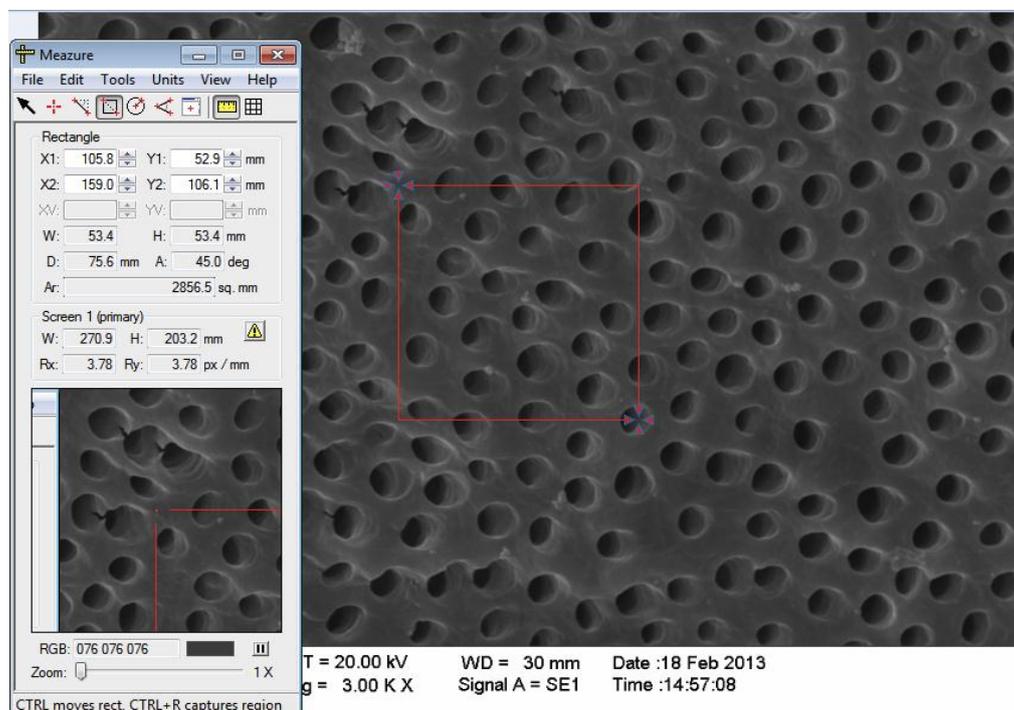


Figura 8: Fotomicrografia da superfície da dentina radicular do grupo que recebeu aplicação de *laser* de baixa intensidade demonstrando a ausência de debris e túbulos dentinários abertos.

Com relação à presença de erosões e de *cracks*, observou-se que não houve diferença significativa entre os grupos (Tabela 3; Figuras 9, 10, 11, 12). Também não foram observadas áreas de carbonização ou qualquer outro tipo de alteração morfológica em ambos os grupos.

Tabela 3. Presença e ausência de erosões e cracks nos dentes dos grupos controle (G1) e tratado com laser (G2).

	erosões		<i>Cracks</i>	
	presente	ausente	presente	ausente
G1	3	7	2	8
G2	3	7	3	7

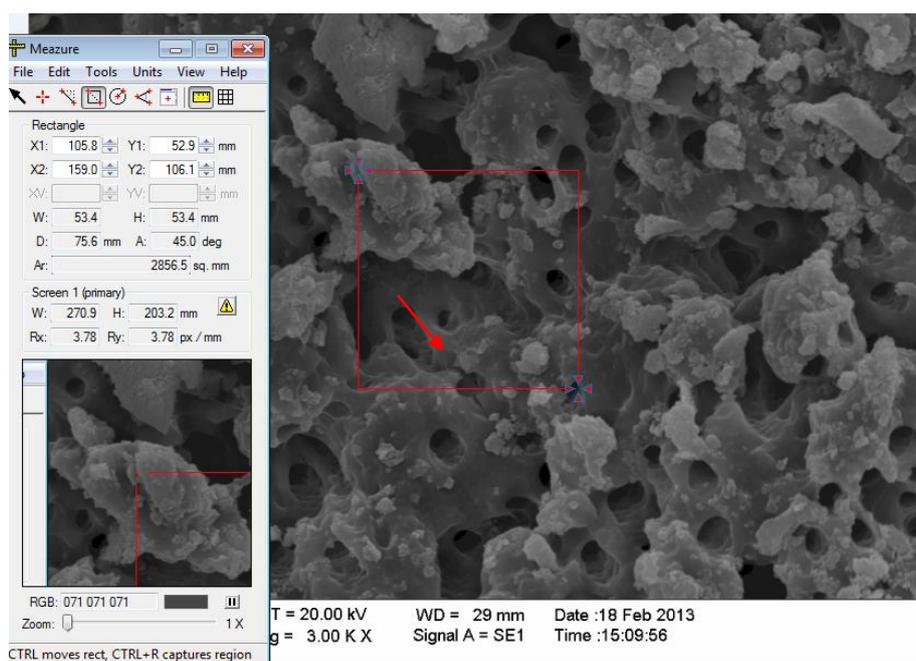


Figura 9: Fotomicrografia da superfície da dentina radicular do grupo controle demonstrando a presença de *crack* (seta).

