RICARDO JULIO CABRALES SALGADO

**ESTUDO DA PERMEABILIDADE, LIMPEZA E CONTAMINAÇÃO DO
SISTEMA DE CANAIS RADICULARES, APÓS O PREPARO
QUÍMICO-CIRÚRGICO E APLICAÇÃO DE LASER DE ALTA
INTENSIDADE**

São Paulo

2009

Ricardo Julio Cabrales Salgado

**Estudo da permeabilidade, limpeza e contaminação do sistema de
canais radiculares, após o preparo químico-cirúrgico e aplicação
de laser de alta intensidade**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da
Universidade de São Paulo, para obter o Título de
Doutor, pelo Programa de Pós-Graduação em
Ciências Odontológicas.

Área de Concentração: Endodontia

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Bombana

São Paulo

2009

Catálogo-na-Publicação
Serviço de Documentação Odontológica
Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Cabrales Salgado, Ricardo Julio

Estudo da permeabilidade, limpeza e contaminação do sistema de canais radiculares, após o preparo químico-cirúrgico e aplicação de laser de alta intensidade/ Ricardo Julio Cabrales Salgado; orientador Antonio Carlos Bombana. -- São Paulo, 2009.

180p. : fig., graf.; 30 cm.

Tese (Doutorado - Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Área de Concentração: Endodontia) -- Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

1. Permeabilidade dentária – Variação 2. Endodontia

CDD 617.6342

BLACK D24

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE E COMUNICADA AO AUTOR A REFERÊNCIA DA CITAÇÃO.

São Paulo, ____/____/____

Assinatura:

E-mail:

FOLHA DE APROVAÇÃO

Cabrales Salgado R.J. Estudo da permeabilidade, limpeza e contaminação do sistema de canais radiculares, após o preparo químico-cirúrgico e aplicação de laser de alta intensidade [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2009.

São Paulo, ____/____/____

Banca Examinadora

1) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

2) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação:Doutora _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

3) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação:Doutor _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

4) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação:Doutor _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

5) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação:Doutor _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

Dedico esta tesis a mi amada y querida Familia.

A mi querida madre Blida

Te amo por todos los sacrificios y por dedicar todo tu tiempo a mi educación y a la de mis hermanos; agradezco todo el esfuerzo y amor, siempre preocupada con mi salud y bienestar, haciéndome sentir amado y, a pesar de la distancia nunca me faltó tu amor. Por eso, siempre tuve fuerza y coraje para continuar por 6 años con tanta nostalgia, que a veces inaguantable. Salir de casa me hizo entender el significado de ser un hijo y de valorizarte aún más como madre.

Gracias por su amor y por me ayudar a realizar mis sueños.

A mi querido padre Romualdo.

Por el amor que siempre dedico a su familia; para mí siempre será un hombre perfecto y mi modelo a imitar, siempre humilde y de corazón puro. Amo todo lo que haces, todo lo que eres. Sin tu apoyo jamás habría alcanzado mis metas. Gracias por enseñarme a superar mis errores.

Te Amo mucho.

A mis amados hermanos Rolando y Blida Isabel.

Por darme el mejor ejemplo como estudiantes y como personas, siempre apoyándome en todos los momentos de mi vida.

Gracias por el amor, cariño y comprensión.

A mi querida tía Enith

Por ser gran ejemplo de vida, por ayudarme siempre que necesite y por quien tengo profundo cariño, respeto y eterno amor.

Ustedes y Dios son todo lo que me fortalece; sin su ayuda nunca habría podido concretizar este gran sueño.

Amare a todos eternamente.

Les agradezco

Dedico esta tese a minha amada e querida Família.

A minha querida mãe Blida

Amo você por todos os sacrifícios e por dedicar todo seu tempo à minha educação e à dos meus irmãos; agradeço todo o esforço e amor, sempre preocupada com minha saúde e bem-estar, fazendo-me sentir amado e, apesar da distância nunca me faltou seu amor. Por isso, sempre tive força e coragem para continuar por 6 anos com tanta saudade, que às vezes incontida. Sair de casa me fez entender o significado de ser um filho e de valorizá-la ainda mais como mãe.

Obrigado por seu amor e por me ajudar a realizar meus sonhos.

A meu querido pai Romualdo.

Dedico esta tese pelo amor que sempre dedicou a sua família; para mim sempre será um homem perfeito e meu modelo a imitar, sempre humilde e de coração puro. Amo tudo o que você faz, tudo o que é. Sem seu apoio jamais haveria alcançado minhas metas. Obrigado por me ensinar a superar meus erros.

Amo muito você.

A meus amados irmãos Rolando e Blida Isabel.

Por me darem o melhor exemplo como estudantes e como pessoas, sempre me apoiando em todos os momentos de minha vida.
Obrigado pelo amor, carinho e compreensão.

A minha querida tia Enith

Por ser grande exemplo de vida, por me ajudar sempre que precisei e por quem tenho profundo carinho, respeito e eterno amor.

Vocês e Deus são tudo o que me fortalece; sem sua ajuda nunca teria podido concretizar este grande sonho.
Amare a todos eternamente.

Muito Obrigado

AGRADECIMENTOS

A DEUS,

Agradeço por minha família, por minha existência e pelo aprendizado de vida, por colocar em meu caminho grandes amigos e oportunidades, por ser minha companhia nos momentos de solidão, desespero e incerteza e por me dar esperança e tranquilidade.

A minha amada Kelli Cristina Machi

Por ser meu apoio, minha amiga, companheira. Você é a mulher que me completa, conhecê-la foi uma das melhores coisas que aconteceu em minha vida, sempre me dando tranquilidade e muita alegria. Obrigado pelos conselhos, pela paciência e compreensão e, acima de tudo, pelo amor. Você é parte essencial da minha vida.

Por isso a amo e admiro.

Obrigado

Ao meu melhor amigo e meu orientador Professor Doutor Igor Prokopowitsch

Obrigado por me ensinar e acreditar em mim e por me dar a oportunidade de aprender com você.

Como **amigo**, sempre me ajudou em todos os momentos que precisei; agradeço por me fazer sentir parte de sua família, por me tratar como um filho, pelos bons conselhos, pela companhia, pelo carinho e pela amizade incondicional todo este tempo.

Obrigado por ser meu outro pai.

Como meu **orientador**, agradeço pela contribuição e orientação na minha formação profissional e acadêmica, por compartilhar neste momento único na minha vida, pelos ensinamentos e exemplos de professor, pela confiança depositada em mim. Tenho muito orgulho de você ter sido meu mestre; saiba que serei seu aluno sempre disposto a atendê-lo da melhor maneira possível.

Terá, sempre, meu respeito e admiração.

Obrigado.

À minha melhor amiga Brígida Mônica Kleine

Com você aprendi e cresci muito como pessoa, obrigado pelos conselhos, pelo carinho e por se preocupar tanto comigo, obrigado por me permitir fazer parte de sua família; todas essas palavras são para eu dizer que é uma amiga encantadora.

Ao Professor Doutor Antonio Carlos Bombana

Pela orientação, contribuição e pelas sugestões dadas para este trabalho; pelo exemplo de dedicação como professor e pesquisador. Deixo expressa minha admiração por sua pessoa e, sobretudo, por sua sabedoria e humildade.

Ao Professor Doutor Michel Nicolau Youssef

Obrigado pela orientação, contribuição ao meu aprendizado e amizade.

Aos meus colegas da Pós-graduação

Marina, Patrícia, Rosio, Soraia, André, Akisue, Cacio e Ângela. Foi, para mim, gratificante conhecê-los e partilhar bons momentos de companheirismo.

Aos Professores da Graduação e Pós-Graduação da Disciplina de Endodontia da FOUSP

Abílio Albuquerque Maranhão de Moura

Antonio Carlos Bombana Carlos

Eduardo Aun

Celso Luiz Caldeira

Giulio Gavini

João Humberto Antoniazzi

José Luiz da Silva Lage Marques

Manoel Eduardo de Lima Machado

Marcelo dos Santos

Márcia Martins Marques

Agradeço por todos os ensinamentos que me fizeram crescer como profissional.

A minha querida amiga Andrea Kanako Yamazaki

Pela grande amizade, carinho e disposição em sempre me ajudar em tudo.

Aos meus amigos e colegas da APCD São Caetano do Sul

Andrea, Brígida, Audrey, Débora, Ilara, Cacio, Celso, Cíntia, Regiane e Patrícia.
Pelos bons momentos e pelo carinho.

Ao Centro de Radiofarmácia do IPEN

A Caroline C.A. Marques e outros que contribuíram realizando a contagem do
tecnécio.

Às Profas. Dras. Márcia P.A. Mayer e Adriana da Costa Ribeiro

Pelo aprendizado e pela ajuda na parte experimental realizada na área de
microbiologia oral no ICB USP.

Aos funcionários do Departamento de Dentística da FOU SP

Pela disposição e atenção.

Ao CAPES

Pelo incentivo e apoio à pesquisa

A todas as pessoas que colaboraram de forma direta ou indireta, nesse trabalho.

Cabrales Salgado RJ. Estudo da variação da permeabilidade, limpeza e contaminação do sistema de canais radiculares, após o preparo químico-cirúrgico e aplicação de laser de alta intensidade [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2009.

RESUMO

A importância do aumento da permeabilidade e da limpeza da dentina radicular está ligada à melhora da sanificação e obturação do sistema de canais radiculares. Este estudo teve como objetivo, avaliar as variações da permeabilidade dentinária radicular de dentes humanos, após o preparo químico-cirúrgico e irradiação com lasers de Er: YAG, Nd:YAG, por meio da utilização do radioisótopo ^{99m}Tc livre, assim como, analisar, valendo-se da microscopia eletrônica de varredura (MEV) a limpeza, contaminação e aderência bacteriana valendo-se de inoculação de *Enterococcus faecalis*. Trinta raízes palatinas de primeiros pré-molares superiores humanos hígidos e foram preparadas pela técnica seriada. Posteriormente, foram divididas, aleatoriamente, em 3 grupos experimentais com 10 raízes cada: G1 - controle, G2 - irradiação com laser de Er:YAG e G3 - irradiação com laser de Nd:YAG. As amostras preparadas receberam quantidade suficiente de ^{99m}Tc livre no interior do canal radicular para o preenchimento do mesmo e colocadas em tubos de ensaio contendo 1mL de solução salina. Após 1 hora, a contagem do isótopo radioativo (^{99m}Tc) foi realizada. Findo esse período, 3 raízes foram processadas para análise da limpeza dentinária radicular por MEV e os canais radiculares das 7 raízes restantes foram contaminados com *Enterococcus faecalis* por 21 dias. A presença e aderência microbiana foram constatadas e avaliadas por fotomicrografias eletrônicas. O tratamento estatístico dos dados permitiu concluir que a o G3 provocou uma diminuição significativa da permeabilidade dentinária radicular; o G2 e

o G1, em relação à permeabilidade dentinária radicular, não apresentaram diferença estatisticamente significativa em nível de 5%; o G2 mostrou-se eficiente na limpeza das paredes dentinárias do canal radicular e, o G1 apresentou os menores índices de aderência e contaminação da parede dentinária radicular, nos diferentes terços avaliados, sendo maior no G2, seguido pelo G3.

Palavras-Chave: Endodontia, permeabilidade dentinária, radioisótopo, Tecnécio, laser

Cabrales Salgado RJ. Study of the variation of permeability, cleaning and contamination of the root canal system after preparation and application of high-intensity laser [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2009.

