



AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

**ESTUDO DOS EFEITOS DA IRRADIAÇÃO COM LASER  
DE DIODO DE 960 nm SOBRE ESMALTE  
DE DENTES DECÍDUOS**

**EDUARDO KAZUO KOHARA**

**Dissertação apresentada como parte  
dos requisitos para obtenção do Grau  
de Mestre em Ciências na Área de  
Tecnologia Nuclear - Materiais.**

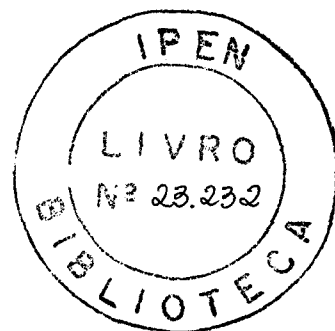
**Orientador:  
Dr. Niklaus Ursus Wetter**

**São Paulo  
2005**

**INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES**  
Autarquia associada à Universidade de São Paulo

**ESTUDO DOS EFEITOS DA IRRADIAÇÃO COM LASER DE DIODO DE 960 nm  
SOBRE ESMALTE DE DENTES DECÍDUOS**

**EDUARDO KAZUO KOHARA**



**Dissertação apresentada como parte  
dos requisitos para obtenção do  
Grau de Mestre em Ciências na Área  
de Tecnologia Nuclear – Materiais.**

**Orientador: Niklaus Ursus Wetter**

**São Paulo**

**2005**

Ao meu PAI e à minha MÃE, pelo amor incondicional e por querer sempre o melhor para os filhos, ontem, hoje e sempre.

Aos meus irmãos Márcio e Luciana, pela presença e pelo companheirismo.

E aos meus avós, por serem a base de tudo, por todas as dificuldades que passaram para criar os filhos, que também sejam recompensados pelas realizações dos netos. Em especial ao meu avô Taishi Nakamura, o qual muito me inspirou e sempre me inspirará a tentar entender o mundo que nos cerca.

## **AGRADECIMENTOS ESPECIAIS**

A **Deus**, por ter me dado a oportunidade de fazer tantos amigos, conhecer tantos lugares e a realizar tantas coisas nesta vida.

Ao **Prof. Dr. Niklaus Ursus Wetter**, pela confiança depositada em mim ao me aceitar como seu aluno orientado e pelo apoio e incentivo nesse tempo de convívio durante o curso.

Ao **Prof. Dr. Sílvio Issáo Myaki**, pela amizade, apoio e incentivo para o meu início no meio acadêmico, desde o curso de graduação.

## AGRADECIMENTOS

À colega MSc. Ilka T. Kato, pela ajuda em todos os momentos do curso, pela amizade, pelos conselhos e esclarecimentos que foram essenciais para a execução do trabalho.

Ao colega e amigo Aécio M. Yamada, pelo incentivo para iniciar o curso. A todos os meus amigos por existirem. Não escreverei seus nomes aqui para não cometer a indelicadeza de deixar alguém fora da lista.

Ao Dr. Nilson Dias Vieira Jr., por permitir o acesso e o uso das instalações do Centro de Lasers e Aplicações – CLA/IPEN.

À Profa. Dra. Denise Zezell, por ser sempre tão prestativa e pelo auxílio em todos os momentos da execução da parte experimental, em especial na utilização do sistema de câmera termográfica.

À Profa. Dra. Marta Simões Ribeiro, pelos esclarecimentos, pela amizade e palavras de incentivo durante o curso.

À Profa. Dra. Martha Marques Vieira e ao Prof. Dr. Afonso Aquino pelos esclarecimentos na elaboração do projeto e a sua apresentação no Comitê de Ética.

Ao Dr. Gessé Eduardo Calvo Nogueira, pelas sugestões e pelo desenvolvimento dos aparelhos utilizados em conjunto com o termopar de resposta rápida.

Ao MSc. Anderson Zanardi, pelas conversas e sugestões durante a parte experimental do trabalho.

Ao Dr. Luciano Bachmann e à Dra. Sonia Licia Baldochi, pelas sugestões e esclarecimentos no trabalho.

Ao Dr. Armando Mirage, pelas sugestões oferecidas durante a preparação deste trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Desenvolvimento de Lasers: Paulo, Alessandro, Eduardo Colombó, Marco Ferrari, Fabiola, Valder, Franco, Jonas, pelo apoio com os equipamentos do laboratório e pelas palavras amigas no decorrer do curso.

Aos amigos do CLA, em especial a Adriana, Daniela, Luís (China), Renato, Walter, Patrícia, Renata, Cláudia, Marcella, Cassius, Aguinaldo, Silvia,

Luiz Tarelho, Karin, Ana Maria e Fábio, que de alguma forma me ajudaram no decorrer das aulas e da parte experimental.

Ao pessoal do Centro de Química e Meio Ambiente do IPEN: Maurício, Eliza, Miho, Irene e Ana Paula, pela amizade e sugestões no trabalho.

Aos funcionários do CLA, em especial a Solange, Tort, Elza, Marcos e Sr. Tito, pela prontidão e presteza sempre que foi necessária alguma ajuda.

Aos funcionários da Microscopia Eletrônica do Centro de Ciência e Tecnologia dos Materiais do IPEN: Nildemar, Celso e René, pelo auxílio e pelo esclarecimento dado por tantas vezes durante os experimentos.

Ao Dr. José Roberto Martinelli, do Centro de Ciência e Tecnologia de Materiais do IPEN, pelas análises feitas no Laboratório de Caracterização de Pós, sob sua responsabilidade.

Ao Dr. Jorge Kuma Sototuka, pelo incentivo e pela ajuda à minha ida ao Japão e aos Professores Koukichi Matsumoto e Ryuji Sasa, da Showa University, em Tokyo, por terem me dado a oportunidade de iniciar os estudos na área de Lasers em Odontologia antes do início deste Mestrado.

Aos funcionários da Biblioteca do IPEN, em especial ao Waldir, Edna e Maria Eneide, pela prontidão e paciência em todas as vezes que precisei de alguma ajuda.

Ao pessoal da Secretaria de Pós-Graduação, Vera, Ilze, Ana, Daniele, Fernando, pelo esclarecimento e a ajuda em todos os momentos do curso.

Ao CNPq, pelo apoio financeiro.

E a todos que tenham me ajudado de alguma forma até agora.

# **ESTUDO DOS EFEITOS DA IRRADIAÇÃO COM LASER DE DIODO DE 960 nm SOBRE ESMALTE DE DENTES DECÍDUOS**

**Eduardo Kazuo Kohara**

## **RESUMO**

Na literatura encontram-se poucos trabalhos relatando os efeitos da irradiação com laser de diodo de 960 nm sobre o esmalte dental, especialmente de dentes decíduos. O objetivo deste trabalho é o de pesquisar os efeitos da irradiação com o laser de diodo de 960 nm na morfologia e na temperatura do esmalte de dentes decíduos, e também algumas características de dois corantes fotoabsorvedores a ele associados, carvão em pó e tinta nanquim. O estudo morfológico consistiu na observação ao Microscópio Eletrônico de Varredura as amostras irradiadas com 100 pulsos de laser de 960 nm em vários parâmetros que diferiram na potência, tempo de pulso e corante fotoabsorvedor utilizado. O estudo térmico foi dividido em duas partes, uma com termopar convencional tipo K para registrar a temperatura no interior da cavidade pulpar, e outra utilizando câmera termográfica e termopar tipo K de resposta rápida para medir a temperatura na superfície dental. Os resultados do estudo dos fotoabsorvedores foram o de que a espessura de camada e a absorbância do carvão em pó utilizado foram maiores que as da tinta nanquim. O tamanho da partícula de carvão utilizado não influenciou no aumento de temperatura durante a irradiação, mas parece ter influenciado na aderência à superfície de esmalte. A irradiação do laser com potência-pico de 8 W, taxa de repetição de 10 Hz e tempo de 15 ms/pulso provocou ablação de esmalte com ambos os corantes. Já as irradiações com potência-pico de 6,5 W e tempo de 5 ms por pulso provocaram alterações morfológicas quando irradiados com tinta nanquim e sem corante, mas não quando foi irradiado com carvão em pó. O estudo térmico revelou que as irradiações com potência-pico de 6,5 W e 2,5 ms/pulso tiveram aumentos de temperatura seguros com os dois corantes e na ausência deste. Com 5 ms por pulso, as irradiações foram seguras com carvão e sem corante, mas excessivas com nanquim. Com 7,5 ms por pulso, a temperatura foi excessiva nas três situações. As temperaturas máximas de superfície tiveram valores diferentes entre si. A maior temperatura alcançada na superfície foi de cerca de 100 °C. As conclusões do estudo foram de que o carvão não tem desempenho satisfatório como corante fotoabsorvedor para laser de diodo de 960 nm, em comparação à tinta nanquim. A irradiação com o laser de diodo possui capacidade de provocar mudanças morfológicas no esmalte de dentes decíduos e os aumentos seguros de temperatura dependem do corante utilizado e dos parâmetros de irradiação laser.

## **STUDY OF THE EFFECTS OF 960-nm DIODE LASER IRRADIATION ON THE PRIMARY TEETH ENAMEL**

**Eduardo Kazuo Kohara**

### **ABSTRACT**

In literature, few works reporting the effects of irradiation with 960-nm diode laser dental enamel were found, especially on deciduous teeth. The objective of this work is to investigate the effects of the irradiation with 960-nm diode laser on deciduous teeth enamel morphology and their temperature rise, and also some characteristics of two photoabsorbers: powder charcoal and china ink. Morphological study consisted in analyze by Scanning Electron Microscope samples irradiated with 100 pulses of laser of 960-nm laser, in different parameters of peak power, pulse time and photoabsorber. Thermal study was divided in two parts, intrapulpal temperature with conventional type-K thermocouples and another one using thermographic camera and fast response type-K thermocouple to measure temperature on enamel surface. The results of photoabsorber study were charcoal has a thicker layer and a higher absorbance compared to china ink. The particle size of charcoal did not have a significantly influence in the increase of temperature during irradiation, but it seems to have influenced in the adherence to enamel surface. The irradiation by laser with peak power 8 W, repetition rate 10 Hz and 15 ms per pulse provoked enamel ablation with both photoabsorbers. Irradiations with peak power 6.5 W and 5 ms per pulse had provoked some ablation areas and bubble appearing when radiated with china ink and with no ink, but did not promoted morphological modifications when irradiated with powder charcoal. Thermal study had disclosed that the irradiations with peak power 6.5 W and 2.5 ms/pulse had had safe temperature rises with or without the two photoabsorbers. When irradiated with 5 ms/pulse, it had been safe with coal and without photoabsorber, but it was excessive when irradiated with china ink. When irradiated with 7.5 ms/pulse, the heat was excessive in the three situations. The maximum surface temperatures had very different values; however, the higher one reached temperature about 100 °C. The conclusion of the study was that the charcoal had insatisfactory performance as photoabsorber when compared to china ink. Diode laser irradiation is able to promote morphological changes on deciduous teeth enamel and safe temperature rises depending on the photoabsorber and laser parameters.



## SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO .....	1
2 OBJETIVOS .....	3
3 LEVANTAMENTO DA LITERATURA .....	4
3.1 Tecidos dentais duros .....	4
3.2 Prevenção de cáries .....	6
3.3 Efeitos dos lasers de alta potência sobre os tecidos dentais duros .....	8
3.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (73-75) .....	11
3.5 Medição de temperatura no elemento dental .....	16
4 MATERIAL E MÉTODOS .....	19
4.1 Estudo das características físicas dos fotoabsorvedores utilizados .....	19
4.2 Estudo Morfológico do esmalte de dentes decíduos irradiado pelo laser de 960 nm .....	20
4.3 Estudo Térmico .....	24
5 RESULTADOS .....	30
5.1 Estudo das características físicas dos fotoabsorvedores utilizados .....	30
5.2 Estudo Morfológico .....	31
5.3 Estudo Térmico .....	35
6 DISCUSSÃO .....	41
7 CONCLUSÕES .....	47
Anexo 1: Estudo morfológico dos efeitos da irradiação dos lasers de diodo de altíssima potência (75 W - I=206 kW/cm <sup>2</sup> e 88 W - I=366 kW/cm <sup>2</sup> ) .....	48
Anexo 2: Parecer do Comitê de Ética .....	50
Anexo 3: Tabela de referência para termopar tipo K (117) .....	51

## 1 INTRODUÇÃO

Na literatura, há vários trabalhos que relatam os efeitos da irradiação dos mais diversos tipos de laser sobre os tecidos duros dos dentes permanentes, mas há poucos reportando os efeitos sobre os dentes decíduos. Há algumas diferenças na morfologia do esmalte e da dentina dos dentes decíduos, comparados aos dentes permanentes, que justificam a realização de alguns estudos para comprovar a viabilidade ou não da irradiação do laser diodo sobre os dentes decíduos. Esses estudos são importantes para verificar a presença de efeitos não desejados como o aumento excessivo de temperatura no interior da câmara pulpar ou alterações morfológicas das superfícies dentárias irradiadas.

Como diferença morfológica mais relacionada ao nosso estudo, podemos citar a menor espessura de dentina e esmalte nos dentes decíduos. Isso torna a câmara pulpar mais próxima ao meio externo que nos dentes permanentes e pode deixar o tecido pulpar do dente decíduo mais sensível ao aumento da temperatura durante a irradiação. A razão é que como há menos volume de tecido dental duro para absorver a energia laser, como conseqüência, pode existir maior transmissão do laser para a polpa dentária. Dessa forma, pode haver um maior dano ao tecido pulpar em comparação ao método convencional, em que se utilizam brocas de alta ou baixa velocidade de rotação.

Há na literatura muitos trabalhos relatando os efeitos da irradiação de alguns lasers sobre os tecidos dentários duros. São reportados efeitos benéficos da irradiação com os lasers de Er:YAG, Nd:YAG, CO<sub>2</sub>, Argônio e outros, sob o ponto de vista clínico, como alteração na micromorfologia do esmalte e da dentina de dentes permanentes (1-4), aumento na adesão de restaurações (5, 6), aumento na resistência do esmalte a desmineralização (7-10), e também alguns efeitos desfavoráveis, como a carbonização dos tecidos dentais (11, 12) e o aumento da temperatura intrapulpar (13), com o conseqüente dano a esse tecido. Como conseqüência desses resultados, algumas utilizações clínicas da irradiação do laser em tecidos dentais duros foram sugeridas, como nos preparos cavitários, no condicionamento de superfícies para posterior restauração, na prevenção às cáries primárias e recorrentes, e na remoção do tecido cariado.

O laser de diodo, só mais recentemente começou a ser descrito na literatura com seus efeitos de interesse na Odontologia e ainda há poucos

trabalhos publicados na literatura sobre os efeitos causados pela sua irradiação em tecidos duros dentais (14-17). Como ele possui um comprimento de onda semelhante ao do laser de Nd:YAG, com uma baixíssima absorção pela dentina e o esmalte dentais e uma alta absorção da energia laser pelos tecidos escurecidos, é necessário a utilização de uma substância fotoabsorvedora, que faz a transmissão da energia laser para o tecido subjacente. Comumente, no caso do laser de Nd:YAG, se utiliza tinta nanquim com esse propósito, pelo baixo custo e facilidade de utilização, mas há o inconveniente de manchar o tecido dental após a irradiação, prejudicando a estética do dente (18). Boari afirmou que a utilização de carvão em pó dissolvido em solução aquosa de etanol é uma alternativa viável ao uso do laser de Nd:YAG, com a vantagem de não haver comprometimento estético do esmalte após a irradiação do laser (18).

Arcoria *et al.* (15), em 1994, descreveu as transformações na superfície de esmalte, com a formação de crateras promovidas pela irradiação de laser de diodo a 805 nm. McNally *et al.* (16), em 1999, descreveu a remoção de tecido cariado na dentina pela irradiação do laser de diodo de 796 nm, por 120 s, associado ao verde de indocianina, com resultados bastante favoráveis, como o pequeno aumento da temperatura intrapulpar ( $3 \pm 2$  °C) e ausência de fissuras na superfície da dentina irradiada. Kreisler *et al.* (13), em 2002 afirmou que a irradiação de laser de diodo a 809 nm para a descontaminação de bolsas periodontais pode comprometer o tecido pulpar pelo aumento da temperatura e sugere adotar parâmetros-limite de potência e tempo para esse tipo de irradiação. Oliveira *et al.* (17) realizaram um estudo *in-vitro* com a irradiação de laser de diodo a 960 nm sobre o esmalte dental de dentes permanentes, e concluíram que se pode promover a fusão e posterior ressolidificação do esmalte irradiado, com ausência de ablação e pequena elevação de temperatura dentro da câmara pulpar. Santaella *et al.* afirmaram que a associação do laser de diodo com verniz fluoretado inibiu o aparecimento de lesões cariosas *in-vitro* em dentes decíduos (19).

## 2 OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivos:

- Estudar as características de dois corantes fotoabsorvedores usados como coadjuvantes na irradiação de diversos lasers, uma suspensão de carvão em pó e a tinta nanquim.
- Estudar as mudanças morfológicas sofridas pelo esmalte de dentes decíduos após a irradiação de um laser de diodo de 960 nm.
- Estudar o comportamento térmico da irradiação do laser de diodo de 960 nm na cavidade pulpar de dentes decíduos.
- Estudar o comportamento térmico da irradiação do laser de diodo de 960 nm na superfície do esmalte.

### 3 LEVANTAMENTO DA LITERATURA

#### 3.1 Tecidos dentais duros

Os tecidos dentais duros (esmalte e dentina) são compostos por uma parte inorgânica (mineral) e uma parte orgânica (20). Eles se diferenciam basicamente pela proporção entre os componentes e a forma como eles estão estruturados. A composição do esmalte de dentes permanentes é estimada em aproximadamente 96% do peso em componentes inorgânicos, e o restante por água e componentes orgânicos. Já a dentina é composta por aproximadamente 70% do peso em componentes inorgânicos, 18% material orgânico e 12% de água. A proporção desses componentes sofre uma mudança devido à maturação pós-eruptiva que o dente sofre no meio bucal, e esses valores se referem à média da população.

A parte orgânica do esmalte refere-se a quantidades aproximadamente iguais de peptídeos e proteínas solúveis e insolúveis. A dentina, por sua vez, tem a sua parte orgânica composta por aproximadamente 93% de colágeno, e o restante composto de lipídios, glicosaminoglicanos e outros compostos protéicos não identificados.

A parte inorgânica desses tecidos compõe-se basicamente de cristais de hidroxiapatita ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ), embora estejam presentes outras formas de fosfatos de cálcio cristalinas ou não. Os cristais se diferem em tamanho, sendo maiores no esmalte que passou pelo processo de maturação (no qual os cristais têm tamanho variável, na ordem de 45 a 90 nm de altura por 25 a 39 nm de espessura), e menores na dentina jovem (20 nm por 3,5 nm).

##### 3.1.1 Esmalte dental humano (21)

O esmalte dental é um tecido acelular, que em condições fisiológicas recobre completamente a coroa clínica do elemento dental. É o tecido mais mineralizado do corpo humano e também o mais duro. Sua espessura varia de

acordo com a localização, de 0,5 mm na região lingual dos incisivos inferiores a 2,0 mm na oclusal dos molares.