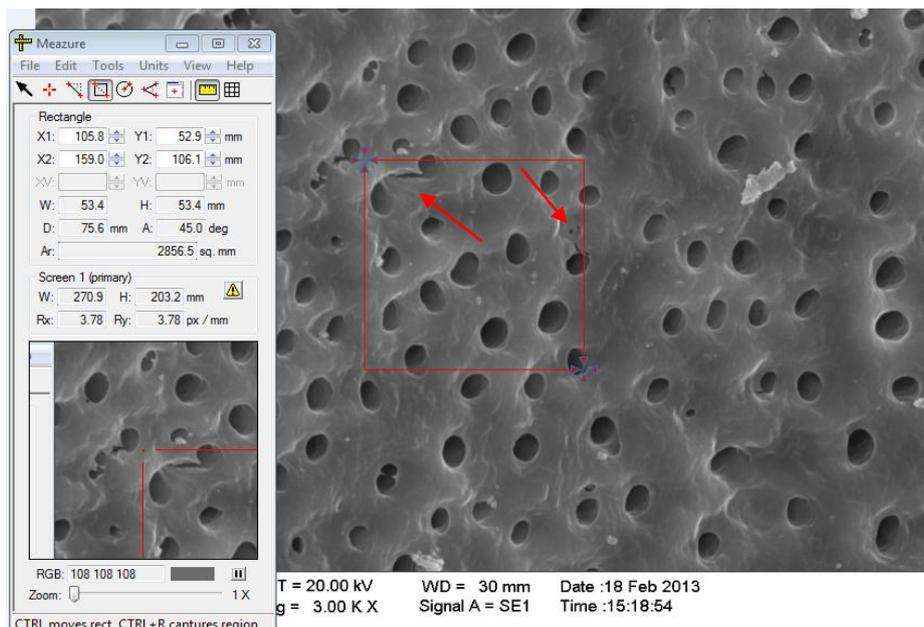


Figura 10: Fotomicrografia da superfície da dentina radicular do grupo que recebeu aplicação de *laser* de baixa intensidade demonstrando a presença de *crack* (setas).

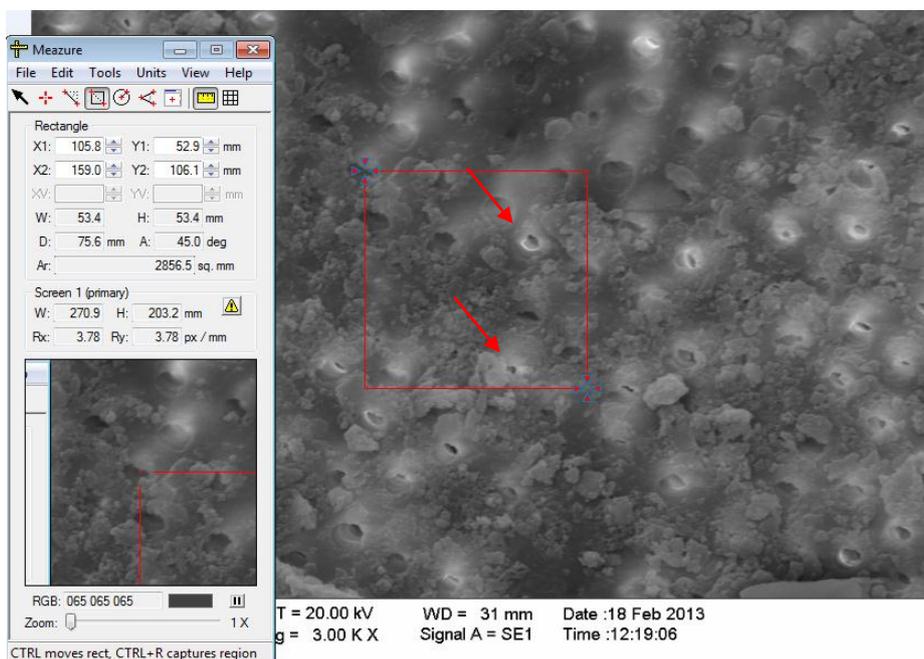


Figura 11: Fotomicrografia da superfície da dentina radicular do grupo controle demonstrando a presença de erosão (setas).

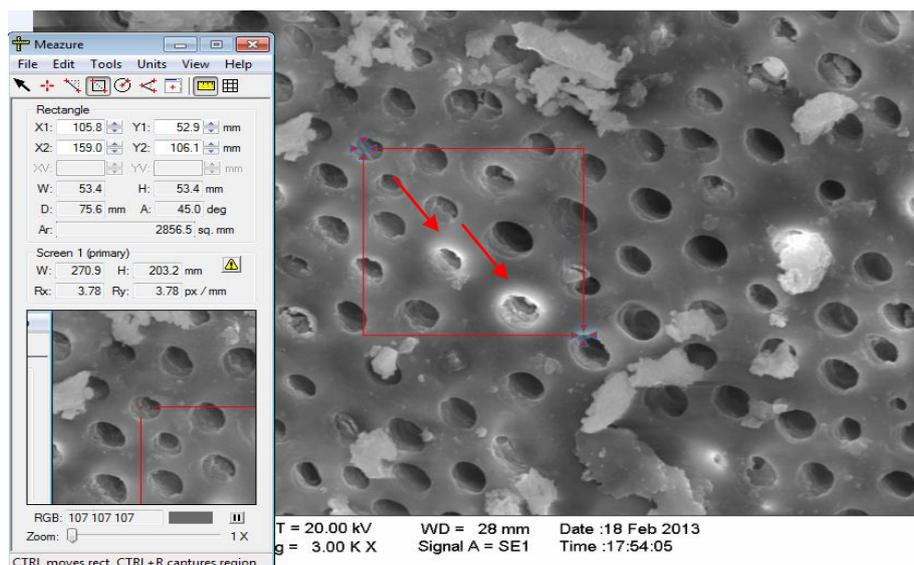


Figura 12: Fotomicrografia da superfície da dentina radicular do grupo que recebeu aplicação de *laser* de baixa intensidade demonstrando a presença de erosão (setas).

5.2 Permeabilidade da dentina radicular

Comparando-se os valores médios da proporção da área infiltrada, identificada através da presença de Rodamina B, pela área de dentina total, verificou-se que a área infiltrada do grupo de dentes que receberam aplicação de *laser* de baixa intensidade é significativamente maior do que nos dentes do grupo controle ($t = -6.9987$, $p < 0,001$) (Figura 13, 14, 15).