ABSTRACT

The permeability increasing and the cleanliness of root dentin walls are important to improve the sanitization and root canal filling. Thus, this study aimed to evaluate the variations of root dentin permeability of human teeth, after endodontic preparation followed by Er:YAG and Nd:YAG laser irradiation, using free Technetium-99m radioisotope (^{99m}Tc) as tracer. Additionally, SEM images were analyzed to evaluate the cleanliness of dentin walls and possible bacterial adhesion after *Enterococcus faecalis* inoculation. Thirty palatal roots of human first pre-molars were prepared by conventional technique. Therefore, the sample were randomly divided into 3 experimental groups with 10 teeth each: G1 - control, G2 - Er:YAG laser irradiation and G3 - Nd:YAG laser irradiation. Samples were filled with free ^{99m}Tc and placed in test tubes containing 1ml of saline solution. After 1 hour, the radioactive isotope (^{99m}Tc) was counted. After that, 3 roots were processed for analysis of dentin cleaning through SEM images and the 7 remaining roots were infected with *Enterococcus faecalis* for 21 days. The microbial presence and adhesion were verified and evaluated by SEM. After the statistical treatment (ANOVA), it was concluded that Nd:YAG irradiation significantly decreased dentin permeability. Er:YAG irradiation showed significant differences in cleaning efficacy and the G1 (control) had the lowest rates of adherence and contamination of dentin walls, followed by the G3 and G2.

Keywords: Endodontic, dentin permeability, radioisotope, Technetium, laser

LISTA DE FIGURAS

Figura 4.1 - Efervescência decorrente da reação entre creme de ENDO-PTC e hipoclorito de sódio.....	81
Figura 4.2 – Tecnécio em blindagem de chumbo portátil (castelinho).....	83
Figura 4.3 – Colocação da raiz em solução salina após o preenchimento do canal com ^{99m}Tc	84
Figura 4.4 – Transferência da raiz e do tubo com solução salina a tubos maiores para contagem do radioisótopo ^{99m}Tc	84
Figura 4.5 – Contador automático para análise da quantidade de radioisótopo livre na solução salina (Modelo D5002 Cobra II, autogamma, A Packard, Cambera, EUA).....	85
Figura 4.6 - Raiz hemisseccionada selecionada, após clivagem longitudinal.....	86
Figura 4.7 - Capela de fluxo, para manipulação de substâncias tóxicas.....	86
Figura 4.8 - Desidratação em álcool com concentrações crescentes.....	87
Figura 4.9 - Espécimes fixados nos <i>stubs</i>	88
Figura 4.10 - Espécimes metalizados e posicionados no microscópio.....	88
Figura 4.11 - Microscópio eletrônico de varredura.....	88
Figura 4.12 - Microscópio eletrônico de varredura.....	88
Figura 4.13 - Diagrama representativo da padronização das regiões do canal radicular que foram fotomicrografadas.....	89
Figura 4.14 - Programa Fotoscore.....	90
Figura 4.15 - Fotomicrografia eletrônica de varredura, representando o escore 1 de limpeza.....	91
Figura 4.16 - Fotomicrografia eletrônica de varredura, representando o escore 2 de limpeza.....	92
Figura 4.17 - Fotomicrografia eletrônica de varredura, representando o escore 3 de limpeza.....	92
Figura 4.18 - Fotomicrografia eletrônica de varredura, representando o escore 4 de limpeza.....	93

Figura 4.19 - Fotomicrografia eletrônica de varredura, representando o escore 5 de limpeza.....	93
Figura 4.20 - Fotomicrografia eletrônica de varredura, representando o escore 1 de contaminação.....	97
Figura 4.21 - Fotomicrografia eletrônica de varredura, representando o escore 2 de contaminação.....	97
Figura 4.22 - Fotomicrografia eletrônica de varredura, representando o escore 3 de contaminação.....	98
Figura 5.1 A e B - Fotomicrografias eletrônicas de varredura, representando a região mais limpa (A) e a menos limpa (B) do terço apical do G1 (aumento de 4.000 X).....	107
Figura 5.2 A e B - Fotomicrografias eletrônicas de varredura, representando a região mais limpa (A) e a menos limpa (B) do terço apical do G2 (aumento de 4.000 X).....	108
Figura 5.3 A e B - Fotomicrografias eletrônicas de varredura, representando a região mais limpa (A) e a menos limpa (B) do terço apical do G3 (aumento de 4.000 X).....	109
Figura 5.4 A e B - Fotomicrografias eletrônicas de varredura, representando a região mais limpa (A) e a menos limpa (B) do terço médio do G1 (aumento de 4.000 X).....	110
Figura 5.5 A e B - Fotomicrografias eletrônicas de varredura, representando a região mais limpa (A) e a menos limpa (B) do terço médio do G2 (aumento de 4.000 X).....	111
Figura 5.6 A e B - Fotomicrografias eletrônicas de varredura, representando a região mais limpa (A) e a menos limpa (B) do terço médio do G3 (aumento de 4.000 X).....	112
Figura 5.7 A e B - Fotomicrografias eletrônicas de varredura, representando a região mais limpa (A) e a menos limpa (B) do terço cervical do G1 (aumento de 4.000 X).....	113
Figura 5.8 A e B - Fotomicrografias eletrônicas de varredura, representando a região mais limpa (A) e a menos limpa (B) do terço cervical do G2 (aumento de 4.000 X).....	114
Figura 5.9 A e B - Fotomicrografias eletrônicas de varredura, representando a região mais limpa (A) e a menos limpa (B) do terço cervical do G3 (aumento de 4.000 X).....	115

Figura 5.10 A e B - Fotomicrografias eletrônicas de varredura, representando a região menos contaminada (A) e a mais contaminada (B) do terço apical do G1 (aumento de 4.000 X).....	123
Figura 5.11 A e B - Fotomicrografias eletrônicas de varredura, representando a região menos contaminada (A) e a mais contaminada (B) do terço apical do G2 (aumento de 4.000 X).....	124
Figura 5.12 A e B - Fotomicrografias eletrônicas de varredura, representando a região menos contaminada (A) e a mais contaminada (B) do terço apical do G3 (aumento de 4.000 X).....	125
Figura 5.13 A e B - Fotomicrografias eletrônicas de varredura, representando a região menos contaminada (A) e a mais contaminada (B) do terço médio do G1 (aumento de 4.000 X).....	126
Figura 5.14 A e B - Fotomicrografias eletrônicas de varredura, representando a região menos contaminada (A) e a mais contaminada (B) do terço médio do G2 (aumento de 4.000 X).....	127
Figura 5.15 A e B - Fotomicrografias eletrônicas de varredura, representando a região menos contaminada (A) e a mais contaminada (B) do terço médio do G3 (aumento de 4.000 X).....	128
Figura 5.16 A e B - Fotomicrografias eletrônicas de varredura, representando a região menos contaminada (A) e a mais contaminada (B) do terço cervical do G1 (aumento de 4.000 X).....	129
Figura 5.17 A e B - Fotomicrografias eletrônicas de varredura, representando a região menos contaminada (A) e a mais contaminada (B) do terço cervical do G2 (aumento de 4.000 X).....	130
Figura 5.18 A e B – Fotomicrografias eletrônicas de varredura, representando a região menos contaminada (A) e a mais contaminada (B) do terço cervical do G3 (aumento de 4.000 X).....	131

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 5.1 – Médias, em porcentagem, da penetração do ^{99m}Tc livre nos grupos das amostras.....	99
Gráfico 5.2 - Resultados estatísticos do teste Tukey, da porcentagem de isótopo radiativo, ^{99m}Tc , encontrado na solução salina extra-radicular.....	101
Gráfico 5.3 - Resultados estatísticos do teste Tukey, da porcentagem de isótopo radiativo, ^{99m}Tc , encontrado retido intra-radicular nos diferentes grupos.....	101
Gráfico 5.4 - Média dos valores das leituras dos escores para os terços: cervical, médio e apical.....	103
Gráfico 5.5 - Média dos valores totais de limpeza de cada grupo experimental.....	103
Gráfico 5.6 - Média dos valores de contaminação das leituras dos escores para os terços: cervical, médio e apical em cada grupo experimental.....	116
Gráfico 5.7 - Média dos valores totais de contaminação dos escores para cada grupo experimental.....	117
Gráfico 5.8 - Análise de variância qualitativa da contaminação das paredes dentinárias radiculares dos terços médios entre os diferentes grupos experimentais.....	119
Gráfico 5.9 - Análise de variância qualitativa da contaminação das paredes dentinárias radiculares dos terços cervical, médio e apical do grupo controle (G1).....	121
Gráfico 5.10 - Análise de variância qualitativa da contaminação das paredes dentinárias radiculares dos terços cervical, médio e apical do grupo de Nd:YAG.....	122

LISTA DE TABELAS

Tabela 5.1 – Média, em porcentagem, da penetração do ^{99m}Tc livre nos diferentes grupos.....	99
Tabela 5.2 – Análise de variância da permeabilidade dentinária radicular analisada com ^{99m}Tc	100
Tabela 5.3 - Resultados estatísticos do teste Tukey da análise de variância da permeabilidade dentinária radicular entre os diferentes grupos experimentais.....	100
Tabela 5.4 - Média dos valores das leituras dos escores para os terços: cervical, médio e apical de cada grupo.....	102
Tabela 5.5 – Valor médio total dos escores para cada grupo experimental.....	103
Tabela 5.6 - Análise de variância qualitativa da limpeza total das paredes dentinárias radiculares entre os diferentes grupos experimentais.....	104
Tabela 5.7 - Análise de variância qualitativa da limpeza das paredes dentinárias radiculares dos terços apicais entre os diferentes grupos experimentais.....	104
Tabela 5.8 - Análise de variância qualitativa da limpeza das paredes dentinárias radiculares dos terços médios entre os diferentes grupos experimentais.....	105
Tabela 5.9 - Análise de variância qualitativa da limpeza das paredes dentinárias radiculares dos terços cervicais entre os diferentes grupos experimentais.....	105
Tabela 5.10 - Análise de variância qualitativa da limpeza das paredes dentinárias radiculares dos terços cervical, médio e apical do grupo controle (G1).....	105
Tabela 5.11 - Análise de variância qualitativa da limpeza das paredes dentinárias radiculares dos terços cervical, médio e apical do grupo do Er:YAG (G2).....	106
Tabela 5.12 - Análise de variância qualitativa da limpeza das paredes dentinárias radiculares dos terços cervical, médio e apical do grupo do Nd:YAG (G3).....	106
Tabela 5.13 - Média dos valores de contaminação das leituras dos escores para o terço cervical, médio e apical em cada grupo experimental.....	116

Tabela 5.14 - Média dos valores totais de contaminação das leituras dos escores para cada grupo experimental.....	117
Tabela 5.15 - Análise de variância qualitativa da contaminação total das paredes dentinárias radiculares entre os diferentes grupos experimentais.....	118
Tabela 5.16 - Análise de variância qualitativa da contaminação das paredes dentinárias radiculares dos terços apicais entre os diferentes grupos experimentais.....	118
Tabela 5.17 - Análise de variância qualitativa da contaminação das paredes dentinárias radiculares dos terços médios entre os diferentes grupos experimentais.....	119
Tabela 5.18 - Análise de variância qualitativa da contaminação das paredes dentinárias radiculares dos terços cervicais entre os diferentes grupos experimentais.....	120
Tabela 5.19 - Análise de variância qualitativa da contaminação das paredes dentinárias radiculares dos terços apical, médio e cervical do grupo G1 (Gráfico 5.2.2.4).....	120
Tabela 5.20 - Análise de variância qualitativa da contaminação das paredes dentinárias radiculares dos terços cervical, médio e apical do grupo Er:YAG (G2).....	121
Tabela 5.21 - Análise de variância qualitativa da contaminação das paredes dentinárias radiculares dos terços cervical, médio e apical do grupo Nd:YAG (G3).....	122

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

^{99m}Tc : Tecnécio 99 metaestável

ADN: ácido desoxirribonucleico

BHI: Infuso de cérebro e coração

CHX: clorexidina

NiCr: níquel-cromo

EDTA-C: Ácido etileno-diamino-tetra-acético com Cetavlon

EDTA-T: Ácido etileno-diamino-tetra-acético com Tergentol

Er,Cr:YSGG: Óxido de Gálio, Escândio e Ítrio dopado com Cromo e Érbio

Er:YAG: Ítrio, Alumínio, Granada dopado com Érbio.