O esmalte está organizado em pequenas unidades cristalinas, denominadas prismas, embora haja também a presença de hidroxiapatita não organizada em prismas. Sua organização em esmalte prismático e aprismático se deve à sua formação, cujo processo é denominado amelogênese. As células formadoras do esmalte, os ameloblastos, são derivados do ectoderma e têm características de células secretoras altamente especializadas. A face dos ameloblastos voltada para o esmalte recém-formado possui vários prolongamentos da membrana celular, denominados processos de Tomes, os quais se retraem à medida que a matriz de esmalte é produzida e secretada. Desta forma, a reentrância formada pelo espaço entre dois processos de Tomes do ameloblasto forma um prisma, no qual os cristais de hidroxiapatita são organizados de forma cristalina e o espaço entre dois prismas é preenchido pelo esmalte interprismático. Apesar de os dois tipos de esmalte se apresentarem diferentes numa microscopia de luz polarizada (o esmalte interprismático se apresenta escuro, separando os prismas de esmalte) a composição química de ambos é semelhante, mudando apenas a orientação dos cristais que o compõe.

Existe também o esmalte aprismático, que está localizado na região mais profunda do esmalte, próxima à junção amelodentinária, e na sua porção mais externa, especialmente nas superfícies lisas de dentes decíduos e em menor frequência nos dentes permanentes. Isso pode ser relacionado aos estágios iniciais e finais de secreção dos ameloblastos, no qual os processos de Tomes destas células ainda não se formaram ou já desapareceram.

A forma como o esmalte é formado pelos ameloblastos promove o surgimento de várias entidades estruturais que podem ser vistas ao microscópio. As linhas incrementais do esmalte ou estrias de Retzius são vistas microscopicamente em cortes longitudinais de peças dentais como linhas oblíquas que partem da junção amelodentinária até a superfície do esmalte, e estão relacionadas a alterações sistêmicas pelas quais o indivíduo tenha passado. Essas alterações, como uma infecção, um período de febre ou mesmo o seu nascimento, podem provocar a mudança da orientação dos prismas, que são vistos como uma linha escura ao microscópio polarizado de luz. As estrias de Retzius dão origem às periquimáceas na superfície externa do esmalte, que são

visíveis ao Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) como sulcos paralelos na superfície de esmalte (Figura 15). O espaço de esmalte entre duas periquimáceas é denominado linha de imbricação e mede cerca de 30 a 100  $\mu\text{m}$ . De um modo geral, a superfície do esmalte é lisa, mas pode ter algumas depressões rasas correspondentes aos processos de Tomes, ou seja, à localização dos ameloblastos por ocasião da formação do esmalte.

### **3.1.2 Dentes permanentes e decíduos**

Além das diferenças óbvias de cronologia de erupção, tamanho e forma anatômica, há diferenças na composição química entre os dentes decíduos e permanentes. Os dentes decíduos são um pouco menos mineralizados que os permanentes e por essa razão eles parecem ser mais brancos (21). Essa é a razão do nome popular dos dentes decíduos, "dentes de leite", quando comparados ao tom mais amarelado dos dentes permanentes. Além da composição química ligeiramente diferente dos dois tipos de dentes, há diferenças também na orientação dos prismas em certas regiões, o que pode influenciar, por exemplo, na confecção de preparos cavitários, a fim de não se deixarem prismas de esmalte sem suporte e conseqüentemente a infiltração marginal das restaurações (22).

## **3.2 Prevenção de cáries**

A cárie é uma doença multifatorial, causada por diversos fatores determinantes, ou seja, fatores que devem estar presentes, mas que sozinhas não têm capacidade de provocar a doença, deve haver uma interação entre esses fatores para que haja o seu início e a sua progressão. É considerada a doença mais prevalente de todas as doenças infecciosas causadas por bactérias no homem (23). De acordo com Keyes (24), na década de 1960, esses fatores são o hospedeiro (dente), os microorganismos causadores, o e a dieta cariogênica. Mais recentemente, a essa tríade de fatores foi acrescentado o tempo já que a formação da cárie não é imediata, ela leva algum tempo para se desenvolver (25).

O hospedeiro está aqui representado pelo meio bucal e as estruturas que o formam. Há maneiras de se trabalhar para diminuir o índice de cáries

modificando a estrutura cristalina do esmalte e a dentina, com a aplicação tópica de fluoretos (26), que já é uma prática bastante comum na Odontologia atual. Mais atualmente a irradiação do esmalte e da dentina tem sido pesquisada com esse fim, mas ainda muitos estudos devem ser feitos para se chegar a um consenso (19, 27-29).

Os efeitos da dieta cariogênica podem ser locais ou sistêmicas (neste caso é chamado de nutrição). Os efeitos de uma nutrição cariogênica estão relacionados com as alterações metabólicas do organismo, podendo repercutir na má formação do elemento dental e na composição química dos fluidos corporais, especificamente a saliva. O principal fator da dieta cariogênica na formação das cáries é a influência da quantidade e da frequência da ingestão de carboidratos fermentáveis (sacarose e seus derivados), especialmente a frequência de ingestão. Por outro lado, há uma tendência de se utilizar alimentos não-cariogênicos, como os adoçantes não calóricos, à base de aspartame e ciclamatos, ou calóricos, como a frutose, e alimentos anti-cariogênicos, como os que contêm sorbitol e o xilitol. Esses produtos não são metabolizados em ácidos pelas bactérias, não levando à formação de lesões cariosas, e, especialmente no caso destes últimos, têm inclusive efeito antibacteriano (30, 31).

Há vários tipos de microorganismos com potencial de provocar a doença cárie, como os Estreptococos Grupo Mutans e alguns tipos de Lactobacilos. Os Estreptococos Grupo Mutans possuem várias características que os colocam como sendo os causadores da cárie. Algumas dessas características são: a capacidade de se reproduzir a doença em modelo animal, a produção de fatores de virulência, e no caso da eliminação ou controle dos microorganismos há o decréscimo da atividade da doença. Os Lactobacilos não possuem essas características tão evidentes e são considerados os principais colaboradores nesse processo (23).

Resumindo todo o processo em poucas palavras, de acordo com Thysltrup & Fejerskov: "a doença cárie é um processo dinâmico que ocorre nos depósitos microbianos (placa dental nas superfícies do dente) e que resulta em distúrbio do equilíbrio entre a substância do dente e o fluido da placa adjacente. Com o decorrer do tempo, o resultado é a perda de mineral na superfície do dente. (...) Esta perda pode se refletir clinicamente de várias formas, desde opacidades



no esmalte, difíceis de serem discernidas, até grandes cavidades que se estendem à polpa dental” (32).

Como a cárie é considerada uma doença multifatorial, há maneiras de se trabalhar com prevenção sobre cada um dos três pilares da formação das cáries da tríade de Keyes (23). A lista a seguir representa algumas das condutas tomadas mais freqüentemente na clínica odontológica para a prevenção do aparecimento de lesões cariosas.

A prevenção no fator dieta pode ser conduzida pela diminuição da quantidade e principalmente da freqüência de ingestão de alimentos ricos em açúcares e sua substituição por adoçantes não-cariogênicos.

A microbiota pode ser trabalhada pelo controle da placa profissional e do paciente, através por diversos meios, como o bochecho com anti-sépticos ou o uso de escova e fio dental.

O fator hospedeiro trabalha com a intenção de deixar o dente mais resistente às cáries. Isso pode ser conseguido com a aplicação de fluoretos ou pela irradiação de lasers, que podem ou não estarem associados.

### **3.3 Efeitos dos lasers de alta potência sobre os tecidos dentais duros**

Lasers de alta potência têm sido utilizados em irradiações sobre os tecidos dentais duros com diversos propósitos, dentre os quais podemos citar o uso em preparos cavitários de dentes decíduos (5, 33-35) e permanentes (36-40), na irradiação do esmalte e da dentina com a intenção de na diminuir a hipersensibilidade dentinária (41), e promover uma maior resistência à formação de cáries (10, 18, 27, 42).

Para tanto, diversos lasers tem sido estudados, sendo que cada tipo de laser interage diferentemente com os componentes do esmalte e da dentina humanos. Os lasers de érbio (Er:YAG e Er,Cr:YSGG) são utilizados para preparos cavitários, por causa da alta absorção do seu comprimento de onda pela água intrínseca da estrutura dental (43), podendo trazer vantagens no que diz respeito ao aumento da adesão do material restaurador (44) e a diminuição do desconforto trans e pós-operatório (39, 45-47). Os lasers de argônio podem ser usados para fotopolimerizar materiais restauradores adesivos (48-53), como coadjuvantes no clareamento (54, 55) e na prevenção da cárie dental (7, 56-60). Por sua interação

com a hidroxiapatita, o laser de CO<sub>2</sub> é amplamente estudado para aumentar a resistência do dente à formação das cáries, com resultados muito favoráveis (61-63). Os lasers de Nd:YAG são amplamente utilizados em vários aspectos da Odontologia, e a característica de seu comprimento de onda ser muito pouco absorvido pela água e a hidroxiapatita pôde ser contornada com a utilização de pigmentos que absorvem a energia e a transferem para o dente (64), tornando-o possível de ser utilizado no tratamento da hipersensibilidade dentinária (41) ou na prevenção à formação de cáries (18, 42, 65).

### 3.3.1 Lasers de diodo

Lasers de diodo, em comparação com outros tipos de laser disponíveis no mercado para uso odontológico, são lasers de custo de produção mais baixo, que possibilita que um maior número de profissionais tenha um aparelho no consultório. Entretanto, para que a sua relação custo-benefício seja mais vantajosa, um dispositivo qualquer deve abranger o maior número possível e procedimentos, para que os custos fixos de aquisição e de manutenção sejam diluídos pela maior quantidade possível de clientes. Dentro dessa linha de raciocínio, há a possibilidade de se usar o laser de diodo em procedimentos em tecidos moles, como por exemplo, em cirurgias menores orais (tais como frenectomia ou gengivoplastia), para promover descontaminação de bolsas periodontais (66) ou para afastamento gengival pré-moldagem, e também em tecidos dentais duros como coadjuvante no clareamento dental (67-69). O seu uso como agente auxiliar na prevenção e no tratamento de cáries ainda está em fase em desenvolvimento e ainda existem poucos relatos sobre o seu uso (16, 19, 29).

Arcoria *et al.* descreveram as transformações na superfície de esmalte, com a formação de crateras promovidas pela irradiação de laser de diodo a 805 nm (15). McNally *et al.* descreveram a remoção de tecido cariado pela irradiação de um laser de diodo a 796 nm, por um tempo total de 120 s, associado ao indocianina verde, com resultados bastante favoráveis, como o pequeno aumento da temperatura intrapulpal ( $3\pm 2$  °C) e ausência de fissuras na superfície da dentina irradiada em condições que tentavam reproduzir as condições do dente na cavidade oral (16). Kreisler *et al.* afirmaram que a irradiação de laser de diodo

a 809 nm sobre a superfície radicular pode comprometer o tecido pulpar pelo aumento da temperatura e sugere alguns parâmetros-limite, como potência de saída de 0,5 W e um tempo de 10 segundos para a irradiação de incisivos inferiores permanentes e premolares superiores no modo contínuo (14). Santaella *et al.* mediram lesões de cáries de esmalte de dentes decíduos submetidos à aplicação de flúor, irradiação de laser de diodo (809 nm, 140 mJ, 50 Hz) e verificaram que houve inibição total de formação de lesões de cárie nos grupos verniz fluoretado e laser+verniz fluoretado, e inibição parcial no grupo laser (19). Kato fez medidas de desmineralização de amostras de esmalte, utilizando um laser de diodo de 960 nm, com potência-pico de 6,5 W, taxa de repetição de 10 Hz e tempo de 5 ms por pulso, por um tempo total de 30 segundos, associando ou não com a aplicação de flúor-fosfato acidulado, e as comparou com amostras não irradiadas submetidas ou não à aplicação do flúor-fosfato acidulado. Foi concluído que não houve aumento de resistência à desmineralização promovido pelo laser de diodo, quando as amostras irradiadas pelo laser de diodo foram comparadas com o grupo controle, e as amostras que associaram a aplicação de laser com a de flúor com o grupo submetido somente à aplicação de flúor (29).

### 3.3.2 Corantes Fotoabsorvedores

A capacidade de um corpo absorver certa quantidade de energia luminosa é denominada absorvância, e tem relação inversa com a transmissão de luz através dele. O uso de corantes fotoabsorvedores em conjunto com certos tipos de laser se fundamenta no fato de que a absorvância das estruturas dentais na faixa dos lasers de neodímio e de diodo é baixa. Nesses lasers, para se conseguir o efeito térmico desejado na superfície, usa-se o artifício de cobrir a superfície dental irradiada com um corante fotoabsorvedor, que primeiro absorve a energia laser, convertendo-a e transmitindo em seguida para o para o dente em forma de calor. Isso se deve ao fato de que o corante possui uma alta absorvância nesse comprimento de onda.

A absorvância ou densidade óptica de um corpo pode ser medida e calculada, de acordo com a fórmula da Figura 1, na qual,  $S_\lambda$  é intensidade luminosa medida no corpo em questão, no comprimento de onda  $\lambda$ ,  $D_\lambda$  é o ruído

nesse mesmo comprimento de onda  $\lambda$ , e  $R\lambda$  é a referência. Como o valor da absorvância é um número relativo, ele não possui unidade.

$$A = -\log_{10} \left( \frac{S\lambda - D\lambda}{R\lambda - D\lambda} \right)$$

**Figura 1: fórmula da absorvância. Fonte: manual de operações do espectrômetro HR2000 Series, Ocean Optics Inc., EUA.**

No uso dos lasers na odontologia, Oho & Morioka foram os primeiros a descreverem o uso de fotoabsorvedor para aumentar os efeitos do laser pelos tecidos dentais duros (64). Desde então, várias substâncias têm sido propostas como fotoabsorvedores, e o mais comum é o uso da tinta nanquim (65, 70, 71). Existem vários inconvenientes do uso do nanquim como fotoabsorvedor, como o manchamento pós-irradiação, a difícil remoção da superfície do dente e a facilidade de penetração em sulcos e trincas na superfície dental. Há também relatos da utilização de solução de diamino-fluoreto de prata com esse fim, porém o resultado no quesito da alteração de cor é pior ainda, pois a cor residual preta não é removível, por causa da formação de prata como subproduto da sua reação com os tecidos dentais (72). Como alternativa ao uso da tinta nanquim, Boari descreveu a utilização de carvão em pó em solução alcoólica para irradiação de esmalte com laser de neodímio, com desempenho melhor que o do nanquim quanto a seus inconvenientes descritos acima (18). Kato testou a utilização de vários veículos líquidos para o carvão, e de acordo com o melhor desempenho em diversos quesitos como a homogeneidade, a facilidade de aplicação e a evaporação após a aplicação sobre a superfície dentária, a solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9% teve melhor desempenho (29).

### **3.4 Microscopia Eletrônica de Varredura (73-75)**

#### **3.4.1 Preparação das Amostras**

O Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) necessita que o espécime obedeça a duas condições básicas para fazer a captura de elétrons: que a amostra esteja seca (desidratada) e que conduza elétrons. Dependendo do

tipo de material, a preparação pode-se resumir a posicionar o espécime no suporte (“*stub*”) e fazer a microscopia, como é de fato a preparação para microscopia de metais. Para outros tipos de materiais (biológicos principalmente), a preparação é mais complexa, e pode ser descrita em várias etapas, comentadas a seguir.

### 3.4.1.1 Fixação e Secagem

Estes passos têm a sua importância no fato de que o MEV opera num ambiente a vácuo, e pode-se implicar em alteração de forma quando submetido a essas condições. O equipamento também pode ser contaminado e inutilizado em pouco tempo nessas condições, pois a amostra pode liberar alguns contaminantes sob vácuo e estes podem se depositar em peças sensíveis do MEV.

A estabilização da forma é feita com a fixação, que pode ser feita de duas formas: fixação física, através de congelamento por jatos de nitrogênio líquido, ou fixação química. A fixação química é geralmente feita com a mesma substância que substitui a água, então dois objetivos são alcançados com um mesmo passo operatório: a desidratação e a redução da tensão superficial da água. São usados vários líquidos com esse objetivo, todos eles com uma tensão superficial menor que a água: álcool, éter, acetona e preparados comerciais, como o HMDS (Hexa-Metil-Di-Silazane). Dependendo do tipo de material, como é o caso de folhas ou outros espécimes vegetais, pode-se utilizar a fixação a vácuo para uma melhor penetração da substância química em seu interior.

Outros métodos usados para se evitar os efeitos da tensão superficial são: o congelamento da amostra seguido pela sublimação do gelo sob vácuo para a eliminação da água, fazer a microscopia sem desidratar o espécime (se a amostra e o equipamento permitirem) ou o método do ponto crítico.

O método do ponto crítico se baseia no fato de que a pressão intrínseca do líquido é maior que a do gás que a rodeia (ou mesmo o ar). Aumentando-se a pressão e a temperatura, o líquido do tecido e o gás ao redor passam a ter a mesma pressão, anulando-se a tensão superficial, e o líquido pode passar de um estado para outro sem que haja deformação da amostra. Para

isso, é utilizado gás carbônico aquecido a cerca de 60 °C, que é injetado numa câmara com as amostras, sob condições controladas.

Em amostras dentais, especialmente quando se quer observar esmalte e dentina, os passos operatórios consistem em fixar e desidratar a amostra com série crescente de concentrações de álcool etílico, seguido da secagem em ambiente de baixa umidade ou pelo método do ponto crítico. Nesse caso, o esmalte e a dentina geralmente têm resistência suficiente para resistir a alguma eventual deformação, mas há problemas na formação de trincas de superfície, especialmente quando submetido ao vácuo no interior do MEV, daí a importância de se seguirem corretamente estes passos operatórios.

#### **3.4.1.2 Montagem**

As amostras a serem observadas ao MEV são geralmente colocadas sobre suportes cilíndricos de alumínio ou latão, também conhecidos pela denominação em inglês *stubs*. Deve ser observada a orientação da amostra em relação ao feixe de elétrons e ao coletor de elétrons, pois um posicionamento inadequado pode trazer dificuldades no momento da realização da microscopia. A adesão da amostra sobre o suporte deve ser feita de preferência com adesivos condutores de elétrons, para ajudar no fluxo e conseqüentemente na observação do espécime. Para isso, podem ser utilizados adesivos à base de prata ou carbono coloidal, esmalte de unha, fitas dupla-face ou adesivos à base de cianoacrilato. Esta colagem deve ser feita com cuidado, pois os espécimes desidratados podem ficar frágeis e quebradiços.

#### **3.4.1.3 Recobrimento Metálico**

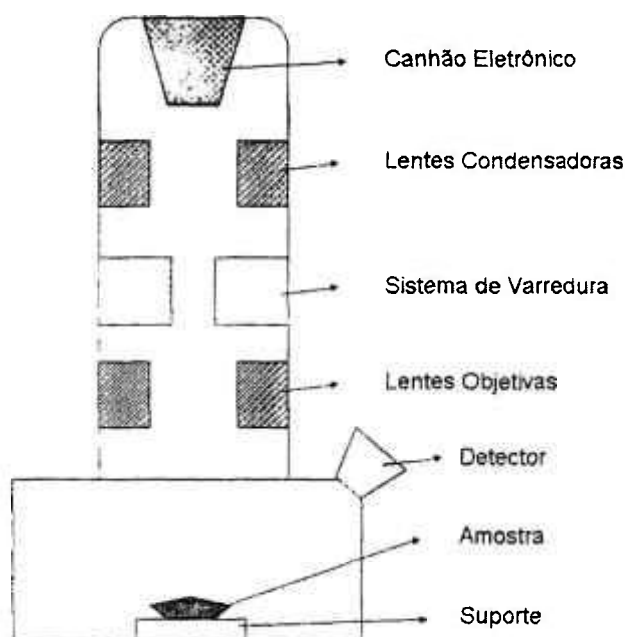
A função do recobrimento metálico (em inglês *sputtering* ou *sputter coating*) é a de tornar o espécime condutor térmico e elétrico, para evitar o acúmulo de elétrons vindos do canhão na superfície da amostra. Esse acúmulo pode defletir o feixe de elétrons, podendo causar aberrações, como astigmatismo ou brilho excessivo na imagem, ou ainda danificar a amostra durante a observação, por causa do seu aumento da temperatura.