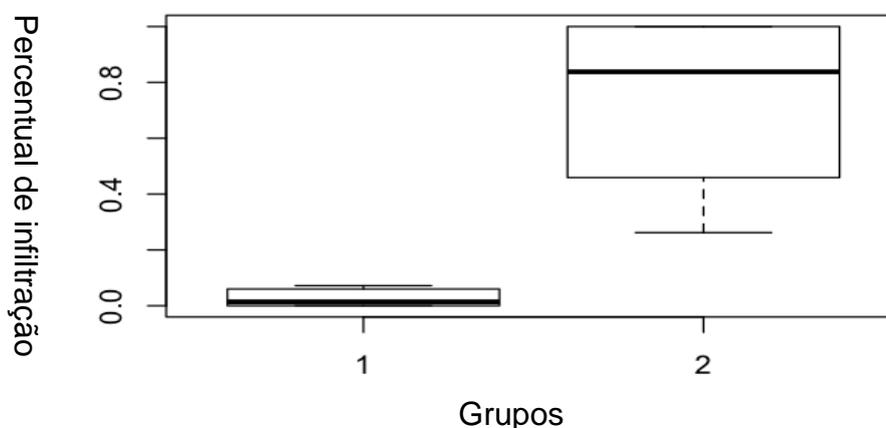


Figura 13. Gráfico apresentando média, desvio-padrão e amplitude da proporção da área infiltrada em relação a área de dentina total nos grupos 1 e 2.



Figura 14: Ausência de infiltração apical no grupo 1 (controle).



Figura 15: Infiltração apical no grupo 2 (dentes que receberam aplicação do *laser* de baixa intensidade).

6 DISCUSSÃO

Dados epidemiológicos têm apontado que 30% a 50% dos insucessos da terapia endodôntica convencional estão relacionados às infecções residuais e persistentes, as quais necessitam de estratégias suplementares para realizar a desinfecção (SILVA et al., 2012).

A terapia endodôntica convencional quando associada à laserterapia, tanto com laser de alta quanto de baixa intensidade, tem se mostrado eficaz na redução de micro-organismos (resistentes e formadores de biofilme bacteriano) presentes no interior do SCR, conforme demonstrado em alguns estudos *in vitro*, *in vivo* e *ex vivo* (FIMPLE et al., 2008; GARCEZ et al., 2010; WILSON, 2004).

No entanto, o *laser* de alta intensidade apresenta a desvantagem de seu efeito bactericida estar intimamente relacionado com a ação térmica desta luz, ou seja, o *laser* de alta potência tem a capacidade de gerar aumento de temperatura nos tecidos adjacentes, podendo causar injúrias ao ligamento periodontal, quando utilizado intracanal (ANIC, TACHIBANA e MASUMOTO, 1996).

Além disso, sabe-se também que o *laser* de alta intensidade, de acordo com o comprimento de onda utilizado e os elementos químicos constituintes, causa alterações morfológicas na dentina radicular, tais como criação de saliências, carbonizações, trincas, derretimento da dentina, fusão e remoção de *smear layer* (DEDERICH et al., 1995; HIBST e KELLER, 1991; ISRAEL et al., 1997; WINDGOR et al., 1995).

Com relação ao *laser* de baixa intensidade, poucas são as informações na literatura quanto às alterações morfológicas dentinárias produzidas quando do seu uso. Marchesan *et al.* (2008) demonstraram que utilizando-se o *laser* diodo com comprimento de onda de 980 nm, as alterações provocadas na estrutura dentinária, variaram de acordo com os parâmetros utilizados: nenhuma alteração, modificação da matrix orgânica, com conformação amorfa, túbulos dentinários visíveis e esparsas formações semelhantes à lava, com túbulos abertos.

No presente estudo, aplicando-se o *laser* diodo de 660 nm, o qual apresenta comprimento de onda menor do que o testado por Marchesan *et al.* (2008), foram visualizadas presença de *cracks* (fraturas) e erosões dos túbulos dentinários. No entanto, tais modificações morfológicas foram observadas na mesma frequência de

ocorrência nos dentes que não foram irradiados, indicando que estas alterações não devem ser associadas ao uso do *laser* neste comprimento de onda.

Também a ausência de áreas de carbonização, bem como outros tipos de alterações morfológicas (recristalização e resolidificação da superfície dentinária), constituem outro indicativo de que o *laser* de baixa intensidade não causa alterações morfológicas nas paredes radiculares, quando utilizado nestes parâmetros.

Tais achados podem ser justificados pelo fato de, contrariamente ao *laser* de alta intensidade, com comprimentos de onda mais elevados como os do Er:YAG e Cr:YSGG, que reagem com os tecidos dentinários mineirais, a radiação do *laser* de diodo ser mal absorvida por tecidos dentários mineralizados e, conseqüentemente, permitir a dispersão, propagação, ou a transmissão da luz *laser* de forma difusa através de dentina, sem, no entanto, causar alterações em sua composição (SCHOOP, 2004).

A microscopia eletrônica de varredura foi utilizada para verificar as mudanças estruturais da dentina irradiada por permitir uma avaliação quantitativa e qualitativa dos aspectos morfológicos, acorde estudos realizados por Anic, Tachibana, Matsumoto, 1996; Dederich et al., 1995; Fimple et al., 2008; Israel et al., 1997; Marchesan et al., 2008; Santos et al., 2005; Souza et al., 2010.

A PDT envolve três componentes: a luz, o fotossensibilizador e o oxigênio. Vários trabalhos realizados *in vitro* com micro-organismos utilizaram a fonte de luz laser como componente da terapia (FIMPLE et al., 2008; GARCEZ, 2002; GARCEZ et al., 2010; ISRAEL et al., 1997; MARCHESAN et al., 2008; SANTOS et al., 2005; SILVA et al., 2012; SOUZA et al., 2010). O presente trabalho também utilizou o *laser* como fonte de luz.

Os *lasers* de diodo são os mais empregados na PDT devido às suas propriedades tais como: ser monocromático, ter comprimento de onda específico, possuir emissão colimada; características essas que propiciam a interação fotobiológica (GARCEZ et al., 2007). Corroborando com a literatura, este estudo utilizou o *laser* de diodo, com meio ativo de AsGalAl, com comprimento de onda de 660 nm, pois através dessa emissão, a penetração dos fótons no tecido biológico é maior; além disso, pigmentos como melanina, hemoglobina e algumas proteínas são absorvidos em comprimentos de onda menores (400 a 600 nm) e a água possui absorção em comprimentos de onda maior (1200 a 3000 nm), assegurando assim a

seletividade da PDT pelos micro-organismos sem causar, no entanto, alterações nos tecidos adjacentes (XU et al., 2009).