FOUSP: Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

FUNDECTO: Fundação para o Desenvolvimento Científico e Tecnológico da Odontologia

HMDS: Hexametildissilazana $[(\text{CH}_3)_3\text{Si}]_2\text{NH}$]

Hz: Hertz

IPEN: Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares

J/cm^2 : Joule/centímetro quadrado

Kg: Quilograma

KGy: Quilograys

kV: Quilovolts

LASER: *Light amplification by Stimulated Emission of Radiation*

MEV: Microscopia eletrônica de varredura

mCi: Mili Curie

mJ: Mili joule

mL: Mililitro

mm: Milímetro

mol: Quantidade de matéria

Ns: Não significante

NaOCl: Hipoclorito de sódio

Nd: YAG: Neodímio, Ítrio, Alumínio, Granada

nm: Nanômetro

Pa: Pascal

pH: Potencial hidrogênioônico

PVC: Policloreto de vinila

s/mm: Segundos por milímetros

s: Segundos

TIFF: *Image Tagged File Format*

TSA: Ágar triptone de soja

TSB: caldo triptone de soja

UFC: unidades formadoras de colônias

W: Watt

μL: Microlitro

μm: Micrômetro

μCi: Micro Curie (10⁻⁶ Ci)

LISTA DE SÍMBOLOS

°C: Graus Celsius

Å: Angstrom

Ø: Diâmetro

SUMÁRIO

p.

1 INTRODUÇÃO.....	23
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	26
2.1 Microorganismos.....	27
2.2 Substâncias químicas auxiliares da instrumentação.....	29
2.3 Magma Dentinário.....	36
2.4 Permeabilidade dentinária.....	42
2.4.1 Métodos de avaliação da permeabilidade dentinária.....	45
2.5 Laseres em Endodontia	49
2.6 Estudos comparativos entre laseres e EDTA	58
2.7 Ações bactericidas do laser de alta potência.....	62
2.8 Penetração bacteriana no sistema de canais radiculares.....	63
3 PROPOSIÇÃO.....	75
4 MATERIAL E MÉTODOS	76
4.1 Preparo dos grupos.....	78
4.2 Avaliações da permeabilidade dentinária com o radioisótopo ^{99m} Tc.....	82
4.2.1 Preparação dos espécimes.....	82
4.3 Processamento para microscopia eletrônica de varredura.....	85
4.3.1 Metodologia da avaliação da MEV.....	89
4.4 Inoculação bacteriana nas amostras.....	94
4.4.1 Preparo do inóculo.....	94
5 RESULTADOS.....	99
5.1 Avaliação da permeabilidade dentinária radicular com o radioisótopo ^{99m} Tc	99
5.2 Análise qualitativa dos três grupos experimentais.....	102
5.2.1 Análise qualitativa da limpeza dentinária radicular.....	102
5.2.2 Análise da aderência e contaminação do <i>Enterococcus faecalis</i>	116
6 DISCUSSÃO.....	132
7 CONCLUSÕES.....	154
REFERÊNCIAS.....	155

APÊNDICES	164
ANEXOS.....	179

1 INTRODUÇÃO

O fundamento do tratamento endodôntico baseia-se na correta execução dos princípios básicos que regem as diferentes fases da terapia endodôntica.

Assim, a adequada cirurgia de acesso e o preparo da entrada dos canais permitem uma correta determinação do comprimento real de trabalho, possibilitando o livre acesso dos instrumentos endodônticos e das substâncias químicas auxiliares às paredes dos canais radiculares e, conseqüentemente, a modelagem e o saneamento apropriados ao sistema de canais. Tais manobras, no canal, tornam possível bom nível de impermeabilização após a obturação. No decorrer da terapia endodôntica, é imprescindível o cuidado e o respeito aos tecidos da região periapical, visto que o objetivo do tratamento é sua reparação. Desse modo, o elemento dentário retomará a condição favorável para exercer, novamente, suas funções.

Previamente ao tratamento, os tecidos periapicais podem apresentar-se normais ou com reação inflamatória, decorrente da inflamação pulpar, subprodutos da mortificação pulpar, presença de bactérias e suas toxinas. As possíveis injúrias causadas durante a terapêutica endodôntica, tais como: sobre-instrumentação, ação lesiva das substâncias químicas auxiliares ou mesmo a sobre-obturação, somadas às condições preexistentes desfavorecem ao órgão dental o retorno às suas funções normais.

Acompanhando esse raciocínio, os recursos que o preparo químico-cirúrgico oferece são de extrema importância para se alcançar a reparação dos tecidos periapicais. Esse preparo consiste no processo de sanificação e modelagem do canal radicular. A limpeza baseia-se na remoção de tecido vivo ou em

decomposição e na eliminação de microorganismos e resíduos orgânicos e inorgânicos da cavidade pulpar, por meio da ação mecânica dos instrumentos subsidiada por substâncias químicas auxiliares.

Concomitantemente à sanificação, realiza-se a modelagem com o uso de instrumentos endodônticos tanto manuais quanto rotatórios, visando obter um desgaste cirúrgico apropriado para adaptação, selamento e retenção do material obturador.

A utilização, em Endodontia, da irradiação laser de alta potência, quando aplicada como coadjuvante do saneamento de canais radiculares, ocupa lugar de destaque, sendo de grande interesse à terapia endodôntica quanto à complementação da desinfecção e limpeza obtidas durante o preparo do canal.

O controle da infecção em Endodontia é, sem dúvida nos dias de hoje, o grande desafio para a solução dos casos de infecções persistentes, nas quais o preparo químico-cirúrgico e os protocolos de medicação intracanal instituídos, não proporcionem a resposta desejada no combate à contaminação, em situações de resistência bacteriana. Determinados protocolos de irradiação laser, quando aplicados à dentina radicular, produzem um efeito térmico com alta capacidade bactericida, podendo essa energia, tanto promover alterações estruturais na dentina, como modificar a permeabilidade dentinária radicular, alterando os índices de penetração nos túbulos dentinários. Assim, também, o laser de alta potência poderia modificar o substrato dentiário, interferindo na fixação do microorganismo frente a uma contaminação ou recontaminação do sistema endodôntico após a obturação do canal radicular.

Muitos estudos da permeabilidade dentinária do canal radicular lançam mão de diferentes evidenciadores, tais como isótopos radiativos: S^{35} , Na^{22} , I^{131} , P^{32} , usados como marcadores para estudos *in vivo* e *in vitro* (ARAKI, 2007).

Dessa forma, parece lícito avaliar o índice de permeabilidade dentinária radicular (avaliação quantitativa), limpeza (avaliação qualitativa) e a possível contaminação do sistema de canais radiculares (avaliação qualitativa), inoculando *Enterococcus faecalis* em raízes de dentes humanos hígidos, previamente submetidas ao preparo químico-cirúrgico e, posteriormente, irradiadas ou não com laser de Er:YAG ou de Nd:YAG.

2 REVISÃO DA LITERATURA

A permeabilidade é uma característica do tecido dentinário, isto é, a capacidade que a dentina tem de promover difusão de substâncias para seu interior. Essa característica permeável da dentina lhe é conferida principalmente pela presença de inúmeros túbulos dentinários, que incidem com mais prevalência nas regiões próximas à câmara pulpar e com uma menor incidência no terço apical. A dentina é o tecido mineralizado de maior volume do dente; é composta por 70% de matéria inorgânica formada pela hidroxiapatita, 18% de matriz orgânica em sua maior parte constituída por colágeno e 12% de água (HOLLAND, 1985).

Holland, em 1985, estudando a forma e função dos processos odontoblásticos, concluiu que os túbulos na dentina radicular apresentavam diâmetro mínimo de 2 μm durante a dentinogênese.

Mjör e Nordahl, em 1996, estudaram o número, o tamanho, a densidade e as ramificações dos túbulos dentinários de dentes humanos e concluíram que os valores alcançam médias variáveis entre 5.000 e 90.000 túbulos por mm^2 , sediando-se o índice mais comum entre 8.000 e 57.000. O número de túbulos é menor na periferia do dente e aumenta em direção à polpa. O menor número de túbulos por mm^2 é encontrado na dentina periférica e o número mais acentuado é encontrado na dentina mais profunda e próxima à polpa coronária. Diferentes tipos de ramificações de túbulos podem ser identificados com base em tamanho, direção e localização. Os tipos e números de ramificações são afetados pela densidade dos túbulos. As maiores ramificações são ramificações delta periféricas típicas; as ramificações finas deixam os túbulos principais num ângulo de 45° e as microrramificações se bifurcam num ângulo de 90° a partir dos túbulos.

Camargo et al. (2007) demonstraram que a permeabilidade é dependente de fatores, tais como: número e diâmetro dos túbulos dentinários (que sempre se apresentam maiores no terço cervical e menores no terço apical), a espessura da dentina, a concentração dos fluídos presentes nesse tecido e a presença ou ausência de magma dentinário e outros precipitados. Os autores fizeram, ainda, uma avaliação quanto ao número e ao diâmetro dos túbulos dentinários em canais radiculares, nos diferentes terços. Em 24 dentes humanos pré-molares, divididos de acordo com faixas etárias - G1: 10-15; G2: 16-30; G3: 31-45; G4: 46-80 anos de idade que, depois de instrumentados, seccionados longitudinalmente e analisados sob MEV, demonstraram que o terço cervical apresentou a maior média no número de túbulos dentinários, seguido dos terços médio e apical. Com relação às faixas etárias, na faixa de 46 a 80 anos, a média de túbulos foi significativamente menor do que para as demais faixas etárias. Não foram encontrados, nos demais grupos estudados, diferenças estatisticamente significantes em relação ao diâmetro tubular.

2.1 Microorganismos

A importância da presença de microorganismos na etiologia das patologias endodônticas é explicitada em estudo histopatológico de Kakehashi, Stanley e Fitzgerald (1965). Quando polpas de ratos gnotobióticos foram expostas ao meio bucal, não sofreram mortificação e observou-se formação de ponte de dentina, evidenciando o poder reparador do tecido quando isento de infecção. Nos espécimes portadores de microbiota foram observados abscessos, extensas áreas inflamatórias e reabsorções ósseas periapicais.

Sundqvist et al. (1979), analisando polpas necrosadas de dentes com coroas intactas por meio de culturas em câmara de anaerobiose, caracterizaram a microbiota endodôntica desses dentes. Os autores demonstraram que essa microbiota era composta por 90% de anaeróbios estritos, geralmente contendo de uma a doze espécies diferentes de microorganismos e que o número de espécimes e densidade variava proporcionalmente ao tamanho da lesão perirradicular.

Möller et al. (1981) verificaram que o tecido pulpar necrótico, por si só, não é suficiente para desenvolver periapicopatias; é ademais necessária a presença de infecção. Os autores lesionaram polpas em macacos: em um grupo, as cavidades pulpares foram mantidas seladas por até sete meses e, em outro grupo, expostas à cavidade bucal por até sete dias e depois seladas por até sete meses. Foram feitas análises clínicas, radiográficas, histológicas e testes microbiológicos. Os autores observaram presença de lesões periapicais em todos os casos onde houve contaminação. Concluíram também que, nesse período experimental, a via hematogênica cria um risco muito baixo de contaminação do canal radicular.

A flora bacteriana do canal infectado é formada por muitas espécies de microorganismos. Grande parte deles provém de lesões cariosas, pelo contato direto com a cavidade oral ou pela difusão através dos túbulos dentinários. A inflamação dos tecidos apicais está na dependência da intensidade e do tempo de permanência do agente agressor e não apenas de sua natureza. A terapia endodôntica convencional, buscando promover a máxima desinfecção e limpeza possíveis, lança mão da instrumentação manual ou automatizada, associada a substâncias químicas com capacidade desinfetante, objetivando a sanificação da dentina radicular (SIQUEIRA, 1997).

Pinheiro et al. (2003) propuseram identificar a flora microbiana de canais radiculares em dentes com insucesso no tratamento endodôntico, apresentando lesão periapical persistente e determinar a associação das várias espécies de microorganismos com as características clínicas. Concluíram que, nessa flora microbiana, houve um limitado número de espécies microbianas predominantemente gram-positivas. Anaeróbios facultativos e *Enterococcus faecalis* foram os microorganismos mais comumente isolados. No entanto, infecções polimicrobianas e anaeróbios estritos foram, freqüentemente, encontrados em canais radiculares de dentes tratados endodonticamente e sintomáticos.