Os materiais utilizados para recobrimento dependem da finalidade da microscopia: ouro para observação topográfica no MEV ou carbono para a

realização da micro-análise por raios-X. A espessura deve ser a menor possível; geralmente a camada de ouro é da ordem de 20  $\mu\text{m}$ , para que haja a formação de elétrons secundários e para não interferir sobre a resolução de imagem. O método utilizado geralmente consiste em evaporar o ouro ou carbono, que se condensa e se deposita sobre a amostra, que pode ser carregada eletricamente para uma melhor atração.

### 3.4.2 Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV)

De uma maneira bem resumida, o Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) funciona com um feixe de elétrons aplicado sobre o objeto a ser observado, sendo que os elétrons refletidos por ele são capturados por um detector, transformados em sinais eletrônicos e reproduzidos por um monitor semelhante a um aparelho televisor. Didaticamente, o MEV pode ser dividido em uma série de sistemas, divididos de acordo com a sua função, de acordo com a Figura 2.



**Figura 2:** Representação esquemática dos componentes de um Microscópio Eletrônico de Varredura.

O canhão eletrônico produz um feixe de elétrons que serve para iluminar a amostra. Esse feixe de elétrons originalmente tem uma grande intensidade, e uma grande dimensão, a qual é diminuída por um sistema de lentes eletromagnéticas até um tamanho adequado para a microscopia de

varredura. Geralmente esse sistema é composto por várias lentes, que servem para aumentar a eficiência dos aumentos obtidos. O feixe de elétrons é dirigido sobre a amostra por um sistema de varredura. A interação dos elétrons com a amostra produz vários tipos de sinais que são coletados por um detector específico, e transformados em imagens que podem ser vistas em um monitor de TV ou do computador acoplado ao MEV. Esse computador pode ser também o responsável pelo controle dos vários sistemas eletrônicos que fazem parte do MEV, como lentes, canhão e o suporte da amostra.

### **3.4.3 Interação do feixe de elétrons com a amostra**

No MEV, quando os elétrons incidem sobre a amostra, vários sinais são gerados e coletados simultaneamente, possibilitando ao operador fazer vários tipos de observação microscópica, dependendo do tipo de detecção. Os principais tipos de sinais estão descritos a seguir. Para a análise morfológica de tecidos dentais duros (esmalte e dentina) no MEV, geralmente é utilizada a detecção de elétrons secundários.

#### **3.4.3.1 Elétrons secundários**

É o tipo de elétrons mais usado para a geração de imagens topográficas no MEV por serem originados na interação com os átomos superficiais. São elétrons de baixa energia, gerados pelo espalhamento inelástico do feixe de elétrons do canhão com os átomos da superfície da amostra.

#### **3.4.3.2 Elétrons retroespalhados**

São elétrons que interagiram com o núcleo do átomo da amostra e voltam praticamente na mesma direção do feixe incidente, e são elétrons de alta energia. Como existe uma relação dos elétrons retroespalhados com o número atômico do elemento, esse tipo de elétrons pode fornecer informações a respeito da distribuição de átomos da amostra.



### **3.4.3.3 Raios-X**

A interação dos elétrons com a amostra gera também raios-X. Caso o MEV possua detectores para tipo de radiação, ele possui também a capacidade de analisar a composição da amostra. Esse exame é chamado microanálise de raios-X.

### **3.4.3.4 Corrente passando pela amostra**

Os elétrons não refletidos pela amostra fluem para a terra, e a corrente desses elétrons pode ser usada para gerar imagens abaixo da superfície. Esse tipo de análise é usada para analisar amostras semicondutoras.

## **3.5 Medição de temperatura no elemento dental**

### **3.5.1 Temperatura intrapulpar**

O intuito desse tipo de medição é o de verificar se o aumento de temperatura promovido por algum procedimento odontológico pode causar alterações nocivas ao tecido pulpar. Segundo Zach & Cohen, aumentos de temperatura acima de 5,5 °C podem promover alterações pulpares que podem culminar na sua necrose (76).

Essa preocupação tem o seu fundamento relacionado ao fato de que vários procedimentos odontológicos podem resultar no aquecimento do elemento dental e podem ultrapassar o limite seguro de observado por Zach & Cohen, como a confecção de preparos cavitários com o uso de brocas (77), confecção de provisórios em resina (78, 79), remoção de cimentos ortodônticos para a colagem de bráquetes (80, 81), clareamento dental com lâmpada halógena, LED ou laser (82-84), irradiação laser para preparos cavitários (85-88), prevenção às cáries (29, 89) ou para tratamento periodontal (14).

As medições de temperatura intrapulpar relatadas na literatura encontrada geralmente têm usado termopar (13, 87, 90-93), porém há também relatos do uso de câmera termográfica com esse fim (94).

### 3.5.2 Temperatura de superfície

O fundamento de se medir o aumento de temperatura da superfície dental durante a irradiação de um laser é que o aquecimento a partir de certa temperatura pode trazer um aumento da resistência à desmineralização por parte do esmalte ou da dentina dental. Há várias hipóteses para a promoção desse aumento de resistência, como mudança da morfologia da superfície do esmalte pela sua fusão e posterior ressolidificação, a formação de compostos de fosfatos de cálcio insolúveis (95) ou a eliminação de matriz orgânica do esmalte (96).

Os estudos encontrados relatam a mensuração da temperatura superficial do esmalte dental com o uso de câmera termográfica (33, 94) análises morfológicas (93) ou químicas (97), com a posterior comparação dos resultados obtidos com outros já conhecidos. Khosroshahi & Ghasemi desenvolveram um método de determinação de temperatura utilizando a deflexão fototérmica. Isso significa que o aumento da temperatura de superfície pode ser estimado pelo cálculo da alteração do coeficiente de refração do meio (98).

Há a possibilidade de se prever a temperatura da superfície pela temperatura medida na face oposta de uma fatia de esmalte de espessura conhecida. O fundamento desse método de medição da temperatura da superfície é a de que o calor do laser se espalha da superfície irradiada para a de medição de acordo com algumas constantes térmicas do esmalte, como a condutividade térmica, calor específico e a difusividade térmica. Conhecendo-se essas constantes e o tempo medido a partir do disparo do laser, é possível determinar a temperatura da região da superfície irradiada. A Tabela 1 mostra algumas das constantes encontradas na literatura pesquisada.

**Tabela 1: Dados de algumas constantes térmicas encontradas na literatura que foram usadas nos cálculos do trabalho.**

Dados	Valores	Referência
Densidade (esmalte)	2,97 g/cm <sup>3</sup> (permanente) 2,95 g/cm <sup>3</sup> (decíduo)	(99)
Densidade (dentina)	2,14 g/cm <sup>3</sup> (permanente) 2,18 g/cm <sup>3</sup> (decíduo)	
Calor específico (Esmalte)	0,18 cal/g °C	(100)
Calor específico (Dentina)	0,28 cal/g °C	
Condutividade térmica (esmalte)	2,23 mcal/s cm °C	(101)
Condutividade térmica (dentina)	1,36 mcal/s cm °C	(102)
Difusibilidade térmica (esmalte)	0,183 mm <sup>2</sup> /s	
Difusibilidade térmica (dentina)	0,258 mm <sup>2</sup> /s	(103)
Módulo de Young (dentina)	10,3 GNm <sup>-2</sup>	
Coeficiente de Poisson (dentina)	0,24	(104)

### 3.5.3 Termopar

O termopar consiste de dois fios de metais diferentes unidos em um só ponto. O princípio de funcionamento é o de que a junção desses dois materiais possui uma resistência que varia de acordo com a temperatura. Essa variação pode ser medida e a temperatura pode ser calculada a partir daí. O termopar utilizado neste estudo foi o do tipo K, que é composto por uma liga Cromel (níquel a 90% mais cromo a 10%) no aterramento positivo, e por Alumel no negativo, que é uma liga metálica composta de níquel a 95%, alumínio, manganês e silício. Sua faixa de utilização situa-se entre -200 °C a 1200 °C e existe uma proporção entre o tamanho da junção com o tempo de resposta e a faixa de utilização (105, 106).

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Estudo das características físicas dos fotoabsorvedores utilizados**

#### **4.1.1 Espessura e absorbância dos corantes fotoabsorvedores usados neste estudo**

Os corantes absorvedores utilizados nesta e nas outras etapas do estudo foram: carvão ativado em pó (Herbarium Laboratório Botânico Ltda., Paraná, Brasil) misturado com solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9% e tinta nanquim (Faber Castell S. A., São Paulo, Brasil).

Para a medição da espessura e da absorbância dos dois corantes, estes foram aplicados uniformemente entre duas lâminas de vidro com um pincel, sem pressioná-las, para que os dados não fossem alterados.

A espessura de película foi medida com um relógio comparador (Mitutoyo, SP, Brasil), e a espessura do corante foi obtida pela subtração da medida das duas lâminas com o corante interposto pela das duas lâminas sem o corante.

A absorbância dos dois fotoabsorvedores foi medida com um espectrofotômetro (HR2000, Ocean Optics Inc, EUA), que funciona ligado a um computador com o software controlador (OOI Base32 2.0, Ocean Optics Inc, EUA). Os dados salvos pelo software controlador foram analisados posteriormente com o auxílio de outro software, o Microcal Origin 6.0 (Microcal Software Inc., MA, EUA).

#### **4.1.2 Espectroscopia de transmissão de 1 cm de água.**

Esta parte do estudo teve por objetivos mensurar o quanto a água contida no corante e nos tecidos dentais poderia influenciar nas características de absorção da radiação laser em 960 nm e 1064 nm. Esses são os comprimentos de onda do laser de diodo utilizado neste estudo e do laser de Nd:YAG, cujos efeitos estão bem descritos em outros trabalhos encontrados na literatura e seu comprimento de onda é próximo ao laser descrito no trabalho.

Neste experimento, as medidas foram tomadas no espectrofotômetro modelo Cary 17 (On-Line Instrument Systems Inc., EUA), instalado no Laboratório de Espectroscopia Ótica do Centro de Lasers e Aplicações. Em seu interior, foi posicionada uma cubeta de quartzo, com recipiente de espessura de 1 cm, na qual foi colocada água bi-deionizada. Após o registro das medidas, estas foram registradas em computador para análise com o software Microcal Origin 6.0.

#### 4.2 Estudo Morfológico do esmalte de dentes decíduos irradiado pelo laser de 960 nm

O laser de diodo utilizado neste estudo (Figura 3), de comprimento de onda de 960 nm, foi regulado para operar com taxa de repetição de 10 Hz, potências-pico de 6,5 W a 8 W, duração de pulso de 2,5 a 15 ms e intensidade de 2,29 kW/cm<sup>2</sup> a 2,85 kW/cm<sup>2</sup> na ponta da fibra, no regime operacional “quase contínuo” (qcw). De acordo com estudos prévios, foram utilizados alguns parâmetros que se mostraram capazes de promover formação de plasma durante a irradiação e outros que promoveram aumentos de temperatura seguros. Esses parâmetros foram utilizados em outros estudos para irradiação do laser de diodo sobre esmalte de dentes permanentes, e foram capazes de promover modificações morfológicas nos mesmos (17, 107). Esses parâmetros estão expostos na Tabela 2.

Tabela 2: Parâmetros utilizados no estudo.

Parâmetro	Potência-Pico (W)	Tempo de Pulso (ms)	Taxa de Repetição (Hz)	Intensidade na Ponta da Fibra (kW/cm <sup>2</sup> )
1	8,0 W	15,0 ms	10 Hz	2,85 kW/cm <sup>2</sup>
2	6,5 W	7,5 ms	10 Hz	2,29 kW/cm <sup>2</sup>
3	6,5 W	5,0 ms	10 Hz	2,29 kW/cm <sup>2</sup>
4	6,5 W	2,5 ms	10 Hz	2,29 kW/cm <sup>2</sup>

##### 4.2.1.1 Variação da intensidade

Nesta parte do estudo, foram utilizados dez dentes molares decíduos, clinicamente hígidos, que sofreram esfoliação fisiológica ou foram extraídos por razões ortodônticas. Os dentes selecionados foram armazenados em solução de

formalina a 10% por uma semana e então em soro fisiológico sob refrigeração (5 °C) até o momento da realização do experimento. Antes da sua utilização, estes dentes foram seccionados no sentido mésio-distal com um disco diamantado (modelo 15HC, Buehler Ltd., EUA) montado em uma serra de baixa velocidade (IsoMet, Buehler Ltd., EUA), submetidos a uma profilaxia com pasta de pedrapomes e água, com o uso de taça de borracha montada em peça de mão de baixa velocidade, para remoção de detritos que eventualmente estivessem aderidos à sua superfície. Esses fragmentos dentais foram incluídos em resina acrílica de uso odontológico (JET, Artigos Odontológicos Clássico Ltda., São Paulo, SP), formando uma base que deixasse seu campo de irradiação na posição horizontal.

Antes de cada irradiação, a superfície do esmalte preparado foi coberta com uma camada de corante fotoabsorvedor (carvão em pó ou tinta nanquim). O feixe de luz foi entregue através de uma fibra óptica com diâmetro de 600 µm, posicionada perpendicularmente à superfície do esmalte, a uma distância aproximada de 1 a 2 mm da superfície. A área irradiada era um quadrado com dimensões aproximadas de 2 a 3 mm de lado (Figura 4). A irradiação foi feita com os parâmetros 1 e 3, que correspondem a potência-pico de 8 W, taxa de repetição 10 Hz, tempo de pulso de 15 ms e intensidade de 2,85 kW/cm<sup>2</sup> (parâmetro 1) e potência-pico de 6,5 W, taxa de repetição 10 Hz, tempo de pulso de 5 ms e intensidade de 2,29 kW/cm<sup>2</sup> (parâmetro 3).

Após a irradiação, as amostras foram preparadas para observação em microscópio eletrônico, com desidratação em série crescente de soluções alcoólicas (70%, 80%, 90%, 95% e duas vezes de 100%), por 24 horas em cada solução, secagem numa cuba desumidificadora por 24 horas, posicionadas em suportes apropriados ("stubs" metálicos) e cobertas com ouro. As amostras foram observadas sob vários aumentos em um microscópio eletrônico de varredura (MEV) (Philips modelo LX-30, Oregon, USA), regulado para 20 kV.

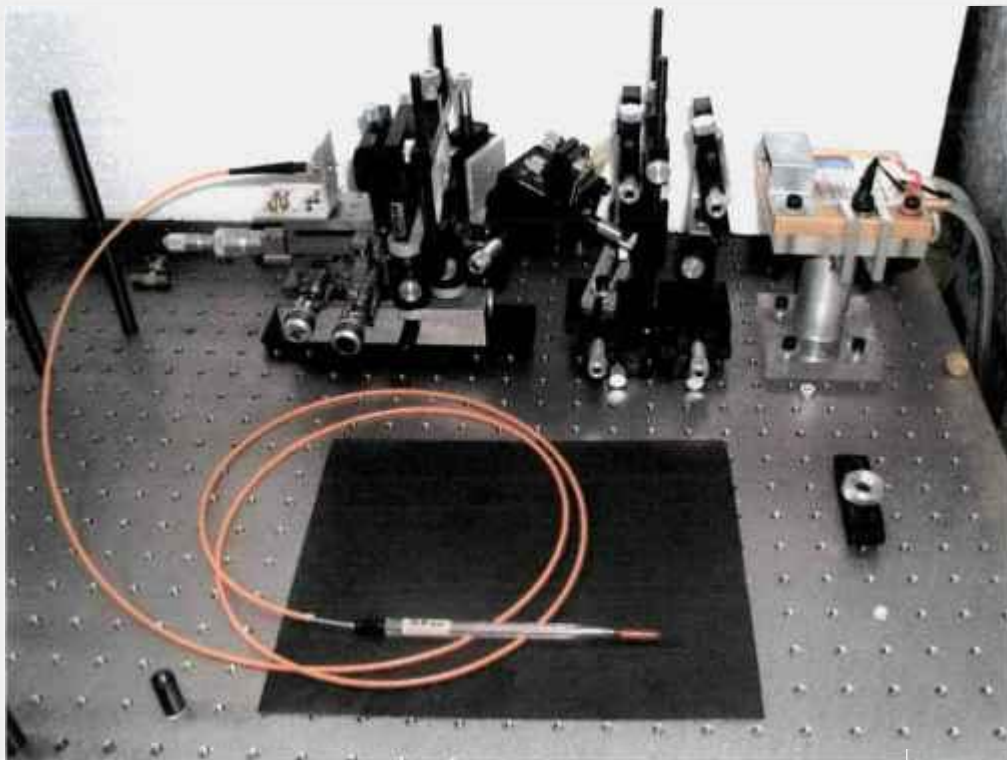
#### **4.2.1.2 Variação do corante fotoabsorvedor**

##### **4.2.1.2.1.1 Tinta nanquim, carvão em pó e ausência de corante**

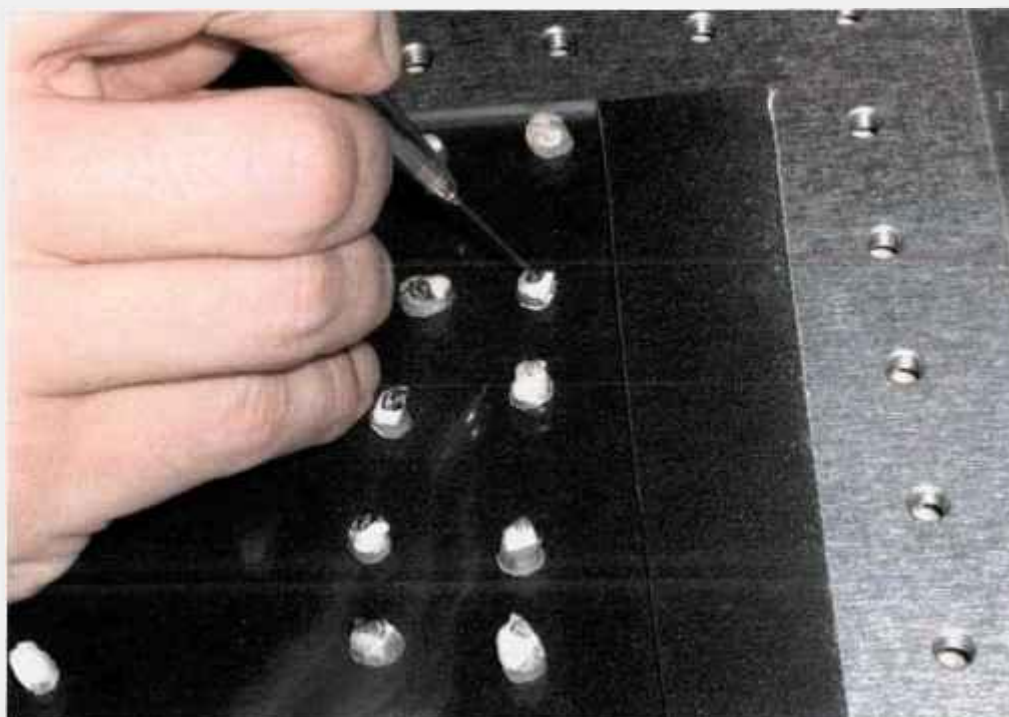
Nesta parte do estudo foram comparados os efeitos da irradiação do laser de diodo de 960 nm com a utilização de carvão em pó em solução fisiológica

de cloreto de sódio a 0,9% e tinta nanquim como corantes fotoabsorvedores e na ausência do mesmo.