A luz infravermelha é recomendada apenas para tecidos mais profundos como lesões ósseas ou bolsas periodontais, mas são raros os fotossensibilizantes que absorvem espectro de luz nesta região. Isso justifica a ampla literatura fazendo uso de laser com emissão vermelha durante a PDT (GARCEZ, 2002; SOUZA, 2008; FIMPLE et al. 2008; XU et al., 2009; GARCEZ et al., 2010; SOUZA et al., 2010; CARVALHO et al., 2011; GARCEZ et al., 2011; NG et al., 2011; SILVA et al., 2012).

Para radiação do *laser* dentro do canal radicular é recomendado o uso da fibra óptica de modo a garantir a distribuição da luz em 360°(FIMPLE et al., 2008). Também Garcez et al. (2002) e Rodriguez et al. (2011) preconizaram a utilização de fibra óptica em movimentos helicoidais, de apical para cervical e vice-versa, durante todo o processo da irradiação. No presente estudo, optamos pela utilização de fibra óptica de 400 µm acoplada à ponteira do *laser*, que foi deslocada de apical para cervical, tocando uma parede do canal de cada vez, com intuito de assegurar a distribuição correta da luz em todas as paredes do canal. Além disso, os movimentos da fibra óptica agitam o fotossensibilizador, garantindo a reoxigenação do meio, contribuindo dessa forma, para aumentar o oxigênio disponível à reação (GARCEZ, 2002).

Atualmente, vários fotossensibilizantes estão sendo empregados nos estudos da PDT, dentre os quais, destacam-se o azul de toluidina e azul de metileno (SCHACKLEY et al., 1999; SOUKOS et al., 2006).

A banda de absorção do azul de toluidina - fotossensibilizante utilizado neste estudo - está situada entre 620 nm a 700 nm, sendo seu pico de absorção em 660 nm, o que possibilitou a simulação da fotossensibilização bacteriana através da utilização de *laser* diodo de AsGaAl atuando com luz de espectro vermelho situado em banda de 660 nm estando de acordo com Garcez et al. (2007), que afirmaram que o fotossensibilizante deve absorver luz de comprimento de onda ressonante, ou seja, a banda de absorção do fotossensibilizante deve coincidir com a banda de emissão de luz.

Diversas são as concentrações do fotossensibilizador utilizado e do fotossensibilizadores em geral, que podem variar de 0,1 µg/ml a 200 µg/ml (BERGMANS et al., 2008; SOUZA et al., 2010; CARVALHO et al., 2011).

A concentração do fotossensibilizador recomendada para uso em PDT antimicrobiana é de 60 a 150 micromolares, o que corresponde a 6 µg/ml a 15 µg/ml, para se obter uma eficaz fotossensibilização dos micro-organismos (GARCEZ et al., 2011).

No presente estudo, utilizou-se o fotossensibilizante na concentração de 6 µg/ml, com intuito de simular a realidade clínica, pois nesta concentração, além de ser eficaz na fotossensibilização do micro-organismo, não proporciona manchamento das coroas dos dentes (CARVALHO et al., 2011), bem como, não gera o escudo óptico que ocorre em altas concentrações. Ao ser radiado pelo *laser*, o fotossensibilizante de alta concentração absorve quase toda a luz em suas camadas superficiais, impedindo sua ação em camadas mais profundas, reduzindo assim, a área de atuação da PDT (GARCEZ et al., 2011). Como o objetivo da utilização da PDT intracanal é eliminar micro-organismos presentes no SCR, principalmente em áreas não alcançadas pelo PQM, menores concentrações do corante, permitem a penetração do mesmo em regiões profundas, atingindo assim, o objetivo da PDT.

O tempo de pré-irradiação é aquele em que se deixa o fotossensibilizador em contato com o micro-organismo para que este possa penetrar ou, ao menos, se ligar à membrana plasmática e, conseqüentemente, aumentar os danos causados aos micro-organismos. O tempo mais utilizado nos trabalhos *in vitro* para pré-irradiação foi de 5 minutos, assim como foi utilizado neste estudo (GARCEZ et al., 2011; NG et al., 2011).

Estudos demonstram uma variabilidade no tempo de exposição ao *laser* que, por sua vez, pode variar desde 30 segundos (ZANIN et al., 2006) até 30 minutos (SOUKOS et al., 1996), sendo que o segundo tempo é demasiadamente elevado, para ser reproduzido durante a prática clínica (SOUZA, 2008; XU et al., 2009; GARCEZ et al., 2010). Como não há ainda um protocolo quanto aos parâmetros a serem utilizados durante a PDT e sabendo-se que a inativação dos micro-organismos é maior conforme a dose de energia é aumentada, no presente estudo, tanto o tempo quanto a energia utilizada foram calculados através da seguinte fórmula: $E = P \times T$ (E = energia em joule, P = potência em watt e T = tempo em segundo) segundo orientações do fabricante do *laser* diodo.

Para o preparo dos canais radiculares, optamos pela utilização da técnica de instrumentação rotatória pelo fato de produzir uma ampliação e modelagem do canal

de forma mais padronizada, além de reduzir o tempo despendido no PQM. Os valores de velocidade e torque foram estabelecidos pelo fabricante e mantidos constantes para todas as limas. A instrumentação complementada pela irrigação com hipoclorito de sódio 5,25% e irrigação final com EDTA 17%, pH 7,5, foram utilizadas com intuito de reproduzir a situação da prática clínica, o mais próximo possível da realidade.

Essa técnica corrobora com o estudo proposto por Retamozo et al. (2010), onde afirmaram ser necessárias altas concentrações e longos períodos de exposição ao NaOCl para eliminar-se bactérias resistentes. Por outro lado, Marchesan et al. (2008) realizaram a avaliação da PDT quando da instrumentação rotatória com sistema K3, concomitantemente ao uso de irrigação com água destilada.

A associação de NaOCl ao EDTA, apesar de não remover por completo a *smear layer* e debris, tem se mostrado mais eficiente do que quando as soluções são utilizadas separadamente (PÉCORA et al., 1993). A utilização do EDTA a 17% e pH 7,5 tem o objetivo de permitir uma penetração do irrigante em profundidades maiores e de remover a *smear layer*, que além de ocluir os túbulos dentinários, pode conter micro-organismos e seus subprodutos (SOUZA et al., 2010).