2.2 Substâncias químicas auxiliares da instrumentação

O uso de soluções irrigadoras como auxiliares no processo de sanificação e modelagem do canal radicular é essenciais. A seqüência natural do tratamento endodôntico: esvaziamento e preparo químico-cirúrgico dos canais radiculares é a grande responsável pela sanificação do sistema de canais.

Assim, Auerbach (1953) preocupou-se em demonstrar a efetividade da instrumentação na Endodontia e o uso de associações antibióticas. Em seu estudo, mostrou que essas associações não melhoraram o resultado nem diminuíram o tempo do tratamento endodôntico e que então os princípios fundamentais de uma técnica endodôntica segura não podem ser negligenciados.

Já, Ingle e Zeldow (1958) avaliaram o papel da instrumentação manual na redução da flora bacteriana. Dentre as limitações do estudo, os autores concluíram que a instrumentação manual e a irrigação com água destilada não foram um método eficiente na desinfecção do canal radicular.

A preocupação com os fatores irritantes (físicos, químicos, mecânicos e biológicos) aos tecidos periapicais tem sido uma constante na Endodontia; assim, inúmeras substâncias químicas foram testadas, visando a busca daquelas que disponham dos requisitos necessários para o saneamento adequado do sistema endodôntico. Na literatura existem inúmeros estudos que enfatizam o uso de substâncias químicas auxiliares, dentre elas o emprego do creme de ENDO-PTC em reação com solução de hipoclorito de sódio.

O creme de ENDO-PTC, em suas apresentações (de maior ou menor consistência) constitui uma substância graxa com capacidade detergente, permitindo uma ação lubrificante durante a instrumentação, sendo totalmente solúvel em água e extremamente estável. Essa substância contém 10% de peróxido de uréia e 15% de um detergente neutro (TWEEN 80), veiculados numa base de 75% de Carbowax. Sua propriedade antimicrobiana justifica-se pela presença do peróxido de uréia, que é considerado um efetivo agente desinfetante e, quando na presença de hipoclorito de sódio em qualquer concentração, libera oxigênio e compostos de cloro, comprovadamente efetivos na desinfecção dos canais radiculares. O Carbowax (75%), presente em sua composição, torna o contato do hipoclorito de sódio e peróxido de uréia mais lento, possibilitando a formação de microbolhas de modo contínuo e duradouro. O detergente Tween 80 auxilia no processo de limpeza das paredes do canal, reduzindo a tensão superficial e possibilitando um espalhamento mais rápido e uniforme nos meandros da superfície dentinária. De mais a mais, o detergente é totalmente tolerado pelos tecidos da região periapical. Além dessas propriedades, essa associação incrementa a permeabilidade dentinária, na intimidade da dentina radicular, potencializando sua ação no combate aos microorganismos no sistema de canais radiculares (PAIVA; ANTONIAZZI, 1973).

Paiva e Antoniazzi (1973) analisaram, valendo-se de testes bacteriológicos, a associação do creme de ENDO-PTC com hipoclorito de sódio a 0,5% e uma irrigação com associação de detergente e Furacin, após a instrumentação manual de canais radiculares com lesão apical. Os autores selecionaram 35 dentes unirradiculares com rarefação apical visível radiograficamente e ausência de tratamento endodôntico anterior, os quais foram submetidos ao preparo químico-cirúrgico com essas substâncias químicas auxiliares. Durante a terapia, foram realizadas três coletas de amostras do conteúdo do canal radicular: após a cirurgia de acesso, após o preparo químico-cirúrgico e antes da obturação. Após a leitura das culturas obtidas, concluíram que as substâncias químicas utilizadas foram eficazes no combate aos microorganismos presentes no interior do sistema de canais, sendo bem toleradas pelos tecidos periapicais, aspecto corroborado pela sintomatologia pós-operatória, principalmente após o preparo químico-cirúrgico.

Outrossim, Wey Filho et al. (1975) estudaram as possíveis variações da efetividade bactericida, em função da velocidade de ação das substâncias químicas: ENDO-PTC, líquido de Dakin, Tergentol/Furacin-Oto-Solução, água oxigenada e soda clorada. Selecionaram 30 dentes unirradiculares portadores de polpa mortificada, que foram extraídos e seccionados na sua porção apical em três fragmentos. Dois desses permaneceram em contato com as substâncias químicas, um por um período de 15 minutos, o outro, durante 30 minutos. O terceiro fragmento foi submetido ao teste bacteriológico para comprovação da contaminação. Os resultados mostraram que a associação Tergentol-Furacin foi a menos efetiva pela sua ineficácia no combate aos microorganismos. Já a água oxigenada foi mais efetiva que o líquido de Dakin e o creme de ENDO-PTC reagindo com líquido de

Dakin, bem como, a soda clorada alternada com água oxigenada apresentaram maior efetividade antimicrobiana, nos dois tempos experimentais.

Bombana et al. (1974) analisaram o potencial irritativo do creme de ENDO-PTC associado ao líquido de Dakin, seguido de irrigação com Tergentol/Furacin, PTC associado ao líquido de Dakin, seguido de irrigação com Tergentol/Furacin, seguido de corticosteróide/antibiótico comparados à soda clorada associada à água oxigenada, no saco conjuntival do olho do coelho. Observaram as alterações promovidas nos tempos de 15 minutos, 1 hora, 2, 3, 6 e 24 horas, considerando ocorrências de hiperemia, edema, exsudato, reflexos e brilho. Concluíram que a reação inflamatória do grupo onde foi usada soda clorada e água oxigenada foi a mais severa, denunciando a má tolerância dos tecidos a esses fármacos; já nos demais, ocorreu pequena resposta inflamatória.

Entre as substâncias químicas auxiliares mais utilizadas destacam-se: o hipoclorito de sódio em variadas concentrações; 0,5 % (líquido de Dakin), 1 % (solução de Milton), 2,5 % (licor de Labarraque), 5 % (solução de Grossman) e 5,25 % (soda clorada duplamente concentrada). Como potente ação coadjuvante à terapêutica, os hipocloritos apresentam importantes propriedades de desnaturação protéica e saponificação de gorduras, produtos altamente presentes no sistema de canais radiculares (CUNNINGHAM; BALEKJIAN, 1980).

Simões, Sampaio e Debelian (1989) estudaram as propriedades bactericidas e a tolerância tecidual do hipoclorito de sódio a 0,5 e a 1% no tecido conjuntivo de 30 camundongos nos períodos de 24, 72 e 168 horas. Concluíram que as soluções de hipoclorito de sódio estudadas apresentaram-se biocompatíveis com o tecido conjuntivo de camundongos, quando comparadas com o grupo controle e, ainda,

mostraram propriedade bactericida, apesar do hipoclorito de sódio a 1% apresentar um poder bactericida maior.

Lauretti et al. (1990) verificaram o potencial irritativo do creme de ENDO-PTC reagindo com o líquido de Dakin sobre o tecido conjuntivo de ratos, por meio de análise histológica. Para isso, utilizaram 24 ratos divididos em 2 grupos: GA - aplicou-se 0,5 mL de creme de ENDO-PTC e 5 mL de líquido de Dakin na ferida cirúrgica e, após 10 minutos, irrigou-se com 2 mL de Tergentol-Furacin; GB - nenhuma droga foi utilizada. Os tempos experimentais foram 1, 7, 14 e 21 dias. Concluíram que houve um maior retardo no processo de cicatrização das feridas experimentais do GA em comparação ao GB e que, após 28 dias, os dois grupos comportaram-se de forma similar em relação ao processo cicatricial.

Spanó et al. (2001) realizaram um estudo *in vitro* a fim de investigar o efeito solvente de 4 concentrações de hipoclorito de sódio (0,5; 1,0; 2,5 e 5%) sobre o tecido pulpar bovino à temperatura ambiente; e para avaliar o teor de cloro residual, pH e tensão superficial antes e após a dissolução pulpar. Após a obtenção dos resultados, os autores concluíram que: quanto maior a concentração de hipoclorito de sódio, maior a velocidade de dissolução do tecido pulpar bovino; o pH e a tensão superficial após os testes de dissolução de todas as soluções de hipoclorito de sódio foram reduzidos; o consumo de cloro foi menor quanto menor a concentração de hipoclorito de sódio; e o teor de cloro residual ocorreu em todas as concentrações e foi diretamente proporcional à concentração durante o processo de dissolução do tecido pulpar.

Buck et al. (2001) compararam o efeito bactericida do hipoclorito de sódio a 0,5 %, clorexidina 0,12% e EDTA 0,2% em raízes colonizadas por *Enterococcus faecalis*. Após a utilização dos irrigantes, amostras de dentina foram colhidas com

auxílio de brocas para a verificação da presença de bactérias viáveis. As amostras foram inoculadas em meio de cultura TSB por 12 horas e após a contagem de UFC, os dados foram tratados estatisticamente. Os resultados demonstraram que o hipoclorito de sódio foi mais eficiente na redução microbiana com significância estatística, mas não propiciou a esterilização das amostras.

Já, Gomes et al. (2001) avaliaram *in vitro* a efetividade do hipoclorito de sódio a 0,5; 1,0; 2,5; 4,0 e 5,25 % e do gluconato de clorexidina a 0,2; 1,0 e 2,0%, sob forma de gel e em solução, na eliminação do *Enterococcus faecalis*. Os tempos de contato foram: 10, 30, 45 segundos; 1, 3, 5, 10, 20, 30 minutos; 1 e 2 horas. Todas as soluções foram efetivas, porém, em tempos diferentes. A clorexidina na forma líquida e o hipoclorito de sódio a 5,25% foram as soluções mais efetivas. De acordo com os resultados, concluíram que o tempo de contato exigido para eliminação do *Enterococcus faecalis* dependeu da concentração e tipo de solução irrigadora utilizada.

No entanto, Siqueira Jr et al. (2002b) compararam a redução bacteriana proporcionada por duas técnicas de instrumentação e diferentes combinações de agentes irrigantes. Inocularam o *Enterococcus faecalis* por 24 horas em meio BHI a 37 °C em cinquenta dentes unirradulares divididos em cinco grupos: Grupo 1 – instrumentados com hipoclorito de sódio a 2,5% e limas Nitiflex®; Grupo 2 – idem ao grupo 1 alternado com ácido cítrico a 10%; Grupo 3 – idem ao grupo 1 mais clorexidina 2%; Grupo 4 – hipoclorito de sódio a 2,5% e instrumentação rotatória e o grupo controle instrumentado com solução salina e limas Nitiflex®. Não houve diferenças estatísticas entre os grupos 1, 2, 3 e 4 no que concerne à redução microbiana, mas foi estatisticamente significativa em relação ao grupo controle. A redução em média dos grupos foi de 66%. Os autores salientaram que os dentes

instrumentados com hipoclorito de sódio associado a clorexidina (grupo 3) tiveram escurecimento acentuado da dentina radicular.

McHugh et al. (2004) determinaram o valor do pH do hipoclorito de sódio capaz de inibir o crescimento do *Enterococcus faecalis*. Os valores de pH testados foram 9,5; 10; 10,5; 11; 11,5 e 12, nos tempos de 24; 48; 72; 96; 120 e 144 horas. A avaliação foi realizada por espectrofotometria e comparação visual da turvação com a escala de McFarland 0,5. Concluíram que com pH de 10,5 e 11 houve um crescimento lento do *Enterococcus faecalis*. Já com pH de 11,5 ou mais não ocorreu nenhum crescimento bacteriano do *Enterococcus Faecalis*.

Siqueira, Santos e Bombana (2005) avaliaram a capacidade de dissolução de polpas de dentes bovinos em gel de clorexidina a 2% e de hipoclorito de sódio em concentrações de 5,0; 2,5; 1,0 e 0,5% e valores de pH 7,0; 9,0 e 11,0 sob duas temperaturas 27 e 37°C. Os fragmentos do tecido pulpar foram imersos nas diferentes substâncias por período máximo de 120 minutos. Os autores concluíram que o gel de clorexidina a 2% e que as soluções de hipoclorito de sódio, com pH 7,0 e a 0,5 %, independente da temperatura, não dissolveram o tecido orgânico durante o tempo experimental e que todas as soluções de hipoclorito de sódio em pH 11 mostraram ação de dissolução do tecido empregado no experimento.