O laser de diodo foi utilizado no parâmetro 3 (potência-pico de 6,5 W, taxa de repetição de 10 Hz, tempo de 5 ms/pulso, intensidade de 2,29 kW/cm<sup>2</sup>), nas três condições de irradiação. O tempo de irradiação foi de 10 segundos e a temperatura foi monitorada por 40 segundos.



**Figura 3: Laser de diodo utilizado no estudo.**



**Figura 4: Irradiação dos fragmentos dentais pelo parâmetro 1 do laser de diodo utilizando carvão em pó (amostras à direita) e tinta nanquim (amostras à esquerda) como corantes fotoabsorvedores.**



### 4.3 Estudo Térmico

#### 4.3.1 Temperatura intrapulpar

##### 4.3.1.1 Variação de corantes fotoabsorvedores no aumento de temperatura de dentes decíduos

Nesta etapa foram utilizados 3 incisivos centrais superiores decíduos esfoliados fisiologicamente. Através da abertura radicular, foi introduzido um termopar do tipo K, com 0,127 mm de diâmetro e tempo de resposta de 0,1 segundo (Omega Engineering Inc., USA). A ponta ativa do termopar foi colocada na câmara pulpar e mantida na parede vestibular com o auxílio de pasta térmica (KS-609, Shin-Etsu Chemical Co., Ltd., Japan) e o conjunto dente-termopar foi envolto por massa de modelar (Faber Castell, Brazil), que foi posto sobre um "peltier" mantido em temperatura constante de 36 °C usando um dispositivo termoelétrico (modelo CP2-12706L, Melcor, New York, USA) ligado a um controlador modelo 2416 (Eurotherm, UK). Este sistema foi descrito por Kato *et al.* (90).

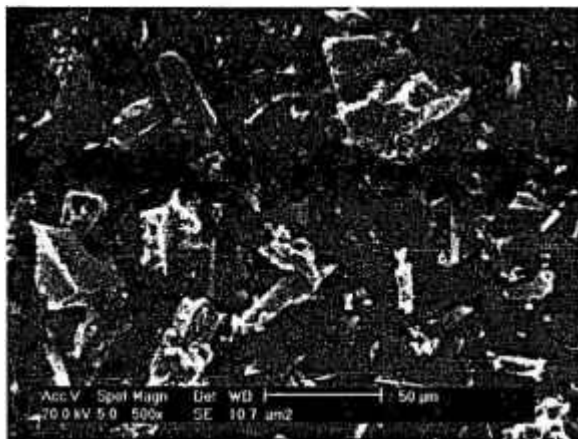
O dente assim montado foi irradiado pelo laser de diodo de 960 nm, com potência-pico de 6,5 W, trabalhando no modo qcw, com taxa de repetição 10 Hz, intensidade calculada de 2,29 kW/cm<sup>2</sup> na ponta da fibra, por 10 segundos. O tempo de pulso variou entre 2,5 ms, 5 ms e 7,5 ms, de acordo com o grupo de irradiação (parâmetros 4, 3 e 2, respectivamente). A área irradiada foi um quadrado de 3 mm de lado. Antes de cada irradiação, dependendo do grupo, houve a aplicação com um pincel de um corante fotoabsorvedor (carvão ativado em pó com solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9% ou tinta nanquim), e a espera de 30 segundos com o objetivo de padronizar a secagem do mesmo. Após a irradiação durante 10 segundos, a temperatura foi monitorada por mais 30 segundos, para ser possível a análise do comportamento de temperatura.

O termopar foi conectado a um conversor de temperatura (modelo TC-253, Beckman Inc., Califórnia, EUA) e este a um osciloscópio digital (modelo TDS360, Tektronix Inc., Oregon, EUA), que armazenou os dados para serem

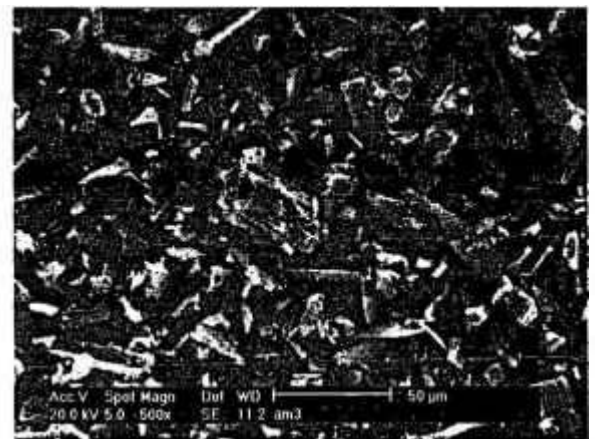
analisados com o auxílio do software Microcal Origin 6.0 (Microcal Software Inc., MA, EUA).

#### 4.3.1.2 Influência do tamanho de partículas do carvão

Para esse experimento, foi utilizado carvão ativado em pó (Herbarium Laboratório Botânico Ltda, PR), que foi moído em almofariz por 20 minutos e passado em peneiras de 270 e 400 mesh (53 e 38  $\mu\text{m}/\text{mm}$ , respectivamente). Uma amostra do carvão que não passou pela etapa de moagem foi usada para fins de comparação. Uma observação em MEV demonstrou que o carvão original tinha muitas partículas com dimensões por volta de 50  $\mu\text{m}$ , enquanto que o moído e peneirado tinha partículas menores. Uma medição feita pelo Laboratório de Caracterização de Pós do Centro de Ciência e Tecnologia dos Materiais do IPEN determinou que a dimensão média das partículas moídas e peneiradas era de 13,95  $\mu\text{m}$  (Figura 5 e Figura 6).



**Figura 5: Eletromicrografia do pó de carvão antes da moagem e peneiração, com a presença de muitas partículas de dimensões de aproximadamente 50  $\mu\text{m}$  (aumento original 500x, barra 50  $\mu\text{m}$ ).**



**Figura 6: Eletromicrografia do pó de carvão depois da moagem e peneiração, com a presença de partículas menores que 50  $\mu\text{m}$  (aumento original 500x, barra 50  $\mu\text{m}$ ).**

Para se verificar a diferença entre o carvão triturado ou não, foi feito um ensaio de temperatura irradiando com o laser de diodo no parâmetro 3 (potência-pico de 6,5 W, taxa de repetição de 10 Hz, tempo de 5 ms/pulso, intensidade de 2,29  $\text{kW}/\text{cm}^2$ ) durante 10 segundos, sobre um incisivo inferior permanente. Os aumentos de temperatura foram registrados com o uso de um termopar ligado ao conversor temperatura e este ao osciloscópio digital. Foram tomadas 3 medidas utilizando cada corante, de forma intercalada. Os dados foram analisados com o

uso do software Microcal Origin 6.0, que ajudou a determinar a temperatura intrapulpar máxima e, a partir desse dado, o aumento da temperatura obtido.

### **4.3.2 Temperatura de superfície em esmalte de dentes permanentes**

#### **4.3.2.1 Mensuração com câmera termográfica**

O sistema de registro das medidas de temperatura consistiu numa câmera termográfica (ThermaCAM SC3000, Flir systems AB, EUA) acoplada a um computador com o software ThermaCAM Researcher 2001, de controle do sistema e análise dos dados. Como mostra a Figura 7, o dente utilizado nesta parte do estudo foi o incisivo central inferior, que foi posicionado de forma que a face vestibular ficasse perpendicular à lente da câmera e numa distância de 10 cm durante o ensaio. O incisivo inferior permanente foi mantido sobre o sistema de suporte e manutenção da temperatura descrito no experimento de temperatura intrapulpar do dente decíduo.

A irradiação foi feita ainda com o laser utilizado na parte I deste trabalho, funcionando no parâmetro 3 (potência-pico de 6,5 W, taxa de repetição de 10 Hz, tempo de pulso de 5 ms, intensidade de 2,29 kW/cm<sup>2</sup> na ponta da fibra de 600 µm de diâmetro). A ponta da fibra foi mantida imóvel.

Antes das aquisições de dados, o sistema foi calibrado em relação à temperatura da sala e dos operadores e equipamentos que estavam no ambiente no momento do experimento. Após essa calibração, o dente foi coberto com o fotoabsorvedor (carvão em pó) e foi feita a irradiação com o laser durante 10 segundos por três vezes. Os dados coletados foram analisados pelo software específico do sistema.

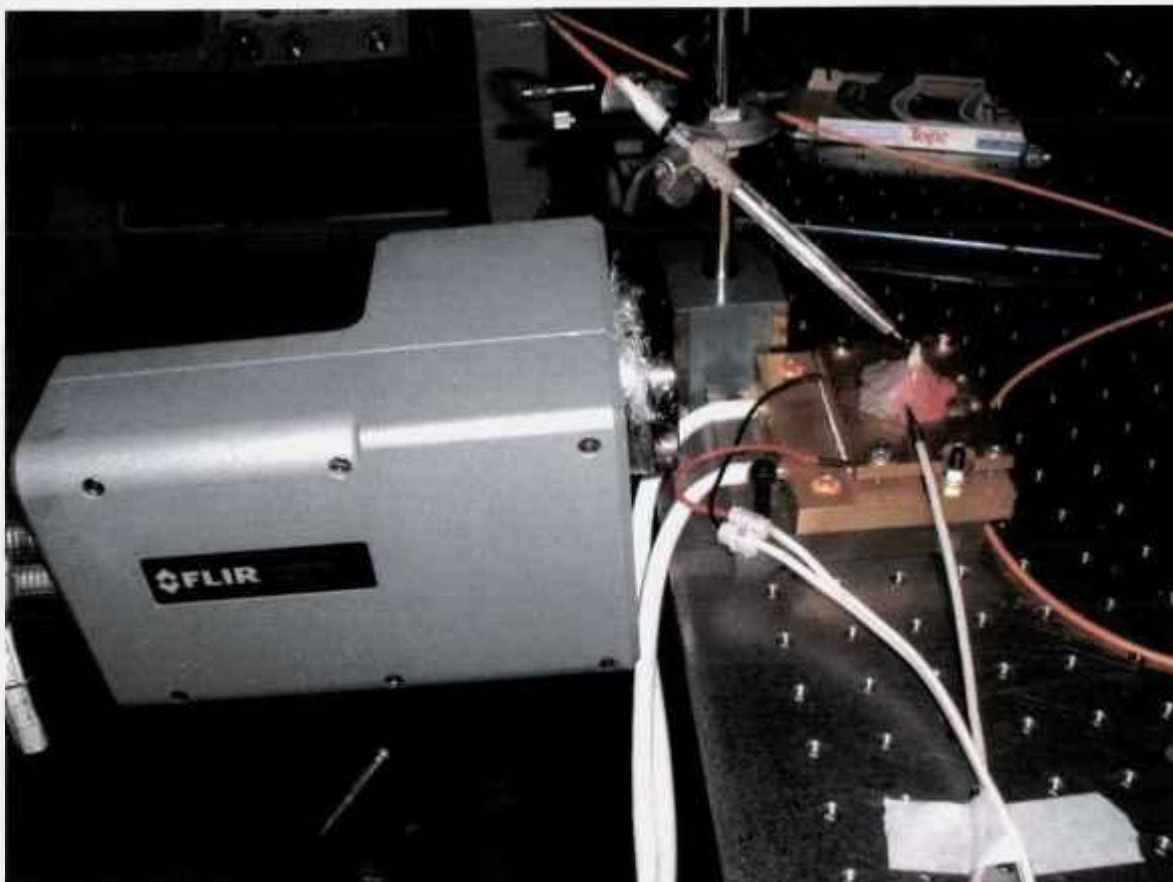


Figura 7: fotografia da montagem do experimento de medida da temperatura superficial do esmalte dental quando irradiado pelo laser de diodo de 960 nm.

#### 4.3.2.2 Mensuração com termopar de tempo de resposta de 30 $\mu$ s

Para esta parte do trabalho, foram utilizadas fatias de esmalte com espessura de 220  $\mu$ m e dimensões de 4 mm de lado, que foram retiradas de um molar permanente sem sinais clínicos de cárie, com um disco diamantado (modelo 15HC, Buehler Ltd., EUA) montado em uma serra de baixa velocidade (IsoMet, Buehler Ltd., EUA). Houve também um estudo no qual foram feitas medidas qualitativas, que consistiram na irradiação do corante aplicado diretamente sobre o termopar.

Para a coleta dos dados foi utilizado um termopar de baixo tempo de resposta, modelo E12-3-K-U-WT (Nanmac Inc., EUA) ligado a um amplificador de construção artesanal (Laboratório de Instrumentação Biomédica, Centro de Lasers e Aplicações, IPEN). O termopar utilizado teve sua ponta desgastada com uma lixa para metais número 220, até que o valor de resistência ficasse entre 8 e 12 ohm, o que corresponde ao menor tempo de resposta encontrado, de acordo

com as instruções do fabricante. Os dados colhidos e amplificados foram registrados em um osciloscópio digital (modelo TDS360, Tektronix Inc., Oregon, EUA).

A montagem de todo o sistema acima descrito foi feita de acordo com a Figura 8. Antes da coleta de dados, se fez necessário fazer a leitura da temperatura ambiente, pois este dado fez parte do cálculo da temperatura registrada.

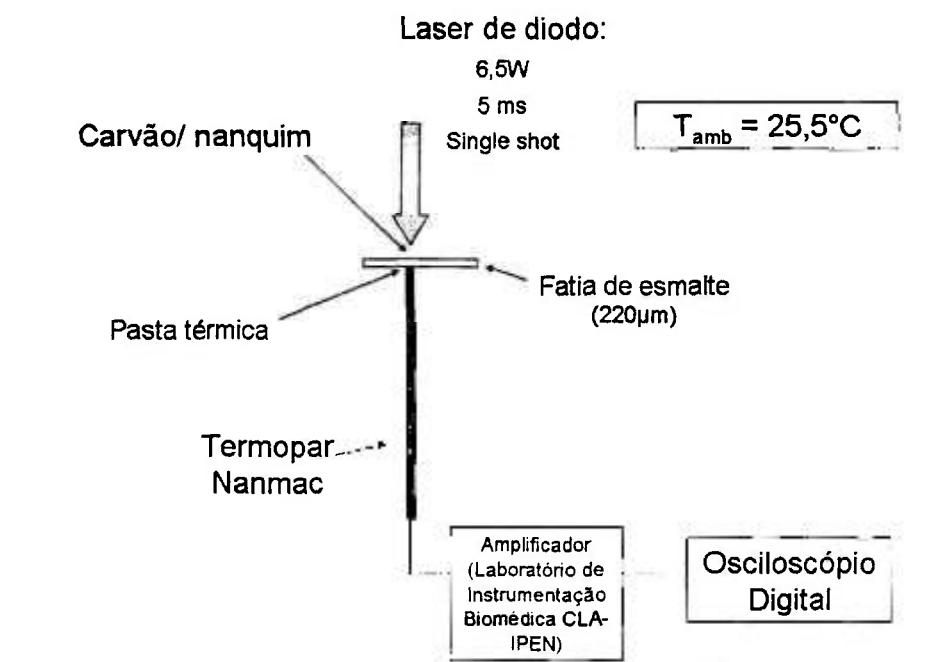


Figura 8: Esquema de montagem do aparato de medidas de temperatura com o termopar com baixo tempo de resposta. A temperatura ambiente ( $T_{amb}$ ) foi colhida imediatamente antes de serem registrados os dados do aquecimento promovido pela irradiação do laser de diodo.

O cálculo para se transformar as informações registradas pelo osciloscópio em dados de temperatura consistiu em resolver a seguinte equação:

$$V_{Tmed} = \frac{\Delta V}{100} + V_{Tamb}$$

Nesta equação, os valores de referência para as temperaturas podem ser encontrados na tabela de referência para termopar tipo K (Anexo 3). Nessa equação,  $V_{Tmed}$  é o valor de referência para a temperatura colhida pelo termopar,  $\Delta V$  é o valor registrado pelo osciloscópio e  $V_{Tamb}$  é o valor de referência para a temperatura ambiente, que no caso dessa etapa experimental foi 1 (valor

correspondente a 25 °C). Dessa maneira, o valor de  $V_{Tmed}$  foi calculado, e a temperatura a que esse valor corresponde foi encontrada na tabela.

Foram tomadas algumas medidas do comportamento térmico de um pulso laser sobre o dente e também do comportamento térmico numa seqüência de vários pulsos. No primeiro tipo de medida, a aquisição da temperatura foi feita sincronizando a leitura de temperatura do osciloscópio com o disparo do laser. No segundo, foram feitos alguns disparos de um pulso laser a cada 10 segundos. Em cada disparo do laser, foi feita a leitura na tela do osciloscópio e feito o registro manualmente, para se fazer a análise dos dados com a ajuda do software Microcal Origin 6.0.

## 5 RESULTADOS

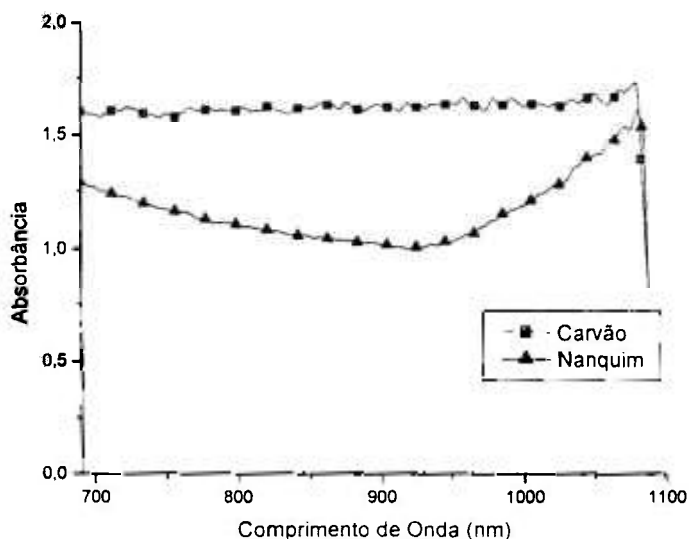
### 5.1 Estudo das características físicas dos fotoabsorvedores utilizados

#### 5.1.1 Espessura e absorbância dos corantes fotoabsorvedores usados neste estudo

As espessuras medidas e os dados da absorbância dos corantes fotoabsorvedores estão na Tabela 3 e no gráfico da Figura 9, respectivamente. A mistura de carvão em pó com a solução fisiológica de NaCl a 0,9% possui uma espessura muito maior (em cerca de 30 vezes), e uma absorbância também maior, em cerca de 30% na faixa de 960 nm, quando comparadas à tinta nanquim.