A *smear layer* é constituída de dois componentes confluentes: os componentes orgânicos que são proteínas coaguladas, tecido pulpar vital ou necrótico, processos odontoblásticos, saliva, células sanguíneas e micro-organismos. Os componentes inorgânicos são os minerais dos tecidos dentinários, tais como Ca, P, Na, dentre outros. A presença de tal substância amorfa é decorrente da ação mecânica dos instrumentos endodônticos sobre a parede dentinária que libera raspas de dentina e resíduos orgânicos (MCCOMB e SMITH, 1975).

Os resultados deste estudo demonstraram que a *smear layer* foi removida quase que em sua totalidade no grupo de dentes que receberam a aplicação do *laser* de baixa intensidade. Este grupo ainda apresentou grande quantidade de túbulo dentinários abertos. Já os dentes do grupo controle, mesmo tendo recebido a irrigação final de EDTA a 17%, apresentaram grande quantidade de debris na superfície radicular, bem como, túbulos dentinários obliterados.

Tais achados vão ao encontro dos estudos de Israel et al. (1997) e de Tanji et al. (1997) que analisaram, também através de MEV, os efeitos do *laser* de alta potência Er:YAG e verificaram a presença de túbulos dentinários abertos, e remoção

de *smear layer*, sem apresentar sinais de derretimento ou carbonização de superfície.

A difusão de soluções irrigadoras e medicamentos intracanaís, tais como o hidróxido de cálcio e cimentos obturadores no interior de túbulos dentinários, é maior quando a *smear layer* é removida, uma vez que tais debris servem de barreira física contra esses medicamentos, através da obliteração dos túbulos dentinários (CZONSTKOWSKY, WILSON e HOSTEIN, 1990; KHEDMAT e SHOKOUHINEJAD, 2008).

O presente estudo demonstrou, através do cálculo do percentual de infiltração apical, que os dentes que receberam aplicação de *laser* de baixa intensidade, apresentaram maior percentual de infiltração apical quando comparados com os dentes que não foram irradiados com *laser* (controle). O mesmo foi encontrado por Carvalho (1999) quando avaliou o selamento marginal apical das obturações de canais radiculares, realizadas após a utilização de EDTA ou após a irradiação das paredes com o *laser* de alta potência Er:YAG. Os resultados demonstraram maiores infiltrações no grupo Er:YAG, seguido do grupo EDTA.

Carvalho et al. (2000), ao avaliarem, *in vitro*, a permeabilidade dentinária do conduto radicular após a aplicação do *laser* Nd:YAG, obturação, e imersão dos dentes em recipiente contendo corante azul de metileno por 48 h, constataram uma maior adaptação do material obturador à superfície radicular e maior infiltração do corante nos dentes que receberam a aplicação de *laser*. Uma vez que neste estudo, os dentes do grupo 2 apresentaram menor quantidade de *smear layer* e maior número de túbulos dentinários abertos, sugere-se ter havido uma melhor adaptação do material obturador à superfície radicular e, conseqüentemente, maior infiltração do corante naqueles túbulos dentinários não obliterados pela *smear layer*.

O mesmo resultado foi encontrado por Pécora et al. (2000) ao avaliarem a permeabilidade dentinária dos dentes após a instrumentação do SCR, com ou sem utilização de *laser* de Er:YAG, onde concluíram que a instrumentação e a aplicação do *laser* de Er:YAG apresentaram maior permeabilidade dentinária quando comparado aos dentes que não receberam aplicação de *laser*.

No entanto, diferentemente dos resultados encontrados neste estudo, Marchesan et al. (2008) ao utilizarem o *laser* diodo de 980 nm, verificaram que quando o *laser* foi associado à água destilada, houve um aumento da permeabilidade, enquanto que na associação com EDTA, houve decréscimo da

permeabilidade dentinária.

Como os resultados do presente estudo foram satisfatórios, indicando que a PDT pode ser uma promissora terapia coadjuvante ao PQM durante o tratamento endodôntico, sem no entanto causar alterações morfológicas na superfície dentinária e ainda, não prejudicarem a permeabilidade dos túbulos dentinários da superfície radicular, estudos futuros, *in vivo* e *ex vivo*, se fazem necessários, com intuito de se testar os parâmetros utilizados do *laser* de baixa intensidade durante a PDT, também na clínica diária.

7- CONCLUSÃO

A terapia fotodinâmica com *laser* diodo de 660 nm quando associada ao preparo químico-mecânico do sistema de canais radiculares, promoveu alterações morfológicas tais como redução de *smear layer* e abertura dos túbulos dentinários, não sendo detectada sua influência na ocorrência de erosão, cracks e carbonização.

Em relação à permeabilidade dos túbulos dentinários na superfície da dentina radicular, verificou-se que o *laser* aumentou a permeabilidade das mesmas.

REFERÊNCIAS

- ACKROYD, R. *et al.* The history of photodetection and photodynamic therapy. **Photochem Photobiol**, Oxford, v. 74, n. 5, p. 656–669, Nov. 2001.
- ANIC, I.; TACHIBANA, H.; MASUMOTO, K. Q. P. Permeability, morphologic and temperature changes of canal dentine walls induced by Nd:YAG, CO₂, and argon lasers. **Int Endod J**, Oxford, v. 29, n. 1, p. 13-22, Mar. 1996.
- ALFENAS, C. F. *et al.* Terapia fotodinâmica na redução de micro-organismos no sistema de canais radiculares., **Rev Bras Odontol**, Rio de Janeiro, v. 68, n. 1, p. 68-71, jan./jun. 2011.
- BASRANI, B. Interaction between sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate. **J Endod**, Baltimore, v. 33, n. 8, p. 966–969, Aug. 2007.
- BASSILI, L. O. **Infiltração apical em obturações de canais realizados com dois tipos de cimento após aplicação do laser Nd:YAG ou solução de EDTA nas paredes do canal radicular.** 2002, 75p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Bauru, Sao Paulo, SP.
- BELLO-SILVA, M. S. Efeito antimicrobiano da terapia fotodinâmica em canais radiculares. Estudo clínico. **Braz Oral Res**, São Paulo v. 21, suppl. 1, n. 95-128, Sept. 2007 (Proceedings of th 24th SBPqO Annual Meeting).
- BERGMANS, L. Bactericidal effect of Nd:YAG laser irradiation on some endodontic pathogens *ex vivo*. **Int Endod J**, Oxford, v. 39, n. 7, p. 547-557, Oct. 2006.
- BERUTTI, E.; MARINI, R.; ANGERETTI, A. Penetration ability of different irrigants into dentinal tubules. **J Endod**, Baltimore, v. 23, n. 12, p. 725-727, Dec. 1997.
- BRUGNERA JR, A. Effects of Er:YAG and Nd:YAG laser irradiation on radicular dentine permeability using different irrigant solutions. **Lasers Surg Med**, New York v. 33, n.4, p. 256-259, Mar. 2003.
- BYSTRON, A.; SUNDQVIST, G. Bacteriologic evaluation of the efficacy of mechanical root canal instrumentation in endodontic therapy. **Scand J Dent Res**, Copenhagen, v. 84, n.4, p. 321-8, Aug. 1981.
- BYSTRON, A. *et al.* Healing of periapical lesion of pulpless teeth after endodontic treatment with controlled asepsis. **Endod Dent Traumatol**, Copenhagen v.3, n. 2, p. 58-63, Apr. 1987.
- CARVALHO, C. A. T. **Efeitos dos lasers de Nd:YAG e de Er:YAG na adaptação das obturações de canais radiculares: análise do selamento marginal apical.** 1999, 137p. Dissertação (Mestrado)- Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", São José dos Campos, SP.