Ari e Erdemir (2005) avaliaram o conteúdo mineral da dentina do canal radicular após irrigação com várias soluções endodônticas. Sessenta dentes foram divididos em seis grupos: Grupo 1 - 5 mL de gluconato de clorexidina a 0,2% por 15 minutos; Grupo 2 - 5 mL de água oxigenada a 3% por 15 minutos; Grupo 3 - 5 mL de EDTA a 17% por 15 minutos; Grupo 4 - 5 mL de hipoclorito de sódio a 5,25% por 15 minutos; Grupo 5 - 5 mL de hipoclorito de sódio a 2,5% por 15 minutos e Grupo 6 - 5 mL de água destilada (controle). Porções de dentina foram removidas com brocas

Gates-Glidden e nelas analisados os níveis de cálcio, fósforo, enxofre, magnésio e potássio. De acordo com os resultados, o hipoclorito de sódio a 5,25% diminuiu o nível do cálcio, mas não foi estatisticamente significativa; o nível de fósforo diminuiu em todas as soluções menos para hipoclorito de sódio a 5,25%; os níveis de potássio, magnésio e enxofre também diminuíram, mas não foi estatisticamente significativa. Os autores concluíram que as soluções irrigadoras endodônticas têm efeito sobre os conteúdos minerais da dentina do canal radicular.

2.3 Magma Dentinário

O preparo do canal radicular baseia-se na ação cirúrgica das limas endodônticas concomitante à ação química das substâncias auxiliares da instrumentação. A ação cirúrgica das limas produz excisão de raspas contaminadas de dentina, oriundas das paredes do canal radicular; facilitada pela ação química das substâncias, remove restos orgânicos e inorgânicos contaminados ou não e combate microorganismos existentes na intimidade da dentina. Em consequência desse preparo químico-cirúrgico, um subproduto residual é gerado, composto por componentes inorgânicos provenientes da dentina excisada e restos orgânicos oriundos de remanescentes pulpare vivos ou necróticos, processos odontoblásticos, células sangüíneas, saliva, bactérias diversas e seus produtos tóxicos (CZONSTKOWSKY; WILSON; HOLSTEIN, 1990).

Esse produto residual do preparo do canal, denominado por Paiva e Antoniazzi (1973) de magma dentinário, que possui a aparência de uma massa pastosa, viscosa e pegajosa impregnada na parede dentinária do canal e

compactada na região apical, pode ser mitigada pelo uso de substância química auxiliar apropriada e pela irrigação final.

Mader, Baumgartner e Peters (1984) investigaram as características morfológicas do magma dentinário em dentes preparados endodonticamente, por meio da microscopia eletrônica de varredura. Utilizaram cinco raízes distais de molares inferiores com um único canal que após a instrumentação foram irrigados com 30 mL de hipoclorito de sódio a 5,25%. Nesse estudo, os autores concluíram que: os espécimes tratados apresentaram uma camada, parte localizada na superfície da parede do canal radicular de aproximadamente 1 a 2 μm de espessura; e outra, impactada dentro dos túbulos dentinários com, aproximadamente, 40 μm de profundidade.

Czonstkowsky, Wilson e Holstein (1990) coletaram informações na literatura a respeito do magma dentinário. Estudando sua composição e analisando as controvérsias existentes quanto à sua remoção ou não das paredes dos canais radiculares, ressaltaram suas implicações antimicrobianas, implicações na infiltração apical, no selamento dos cimentos obturadores e na cimentação de núcleos e pinos intra-radulares.

Sen, Wesselink e Türkün (1995) revisando a literatura sobre o magma dentinário, abordaram assuntos como definições, estrutura, vantagens, desvantagens e substâncias químicas utilizadas para sua remoção. Após análise dos artigos, concluíram que o magma dentinário é sempre formado em paredes radiculares instrumentadas; não é uma barreira rigorosa contra as bactérias, e não impede a ação de desinfetantes; pode interferir na adesão e penetração dos cimentos obturadores nos túbulos dentinários; se não removido, pode desintegrar-se lentamente ao redor do material obturador ou ser removido por produtos bacterianos

como ácidos e enzimas ou ser eliminado por diferentes soluções como EDTA e hipoclorito de sódio; há controvérsias quanto à efetividade de técnicas no uso do ultra-som na sua remoção; removido, sempre há um risco de reinfecção dos túbulos dentinários se o selamento falhar.

Em concordância com isso, Mallmann, Felipe e Soares (1996), após a realização de uma revisão bibliográfica acerca das controvérsias envolvendo o magma dentinário, afirmaram que é indicada a sua remoção, contribuindo para a melhor qualidade da desinfecção e obturação do canal radicular; e, para tal fim, irrigações com solução de EDTA e hipoclorito de sódio são indicadas.

Zingg, Sakura e Moura (1997) avaliaram a capacidade de remoção do magma dentinário do EDTA, do EDTA-T e do ácido cítrico na irrigação final, ativada por ultra-som durante 1 minuto, valendo-se da microscopia eletrônica de varredura. Utilizaram 11 dentes humanos extraídos, os quais foram divididos em três grupos com três dentes em cada um. No G1, foi utilizado EDTA a 17%; no G2, EDTA-T a 17% e no G3, ácido cítrico a 25%. Durante a irrigação ativada por ultra-som, a potência e o fluxo do líquido foram mantidos constantes. Um dente do grupo controle foi irrigado manualmente com água destilada e o outro, irrigado com água destilada ativada por ultra-som pelo tempo de 1 minuto. Os resultados demonstraram que todas as soluções testadas foram capazes de remover o magma dentinário no terço médio, com um declínio da eficiência em direção apical. O ácido cítrico mostrou-se menos eficiente na região apical e apresentou a formação de cristais ao longo do canal.

Guerisoli et al. (2002) analisaram a remoção do magma dentinário por diferentes soluções irrigadoras sob agitação ultra-sônica. Utilizaram 20 dentes, os quais foram divididos em quatro grupos: G1 – 10 mL de água destilada, com ultra-

som a 1 mm do ápice anatômico por 1 minuto; G2 – 10 mL de hipoclorito de sódio a 1%, com ultra-som a 1mm do ápice anatômico por 1 minuto; G3 – 5mL de hipoclorito de sódio a 1% alternado com 5 mL de EDTA-C a 15%, com ultra-som a 1mm do ápice anatômico por 30 segundos; G4 – controle negativo, os dentes não foram instrumentados, mas foram irrigados com 5mL de hipoclorito de sódio a 1% alternado com 5mL de EDTA-C a 15%, com ultra-som a 1mm do ápice anatômico por 30 segundos. Concluíram que hipoclorito de sódio a 1% alternado com EDTA-C a 15% foi eficiente na remoção do magma dentinário. A irrigação com água destilada ou somente hipoclorito de sódio a 1%, não se mostrou eficiente na remoção do magma dentinário das paredes do canal. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os terços cervical, médio e apical.

Crumpton, Goodell e McClanaban (2005) quantificaram o volume de EDTA a 17% necessário para remoção efetiva do magma dentinário e determinaram que a irrigação adicional com hipoclorito de sódio a 5,25% tem algum efeito sobre a remoção de resíduos. Foram utilizados 40 dentes unirradiculares, os quais foram divididos em quatro grupos: G1 - controle positivo, sem irrigação com EDTA; G2 - 1 mL de EDTA a 17% por 1 minuto; G3 – 3 mL de EDTA a 17% por 1 minuto; e G4 -10 mL de EDTA a 17% por 1 minuto. Por fim, todos os grupos foram irrigados com 3 mL de hipoclorito de sódio a 5,25%. Os dentes foram clivados longitudinalmente e analisados através da microscopia eletrônica de varredura. Concluíram que 1 mL de EDTA a 17% teve a mesma eficácia que 10 mL de EDTA a 17% na remoção do magma dentinário.

Teixeira, Felipe e Felipe (2005) verificaram a influência do tempo das irrigações com EDTA e hipoclorito de sódio sobre a remoção da camada do magma dentinário das paredes do canal radicular. Assim, 21 dentes humanos foram

instrumentados, divididos em quatro grupos e irrigados com 3 mL de EDTA a 15% e 3 mL de hipoclorito de sódio a 1% por períodos de tempo diferentes: G1 – 1 minuto; G2 – 3 minutos; G3 - 5 minutos e G4 - controle não sofreu irrigação final. Após análise em microscopia eletrônica de varredura, os autores verificaram que a remoção do magma dentinário foi efetivamente eficiente para todos os tempos experimentais de irrigação, não apresentando diferenças estatisticamente significantes.

Gomes, Freitas e Prokopowitsch (2005) analisaram, empregando microscopia eletrônica de varredura, a ação de limpeza do EDTA-T e do ácido cítrico a 15%, variando o número de irrigações que foram aplicadas. Esses procedimentos de irrigação foram realizados após o preparo do canal radicular, utilizando-se limas tipo K, com o auxílio do creme de ENDO-PTC, reagindo com hipoclorito de sódio a 0,5% e posterior irrigação final com EDTA-T. Posteriormente, os dentes foram divididos em cinco grupos e receberam quantidades e momentos diferentes de irrigação: G1 - controle, G2 e G3 – no sétimo dia receberam irrigação final de 10 mL de EDTA-T, sendo que o G3 – no décimo quarto dia recebeu nova irrigação final de 10 mL de EDTA-T; o G4 e o G5 – no sétimo dia receberam irrigação com 10 mL de ácido cítrico a 15%, e o G5 – no décimo quarto dia recebeu nova irrigação com 10 mL de ácido cítrico a 15%. Puderam concluir que, no terço cervical, houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo controle (G1) e os demais grupos e, entre o G2 e o G3, já no terço médio não houve diferença estatisticamente significativa quanto à qualidade de limpeza. No terço apical, houve diferença significativa entre o grupo G5 e os grupos G1, G2 e G3.

Grande et al. (2006) analisaram, empregando ressonância magnética nuclear, se a propriedade oxidante do hipoclorito de sódio inativa o EDTA. Após a análise, os

autores confirmaram que a reação entre hipoclorito de sódio e EDTA provocou uma degradação muito lenta, mas progressiva do EDTA. Assim, demonstraram que uma irrigação final com hipoclorito de sódio não é capaz de limitar o efeito quelante do EDTA num período de realidade clínica.

Para mais, Yamazaki (2006) avaliou, qualitativamente, a limpeza dentinária de canais radiculares de dentes humanos, observando a presença ou não do magma dentinário, por meio da microscopia eletrônica de varredura. As substâncias químicas auxiliares utilizadas na instrumentação foram ENDO-PTC, hipoclorito de sódio 0,5%, 1,0% e 2,5%; EDTA-T e EDTA-C. Com base nos resultados, os autores demonstraram que a utilização da associação de ENDO-PTC mais hipoclorito de sódio a 0,5% na instrumentação e hipoclorito de sódio a 0,5% mais EDTA-T na irrigação final proporcionou maior remoção de magma dentinário das paredes do canal radicular.

George, Rutley e Walsh (2008) realizaram um estudo comparativo, avaliando a presença de magma dentinário no terço apical de raízes de dentes humanos, valendo-se da análise de imagem automatizada e análise de imagem por avaliadores experientes que aplicaram a técnica de Hulsmann. Canais de 35 dentes sofreram o preparo com o auxílio do sistema de instrumentação rotatória K3[®], laser de Er:YAG e laser de Er,Cr:YSGG. Os autores concluíram que os resultados obtidos nos dois métodos de avaliação da limpeza dentinária radicular foram similares, não apresentando diferença estatisticamente significativa. Assim, recomenda-se o uso da análise de imagem automatizada, na quantificação do grau de remoção de magma dentinário, ou seja, da limpeza das paredes do canal.

2.4 Permeabilidade dentinária

Desde o final do século passado, o aumento da permeabilidade dentinária radicular tem sido considerada condição indispensável ao saneamento de dentes tratados endodonticamente. Por essa razão, no decorrer do tempo, diversos estudos objetivaram a busca do aumento da permeabilidade dentinária radicular.