**Tabela 3: Espessuras das películas dos corantes fotoabsorvedores utilizados neste estudo.**

Corante	Espessura
Carvão em pó com solução fisiológica	160 $\mu\text{m}$
Tinta nanquim	5 $\mu\text{m}$



**Figura 9: Absorbância dos dois fotoabsorvedores usados neste estudo. A curva do carvão está limitada pela sensibilidade do aparelho.**

### 5.1.2 Espectroscopia de transmissão de 1 cm de água.

O resultado da espectroscopia pode ser visto na Figura 10. Uma lâmina de 1 cm de água transmite 63% da radiação eletromagnética na região de 960 nm, enquanto que na região próxima a 1060 nm há uma transmissão de 85%.

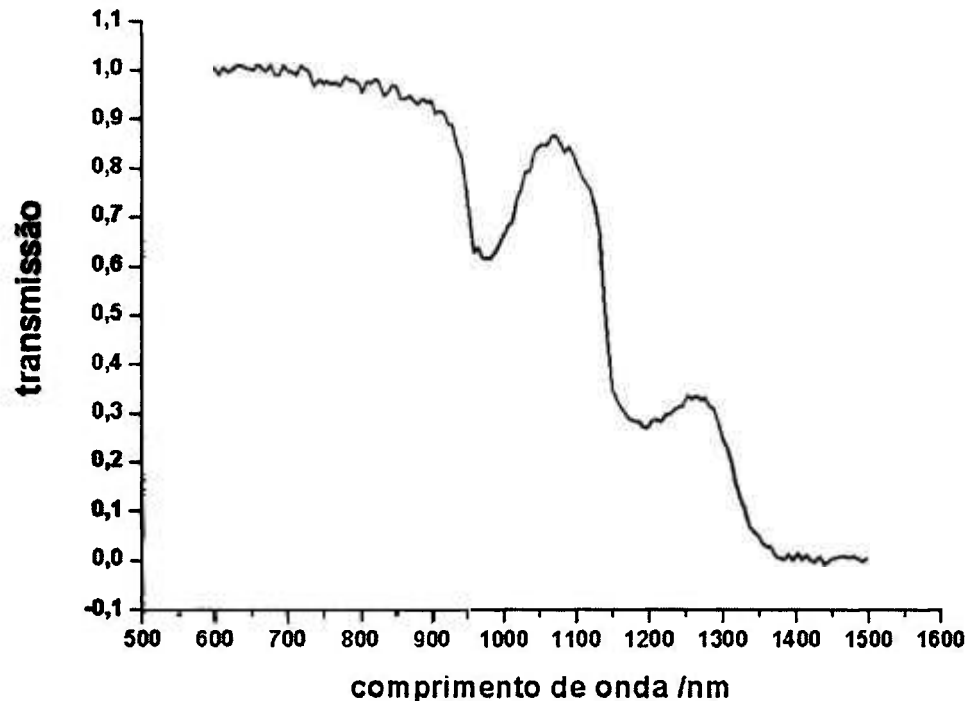


Figura 10: Gráfico da espectroscopia de transmissão de uma camada de 1 cm de água.

## 5.2 Estudo Morfológico

### 5.2.1.1 Variação da intensidade

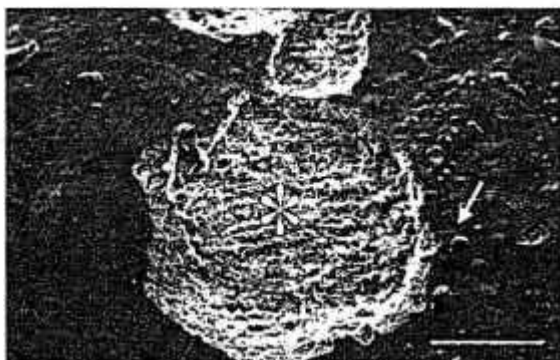
As observações das eletromicrografias demonstraram que a irradiação do laser de diodo de alta potência promoveu a modificação da superfície do esmalte de dentes decíduos.

Figura 13 e Figura 14 mostram que a irradiação do laser de diodo após a aplicação de tinta nanquim como corante promoveu o aparecimento de bolhas no esmalte, e em alguns casos até mesmo a sua ablação, revelando algumas estruturas, como os prismas e os espaços interprismáticos.

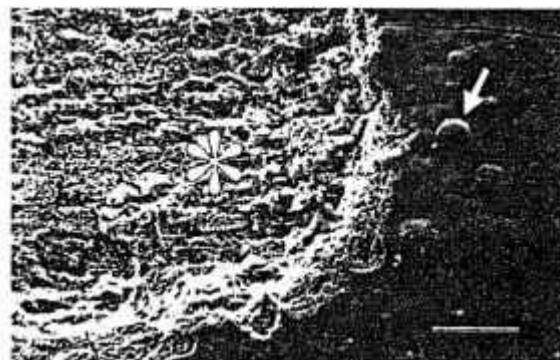
A irradiação do laser de diodo associado ao pó de carvão como corante sobre a superfície dental promoveu efeitos menos evidentes sobre a superfície do esmalte (Figura 11 e Figura 12) ou a ausência de efeitos visíveis (Figura 15),



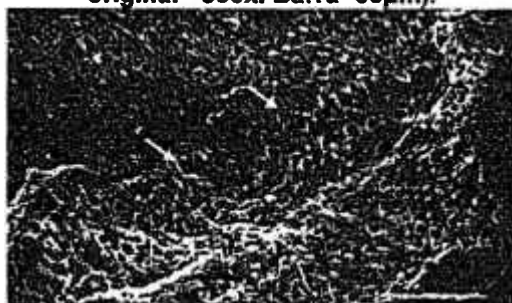
dependendo do parâmetro de irradiação. Também houve formação de bolhas no esmalte (setas) e áreas de ablação (\*), embora essas modificações tivessem menores dimensões, quando comparadas às amostras irradiadas após a aplicação de tinta nanquim.



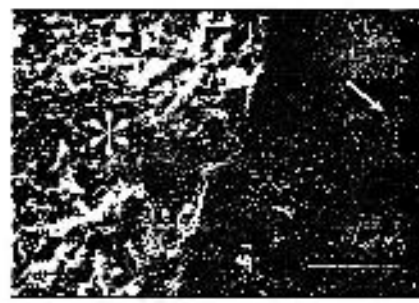
**Figura 11:** Eletromicrografia representativa de esmalte irradiado pelo laser de diodo no parâmetro 1 com o uso de fotoabsorvedor à base de pó de carvão. Há formação de áreas de ablação (\*) circundadas por bolhas levantadas pela expansão do vapor da água intrínseca do esmalte (seta). (Aumento original= 500x. Barra=50µm).



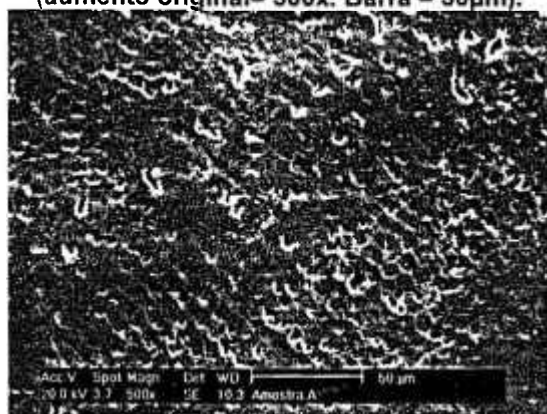
**Figura 12:** Detalhe da área vista na Figura 11, mostrando em detalhe a área de ablação (\*), ao lado de uma bolha levantada pela expansão do vapor da água intrínseca do esmalte (seta). (Aumento original= 1.000x. Barra=20 µm).



**Figura 13:** Eletromicrografia representativa do detalhe de uma cratera no esmalte formada após a ablação promovida pela irradiação do laser de diodo no parâmetro 1 com o uso de tinta nanquim como fotoabsorvedor. As setas indicam os espaços interprismáticos do esmalte (aumento original= 500x. Barra = 50µm).



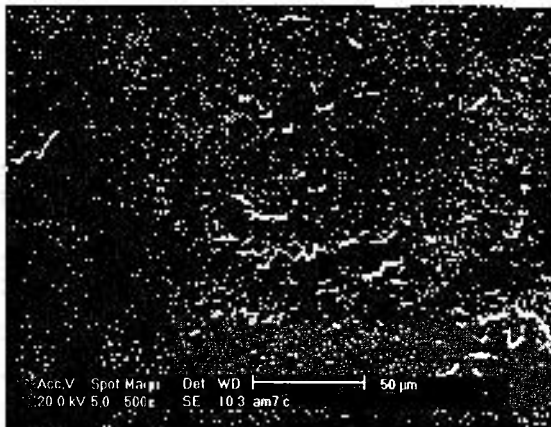
**Figura 14:** Eletromicrografia representativa de esmalte irradiado pelo laser de diodo no parâmetro 1 após aplicação de tinta nanquim. O asterisco indica uma área de ablação, circundada por bolhas (seta) formadas pela pressão do vapor de água intrínseca do esmalte (aumento original= 1.500x. Barra = 20µm).



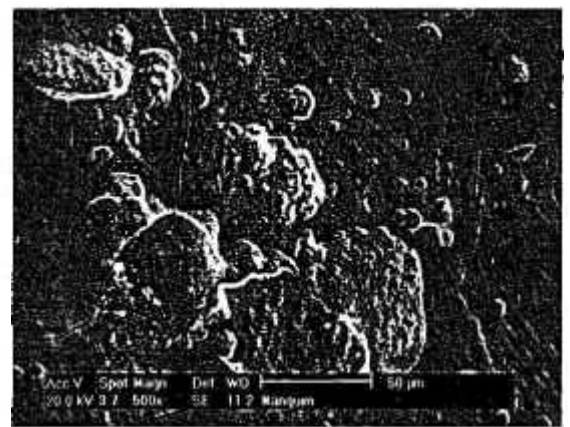
**Figura 15:** Eletromicrografia representativa do esmalte irradiado pelo laser de diodo no parâmetro 3 com o uso de carvão em pó como fotoabsorvedor. As depressões vistas formam as periquimáceas e fazem parte da estrutura do esmalte sadio e sem tratamento (aumento original= 500x. Barra = 50µm).

### 5.2.1.2 Variação do corante fotoabsorvedor

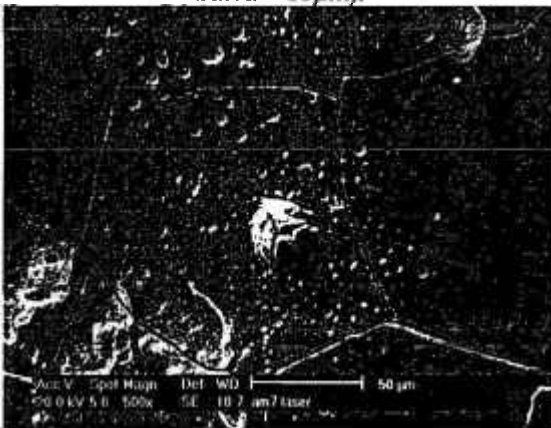
Dependendo do corante utilizado, a irradiação do laser de diodo com potencia-pico 6,5 W, taxa de repetição de 10 Hz e tempo de 5 ms por pulso causa diferentes alterações morfológicas no esmalte. A irradiação com a aplicação prévia do carvão em pó não promoveu alterações perceptíveis da superfície do esmalte (Figura 16). Já a utilização de tinta nanquim e a irradiação sem a utilização do corante causaram levantamento de bolhas e áreas de ablação de sua superfície (Figura 17 e Figura 18).



**Figura 16:** Eletromicrografia do esmalte de dente decíduo irradiado por laser de diodo na presença de pó de carvão ativado como corante absorvedor de energia (aumento original 500x, barra = 50µm).



**Figura 17:** Eletromicrografia do esmalte de dente decíduo irradiado por laser de diodo na presença de tinta nanquim como corante absorvedor de energia (aumento original 500x, barra = 50µm).



**Figura 18:** Eletromicrografia do esmalte de dente decíduo irradiado por laser de diodo sem corante absorvedor de energia (aumento original 500x, barra = 50µm).

### 5.3 Estudo Térmico

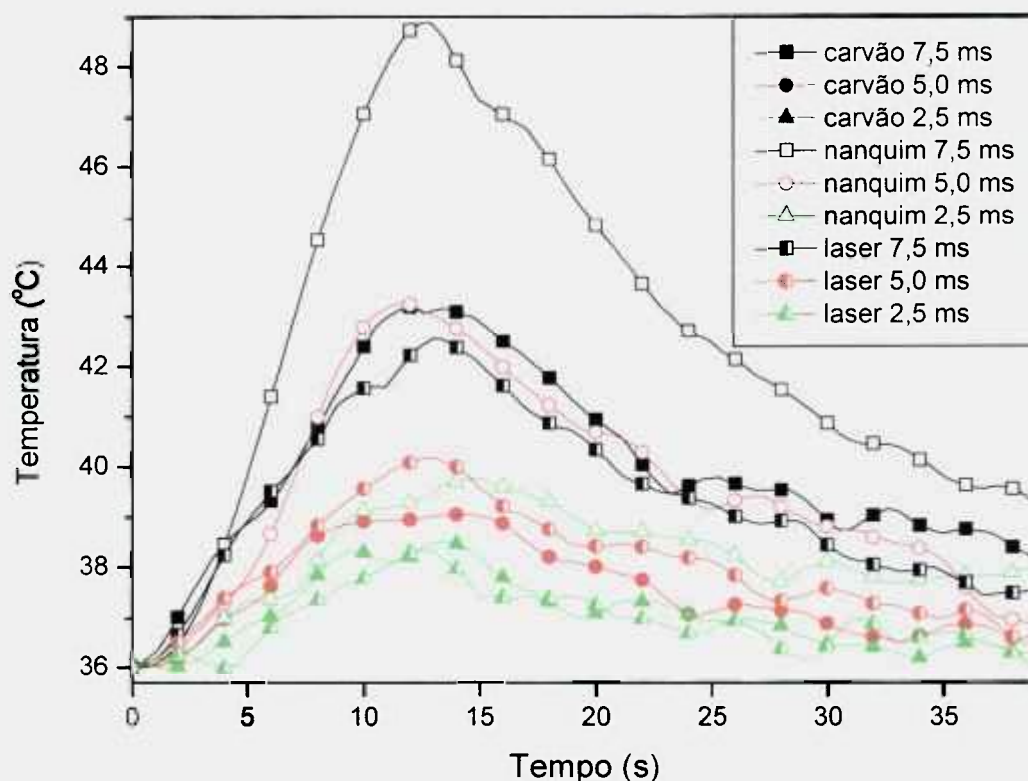
#### 5.3.1 Temperatura intrapulpar

##### 5.3.1.1 Variação de corantes fotoabsorvedores no aumento de temperatura de dentes decíduos

Os aumentos máximos de temperatura obtidos nesse experimento estão indicados na Tabela 4 e o comportamento da temperatura estão indicados nos gráficos da Figura 19. As irradiações feitas com nanquim como corante fotoabsorvedor tiveram os maiores aumentos de temperatura registrados. Já as irradiações que tiveram o carvão em pó como corante fotoabsorvedor ou feitas sem o corante tiveram resultados muito semelhantes entre si. As irradiações feitas com os parâmetros da duração de pulso de 7,5 ms, independente do corante utilizado, e 5 ms, utilizando a tinta nanquim, tiveram os aumentos de temperatura acima dos 5,5 °C descritos como críticos por Zach & Cohen em 1965 (76).

**Tabela 4: Dados com os valores médios da temperatura máxima registrada na parede vestibular da câmara pulpar e dos aumentos de temperatura correspondentes.**

Corante	Potência-Pico (W)	Duração de Pulso (ms)	Temperatura máxima registrada (°C)	Aumento de temperatura correspondente (°C)
Carvão	6,5	2,5	38,51	1,51
		5,0	39,58	2,58
		7,5	43,20	7,20
Nanquim	6,5	2,5	39,78	3,78
		5,0	43,48	6,48
		7,5	48,91	12,91
Laser sem corante	6,5	2,5	38,35	2,35
		5,0	40,21	4,21
		7,5	42,56	6,56



**Figura 19:** Gráfico dos aumentos de temperatura promovidos pela irradiação com laser de diodo em conjunto com aplicação de pó de carvão.

### 5.3.1.2 Influência do tamanho de partículas do carvão

Os resultados demonstram que os aumentos de temperatura foram bastante semelhantes entre si e sem diferenças estatísticas entre os grupos (Tabela 5). A diferença esteve no aspecto e na uniformidade do carvão. O carvão sem preparo foi removido muito mais facilmente que o carvão triturado, de acordo com as fotografias (Figura 20 e Figura 21). A área de carvão removido foi maior que o diâmetro do feixe laser.



**Figura 20:** foto evidenciando o aspecto do carvão triturado logo a irradiação do dente. O carvão não foi totalmente removido, mesmo nas regiões que foram irradiadas.



**Figura 21:** foto evidenciando o aspecto do carvão sem preparo logo após a irradiação do dente. O carvão foi totalmente removido pela irradiação do laser.

**Tabela 5: aumentos de temperatura registrados de acordo com o carvão utilizado.**

Carvão utilizado	Aumento de Temperatura (°C)
Triturado	4,0±0,9
Sem preparo	4,2±0,5

### 5.3.2 Temperatura de superfície em esmalte de dentes permanentes

#### 5.3.2.1 Mensuração com câmera termográfica

Os resultados obtidos neste experimento estão representados na Figura 22 e na Tabela 6.



Figura 22: imagem da irradiação do dente pelo laser de diodo obtida na câmera termográfica.

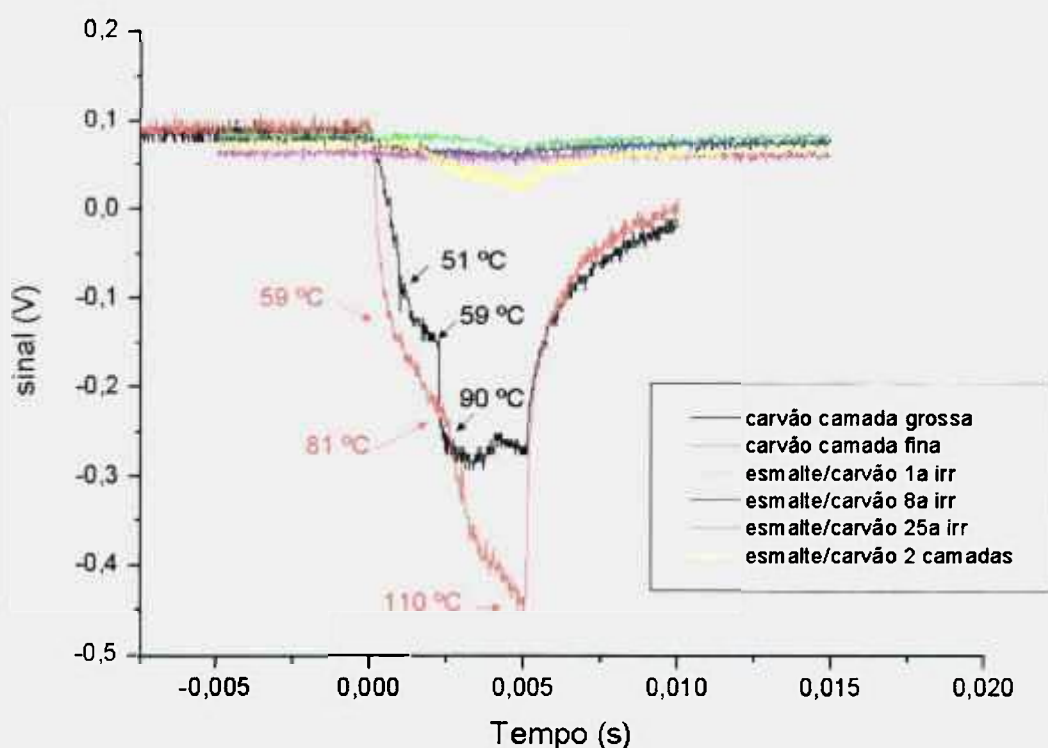
**Tabela 6: Temperaturas máximas registradas em cada irradiação.**

Irradiação	Máxima temperatura registrada (°C)
1	49,88
2	92,67
3	74,98

#### 5.3.2.2 Mensuração com termopar de tempo de resposta de 30 $\mu$ s

O comportamento térmico do pulso laser está explicitado no gráfico da Figura 23 e da Figura 24. Considerando uma das curvas da Figura 24, a maior temperatura registrada com o termopar na superfície oposta à de irradiação foi de 31 °C. O valor da temperatura na superfície do esmalte irradiado foi calculada com a equação de condução da temperatura, com os dados da Tabela 1. O valor encontrado foi de 80 °C.