CARVALHO, C. A. T. *et al.* Effects of Nd:YAG and Er:YAG lasers on the sealing of root canal fillings. **J Clin Laser Med Surg**, New York, v. 20, n. 4, p. 215-9, Aug. 2000.

CARVALHO, E. S. *et al.* Effect of chemical substances in removing methylene blue after photodynamic therapy in root canal treatment. **Photomed laser surg**, Larchmont, v. 29, n. 8, p. 559-563, Aug. 2011.

CUSSIOLI, A. L. **Estudo *in vitro* do efeito da aplicação do laser ErYAG e da solução de EDTA na superfície dentinária sobre a adesividade de diferentes cimentos endodônticos à base de resina epóxica.** 1999, 72p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, SP.

CZONSTKOWSKY, M.; WILSON, E. G.; HOSTEIN, F. A. The smear layer in endodontics. **Dent Clin North Am**, Philadelphia, v. 34, n. 1, p. 13-25, Jan. 1990.

DEDERICH, D. N. Laser/ tissue interaction: what happens to laser light when it strikes tissue. **J Am Dent Assoc**, Chicago, v. 124, n. 2, p. 57-61, Oct. 1993.

DUNAVANT, T. Comparative evaluation of endodontic irrigants against *Enterococcus faecalis* biofilms. **J Endod**, Baltimore, v. 32, n. 2, p. 527-531, Feb. 2006.

EBIHARA, A. Er: YAG laser modification of root canal dentine: influence of pulse duration, repetitive irradiation and water spray. **Laser Med Sci**, London, v. 17, n. 3, p. 198-207, Abr. 2002.

FACHIN, E. V. F.; HANH, L. PALMINI, A. L. F. Revisão e enfoque clínico sobre o uso do hipoclorito de sódio em endodontia. **Rev Bras Odontol**, Rio de Janeiro, v. 51, n. 6, p. 14-18, Nov/ Dez. 1994

FAN, K. F. *et al.* Photodynamic therapy using 5-aminolevulinic acid for premalignant and malignant lesions of the oral cavity. **Cancer Boil Ther**, Georgetown, v. 78, n. 7, p. 1374-1383, Oct. 1996.

FIMPLE, J. L. *et al.* Photodynamic treatment of endodontic polymicrobial infection in vitro. **J Endod**, Baltimore, v. 34, n. 6, p. 728-734, June 2008.

GAD, F. *et al.* Effects of growth phase and extracellular slime on photodynamic inactivation of Gram-positive pathogenic bacteria. **Antimicrob Agents Chemother**, Washington, v. 48, n. 6, p. 2173-2178, June 2004.

GARCEZ, A. S. **Laser em baixa intensidade associado a fotossensibilizador para redução bacteriana intracanal comparado ao controle químico.** 2002, 106p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.

GARCEZ, A. S. *et al.* Antimicrobial photodynamic therapy combined with conventional endodontic treatment to eliminate root canal biofilm infection. **Lasers Surg Med**, New York, v. 39, n. 1, p. 59-66, Jan. 2007.

GARCEZ, A. S. *et al.* Photodynamic therapy associated with conventional endodontic treatment in patients with antibiotic-resistant microflora: a preliminary report. **J**

Endod, Baltimore, v. 36, n. 9, p. 1463-1466, Sept. 2010.

GOMES, B. P. *et al.* *Enterococcus faecalis* in dental root canals detected by culture and by polymerase chain reaction analysis. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, St. Louis, v. 102, n. 2, p. 247-253, Aug. 2006.

GONÇALVES, R. B. *et al.* Susceptibility of *Streptococcus mutans* biofilms to photodynamic therapy: an *in vitro* study. **J Antimicrob Chemother**, London, v. 56, n.2, p. 324-330, Aug. 2005.

GROSSMAN, L. I.; MEIMAN, A. J. Endodontic failures. **Dent Clin North Am** Philadelphia, v. 16, n. 5, p. 59-70, May 1941.

GUTKNECHT, N. *et al.* Diode laser radiation and its bactericidal effect in root canal wall dentin. **J Clin Laser Med Surg**, New York, v. 18, n. 2, p. 57-60, Apr. 2000.

HELING, I.; CHANDLER, N. P. Antimicrobial effect of irrigant combinations within dentinal tubules. **Int Endod J**, Oxford, v. 31, n. 1, p. 8-14, Jan. 1998.

HIBST, R.; KELLER, U. Dental Er:YAG *laser* application: effect of water spray on ablation. In: **INTERNATIONAL CONGRESS ON LASERS IN DENTISTRY** Proceedings. p. 229-230. Salt Lake City, 1991.

HÜLSMANN, M.; PETERS, O. A.; DUMMER, P. M. H. Mechanical preparation of root canals: shaping goals, techniques and means. **E Topics**, London, v. 10, n. 1, p. 30-76, Jan. 2005.