Assim, Moura, Robazza e Paiva (1978) estudaram *in vitro* e *in vivo* a relação entre permeabilidade dentinária e o uso do creme de ENDO-PTC durante a instrumentação. Desse modo, 20 dentes foram divididos em dois grupos: G1- experimento *in vitro* com o uso do creme de ENDO-PTC reagindo com o líquido de Dakin, irrigação final com Tergentol-Furacin e preenchimento dos canais com solução corante de azul-de-metileno; G2 - experimento *in vivo*, onde o preparo químico-cirúrgico seguiu-se do mesmo modo que no G1 e, após 15 minutos, os canais foram preenchidos com o mesmo corante traçador, sendo em seguida extraídos os dentes. A permeabilidade dentinária foi analisada segundo o método de leitura dos quadrados. Os autores concluíram que não houve diferença estatisticamente significativa na permeabilidade dentinária ao azul-de-metileno entre o experimento *in vitro* e o *in vivo*; a zona apical mostrou-se a menos permeável ao corante, sendo que no estudo *in vivo* houve, ademais, menor penetração do corante em comparação ao estudo *in vitro*; e, no estudo *in vitro*, houve maior homogeneidade entre os terços, enquanto que, no *in vivo*, constataram-se diferenças entre os terços.

Nessa mesma linha de pesquisa, Robazza, Paiva e Antoniazzi (1981) verificaram, *in vitro*, a permeabilidade dentinária radicular após o emprego de algumas substâncias químicas de uso endodôntico. Foram utilizados 40 dentes

humanos recém extraídos e divididos em quatro grupos, com 10 dentes em cada um, onde foram usadas as seguintes substâncias químicas auxiliares durante a instrumentação: GI - água oxigenada e soda clorada; GII - detergente-Furacin; GIII - ENDO-PTC neutralizado com líquido de Dakin e irrigação final com detergente-Furacin; GIV - água destilada (controle). A permeabilidade dentinária foi determinada pelo método da leitura dos quadrados. Nesse estudo, puderam concluir que o creme de ENDO-PTC associado ao líquido de Dakin apresentou maior aumento da permeabilidade no terço apical e melhor homogeneidade quanto à penetração do corante indicador (azul-de-metileno), quando comparado com as demais substâncias experimentais e que os GI, GII e GIII tornaram a dentina radicular mais permeável que o GIV. Destacaram, ainda ter sido a zona apical a menos permeável ao corante em relação à cervical e à média.

Prokopowitsch (1988) avaliou, *in vitro*, as variações da permeabilidade dentinária radicular do terço apical, em 50 dentes unirradiculares. Utilizou como coadjuvante da instrumentação, as seguintes substâncias químicas: G1 - solução fisiológica, G2 - associação Tergentol-Furacin, G3 - hipoclorito de sódio a 1%, G4 - ENDO-PTC associado ao hipoclorito de sódio a 1% e irrigação final com Tergentol-Furacin e G5 - EDTA a 17% associado ao Tergentol (EDTA-T). Os resultados mostraram que, na região apical, as substâncias químicas auxiliares que promoveram a melhor permeabilidade dentinária pertenciam ao G4 (ENDO-PTC associado ao hipoclorito de sódio a 1% com irrigação final com Tergentol-Furacin) e G5 - EDTA-T, não havendo diferença estatisticamente significante entre esses dois grupos.

Em concordância, Prokopowitsch, Moura e Muench (1989) analisaram a permeabilidade dentinária radicular da porção apical, variando a substância química

auxiliar da instrumentação e da irrigação final. Foram utilizados 50 dentes humanos extraídos, os quais foram divididos em cinco grupos: G1 - 3,6 mL de soro fisiológico durante a instrumentação e irrigação final com 3,6 mL de soro fisiológico; G2 - 3,6 mL de Tergentol-Furacin na a instrumentação e irrigação final com 3,6 mL de Tergentol-Furacin; G3 - 3,6 mL de hipoclorito de sódio a 1% durante a instrumentação e irrigação final com 3,6 mL de hipoclorito de sódio a 1%; G4 - ENDO-PTC reagindo com hipoclorito de sódio a 1% na a instrumentação e irrigação final com 3,6 mL de Tergentol-Furacin; G5 – EDTA-T a 17% na a instrumentação e irrigação final com 3,6 mL de Tergentol-Furacin. Os resultados mostraram que o G4 apresentou maior aumento da permeabilidade dentinária radicular e que não houve diferença estatisticamente significativa entre o G2 e o G5, como também entre o G4 e o G5.

Prokopowitsch (1994) avaliou a permeabilidade e a limpeza da parede dentinária do canal radicular de dentes humanos extraídos com rizogênese incompleta, os quais foram instrumentados e medicados com uma pasta de hidróxido de cálcio veiculado em solução anestésica. Observou que a utilização do EDTA-T seguido pelo creme de ENDO-PTC associado ao hipoclorito de sódio a 1% permitiu um aumento da permeabilidade dentinária, propiciando uma melhor limpeza das paredes radiculares, analisadas por meio de microscopia eletrônica de varredura.

Freitas, Gomes e Prokopowitsch (2006) analisaram, quantitativamente, a permeabilidade dentinária de canais radiculares com auxílio de solução do corante azul-de-metileno, variando as substâncias químicas irrigadoras e o número de irrigações. Para tanto, 20 dentes foram divididos em cinco grupos: G1 - controle, G2 e G3 – no sétimo dia receberam irrigação final de 10 mL de EDTA-T, sendo que G3

– no décimo quarto dia recebeu nova irrigação final de 10 mL de EDTA-T; o G4 e o G5 – no sétimo dia receberam irrigação com 10 mL de ácido cítrico a 15% e o G5 – no décimo quarto dia recebeu nova irrigação com 10 mL de ácido cítrico a 15%. Concluíram os autores que houve uma penetração maior do corante no G3 e no G4, apresentando diferença estatisticamente significativa entre o G1 e o G3 e entre o G1 e o G4. Afirmaram que, no G5, não houve um aumento na permeabilidade, provavelmente, devido a uma maior dissolução de cálcio impedindo a penetração do corante.

2.4.1 Métodos de avaliação da permeabilidade dentinária

Dada a importância do aumento da permeabilidade e limpeza dentinária, inúmeros são os métodos empregados para análise do condicionamento das paredes dentinárias e do sistema de canais radiculares.

Os isótopos radiativos são obtidos a partir de reações nucleares aplicadas sobre elementos químicos naturais. Os radioisótopos têm aplicações no diagnóstico em Medicina e em outras áreas da saúde, podendo também ser utilizado para avaliações da permeabilidade dentinária em Odontologia.

Entre os radioisótopos sintéticos encontramos o ^{99m}Tc que se obtém pela desintegração beta do Molibdênio (^{99m}Mo), descoberto por Segré em 1938 e é o radiofármaco mais utilizado para o emprego clínico cintilográfico em Medicina Nuclear (LEVER, 1995).

Marshall, Massler e Dute (1960) realizaram a avaliação da permeabilidade dentinária empregando radioisótopos (S^{35} , Na^{22} , I^{131} , P^{32}) como marcadores. A avaliação foi realizada por meio de autograms que foram preparados expondo as

hemisecções dos dentes aos Raios-X, podendo-se verificar a penetração em profundidade e em extensão dos marcadores. Concluíram que é uma técnica que pode ser empregada para avaliar a permeabilidade, e o S^{35} foi o isótopo mais eficiente nesse estudo.

Pashley et al. (1981) descreveram um método que permite quantificar a penetração do I^{131} pela dentina de cães, *in vivo* e *in vitro*. Observaram que o iodo é rapidamente absorvido pelo sistema de canais radiculares. Obtiveram resultados similares tanto para o grupo *in vivo* quanto para o *in vitro*, podendo assim ser empregado em dentes extraídos.

Boyd (1982) apresentou, em uma revisão do método de produção do ^{99m}Tc , desde a produção do molibdênio (^{99m}Mo) até produção do ^{99m}Tc , três métodos de separação do ^{99m}Mo do ^{99m}Tc e o decaimento da atividade do ^{99m}Tc , que é de 6,02 horas (meia vida). É considerado um importante estudo, pois esse radiofármaco é largamente empregado na Medicina Nuclear, por possuir baixa radiação.

Ivanovic e Pajic (1990) avaliaram a permeabilidade dos terços médio e apical do sistema de canais radiculares, empregando albumina marcada com o radioisótopo I^{131} , utilizando, para isso, incisivos centrais superiores recém extraídos. Observaram que 56% da albumina marcada com os isótopos radiativos atravessaram a dentina e 38% da albumina marcada se ligou a componentes da dentina e do cimento. Concluíram que a penetração de grandes moléculas como endotoxinas bacterianas é absolutamente possível, sendo que a penetração ocorre primariamente pelo sistema de ramificação apical e pela comunicação pulpo-periodontal.

Lage-Marques (1992) avaliou diferentes agentes impermeabilizantes empregados em seu estudo para análise da permeabilidade dentinária marginal das

porções apical e cervical, utilizando corantes como marcadores e obtendo bons resultados com os impermeabilizantes n-butil cianoacrilato e o cianoacrilato de etila.

Hamaoka e Moura (1996) avaliaram a permeabilidade dentinária radicular empregando soluções de azul-de-metileno, Rhodamine B e tinta nanquim. Observaram que a penetração no terço cervical foi maior e no terço apical menor em todos os grupos; no entanto, a Rhodamine B penetrou mais que o nanquim devido ao tamanho de suas partículas.

Wiebkin et al. (1996) analisaram a difusão da calcitonina pela dentina intracanal até a superfície externa (cimento) em dentes humanos extraídos. A calcitonina recebeu a ligação com iodo radioativo I^{125} , para tornar possível a análise da difusão da medicação. Puderam observar a saída da medicação previamente marcada com iodo pela superfície radicular, em diferentes tempos experimentais de 2 horas até nove dias após aplicação.

Miletic et al. (1999) avaliaram o selamento apical de modo quantitativo, empregando o método de infiltração de fluido, isto é, pelo movimento das bolhas de ar nos capilares de vidro conectados à secção da amostra experimental. Relataram que é um método eficiente e possui como vantagem a não destruição do espécime.

Em um estudo *in vitro* dos efeitos do laser de Nd:YAG no selamento apical, usando ou não tampões de dentina, Gekelman, Prokopowitsch e Eduardo, em 2002, utilizaram 30 dentes, divididos em 3 grupos: instrumentados (G1); instrumentados e irradiados (G2); instrumentados, condensados com tampão de dentina e irradiados (G3). Na análise quantitativa, por meio da infiltração de solução corante azul-de-metileno, o G2 apresentou menor percolação apical sendo estatisticamente significativa ao nível de 5% quando comparado ao G1 e do G3 que foram os grupos

com maior infiltração apical. Concluíram então que a irradiação da região apical sem o uso do tampão de dentina aumenta significativamente o selamento apical.

Diferentes métodos de leitura aplicados às infiltrações de solução corante azul-de-metileno (concentrações de 0,5 e 2,0%) foram avaliados por Skelton Macedo (2003). Os dentes foram expostos aos tempos experimentais de 24 e 48 horas e, quanto aos métodos, foi realizada a leitura da imagem impressa em papel, em imagem digital, delineando a área corada com o mouse e determinando um intervalo de cores que envolvam a tonalidade do corante. E foi observado que não houve diferença significativa entre os métodos.

Wang et al. (2005) avaliaram a ação do laser de diodo (980nm) na remoção do magma dentinário e a infiltração marginal apical após a obturação. Utilizaram a microscopia eletrônica de varredura para avaliar a superfície dentinária e o corante rodamina B a 1% para avaliar o selamento apical. Concluíram que esse laser pode remover o magma e também diminuir a infiltração marginal apical após a obturação.