A Figura 25 demonstra os aumentos das temperaturas no decorrer do tempo (de 10 em 10 s), o que mostra o momento em que o corante sofre completa ablação e é eliminado da superfície do termopar. Esse é o momento a partir do qual a temperatura se estabiliza. As fotografias da Figura 26 e da Figura 27 mostram o aspecto da ponta do termopar antes e depois do disparo do laser.



**Figura 23:** Comportamento do sinal captado em um único pulso de laser de diodo de 960nm diretamente sobre a ponta de medição do termopar de resposta rápida apenas coberta com o corante fotoabsorvedor. A absorção pelo próprio termopar causa uma elevação máxima de temperatura de aproximadamente 210 °C. As temperaturas indicadas são os correspondentes ao momento do início e o final da ablação do corante e a temperatura máxima do sistema.

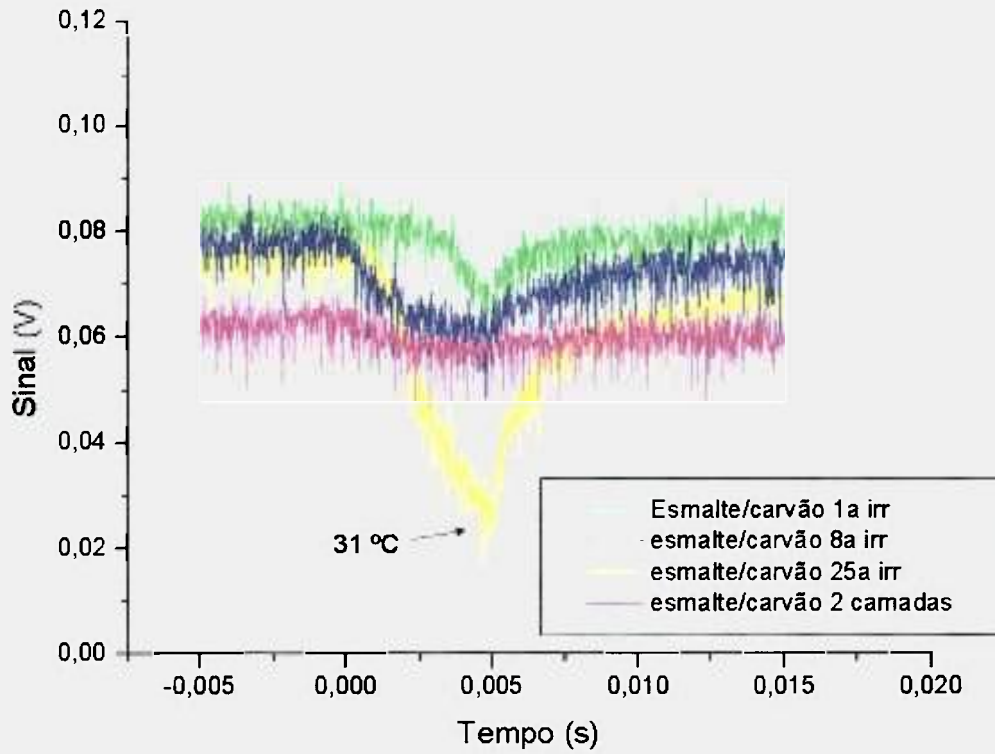


Figura 24: Gráfico da Figura 23 reescalado, para a análise dos dados conseguidos com a irradiação sobre a fatia de esmalte. A temperatura máxima registrada foi de 31 °C pelo termopar.

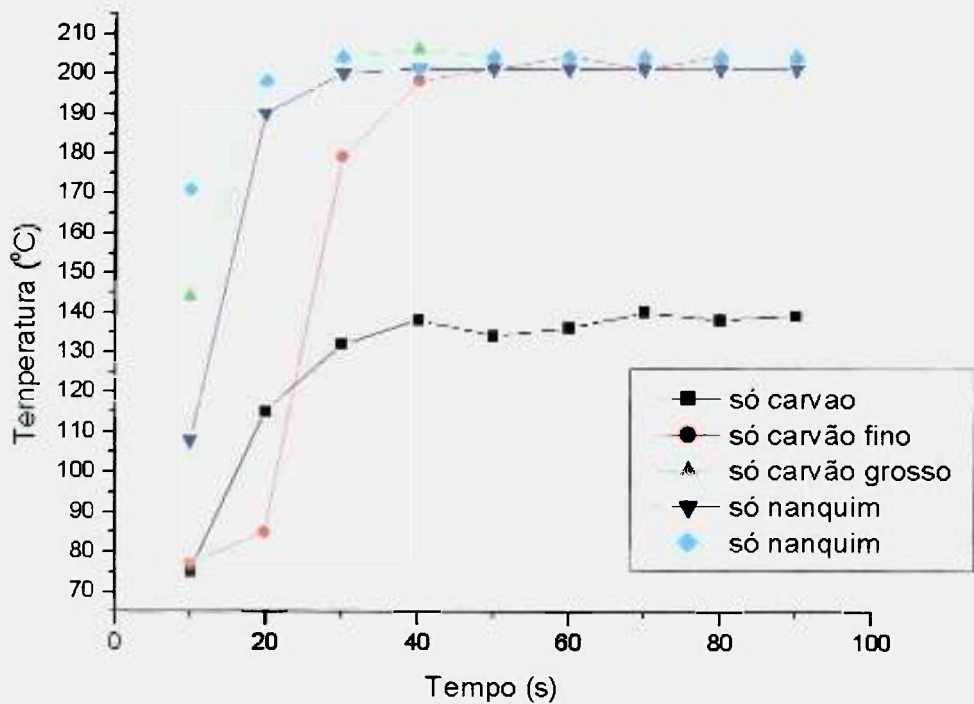


Figura 25: Registro feito sob as mesmas condições da Figura 23 para disparos laser múltiplos.





**Figura 26:** Fotografia representativa da ponta do termopar Nanmac coberto com uma camada de corante à base de carvão antes do único disparo do laser de diodo.



**Figura 27:** Fotografia representativa da ponta do termopar Nanmac coberto com uma camada de corante à base de carvão depois do único disparo do laser de diodo. A irradiação do laser removeu o carvão, formando a listra que pode ser vista no local em que feito o disparo.

## 6 DISCUSSÃO

### 6.1 Estudo do fotoabsorvedor

Os lasers com o comprimento de onda entre 800 a 1100 nm, como os lasers de diodo e o de Nd:YAG tem uma baixa absorção pelos tecidos dentais, e para potencializar os seus efeitos, utiliza-se o artifício de pigmentar o tecido-alvo com uma película de tinta nanquim (108). Porém, esse corante, quando usado com esse propósito, possui a característica indesejável de manchar o esmalte depois da irradiação, podendo inclusive ser contra-indicado para uso em prevenção contra cáries por essa razão. Como alternativa a tinta nanquim, o uso de carvão em pó foi sugerido e utilizado com esse mesmo propósito (18). A diferença no desempenho de diversos veículos líquidos para o carvão foi analisada em um estudo paralelo realizado após o experimento piloto (com o laser de 960 nm no parâmetro 1), e de acordo com o melhor desempenho em diversos quesitos como a homogeneidade, a facilidade de aplicação e a evaporação após a aplicação sobre a superfície dental, foi escolhida a solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9% que foi usada a partir desse momento (29). Apesar de não ter a inconveniência de manchar o esmalte após a irradiação, o carvão em pó teve desempenho pior quanto à transmissão de calor ao esmalte. Isso foi comprovado nas medidas de temperatura intrapulpar e pelas modificações morfológicas promovidas pela irradiação com o laser de diodo em conjunto com nanquim e carvão. Isso pode ser devido ao tamanho de partícula, característica que pode ser facilmente comprovada pela observação do corante sobre a superfície dental. O corante à base de carvão tem um aspecto mais granuloso que o nanquim, que formou uma película fina sobre a superfície do dente. Como a camada de carvão aplicada à superfície dental (aproximadamente 160  $\mu\text{m}$ , conforme medição in-loco) é muito maior que a película de nanquim (aproximadamente 5  $\mu\text{m}$ ), a transmissão de calor é menor. A aderência do corante também tem influência sobre a transmissão da energia laser para o dente, pois ele transmite a energia laser para o dente por mais tempo antes de se desprender do dente. A absorvância medida do carvão é maior que a da tinta nanquim devido à

espessura da camada, porém a sua aderência é menor, como pôde ser visto nos experimentos.

De acordo com o gráfico da Figura 10, o coeficiente de transmissão por 1 centímetro de água em 960 nm (o laser utilizado neste estudo) e 1064 nm (laser de Nd:YAG) são bem diferentes (aproximadamente 0,63 e 0,85, de acordo com o gráfico). Isto significa que a radiação do laser de diodo é absorvida de maneira diferente pela água contida no corante e pela água intrínseca da estrutura dental, em relação ao laser de Nd:YAG, ao contrário do que se pensava antes da realização deste experimento.

Foi comprovado neste trabalho que o corante é removido pelo laser durante o primeiro pulso laser. A água não tem papel nesta absorção uma vez que uma espessura de água de 160  $\mu\text{m}$  absorve apenas 1% da radiação. Outro fator que corrobora para isso são os valores de aumento de temperatura obtidos na irradiação do laser sem a aplicação de corante fotoabsorvedor e as alterações morfológicas causadas nesta situação.

## **6.2 Estudos morfológico e térmico do esmalte irradiado**

Os parâmetros foram baseados em medições preliminares e em outros trabalhos publicados pelo grupo, em aspectos quanto às modificações morfológicas promovidas e o aumento da temperatura intrapulpar. Já se sabe que a modificação da morfologia da superfície de esmalte não é fator determinante para o aumento da resistência à desmineralização ácida, como a que ocorre durante o processo de formação das cáries (109). Estudos sugeriram que o aumento da resistência à desmineralização ácida sofrida pelo esmalte durante o processo de formação da cárie se dá pelo aquecimento da hidroxiapatita e a sua conseqüente transformação em diferentes tipos de fosfatos de cálcio ácido-resistentes, como o metafosfato de cálcio e o pirofosfato de cálcio (95). Essa transformação se dá em temperaturas acima de 300 °C, segundo os mesmos autores. Outra hipótese é a de que há eliminação de matriz orgânica de esmalte a essa mesma temperatura (96, 109). Já foi comprovado que os lasers de CO<sub>2</sub>, Er:YAG e Nd:YAG promovem aumentos de temperatura compatíveis com essas temperaturas, pela análise química da superfície dental irradiada (97). Para aumentar o desafio de se utilizar os lasers com essa finalidade, o aumento de

temperatura intrapulpar do dente não deve ser grande a ponto de promover danos pulpares irreversíveis. Segundo Zach & Cohen, um aumento de 5,5 °C no interior da polpa poderia promover alterações patológicas que podem culminar numa necrose pulpar (76). Uma maneira de se diminuir os danos térmicos na polpa dental é aplicar a energia laser em forma de pulsos, que poderiam aproveitar o tempo de relaxação térmica dos tecidos dentais para diminuir a transmissão do calor para a polpa, sem diminuir a temperatura da superfície irradiada (4). Quinto Jr. demonstrou que uma mesma energia total aplicada em parâmetros diferentes de potência e tempo gera aumentos de temperatura diferentes (107). A taxa de repetição tem muito mais influência sobre o aumento de temperatura que a potência, já que há tempo para ocorrer o esfriamento do esmalte antes de receber o segundo pulso.

Na literatura, há várias hipóteses para se explicar as modificações morfológicas sofridas pelo esmalte irradiado por laser. De acordo com o comprimento de onda do laser utilizado, a hidroxiapatita e a água que compõem o esmalte podem absorver mais ou menos a energia laser e a partir daí sofrer as modificações que podem ser observadas ao microscópio. Caso a radiação seja bastante absorvida pela hidroxiapatita da camada superficial de esmalte, como é o caso do laser de CO<sub>2</sub>, pode haver aumento de temperatura suficiente para os cristais que formam o esmalte se fundirem (93). Se o comprimento de onda for bem absorvido pela água intrínseca do esmalte, pode haver a sua vaporização numa camada subsuperficial (a poucos micrometros da superfície), com o conseqüente aumento da pressão interna e remoção da sua camada imediatamente superior. Esse é o processo de ablação do esmalte, e o exemplo típico é o que ocorre com o esmalte irradiado pelos lasers de érbio (3, 5, 85, 110). Também podem ocorrer outros fenômenos, como a mudança da hidroxiapatita em outros tipos compostos químicos, como pirofosfatos e metafosfatos de cálcio, dependendo do laser e das condições de irradiação (95). De acordo como os resultados obtidos no nosso estudo, a interação do laser de diodo de 960 nm com o esmalte deve ser com a água intrínseca do esmalte, uma vez que houve áreas de ablação sem a fusão do esmalte.

Com o diodo usado nesse trabalho, não foi possível obter grandes aumentos da temperatura de superfície associados ao tempo de pulso de acordo com o tempo de relaxação térmica do esmalte, devido às próprias limitações

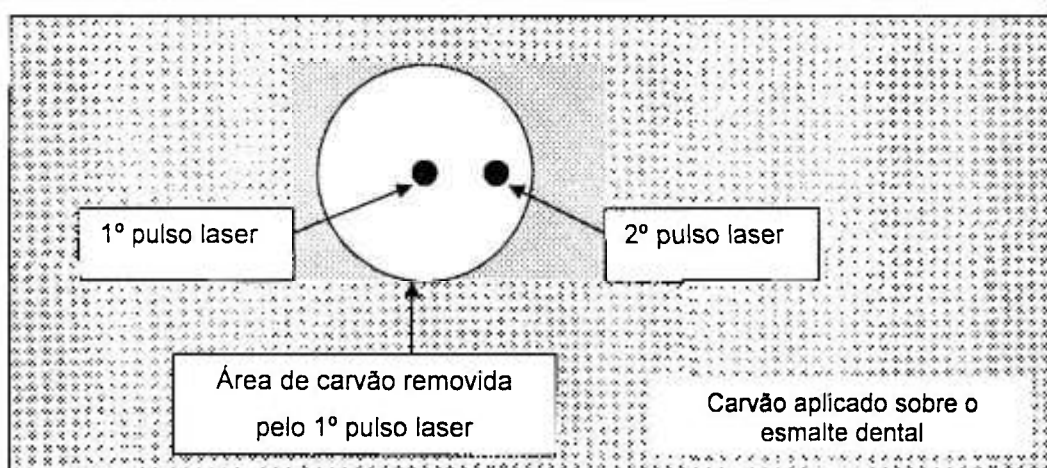
técnicas do laser. Uma solução proposta pelo grupo foi desenvolver um novo laser de diodo cujas características fossem mais próximas de outros lasers, bombeados a lâmpada (como o Nd:YAG), com maior potência-pico e tempo de pulso menor. Um estudo-piloto com esse tipo de laser está relatado no Anexo 1: Estudo morfológico dos efeitos da irradiação dos lasers de diodo de altíssima potência (75 W -  $I=206 \text{ kW/cm}^2$  e 88 W -  $I=366 \text{ kW/cm}^2$ ). As características do esmalte irradiado por esse laser parecem ser diferentes das do esmalte irradiado com o laser utilizado no corpo do trabalho, a despeito de possuírem o mesmo comprimento de onda. O caminho da utilização do laser de diodo com regime de trabalho quase-contínuo pode estar no desenvolvimento desse tipo de equipamento, e no melhor entendimento da interação da energia laser sobre os tecidos duros dentais.

No experimento de medição da temperatura de superfície utilizando o termopar Nanmac de resposta rápida, houve o registro de temperaturas muito altas durante a irradiação do laser sobre o mesmo. Isso é devido à radiação eletromagnética infravermelha interagir diretamente com o termopar, causando um aumento interno de calor. Isso pode ser percebido no momento em que o sistema estava sendo regulado, o pulso laser era registrado como aumento de temperatura. Mesmo assim, foi possível registrar o momento em que o corante era removido da superfície do termopar, no qual a temperatura fica relativamente estável, para depois continuar a subida até o fim do pulso laser (Figura 23, curvas vermelha e preta do gráfico). Dessa forma, há uma demora maior da energia laser atravessar o corante, ablacioná-lo e atingir o termopar. Comparando o resultado da máxima temperatura registrada com a câmera termográfica, os resultados estão semelhantes, a despeito da dificuldade de se posicionar a fibra em relação à câmera e o dente, e a câmera em relação aos outros dois componentes. Apesar de ambos serem métodos indiretos de determinar temperatura, há uma diferença entre a maneira como é feita a aquisição dos dados desses dois sistemas utilizados. A câmera termográfica capta a radiação infravermelha emitida pelo corpo e o computador transforma essa informação em dados de temperatura. Cada substância emite radiação infravermelha de maneira única numa dada faixa de temperatura, e essa característica é chamada emissividade. No outro sistema, o sistema de registro capta a variação da corrente elétrica que passa na junção dos dois metais do termopar, transformando-o posteriormente em informação de

temperatura. A dificuldade no sistema de registro de imagens com câmera termográfica reside no fato de qualquer corpo que se interponha entre o esmalte e a câmera influencia no dado correspondente, pois os dois possuem emissividades diferentes. O termopar não possui essa dificuldade, já que o cálculo da temperatura não depende da emissividade. A dificuldade maior deste sistema é que não é possível medir a temperatura real do sítio de irradiação, se a medida for feita no dente. Dessa maneira, foi idealizada a confecção de uma lâmina fina de esmalte e a medição da temperatura sendo feita na face oposta da de irradiação. A medida da temperatura nesse caso foi feita através de cálculos da propagação do calor no esmalte. Porém, a medida pode ser alterada por fatores como a necessidade de se interpor pasta térmica entre a fatia de dente e o termopar para garantir o contato térmico entre as duas superfícies. Ela possui propriedades óticas diferentes do ar, do esmalte e do termopar, e com isso a sua interação com o laser pode modificar os resultados. A temperatura calculada nesse experimento foi de 80 °C, o que não diferiu muito do valor encontrado na irradiação do corante aplicado diretamente sobre o termopar (110 °C). Já no experimento com a câmera termográfica apesar da dificuldade em localizar o ponto de medição da temperatura na imagem, a maior temperatura encontrada não foi muito diferente da calculada no experimento com o termopar (92,6 °C).