ISRAEL, M. The effects of CO₂, Nd:YAG and Er:YAG *lasers* with and without surface coolant on tooth root surfaces: an *in vitro* study. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v. 24, n. 9, p. 595-601, Mar. 1997.

KAKEHASHI, S.; STANLEY, H. R.; FITZGERALD, J. R. The effects of surgical exposure of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, St. Louis, v. 20, n. 1, p. 340-349, Sept. 1965.

KHEDMAT, S.; SHOKOUHINEJAD, N. Comparison of the efficacy of three chelating agents in smear layer removal. **J Endod**, Baltimore, v. 34, n. 5, p. 599-602, May 2008.

KOULAOUZIDOU, E. A. Cytotoxic effects of different concentrations of neutral and alkaline EDTA solutions used as root canal irrigants. **J Endod**, Baltimore, v. 25, n. 1, p. 21-23, Jan. 1999.

KRISTIANSEN, J. E.; AMARAL, L. The potential management of resistant infections with non-antibiotics. **J Antimicrob Chemother**, London, v. 40, n. 3, p. 319-327, Sept. 1997.

KÜBLER, A. *et al.* Treatment of oral leukoplakia by topical application of 5-aminolevulinic acid. **Int J Oral Maxillofac Surg**, Copenhagen, v. 27, n.6, p. 466-469, Dec. 1998.

LEE, M. T.; BIRD, P. S.; WALSH, L. J. Photo-activated disinfection of the root canal:

a new role for lasers in endodontics. **Aust Endod J**, Melbourne, v. 30, n. 3, p. 93-98, Dec. 2004.

MACHADO, A. E. H. Terapia fotodinâmica: princípios, potencial de aplicação e perspectivas. **Quim Nova**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 2, p. 237-243, Mar/ Abr. 2000.

MARCHESAN, M. A. *et al.* Effect of 980-Nanometer Diode Laser on Root Canal Permeability after Dentin Treatment with Different Chemical Solutions. **J Endod**, Baltimore, v. 34, n. 6, June 2008.

MARCHESAN, M. A. *et al.* Ultrastructural Analysis of Root Canal Dentine Irradiated with 980-nm Diode Laser Energy at Different Parameters. **Photomed laser surg**, Larchmont, v. 26, n. 3, p. 235-240, June 2008.

MCCOMB, D.; SMITH, D. C. A preliminar scanning electron microscopic study of root canals after endodontic procedures. **J Endod**, Baltimore, v. 1, n. 7, p. 238-242, Jan. 1975.

MATSUOKA, E. *et al.* Morphological study on the capability of En:YAG laser irradiation for root canal preparation. **J Clinical Laser Med Surg**, New York, v. 18, n. 4, p. 215-219, May 2000.

MENEZES, M. M. *et al.* Effects of Nd:YAG laser irradiation on root canal dentin wall: a scanning electron microscop study. **Photomed Laser Surg**, Larchmont, v. 23, n. 4, p. 399-404, Apr. 2004.

MILLER, W. D. An introduction to the study of the bacterial-pathology of the dental pulp. **Dental Cosmos**, v. 36, p. 505-527, Dec. 1894.

MORITZ, A. In vitro irradiation of infected root canals with a diode laser: results of microbiologic, infrared spectrometric, and stain penetration examinations. **Quintessence**, Berlin, v. 28, n. 3, p. 205-209, Apr. 1997.

NG, R. Endodontic photodynamic therapy ex vivo. **J Endod**, Baltimore, v. 37, n. 4, p. 217-222, Feb. 2011.

PÉCORA, J. D. *et al.* Evaluation of dentin root canal permeability after instrumentation and Er:YAG laser application. **Lasers Surg Med**, New York, v. 26, n. 3, p. 277-281, Apr. 2000.

PÉCORA, J. D. *et al.* Evaluation of ER: YAG and EDTAC on dentin adhesion of six endodontic sealers. **Braz Dent J**, Ribeirão Preto, v. 12, n. 1, p. 27-30, May 2001.

PÉCORA, J. D. *et al.* In vitro evaluation of external root temperature changes during Er:YAG laser application with five different fiberoptic tip withdrawal techniques. **Lasers Dentistry** v. 4, n. 2, p. 186-187, Jan. 2003.

PORTENIER, I. *et al.* The susceptibility of starved, stationary phase and growing cells of *Enterococcus faecalis* to endodontic medicaments. **J Endod**, Baltimore, v. 31, n. 6, p. 380-386, Nov. 2005.

PRATES, R. A. *et al.* Azul de metileno, verde de malaquita, indocianina verde e

verteporfirina: ação fotodinâmica antimicrobiana sobre *Escherichia coli*. **Anais do Congresso de PDT 2007 – Terapia Fotodinâmica: integração dos aspectos moleculares, tecnológicos e aplicações na área da saúde**. São Pedro, São Paulo, 2007.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <<http://www.R-project.org/>>. Acesso em: 9 abr. 2013.

RAAB, O. Z. Über die wirkung fluoreszierender stoffe auf infusorien. **Z Biol**, Munchen, v. 39, p. 524, 1900.

RETAMOZO, V. N. *et al.* Efficient cancer therapy with a nanobody-based conjugate. **Cancer Res**, Baltimore, v. 64, n. 15, p. 2853-2857, Apr. 2004.

RODRIGUEZ, H. M. É realmente necessário o uso de fibra óptica na PDT endodôntica? **Photodiagnosis Photodyn Ther**, Amsterdã, v. 25, suppl. 1, p. 293, 2011.

SANTOS, C. Morphologic evaluation of the radicular dentine irradiated with Nd:YAG laser under different parameters and angles of incidence. **Photomed Laser Surg**, Larchmont, v. 23, n. 6, p. 590-595, Nov. 2005.

SCHACKLEY, D. C. *et al.* Photodynamic therapy. **J R Soc Med**, London, v. 92, p. 562-565, Nov. 1999.

SCHREIER, E. The treatment of infected root canals with potassium and sodium. **Dent Cosmos**, v. 35, n. 9, p. 863-869, Sept. 1893.

SCHILDER, H. Cleaning and shaping of root canal. **Dent Clin North Am**, Philadelphia, v. 18, n. 4, p. 269-296, Mar. 1974.