Araki (2007) avaliou as variações da permeabilidade dentinária do sistema endodôntico produzidas pelo protocolo de irrigação intracanal: ácido cítrico a 15%, EDTA-T a 17%, MTAD, Smear Clear e NaCl a 0,9% e a influência de diferentes lasers: Diodo, Er:YAG, Nd:YAG, utilizando para isso o radioisótopo Tecnécio-99m (^{99m}Tc) (PARTE a) e o polietilenoglicol 400 (PEG 400) marcado com ^{99m}Tc (parte b). Foram selecionadas 150 raízes palatinas de molares superiores, divididas em cinco grupos, com 10 mL por amostra para realizar a irrigação. Inicialmente, em 10 raízes de cada grupo, foram introduzido 5 μL de ^{99m}Tc no canal radicular, sendo então imersos em NaCl 0,9%, com exceção da superfície da entrada do canal, para realizar a contagem da quantidade de radioisótopo dissociado para o meio externo, sendo que se adotaram os mesmos procedimentos com a introdução do

polietilenoglicol marcado (5 μ ci) no interior do canal radicular dos mesmos espécimes. Posteriormente, cada um dos grupos experimentais foi subdividido em outros 3 para irradiação com os diferentes lasers: Diodo (1,5 W, modo contínuo, fibra de 300 μ m de diâmetro); Er:YAG [100 mJ (42 mJ *output*), 1 W, 10 Hz, fibra com 0,375 μ m]; Nd:YAG (100 mJ, 1,5 Hz, 15 W, fibra com 300 μ m). Repetindo-se os mesmos procedimentos, primeiramente com ^{99m}Tc livre e posteriormente o PEG400 marcado com ^{99m}Tc para realizar a contagem do radioisótopo dissociado na solução salina. Os dados obtidos foram tabulados e analisados estatisticamente. Os autores puderam concluir que a irradiação com laser de Nd:YAG + irrigação com ácido cítrico ou com EDTA-T apresentaram os melhores índices de permeabilidade, enquanto que a irrigação com NaCl 0,9% e o MTAD apresentaram os piores índices de permeabilidade independente da aplicação do laser. O ácido cítrico e o EDTA-T apresentaram os melhores resultados na ausência de irradiação e também no grupo irradiado pelo Er:YAG e, ao irradiar com diodo, a irrigação com EDTA-T apresentou maior permeabilidade.

2.5 Laseres em Endodontia

Os avanços técnicos e científicos têm proporcionado ao tratamento endodôntico um aumento nos índices de sucesso, propiciando condições ideais para que ocorra uma completa reparação tecidual. Tratamentos mais avançados são usados para complementação da desinfecção da dentina radicular, como a utilização de equipamentos laser de alta potência, os quais emitem alta intensidade de energia causando possíveis alterações estruturais no tecido alvo (dentina radicular), em função de variações térmicas.

Em 1916, Albert Einstein lançou os fundamentos da invenção do laser, a partir da lei de Max Planck. A teoria ficou esquecida até o final da segunda guerra mundial. Porém, nos primórdios sobre o estudo da radiação laser, desde 1917 foram descritos os mecanismos de interação da radiação de fótons – absorção, emissão espontânea e emissão estimulada. Absorção é o mecanismo onde um átomo no estado energético fundamental absorve um fóton e adquire um estado energético mais alto. Na emissão espontânea, um átomo de estado energético mais alto cai a um nível inferior, liberando um fóton, ficando mais estável. Já a emissão estimulada ocorre quando um átomo também decai liberando um fóton, só que nesse caso o fóton liberado é da mesma energia que o fóton que estimulou o átomo. Assim temos fótons com características idênticas, gerando uma luz com propriedades de mesma fase, mesma direção e mesma polarização. O resultado é uma luz pura, coerente, pois a propagação dos fótons se dá em mesma fase, que tem a capacidade de conter grande quantidade de energia em um ponto diminuto. A luz laser apresenta também monocromaticidade e direcionalidade (PICK, 1987).

Porém, a teoria do laser foi sugerida pela primeira vez em 1957, por dois cientistas americanos, Charles Townes e Arthur Schawlow, baseados na teoria da relatividade de Albert Einstein. O primeiro Laser foi construído em 1960, por outro cientista americano, Theodore Maiman. Este primeiro LASER foi feito com uma barra de rubi sintético sobre o qual, ao incidir uma luz comum intensa, produzia-se a ação “Laser” ou emissão laser. Assim, utilizou-se pela primeira vez a denominação LASER. Essa palavra é um acrônimo para *Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation* (Amplificação de luz por emissão estimulada de radiação). A luz laser é definida como uma radiação eletromagnética que tem, como principais

características, comprimento de onda, frequência e amplitude (GENOVESE; PROKOPOWITSCH, 2007).

O aparelho de laser é composto por uma caixa de ressonância que contém o meio ativo (sólido, líquido ou gasoso), uma fonte de energia de ativação (energia elétrica), sistema óptico (espelhos colimadores) e fonte de transmissão da energia gerada. O meio ativo é o que denomina o nome do laser, por exemplo, laser de Er:YAG – meio ativo Érbio dopado com Ítrio-Alumínio-Granada. Os diferentes tipos de laser podem ser divididos também em laser de baixa ou alta densidade de potência (GENOVESE; PROKOPOWITSCH, 2007).

O laser de alta potência foi primariamente utilizado, em Odontologia, por Stern e Sognnaes (1964), que utilizaram laser de rubi para vaporização de esmalte e observaram a formação de crateras em esmalte e dentina.

A alta densidade de energia produzida pelo feixe laser produz efeitos térmicos nos tecidos que, se não controlados, podem causar injúrias irreversíveis. Um estudo de Eriksson e Albrektsson (1983), feito *in vivo*, demonstra que um aumento de temperatura acima de 10 °C, durante 1 minuto, provocou danos irreversíveis no tecido ósseo, levando à sua necrose. Assim, a utilização da radiação laser deve permanecer dentro de parâmetros seguros, para a preservação dos tecidos.

Dederich (1993) observou que a característica mais importante do laser no efeito sobre os tecidos é o seu comprimento de onda. Deve ser considerado também que a absorção é o mecanismo mais desejado na aplicação do laser e que essa é responsável pelos efeitos térmicos nos tecidos. Os efeitos térmicos do laser produzem a maior parte de suas utilizações em Odontologia.

Lage-Marques e Eduardo, em 1998, relataram o emprego de diferentes tipos de lasers de alta potência como coadjuvante na terapêutica endodôntica,

principalmente por proporcionar a redução da microbiota; esses podem, no entanto produzir alterações morfológicas na superfície dentinária intracanal.

Os lasers de alta potência mais utilizados em Odontologia são: CO₂ (Dióxido de Carbono), Diodo, Nd:YAG (Granada de Ítrio-Alumínio dopada com Neodímio), Er:YAG (Granada de Ítrio-Alumínio dopada com Érbio), Argônio e Ho:YAG (Granada de Ítrio-Alumínio dopada com Hólmio) que, por apresentarem diferentes comprimentos de onda, terão diferentes aplicações na prática clínica odontológica. Entre os lasers de alta potência, os mais utilizados, em Endodontia, são os de diodo, de Nd:YAG e de Er:YAG que têm aplicações tanto na área de alterações morfológicas das paredes do canal radicular como na redução microbiana intracanal pelo efeito térmico da energia aplicada. Os lasers de Nd:YAG e de Er:YAG são lasers de meio ativo no estado sólido, com emissão na faixa do infravermelho com comprimento de onda de 1,064 nm e 2,940 nm respectivamente, os quais necessitam de uma luz guia para a localização do ponto alvo a ser aplicado, sendo que sua aplicação clínica necessita de uma fibra óptica com diâmetro variando entre 200 a 400 µm. Os efeitos do laser de Nd:YAG e de Er:YAG promovem alterações estruturais na dentina, as quais têm sido estudadas, observando os seus benefícios na complementação da desinfecção na terapia endodôntica (GENOVESE; PROKOPOWITSCH, 2007).

Levy (1992) demonstrou que o laser de Nd:YAG, com refrigeração, foi apto para alargar o canal, deixando uma superfície livre de “smear layer”.

Lage-Marques, Eduardo e Matsumoto (1995) demonstraram que a irradiação do laser de Nd:YAG nas paredes do canal radicular causavam não só uma redução da microbiota interna, como também a remoção do magma e o posterior selamento

desse sistema, pois a abertura dos túbulos se obliterava em função do novo arranjo estrutural.

A luz laser, quando irradiada no tecido, produz um efeito térmico e esse aquecimento está diretamente relacionado com a energia utilizada e o tempo de irradiação (KHAN et al., 1997).

Anic et al. (1998), estudando incidências do feixe de luz laser, observaram, em microscopia eletrônica de varredura, que o laser de Nd:YAG (sem refrigeração) quando incidido perpendicularmente ao fragmento de dentina radicular, provocava uma cratera coberta por dentina fundida e diminuía o diâmetro de túbulos dentinários. Já em incidência paralela, o mesmo tipo de laser promoveu estrias nas paredes dentinárias do canal radicular. Os autores concluíram que o ângulo de incidência da ponta do laser e a distância de seu alvo são os fatores mais importantes sobre as ações do feixe de laser.

Lan (1999) avaliou, *in vitro*, a elevação de temperatura na superfície da raiz durante a irradiação laser de Nd:YAG. Foram utilizados noventa dentes unirradiculares irradiados com energias de: 50, 80, 100, 150 e 200 mJ por 10, 20 e 30 pulsos por segundo. O autor não observou a ocorrência de temperaturas externas na superfície radicular, acima de 10 °C. Em sua opinião, o laser de Nd:YAG promove a fusão e a recristalização da matriz de dentina, criando uma nova estrutura de cristais e obliteração de túbulos dentinários, diminuindo assim a permeabilidade. Esse efeito permite a possibilidade de seu uso no terço apical do canal radicular, previamente à obturação, tendo em vista incrementar o selamento dessa área.

Bachman et al. (2000) avaliaram as mudanças na temperatura externa radicular, quando da irradiação com laser de Nd:YAG. Foram utilizados trinta e dois

caninos superiores, os quais foram irradiados mantendo-se a fibra por três segundos no limite apical de instrumentação e com movimentos helicoidais de apical para cervical, na velocidade de 2 mm/s, com 4 repetições e intervalos de vinte segundos. A maior mudança de temperatura constatada foi de aproximadamente 0,8 °C, podendo-se afirmar, dessa forma, consideradas as condições utilizadas nesse estudo, que não haveria dano térmico para o osso alveolar e o ligamento periodontal.

Mello (2001), comparando diferentes comprimentos de onda, observou que a hipertermia ocorre aos 50 °C e a coagulação ocorre quando a temperatura tecidual chega a 60 °C; que entre 70 °C e 80 °C há o derretimento; entre 100 °C e 110 °C há vaporização; entre 115 °C e 150 °C há carbonização e, acima de 175 °C o corte tecidual.

Lin et al. (2001) avaliaram as alterações produzidas pela irradiação na superfície dentinária radicular com laser de Nd:YAG com 150 mJ variando o tempo (2 a 4 segundos) e a frequência (10 a 20 Hz). Obtiveram uma superfície fundida e recristalizada, sendo que, com o aumento do tempo e da frequência, houve a formação de uma superfície vítrea.

Archilla, Lage-Marques e Mirage (2002) compararam três técnicas de aplicação de laser de Nd:YAG intracanal, após preparo químico-cirúrgico – técnica de Gutknecht, de Matsumoto e oscilatória – para análise térmica nos seguintes parâmetros: frequência 5 Hz, potência média de 1,25 W, diâmetro do núcleo da fibra 300 µm e intervalo de repouso térmico de 20 segundos. Os autores concluíram que as três técnicas eram seguras, quando avaliadas as temperaturas nas regiões apical e média.

Lee et al. (2002) analisaram o efeito do laser de Nd:YAG (100 mJ 10 Hz, 4 segundos) sobre a dentina quanto a morfologia, a fase cristalina, a difração de elétrons e a microestrutura, empregando o microscópio de transmissão de elétrons. Três zonas foram observadas: (1) zona com estrutura ordenada e colunar composta por hidroxiapatita e beta-fosfato tricálcico; (2) zona intermediária, composta por substância amorfa (+ 40 – 70 nm de diâmetro) e (3) zona interna bem cristalizada. Essas três zonas tinham ausência de poros. Os autores concluíram que o laser de Nd:YAG pode ser empregado para reduzir a permeabilidade dentinária.