Da mesma maneira que foi possível determinar o momento de ablação do corante no decorrer do pulso laser (Figura 23), no gráfico da Figura 25 foi possível comprovar que a partir do segundo pulso laser sobre o mesmo lugar, a temperatura se manteve constante. Isso pode indicar que não há mais corante. Uma das curvas do gráfico mostra que somente a partir do terceiro pulso laser há estabilidade da temperatura, e isso pode ser explicado pela maior camada de corante à base de carvão em relação às outras medidas. Propositalmente foi feita a aplicação de duas camadas de corante sobre o termopar para avaliar o seu comportamento. Dessa forma, o primeiro pulso laser removeu parte do corante, sendo a remoção completada com o segundo pulso. Em outro experimento deste estudo temos outro indicativo da ablação do corante nos primeiros pulsos laser. No experimento da medição de temperatura intrapulpar o valor da temperatura máxima na irradiação com o uso de carvão foi parecido com o da irradiação sem o uso de corante fotoabsorvedor. A área de remoção de carvão é maior que a área do feixe laser, e há possibilidade de haver irradiação diretamente sobre o

esmalte, sem haver corante interposto entre a fibra e a superfície dental, mesmo a irradiação sendo feita com a fibra em movimento sobre o dente (Figura 28).



**Figura 28:** Desenho esquemático complementar à explicação do texto. A irradiação é feita com a fibra em movimento. Como a área de carvão removido do é maior que a área do feixe, o segundo pulso pode ocorrer num local já sem o carvão interposto entre a fibra e o esmalte.

## 7 CONCLUSÕES

Com base nos resultados deste trabalho, pode-se concluir que:

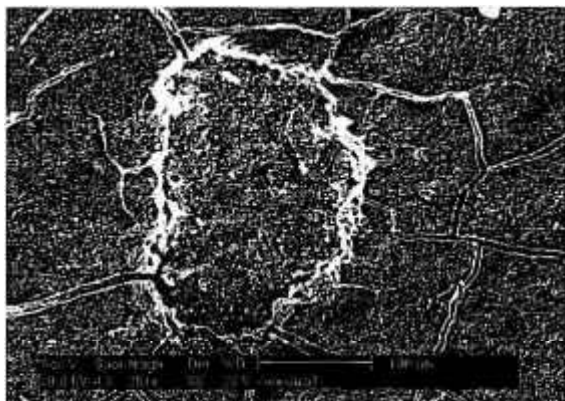
- O carvão em pó, apesar de suas vantagens no que se refere à facilidade de aplicação e da estética associada ao pós-tratamento imediato, não possui desempenho satisfatório no que se refere à transmissão da energia do laser de diodo de 960 nm para a superfície dental quando comparado à tinta nanquim.
- O esmalte de dentes decíduos sem a aplicação de corante fotoabsorvedor ou com tinta nanquim, após ser irradiado pelo laser de diodo de 960 nm com 6,5 W de potência-pico, taxa de repetição de 10 Hz e tempo de 5 ms por pulso durante 10 segundos sofre modificações morfológicas, como levantamento de bolhas e ablação da superfície. Quando usado carvão em pó, não se observou tais alterações na sua morfologia. Com potência-pico aumentado para 8 W e tempo para 15 ms por pulso, o esmalte irradiado em conjunto com carvão em pó teve áreas de ablação e levantamento de bolhas menores que o esmalte irradiado em conjunto com a tinta nanquim nos mesmo parâmetros.
- Os parâmetros de 6,5 W de potência-pico, taxa de repetição de 10 Hz e tempo de 5 ms por pulso durante 10 segundos são seguros para a polpa no que se refere ao aumento de temperatura sofrido por esse tecido, independente do corante fotoabsorvedor utilizado.
- O laser de diodo não aquece a superfície dental a temperaturas maiores de 100 °C, quando associado ao pó de carvão como corante fotoabsorvedor. O corante parece ser removido da superfície dental logo no primeiro de uma seqüência de vários pulsos num mesmo local.



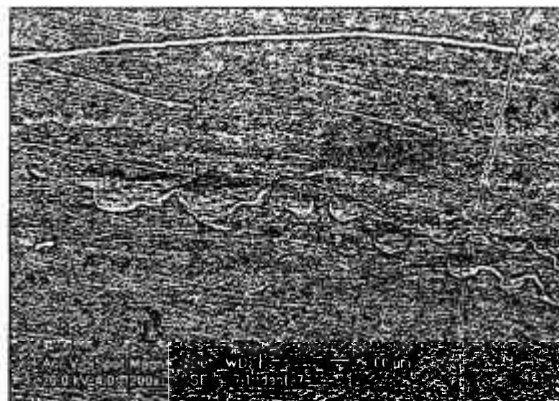
## Anexo 1: Estudo morfológico dos efeitos da irradiação dos lasers de diodo de altíssima potência (75 W - $I=206 \text{ kW/cm}^2$ e 88 W - $I=366 \text{ kW/cm}^2$ )

Foram utilizados 6 dentes incisivos inferiores nesta parte do estudo, provenientes do Banco de Dentes da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo. Três dentes foram irradiados com um laser de diodo de 960 nm por 10 segundos, com uma potência-pico de 75 W, operando no modo qcw, com tempo de pulso de 200  $\mu\text{s}$ , taxa de repetição de 10 Hz, focado na superfície dental com uma lente de distância focal de 60 mm, resultando num feixe de 30 x 800  $\mu\text{m}$ . A intensidade calculada foi de 206  $\text{kW/cm}^2$ . Três outros dentes foram irradiados com um laser de 808 nm por 10 segundos, com potência-pico de 88 W, operando no modo qcw, com tempo de pulso de 200  $\mu\text{s}$ , taxa de repetição de 10 Hz, focado na superfície dental com uma lente de distância focal de 60 mm, resultando num feixe de 30 x 800  $\mu\text{m}$ . A intensidade calculada foi de 366  $\text{kW/cm}^2$ . Antes da irradiação, uma suspensão de pó de carvão com solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9%, preparado da mesma maneira que nos experimentos deste trabalho, foi aplicada, aguardando-se 30 segundos para a evaporação da solução. Os dentes irradiados foram observados em microscópio de luz polarizada do laboratório de crescimento de cristais do CLA/IPEN, e então preparados e observados em MEV.

A observação ao MEV das amostras irradiadas, mostradas na Figura 29 e na Figura 30, revelou a promoção de áreas de ablação, sem que as áreas adjacentes apresentassem levantamento de bolhas ou outro tipo de modificação morfológica promovida pelo laser. A observação ao microscópio de luz polarizada revelou uma faixa esbranquiçada no esmalte na área correspondente à área irradiada (Figura 31), o que poderia ser indicativa de efeitos do aquecimento sobre a estrutura ou a composição química do esmalte (111, 112). Esse aspecto não foi observado nas amostras irradiadas com o laser de diodo a 960 nm em intensidades mais baixas.



**Figura 29: Microeletrografia representativa do esmalte irradiado pelo laser de diodo de 960 nm a 75 W após aplicação de pó de carvão como corante absorvedor. Detalhe de uma área de ablação promovida pela irradiação do laser. As trincas são resultantes do artefato de técnica da preparação da amostra para observação ao MEV (aumento original 251x, barra representa 100 $\mu$ m).**



**Figura 30: Microeletrografia representativa do esmalte irradiado pelo laser de diodo de 808 nm a 88 W após aplicação de pó de carvão como corante absorvedor. Área de ablação promovida pelo laser somente na região irradiada (aumento original 200x, barra representa 100 $\mu$ m).**



**Figura 31: Microfotografia representativa do esmalte irradiado pelo laser de diodo de 960 nm a 75 W após aplicação de pó de carvão. A faixa esbranquiçada no esmalte corresponde à área irradiada pelo laser de diodo. (aumento original 4x)**

## Anexo 2: Parecer do Comitê de Ética



### Parecer - Projeto Nº 079/CEP-IPEN/SP

Com base nos pareceres apresentados pelos relatores, o protocolo de pesquisa "Estudo "in vitro" dos efeitos da irradiação laser sobre as estruturas dentárias", de responsabilidade do pesquisador Dr. Niklaus Ursus Wetter foi considerado **APROVADO**.

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados, a este Comitê, relatórios anuais (parciais ou finais, dependendo da duração do projeto) referentes ao andamento da pesquisa. Após o término da pesquisa, uma cópia do trabalho, em CD ou disquete, deve ser encaminhada a este CEP.

São Paulo, 13 de dezembro de 2004

**Profa. Dra. Martha Marques Ferreira Vieira**  
Coordenadora do CEP-IPEN

## Anexo 3: Tabela de referência para termopar tipo K (113).

**MAXIMUM TEMPERATURE RANGE**  
Thermocouple Grade  
- 328 to 2252°F  
- 200 to 1250°C  
Extension Grade  
32 to 392°F  
0 to 200°C  
**LIMITS OF ERROR**  
(whichever is greater)  
Standard: 2.2°C or 0.75% Above 0°C  
2.2°C or 2.0% Below 0°C  
Special: 1.1°C or 0.4%  
**COMMENTS. BARE WIRE ENVIRONMENT:**  
Clean Oxidizing and Inert; Limited Use in Vacuum or Reducing; Wide Temperature Range; Most Popular Calibration  
**TEMPERATURE IN DEGREES °C**  
REFERENCE JUNCTION AT 0°C

Thermocouple Grade

**Nickel-Chromium**  
VS.  
**Nickel-Aluminum**

Extension Grade

**Revised Thermocouple Reference Tables**

# TYPE K

Reference Tables  
N.I.S.T.  
Monograph 175  
Revised to ITS-90

Thermoelectric Voltage in Millivolts

											Thermoelectric Voltage in Millivolts																																																					
°C					-10					-8					-7					-6					-5					-4					-3					-2					-1					0					°C									
260					-4.458					-4.452					-4.456					-4.455					-4.453					-4.452					-4.450					-4.448					-4.446					-4.444					-4.441					260				
280					-6.441					-6.438					-6.435					-6.432					-6.429					-6.425					-6.421					-6.417					-6.413					-6.408					-6.404					280				

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ARCORIA, C.J.; LIPPAS, M.G.; VITASEK, B.A. Enamel surface roughness analysis after laser ablation and acid-etching. **J Oral Rehabil**, v.20, n.2, p.213-224. 1993.
2. HARASHIMA, T.T., F. H.; KIMURA, Y.; MATSUMOTO, K. A study of ablation of dental hard tissues and microleakage at the class I cavities prepared by Er: YAG laser. **Laser Life Sci**, v.8, p.199-209. 1999.
3. HOSSAIN, M.; NAKAMURA, Y.; YAMADA, Y.; KIMURA, Y.; MATSUMOTO, N.; MATSUMOTO, K. Effects of Er,Cr:YSGG laser irradiation in human enamel and dentin: ablation and morphological studies. **J Clin Laser Med Surg**, v.17, n.4, p.155-159. 1999.
4. LIZARELLI, R.F.; KURACHI, C.; MISOGUTI, L.; BAGNATO, V.S. Characterization of enamel and dentin response to Nd:YAG picosecond laser ablation. **J Clin Laser Med Surg**, v.17, n.3, p.127-131. 1999.
5. KOHARA, E.K.; HOSSAIN, M.; KIMURA, Y.; MATSUMOTO, K.; INOUE, M.; SASA, R. Morphological and microleakage studies of the cavities prepared by Er:YAG laser irradiation in primary teeth. **J Clin Laser Med Surg**, v.20, n.3, p.141-147. 2002.
6. WALSH, L.J.; ABOOD, D.; BROCKHURST, P.J. Bonding of resin composite to carbon dioxide laser-modified human enamel. **Dent Mater**, v.10, n.3, p.162-166. 1994.
7. WESTERMAN, G.H.; HICKS, M.J.; FLAITSZ, C.M.; BLANKENAU, R.J.; POWELL, G.L. Combined effects of acidulated phosphate fluoride and argon laser on sound root surface morphology: an in vitro scanning electron microscopy study. **J Clin Laser Med Surg**, v.17, n.2, p.63-68. 1999.

8. HSU, J.; FOX, J.L.; WANG, Z.; POWELL, G.L.; OTSUKA, M.; HIGUCHI, W.I. Combined effects of laser irradiation/solution fluoride ion on enamel demineralization. **J Clin Laser Med Surg**, v.16, n.2, p.93-105. 1998.
9. HOSSAIN, M.; NAKAMURA, Y.; KIMURA, Y.; YAMADA, Y.; ITO, M.; MATSUMOTO, K. Caries-preventive effect of Er:YAG laser irradiation with or without water mist. **J Clin Laser Med Surg**, v.18, n.2, p.61-65. 2000.
10. BLANKENAU, R.J.; POWELL, G.; ELLIS, R.W.; WESTERMAN, G.H. In vivo caries-like lesion prevention with argon laser: pilot study. **J Clin Laser Med Surg**, v.17, n.6, p.241-243. 1999.
11. HOSSAIN, M.; NAKAMURA, Y.; YAMADA, Y.; KIMURA, Y.; NAKAMURA, G.; MATSUMOTO, K. Ablation depths and morphological changes in human enamel and dentin after Er:YAG laser irradiation with or without water mist. **J Clin Laser Med Surg**, v.17, n.3, p.105-109. 1999.
12. TANJI, E.Y.; MATSUMOTO, K. The comparative study of the morphological changes of dentin surface after Nd:YAG, CO<sub>2</sub> and argon laser irradiation. **J Japan Endod Assoc**, v.15, n.1, p.14-20. 1994.
13. KREISLER, M.; AL-HAJ, H.; D'HOEDT, B. Intrapulpal temperature changes during root surface irradiation with an 809-nm GaAlAs laser. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.93, n.6, p.730-735. 2002.
14. KREISLER, M.; AL HAJ, H.; DAUBLANDER, M.; GOTZ, H.; DUSCHNER, H.; WILLERSHAUSEN, B.; D'HOEDT, B. Effect of diode laser irradiation on root surfaces in vitro. **J Clin Laser Med Surg**, v.20, n.2, p.63-69. 2002.
15. ARCORIA, C.J.; FREDERICKSON, C.J.; JUDY, M.M.; JENNETT, E.L.; MOTAMEDI, M. Jet-assisted laser tools for tooth preparation. **J Clin Laser Med Surg**, v.12, n.3, p.153-157. 1994.

16. MCNALLY, K.M.; GILLINGS, B.R.; DAWES, J.M. Dye-assisted diode laser ablation of carious enamel and dentine. **Aust Dent J**, v.44, n.3, p.169-175. 1999.
17. OLIVEIRA, M.V. **Estudo in vitro das aplicações do laser de diodo de alta potência 960 nm em esmalte dentário, assistido por um fotoiniciador: análise de microscopia eletrônica de varredura**. 2002. (Dissertação (Mestrado)). Universidade de São Paulo, São Paulo.
18. BOARI, H.G.D. **Avaliação clínica da eficiência do laser de Nd:YAG associado ao flúor fosfato acidulado na prevenção de cáries de sulcos e fissuras de crianças e adolescentes**. 2000. (Dissertação (Mestrado)). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.
19. SANTAELLA, M.R.; BRAUN, A.; MATSON, E.; FRENTZEN, M. Effect of diode laser and fluoride varnish on initial surface demineralization of primary dentition enamel: an in vitro study. **Int J Paediatr Dent**, v.14, n.3, p.199-203. 2004.
20. MJÖR, I.A.; FEJERSKOV, O. **Embriologia e Histologia Oral Humana**. São Paulo: Panamericana. 1990. 333 p.
21. MJÖR, I.A.; FEJERSKOV, O. **Esmalte Dentário**. In: I.A. MJÖR; O. FEJERSKOV (Ed.). **Embriologia e Histologia Oral Humana**. São Paulo: Panamericana, 1990. Esmalte Dentário, p.50-89
22. GUEDES-PINTO, A.C.; ISSAO, M. **Manual de Odontopediatria**. São Paulo: Pancast. 1999. 323 p.
23. WEYNE, S.D.C.; HARARI, S.G. **Cariologia: Implicações e Aplicações Clínicas**. In: L.N. BARATIERI (Ed.). **Odontologia Restauradora: Fundamentos e Possibilidades**. São Paulo: Livraria Santos, v.1, 2002. Cariologia: Implicações e Aplicações Clínicas, p.3-29
24. KEYES, P.H. The infectious and transmissible nature of experimental dental caries. Findings and implications. **Arch Oral Biol**, v.1, p.304-320. 1960.

25. NEWBRUN, E. **Conceitos Atuais da Etiologia da Cárie**. In: E. NEWBRUN (Ed.). *Cariologia*. São Paulo: Livraria Santos, 1988. *Conceitos Atuais da Etiologia da Cárie*, p.17-49
26. CURY, J.A. **Uso do Flúor e Controle da Cárie como Doença**. In: L.N. BARATIERI (Ed.). *Odontologia Restauradora: Fundamentos e Possibilidades*. São Paulo: Livraria Santos, v.1, 2002. *Uso do Flúor e Controle da Cárie como Doença*, p.33-68
27. ANDERSON, A.M.; KAO, E.; GLADWIN, M.; BENLI, O.; NGAN, P. The effects of argon laser irradiation on enamel decalcification: An in vivo study. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, v.122, n.3, p.251-259. 2002.
28. ANDERSON, J.R.; ELLIS, R.W.; BLANKENAU, R.J.; BEIRAGHI, S.M.; WESTERMAN, G.H. Caries resistance in enamel by laser irradiation and topical fluoride treatment. **J Clin Laser Med Surg**, v.18, n.1, p.33-36. 2000.
29. KATO, I.T. **Estudo in vitro dos efeitos promovidos pelo laser de diodo em 960 nm no esmalte dental humano: análise de temperatura, análise morfológica e avaliação da resistência a desmineralização**. 2004. (Dissertação (Mestrado)). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo.
30. JOHANSSON, I.; BIRKHED, D. **A Dieta e o Processo Cariogênico**. In: A. THYLSTRUP; O. FEJERSKOV (Ed.). *Cariologia Clínica*. Munksgaard, Copenhagen: Livraria Santos, 2001. *A Dieta e o Processo Cariogênico*, p.283-310
31. LEBER, P.M.; CORREA, M.S.N.P. **Dieta**. In: M.S.N.P. CORREA (Ed.). *Odontopediatria na Primeira Infância*. São Paulo: Livraria Santos, 1998. *Dieta*, p.279-289
32. THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. *Cariologia Clínica*. Munksgaard, Copenhagen: Livraria Santos. 2001. 421 p.
33. HOSSAIN, M.; NAKAMURA, Y.; YAMADA, Y.; MURAKAMI, Y.; MATSUMOTO, K. Compositional and structural changes of human dentin



following caries removal by Er,Cr:YSGG laser irradiation in primary teeth. **J Clin Pediatr Dent**, v.26, n.4, p.377-382. 2002.

34. HOSSAIN, M.; NAKAMURA, Y.; YAMADA, Y.; MURAKAMI, Y.; MATSUMOTO, K. Microleakage of composite resin restoration in cavities prepared by Er,Cr:YSGG laser irradiation and etched bur cavities in primary teeth. **J Clin Pediatr Dent**, v.26, n.3, p.263-268. 2002.

35. STIESCH-SCHOLZ, M.; HANNIG, M. In vitro study of enamel and dentin marginal integrity of composite and compomer restorations placed in primary teeth after diamond or Er:YAG laser cavity preparation. **J Adhes Dent**, v.2, n.3, p.213-222. 2000.