SCHOOP, U. Bactericidal effect of different laser systems in the deep layers of dentin. **Lasers Surg Med**, New York, v. 35, n. 2, p. 111-116, May 2004.

SILVA, L. A. B. *et al.* Antimicrobial photodynamic therapy for the treatment of teeth with apical periodontitis: a histopathological evaluation. **J Endod**, Baltimore, v. 38, n.3, Mar. 2012.

SIQUEIRA JR J. F. *et al.* Actinomyces species, Streptococcus, and Enterococcus faecalis in primary root canal infections. **J Endod**, Baltimore, v. 28, n. 3, p. 168-172, Mar. 2002.

SJOGREN, U. *et al.* Influence of infection at the time of root filling on the outcome of endodontic treatment of teeth with apical periodontitis. **Int Endod J**, Oxford, v. 30, n. 5, p. 297–306, Sept. 1997.

SOUKOS, N. *et al.* Photodynamic therapy for endodontic disinfection. **J Endod**, Baltimore, v.32, n. 10, p. 979-984, Oct. 2006.

SOUZA, E. B. **Avaliação da desinfecção da dentina radicular em profundidade provocada pela irradiação do laser de diodo de alta potência**. 2006, 85p.

Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.

SOUZA, E. B.; CAI, S.; SIMIONATO, M. R. L.; LAGE-MARQUES, J. L. High-power diode laser in the disinfection in depth of the root canal dentin. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, St. Louis, v. 106, n. 1, p. 68-72, July 2008.

SOUZA, L. C. *et al.* Photodynamic therapy with two different photosensitizers as a supplement to instrumentation/irrigation procedures in promoting intracanal reduction of *Enterococcus faecalis*. **J Endod**, Baltimore, v. 36, n. 2, p. 292-296, Feb. 2010.

SPANÓ, J. C. Mechanism of action of sodium hypochlorite. **Braz Dent J**, Ribeirão Preto, v. 13, n. 2, p. 113-117, Oct. 2001.

TANJI, E.Y.; SOARES, S.C.G.; EDUARDO, CP. M.E.V de canais radiculares irradiados com Er:YAG e Nd:YAG lasers. **Anais da Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica**, São Paulo, v. 15, p. 47, (Abstract A 126), 1998.

TORO, C. V., The use of an Er:YAG Laser to remove demineralized dentin and its influence on dentin permeability. **Microsc Res Tech**, v. 76, n. 3, p. 225-230, Oct. 2012.

VIANNA, M.E.; HORZ, H.P.; CONRADS, G.; FERES, M.; GOMES, B.P.F.A. Comparative analysis of endodontic pathogens using checkerboard hybridization in relation to culture. **Oral Microbiol Immunol**, Copenhagen, v. 23, n. 4, p. 282-290, Aug. 2008.

WAINWRIGHT, M. Photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT). **J Antimicrob Chemother**, London, v. 42, n.1, p. 13-28, July 1998.

WALKER, W. A. A comparison of amounts of apically extruded debris using handpiece-driven nickel-titanium instrument systems. **J Endod**, Baltimore, v. 24, n. 5, p. 102-106, June 1998.

WALSH, L. J. The current status of low level laser therapy in dentistry. Part 2. Hard tissue applications. **Aust Dent**, Melbourne, v. 42, n. 5, p. 302-306, Oct. 1997.

WIDGOR, H. *et al.* T. Efecto del rayo laser sobre los tejidos duros del diente. **J Am Dent Assoc**, Chicago, v. 11, n. 6, p. 63-70, July 1995.

WILSON, M.; DOBSON, J.; HARVEY, W. Sensitization of oral bacteria to killing by low-power laser radiation. **Curr Microbiol**, New York, v. 25, n. 2, p. 77-81, Aug. 1992.

WILSON, M.; DOBSON, J.; SAKAR, S. Sensitization of periodontopathogenic bacteria to killing by light from a low-power laser. **Oral Microbiol Immunol**, Copenhagen, v. 8, n. 3, p. 182-187, June 1993.

WILSON, M. Lethal photosensitization of oral bacteria and its potential application in the photodynamic therapy of oral infections. **Photochem Photobiol Sci**, v. 3, n. 5, p. 412-418, May 2004.

WILSON, M. Development of a novel targeting system for lethal photosensitization of antibiotic-resistant strains of *Staphylococcus aureus*. **Antimicrob Agents Chemother**, Washington, v. 49, n. 9, p. 3690–3696, Sept. 2005.

ZANIN, I. C. Photosensitization of in vitro biofilms by toluidine blue O combined with a light-emitting diode. **Eur J Oral Sci**, Copenhagen, v. 114, n.1, p. 64-69, Feb. 2006.

XU, Y.; YOUNG, M. J.; BATTAGLINO, R. A. Endodontic antimicrobial photodynamic therapy: safety assessment in mammalian cell cultures. **J Endod**, Baltimore, v. 35, n. 4, p. 1567–1572, Feb. 2009.

ANEXO

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
JUIZ DE FORA/MG



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação in vitro dos efeitos da terapia fotodinâmica sobre a morfologia dentinária e selamento marginal apical de dentes tratados endodonticamente.

Pesquisador: Celso Neiva Campos

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 12833213.3.0000.5147

Instituição Proponente: FACULDADE DE ODONTOLOGIA ((UFJF))

Patrocinador Principal: FUNDAÇÃO DE DESENVOLVIMENTO DA PESQUISA

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 231.328

Data da Relatoria: 04/04/2013

Apresentação do Projeto:

O projeto tem apresentação ao nível de sua importância. Sem reparos a serem feitos

Objetivo da Pesquisa:

Otimizar as condições de tratamento dentário

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos mínimos descritos no projeto.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

As observações constantes do Desenho do projeto realçam sua importância científica

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os referidos termos apresentados, de acordo com a pesquisa.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Possíveis inadequações ou possibilidades de pendência deixam de existir.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: JOSE LOURENCO KELMER S/N
 Bairro: SAO PEDRO CEP: 36.036-900
 UF: MG Município: JUIZ DE FORA
 Telefone: (32)2102-3788 Fax: (32)1102-3788 E-mail: cep.propesq@ufjf.edu.br