36. ARMENGOL, V.; JEAN, A.; ENKEL, B.; ASSOUMOU, M.; HAMEL, H. Microleakage of class V composite restorations following Er:YAG and Nd:YAP laser irradiation compared to acid-etch: an In vitro study. **Lasers Med Sci**, v.17, n.2, p.93-100. 2002.

37. CORONA, S.A.; BORSATTO, M.; DIBB, R.G.; RAMOS, R.P.; BRUGNERA, A.; PECORA, J.D. Microleakage of class V resin composite restorations after bur, air-abrasion or Er:YAG laser preparation. **Oper Dent**, v.26, n.5, p.491-497. 2001.

38. LIZARELLI RDE, F.; MORIYAMA, L.T.; BAGNATO, V.S. Ablation of composite resins using Er:YAG laser--comparison with enamel and dentin. **Lasers Surg Med**, v.33, n.2, p.132-139. 2003.

39. MATSUMOTO, K.; NAKAMURA, Y.; MAZEKI, K.; KIMURA, Y. Clinical dental application of Er:YAG laser for Class V cavity preparation. **J Clin Laser Med Surg**, v.14, n.3, p.123-127. 1996.

40. WRIGHT, G.Z.; MCCONNELL, R.J.; KELLER, U. Microleakage of Class V composite restorations prepared conventionally with those prepared with an Er:YAG laser: a pilot study. **Pediatr Dent**, v.15, n.6, p.425-426. 1993.

41. LIER, B.B.; ROSING, C.K.; AASS, A.M.; GJERMO, P. Treatment of dentin hypersensitivity by Nd:YAG laser. **J Clin Periodontol**, v.29, n.6, p.501-506. 2002.

42. GOMES, H.; BOARI, D.; ZECELL, D.M.; EDUARDO, C.D. Nd : YAG laser in caries prevention: clinical trial. **Journal of Dental Research**, v.80, n.4, p.1068-1068. 2001.
43. SEKA, W.D.; FEATHERSTONE, J.D.B.; FRIED, D.; VISURI, S.R.; WALSH, J.T. Laser ablation of dental hard tissue: from explosive ablation to plasma-mediated ablation. *Lasers in Dentistry II*. San Jose, CA: SPIE International Symposium on Biomedical Optics. April 1996, 1996. 144-158 p.
44. ARAUJO, R.M.; EDUARDO, C.P.; DUARTE JUNIOR, S.L.; ARAUJO, M.A.; LOFFREDO, L.C. Microleakage and nanoleakage: influence of laser in cavity preparation and dentin pretreatment. **J Clin Laser Med Surg**, v.19, n.6, p.325-332. 2001.
45. KELLER, U.; HIBST, R. Effects of Er:YAG laser in caries treatment: a clinical pilot study. **Lasers Surg Med**, v.20, n.1, p.32-38. 1997.
46. KELLER, U.; HIBST, R.; GEURTSSEN, W.; SCHILKE, R.; HEIDEMANN, D.; KLAIBER, B.; RAAB, W.H. Erbium:YAG laser application in caries therapy. Evaluation of patient perception and acceptance. **J Dent**, v.26, n.8, p.649-656. 1998.
47. MATSUMOTO, K.; HOSSAIN, M.; HOSSAIN, M.M.; KAWANO, H.; KIMURA, Y. Clinical assessment of Er,Cr:YSGG laser application for cavity preparation. **J Clin Laser Med Surg**, v.20, n.1, p.17-21. 2002.
48. ANIC, I.; PAVELIC, B.; PERIC, B.; MATSUMOTO, K. In vitro pulp chamber temperature rises associated with the argon laser polymerization of composite resin. **Lasers Surg Med**, v.19, p.438-444. 1996.
49. BLANKENAU, R.; ERICKSON, R.L.; RUEGGERBERG, F. New light curing options for composite resin restorations. **Compend Contin Educ Dent**, v.20, n.2, p.122-125, 129, 131 passim. 1999.

50. KELSEY, W.P., 3RD; BLANKENAU, R.J.; POWELL, G.L.; BARKMEIER, W.W.; CAVEL, W.T.; WHISENANT, B.K. Enhancement of physical properties of resin restorative materials by laser polymerization. **Lasers Surg Med**, v.9, n.6, p.623-627. 1989.
51. KELSEY, W.P.; BLANKENAU, R.J.; POWELL, G.L.; BARKMEIER, W.W.; STORMBERG, E.F. Power and time requirements for use of the argon laser to polymerize composite resins. **J Clin Laser Med Surg**, v.10, n.4, p.273-278. 1992.
52. POWELL, G.L.; BLANKENAU, R.J. Laser curing of dental materials. **Dent Clin North Am**, v.44, n.4, p.923-930. 2000.
53. TALBOT, T.Q.; BLANKENAU, R.J.; ZOBITZ, M.E.; WEAVER, A.L.; LOHSE, C.M.; REBELLATO, J. Effect of argon laser irradiation on shear bond strength of orthodontic brackets: an in vitro study. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, v.118, n.3, p.274-279. 2000.
54. BAIK, J.W.; RUEGGEBERG, F.A.; LIEWEHR, F.R. Effect of light-enhanced bleaching on in vitro surface and intrapulpal temperature rise. **J Esthet Restor Dent**, v.13, n.6, p.370-378. 2001.
55. LUK, K.; TAM, L.; HUBERT, M. Effect of light energy on peroxide tooth bleaching. **J Am Dent Assoc**, v.135, n.2, p.194-201; quiz 228-199. 2004.
56. HICKS, J.; WINN, D., 2ND; FLAITZ, C.; POWELL, L. In vivo caries formation in enamel following argon laser irradiation and combined fluoride and argon laser treatment: a clinical pilot study. **Quintessence Int**, v.35, n.1, p.15-20. 2004.
57. WESTERMAN, G.H.; HICKS, M.J.; FLAITZ, C.M.; ELLIS, R.W.; POWELL, G.L. Argon laser irradiation and fluoride treatment effects on caries-like enamel lesion formation in primary teeth: An in vitro study. **American Journal of Dentistry**, v.17, n.4, p.241-244. 2004.
58. FLAITZ, C.M.; HICKS, M.J.; WESTERMAN, G.H.; BERG, J.H.; BLANKENAU, R.J.; POWELL, G.L. Argon laser irradiation and acidulated phosphate fluoride

treatment in caries-like lesion formation in enamel: an in vitro study. **Pediatr Dent**, v.17, n.1, p.31-35. 1995.

59. HICKS, M.J.; WESTERMAN, G.H.; FLAITZ, C.M.; BLANKENAU, R.J.; POWELL, G.L.; BERG, J.H. Effects of argon laser irradiation and acidulated phosphate fluoride on root caries. **Am J Dent**, v.8, n.1, p.10-14. 1995.

60. HICKS, M.J.; FLAITZ, C.M.; WESTERMAN, G.H.; BERG, J.H.; BLANKENAU, R.L.; POWELL, G.L. Caries-like lesion initiation and progression in sound enamel following argon laser irradiation: an in vitro study. **ASDC J Dent Child**, v.60, n.3, p.201-206. 1993.

61. CHIN-YING, S.H.; XIAOLI, G.; JISHENG, P.; WEFEL, J.S. Effects of CO<sub>2</sub> laser on fluoride uptake in enamel. **J Dent**, v.32, n.2, p.161-167. 2004.

62. GOODIS, H.E.; FRIED, D.; GANSKY, S.; RECHMANN, P.; FEATHERSTONE, J.D.B. Pulpal safety of 9.6  $\mu$ m TEA CO<sub>2</sub> laser used for caries prevention. **Lasers in Surgery and Medicine**, v.35, n.2, p.104-110. 2004.

63. TSAI, C.-L.; LIN, Y.-T.; HUANG, S.-T.; CHANG, H.-W. In vitro Acid Resistance of CO<sub>2</sub> and Nd-YAG Laser-Treated Human Tooth Enamel. **Caries Res**, v.36, p.423-429. 2002.

64. OHO, T.; MORIOKA, T. A possible mechanism of acquired acid resistance of human dental enamel by laser irradiation. **Caries Res**, v.24, n.2, p.86-92. 1990.

65. HOSSAIN, M.; NAKAMURA, Y.; KIMURA, Y.; YAMADA, Y.; KAWANAKA, T.; MATSUMOTO, K. Effect of pulsed Nd:YAG laser irradiation on acid demineralization of enamel and dentin. **J Clin Laser Med Surg**, v.19, n.2, p.105-108. 2001.

66. AOKI, A.; SASAKI, K.M.; WATANABE, H.; ISHIKAWA, I. Lasers in nonsurgical periodontal therapy. **Periodontol 2000**, v.36, p.59-97. 2004.

67. WETTER, N.U.; BARROSO, M.C.; PELINO, J.E. Dental bleaching efficacy with diode laser and LED irradiation: an in vitro study. **Lasers Surg Med**, v.35, n.4, p.254-258. 2004.
68. WETTER, N.U.; WALVERDE, D.; KATO, I.T.; EDUARDO CDE, P. Bleaching efficacy of whitening agents activated by xenon lamp and 960-nm diode radiation. **Photomed Laser Surg**, v.22, n.6, p.489-493. 2004.
69. WHITE, J.M.; PELINO, J.; RODRIGUES, R.; ZWHALEN, B.J.; NGUYEN, M.H.; WU, E. Surface and pulpal temperature comparison of tooth whitening using lasers and curing lights. The International Society for Optical Engineering. San Jose, CA, USA: The International Society for optical Engineering, 2000. 95-101 p.
70. OLIVEIRA, M.V.; QUINTO JR, J.; RATTICHERI, F.; ZECELL, D.M.; EDUARDO, C.P.; WETTER, N.U. Morphological and thermal analysis of resolidified dental enamel surface after dye assisted irradiation with a 960 nm diode laser. **J Oral Applications**, v.1, p.201-206. 2001.
71. COX, C.J.; PEARSON, G.J.; PALMER, G. Preliminary in vitro investigation of the effects of pulsed Nd:YAG laser radiation on enamel and dentine. **Biomaterials**, v.15, n.14, p.1145-1151. 1994.
72. YU, D.G.; KIMURA, Y.; FUJITA, A.; HOSSAIN, M.; KINOSHITA, J.I.; SUZUKI, N.; MATSUMOTO, K. Study on acid resistance of human dental enamel and dentin irradiated by semiconductor laser with Ag(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>F solution. **J Clin Laser Med Surg**, v.19, n.3, p.141-146. 2001.
73. HAYAT, M.A. **Basic techniques for transmission electron microscopy**. Orlando: Academic Press. 1986. 411 p.
74. HAYAT, M.A. **Fixation for electron microscopy**. New York: Academic Press. 1981
75. FARIA, F.P.D. **Microscópio Eletrônico de Varredura**. Apostila dada em aula. São Paulo. 1998

76. ZACH, L.; COHEN, G. Pulp Response to Externally Applied Heat. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v.19, p.515-530. 1965.
77. BHASKAR, S.N.; LILLY, G.E. Intrapulpal Temperature During Cavity Preparation. **J Dent Res**, v.44, p.644-647. 1965.
78. MOULDING, M.B.; TEPLITSKY, P.E. Intrapulpal temperature during direct fabrication of provisional restorations. **Int J Prosthodont**, v.3, n.3, p.299-304. 1990.
79. MOULDING, M.B.; LONEY, R.W. The effect of cooling techniques on intrapulpal temperature during direct fabrication of provisional restorations. **Int J Prosthodont**, v.4, n.4, p.332-336. 1991.
80. LEE-KNIGHT, C.T.; WYLIE, S.G.; MAJOR, P.W.; GLOVER, K.E.; GRACE, M. Mechanical and electrothermal debonding: effect on ceramic veneers and dental pulp. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, v.112, n.3, p.263-270. 1997.
81. VUKOVICH, M.E.; WOOD, D.P.; DALEY, T.D. Heat generated by grinding during removal of ceramic brackets. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, v.99, n.6, p.505-512. 1991.
82. SULIEMAN, M.; ADDY, M.; REES, J.S. Surface and intra-pulpal temperature rises during tooth bleaching: an in vitro study. **Br Dent J**, v.199, n.1, p.37-40; discussion 32. 2005.
83. SILVA, P.C.; DE FATIMA ZANIRATO LIZARELLI, R.; MORIYAMA, L.T.; DE TOLEDO PORTO NETO, S.; BAGNATO, V.S. Temperature analysis during bonding of brackets using LED or halogen light base units. **Photomed Laser Surg**, v.23, n.1, p.41-46. 2005.
84. ELDENIZ, A.U.; USUMEZ, A.; USUMEZ, S.; OZTURK, N. Pulpal temperature rise during light-activated bleaching. **J Biomed Mater Res B Appl Biomater**, v.72, n.2, p.254-259. 2005.

85. BURKES, E.J., JR.; HOKE, J.; GOMES, E.; WOLBARSHT, M. Wet versus dry enamel ablation by Er:YAG laser. **J Prosthet Dent**, v.67, n.6, p.847-851. 1992.
86. RIZOIU, I.; KOHANGHADOSH, F.; KIMMEL, A.I.; EVERSOLE, L.R. Pulpal thermal responses to an erbium,chromium: YSGG pulsed laser hydrokinetic system. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v.86, n.2, p.220-223. 1998.
87. OELGIESSER, D.; BLASBALG, J.; BEN-AMAR, A. Cavity preparation by Er-YAG laser on pulpal temperature rise. **Am J Dent**, v.16, n.2, p.96-98. 2003.
88. GERALDO-MARTINS, V.R.; TANJI, E.Y.; WETTER, N.U.; NOGUEIRA, R.D.; EDUARDO, C.P. Intrapulpal temperature during preparation with the Er:YAG laser: an in vitro study. **Photomed Laser Surg**, v.23, n.2, p.182-186. 2005.
89. GOODIS, H.E.; FRIED, D.; GANSKY, S.; RECHMANN, P.; FEATHERSTONE, J.D. Pulpal safety of 9.6 microm TEA CO(2) laser used for caries prevention. **Lasers Surg Med**, v.35, n.2, p.104-110. 2004.
90. KATO, I.T.; WETTER, N.U.; KOHARA, E.K. A New In-Vitro Method Of Measuring Intra-Pulpal Temperature. **Rev Bras Pesq Des**, v.6, n.3, p.131-136. 2004.
91. RODE, A.V.; GAMALY, E.G.; LUTHER-DAVIES, B.; TAYLOR, B.T.; GRAESSEL, M.; DAWES, J.M.; CHAN, A.; LOWE, R.M.; HANNAFORD, P. Precision ablation of dental enamel using a subpicosecond pulsed laser. **Australian Dental Journal**, v.48, n.4, p.233-239. 2003.
92. KREISLER, M.; AL HAJ, H.; GOTZ, H.; DUSCHNER, H.; D'HOEDT, B. Effect of simulated CO2 and GaAlAs laser surface decontamination on temperature changes in Ti-plasma sprayed dental implants. **Lasers Surg Med**, v.30, n.3, p.233-239. 2002.

93. MALMSTROM, H.S.; MCCORMACK, S.M.; FRIED, D.; FEATHERSTONE, J.D. Effect of CO2 laser on pulpal temperature and surface morphology: an in vitro study. **J Dent**, v.29, n.8, p.521-529. 2001.
94. ARRASTIA, A.M.; MACHIDA, T.; SMITH, P.W.; MATSUMOTO, K. Comparative study of the thermal effects of four semiconductor lasers on the enamel and pulp chamber of a human tooth. **Lasers Surg Med**, v.15, n.4, p.382-389. 1994.
95. HIROTA, F.; FURUMOTO, K. A hypothesis for acquired acid resistance afforded by the laser irradiation. **International Congress Series**, v.1248, p.307-311. 2003.
96. HSU, C.Y.; JORDAN, T.H.; DEDERICH, D.N.; WEFEL, J.S. Laser-matrix-fluoride effects on enamel demineralization. **J Dent Res**, v.80, n.9, p.1797-1801. 2001.
97. HIROTA, F.; FURUMOTO, K. Temperature rise caused by laser (CO2, Nd:YAG, Er:YAG) irradiation of teeth. **International Congress Series**, v.1248, p.301-304. 2003.
98. KHOSROSHAHI, M.E.; GHASEMI, A.B. Interaction studies of multimode pulsed HF laser with enamel tissue using photothermal deflection and spectroscopy. **Lasers Med Sci**, v.18, n.4, p.196-203. 2004.
99. [http://www.lib.umich.edu/dentlib/Dental\\_tables/Density.html](http://www.lib.umich.edu/dentlib/Dental_tables/Density.html). acessado em 25/07/2005.
100. PEYTON, F.A.; SIMERAL, W.G. The specific heat of tooth structure. **University of Michigan School of Dentistry, Alumni Bull.**, p.33. 1954.
101. [http://www.lib.umich.edu/dentlib/Dental\\_tables/Thermdiff.html](http://www.lib.umich.edu/dentlib/Dental_tables/Thermdiff.html). acessado em 25/07/2005.



102. [http://www.lib.umich.edu/dentlib/Dental\\_tables/Thermcond.html](http://www.lib.umich.edu/dentlib/Dental_tables/Thermcond.html). acessado em 25/07/2005.

103. MEREDITH, N.; SHERRIFF, M.; SETCHELL, D.J.; SWANSON, S.A.V. Measurement of the microhardness and Young's modulus of human enamel and dentine using an indentation technique. **Archives of Oral Biology**, v.41, n.6, p.539-545. 1996.

104. MEIRA, J.B.C.; BALLESTER, R.Y.; LIMA, R.G.; SOUZA, R.M.D.; DRIEMEIER, L. Geometrical aspects on bi-material microtensile tests. **Journal of the Brazilian Society of Mechanical Sciences and Engineering**, v.27, n.3, p.310-313. 2005.

105. <http://www.estatica-metrologia.com.br/termopares.php> acessado em 31/10/2005.

106. <http://www.mafs.com.br/convenc.htm> acessado em 29/09/2004.

107. QUINTO JR., J. **Estudo in vitro do esmalte dental irradiado com laser de diodo de alta potência em 960nm: análise morfológica da superfície dental pós irradiada e análise do comportamento térmico na câmara pulpar devido a aplicação laser**. 2001. (Dissertação (Mestrado)). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares., Universidade de São Paulo, São Paulo.

108. MORIOKA, T.; TAGOMORI, S.; NARA, Y. Application of Nd:YAG laser and fluoride in prevention of dental caries. International Congress on Laser in Dentistry. Tokyo, Japan: ISLD, 1988. 55-61 p.

109. HSU, C.Y.; JORDAN, T.H.; DEDERICH, D.N.; WEFEL, J.S. Effects of low-energy CO2 laser irradiation and the organic matrix on inhibition of enamel demineralization. **J Dent Res**, v.79, n.9, p.1725-1730. 2000.

110. APEL, C.; SCHAFFER, C.; GUTKNECHT, N. Demineralization of Er:YAG and Er,Cr:YSGG laser-prepared enamel cavities in vitro. **Caries Res**, v.37, n.1, p.34-37. 2003.

111. BACHMANN, L.; ZECELL, D.M. **Estrutura e composição do esmalte e da dentina: tratamento térmico e irradiação laser**. São Paulo: Livraria da Física. 2005. 299 p.

112. BACHMANN, L.; SENA, E.T.; STOLF, S.F.; ZECELL, D.M. Dental discolouration after thermal treatment. **Arch Oral Biol**, v.49, n.3, p.233-238. 2004.

113. <http://www.omega.com/temperature/Z/pdf/z204-206.pdf> . Acessado em 21/09/2005.