Arisu et al. (2004) analisaram, por meio da microscopia eletrônica de varredura, o efeito do laser de Nd:YAG associado à tinta da Índia na parede dentinária radicular em retropreparos do terço apical. Os resultados mostraram que o uso da tinta da Índia associada com a irradiação de laser de Nd:YAG aumentou a quantidade de dentina derretida e recristalizada.

Gutknecht e Eduardo (2004), em função de vários estudos realizados para a utilização do laser de Nd:YAG, concluíram que o protocolo adequado de aplicação na clínica endodôntica é: duração dos pulsos de 90 a 150 μ s, aferimento de 1,5 W/15 Hz, com duração de aplicação de 5 a 8 segundos na dependência do comprimento do canal, seguidas por 4 repetições.

Camargo et al. (2005) avaliaram, por microscopia eletrônica de varredura, os efeitos do laser de Nd:YAG, quando irradiado no interior do canal radicular com movimentos circulares ou longitudinais. Foi empregado o protocolo endodôntico (100 mJ, 1,5 W, 15 Hz). Concluíram que, quando aplicado em movimentos circulares, o laser produz fusão em parte da superfície dentinária, possuindo assim uma limitada alteração morfológica.

Por outro lado, o laser de Er:YAG, segundo a literatura pertinente, tem a suposta capacidade de aumentar a permeabilidade dentinária, dado o fato de propiciar remoção de magma dentinário.

Tanji, Gouw-Soares e Eduardo (1998), em um estudo comparativo, avaliaram as alterações provocadas na dentina pela irradiação dos lasers de Er:YAG e de Nd:YAG. Quando irradiados com o laser de Nd:YAG observaram a fusão, a recristalização da dentina, com ausência de magma dentinário e o selamento de parte dos túbulos. Na irradiação com o laser de Er:YAG verificaram uma superfície rugosa com túbulos dentinários abertos e isentos de magma. Ambas as irradiações apresentaram alterações de interesse ao tratamento endodôntico.

Com a mesma óptica, Takeda et al. (1998) avaliaram a eficácia da irradiação com o laser de Er:YAG na remoção do magma dentinário das paredes dos canais radiculares preparados. Para tanto, utilizaram 36 incisivos inferiores, os quais foram divididos em três grupos: G1 – controle; G2 e G3 foram irradiados com o laser de Er:YAG em diferentes potências de 1 W e 2 W, respectivamente. Os dentes foram preparados e analisados no microscópio estereoscópico e microscópio eletrônico de varredura. De acordo com os resultados, houve diferença estatisticamente significativa entre G1 e G2 e entre G1 e G3 na remoção do magma dentinário. Essa diferença não ocorreu entre G2 e G3. Os autores concluíram que a irradiação com o laser de Er:YAG é efetiva na remoção do magma dentinário das paredes radiculares.

Kimura et al. (1999), pesquisando alterações estruturais dentinárias e infiltração apical em 75 raízes humanas após irradiação com laser de Argônio, Neodímio e Érbio e posterior obturação do canal radicular, avaliaram, por meio da utilização do corante Rodamina B e da microscopia eletrônica de varredura, que

houve 100% de redução na infiltração apical para o grupo do Nd:YAG e observaram derretimento, fusão e recristalização da dentina com ausência de magma dentinário. Concluíram que os melhores resultados na redução da infiltração apical foram encontrados no grupo irradiado com o laser de Er: YAG.

Schoop et al. (2002) avaliaram a ação antimicrobiana e a alteração morfológica da irradiação com laser de Er:YAG. Utilizaram 80, 180 e 250 mJ (input) e 0,5, 1 e 1,3 W (output), fibra de 400 µm e 15 Hz. Observaram que não há necessidade de utilizar uma potência superior a 1 W. Esse procedimento reduziu a microbiota sem produzir danos térmicos às estruturas perirradiculares, bem como removeu o magma dentinário.

Brugnera Jr et al. (2003) avaliaram o efeito dos lasers de Er:YAG e de Nd:YAG na permeabilidade da dentina radicular, empregando hipoclorito de sódio e água deionizada. Concluíram que os espécimes em que foi empregada a água deionizada e a irradiação com Er:YAG (140 mJ input, 61 mJ , 15 Hz, 300 Hz, 42 J) mostraram melhor permeabilidade dentinária, enquanto que o laser de Nd:YAG (150 mJ, 15 Hz, 2,25 W) com hipoclorito de sódio a 1% ou com água deionizada promoveu menor aumento da permeabilidade. E a irrigação com hipoclorito de sódio a 1% com ou sem a irradiação com o laser de Er:YAG, apresentou permeabilidade mediana.

Aranha et al. (2005) avaliaram a permeabilidade dentinária de canais radiculares irradiados com o laser de Nd:YAG e de Er:YAG. O laser de Nd:YAG foi utilizado, baseado em 2 parâmetros: (A) 1,0 W, 10 Hz, e (B) 1,5 W, 15 Hz. Já o laser de Er:YAG foi utilizado com o seguinte parâmetro: 60 mJ, 2 Hz, 4 vezes de 20 segundos. Utilizaram o módulo de emissão, contínuo e pulsado, movimento helicoidal, quatro vezes, de apical para cervical, com fibra de 300 µm de diâmetro.

Após a irradiação, o canal radicular de cada espécime foi preenchido com corante Rhodamine B a 1%, sendo posteriormente realizado o corte transversal para análise da permeabilidade nos diferentes terços. Pode-se concluir que não houve interação entre as substâncias e o laser; houve, no entanto, diferença estatisticamente significativa entre os módulos de emissão, sendo que o módulo contínuo apresentou menor permeabilidade da dentina. Observaram também que houve redução da permeabilidade dentinária em 26,05%, quando irradiado com o laser de Er:YAG, em 19,03% com o laser de Nd:YAG (1.5 W, 15 Hz) e 4.59% com o laser de Nd:YAG (1.0 W, 10 Hz).

Biedma et al. (2005) avaliaram, por microscopia eletrônica de varredura, a morfologia de canais instrumentados com instrumentos manuais e rotatórios com ou sem irradiação com o laser de Er:YAG. Os espécimes foram cortados no longo eixo para facilitar a observação. Concluíram que, independente da instrumentação, o laser de Er:YAG removeu efetivamente o magma dentinário.

Soares et al. (2006) realizaram análise molecular, por espectroscopia, da dentina irradiada com o laser de Er:YAG. Observaram que a irradiação, com 129 mJ, 3 Hz, 30 segundos, apresentou maior perda mineral, enquanto que, no grupo controle e no grupo irradiado com 80 mJ, 3 Hz, 30 segundos, houve menor perda de material orgânico e inorgânico.

2.6 Estudos comparativos entre lasers e EDTA

Takeda et al. (1999) investigaram *in vitro* o efeito de três soluções irrigadoras e dois tipos de laser sobre o magma dentinário criado pela instrumentação manual, nos terços médios e apicais dos canais radiculares. Dividiram 60 pré-molares

inferiores em 5 grupos: G1 – controle, irrigação final com EDTA a 17%; G2 – irrigação final com ácido fosfórico a 6%; G3 – irrigação final com ácido cítrico 6%; G4 – os canais foram irradiados com laser de dióxido de carbono (CO₂); e G5 – com laser de Er:YAG. Após análise em microscopia eletrônica de varredura, os autores concluíram que os grupos 1, 2 e 3 não apresentaram remoção de todo o magma dentinário; o G4 mostrou remoção parcial e derretimento do magma sobre as paredes radiculares instrumentadas e o G5 foi o mais efetivo na remoção do magma das paredes radiculares.

Pécora et al. (2000) avaliaram a permeabilidade dentinária de canais radiculares instrumentados com diferentes soluções irrigantes, associados ou não ao uso do laser de Er:YAG, com os seguintes parâmetros: frequência - 15 Hz, 300 impulsos, energia total de 42 J e 140 mJ *in put*, e 51 mJ *output*. Os dentes do Grupo I tiveram seus canais irrigados com água destilada deionizada; os do Grupo II foram irrigados com a mesma solução que o Grupo I e irradiados com laser; os do Grupo III foram irrigados com lauril dietilenoglicol éter sulfato de sódio a 0,1%; os do Grupo IV foram irrigados com a mesma solução que o Grupo III e irradiados com laser; os do Grupo V foram irrigados com solução de hipoclorito de sódio a 1%; os do Grupo VI foram irrigados com a mesma solução que o Grupo V e irradiados com laser; os do Grupo VII foram irrigados com solução de EDTA a 15%; os do Grupo VIII foram irrigados com a solução usada no Grupo VII e irradiados com laser; os do Grupo IX foram irrigados com ácido cítrico a 10% e os do Grupo X foram irrigados com a solução utilizada no Grupo IX e irradiados com laser. Após preparados os canais radiculares, as raízes foram imersas em uma solução de sulfato de cobre e, a seguir, imersas em ácido rubeânico a 1%. A quantificação da infiltração de cobre foi realizada pela análise morfométrica. Os resultados mostraram que a solução de

hipoclorito de sódio a 1% utilizada isoladamente e o uso da água destilada deionizada mais irradiação com o laser de Er:YAG apresentaram maior permeabilidade.

Carvalho et al. (2002) avaliaram a infiltração apical de canais irrigados com EDTA e irradiados com o laser de Nd:YAG (100 mJ, 15 Hz, 1,5 W, fibra de 0,32 mm de diâmetro) e o de Er:YAG (120 mJ, 10 Hz, 1,2 W, fibra de 0,367 mm de diâmetro). Os espécimes foram imersos em solução corante de azul-de-metileno a 2% sob vácuo de 20 mm/Hg, por 48 horas. Em seguida, as amostras foram clivadas para análise da infiltração. Observaram que o grupo irradiado com o laser de Nd:YAG apresentou menor infiltração marginal apical, seguido do grupo irrigado com EDTA e, por último os espécimes irradiados com Er:YAG.

Picoli et al. (2003) avaliaram o efeito da solução de EDTA-C a 15% e da irradiação com Er:YAG na adesividade dentinária de cimentos obturadores com hidróxido de cálcio. Sessenta molares superiores humanos foram divididos em três grupos: GI – sem tratamento; GII – 50 mL de solução de EDTA-C a 15%; e GIII – irradiadas com o laser de Er:YAG com os seguintes parâmetros: 11 mm de distância focal com incidência perpendicular; frequência de 4 Hz; energia de 200 mJ; potência de 2,25 W; energia total 62 J; 313 impulsos e tempo de aplicação de 1 minuto. Os cimentos obturadores utilizados foram: Sealer 26, Apexit, Sealapex e CRCS. Os autores concluíram, nesse estudo, que o EDTA-C e o laser de Er:YAG promoveram um aumento na adesividade dentinária do Sealer 26, quando comparado com o grupo controle. O laser de Er:YAG foi mais eficiente do que o EDTA-C a 15% na adesividade dentinária do Sealer 26 e o laser de Er:YAG foi tão eficiente quanto o EDTA-C a 15% na adesividade dentinária dos demais cimentos obturadores.

Mello, Robazza e Antoniazzi (2004) avaliaram o selamento apical após a remoção do magma dentinário, empregando EDTA-T a 17% e o laser de Er:YAG e posterior obturação com 4 diferentes cimentos obturadores: Sealapex, Ketac Endo, AH Plus e N-Rickert. Empregaram um método com corante para a avaliação e concluíram que não houve diferença estatística entre os métodos de remoção do magma; houve, não entanto, diferença entre os cimentos empregados, sendo que o AH Plus e o N-Rickert tiveram menor grau de infiltração em relação aos outros.

A avaliação das alterações morfológicas em superfícies dentinárias irradiadas com o laser de Nd:YAG sob diferentes parâmetros e ângulos foi realizada por Santos et al. (2005). Observaram que, quanto maior a energia aplicada, maiores as alterações morfológicas e que, com a irradiação com o laser de Nd:YAG, puderam notar maior número de túbulos abertos.

Bello-Silva et al. (2006) avaliaram a limpeza da superfície dentinária radicular após a irradiação intracanal do laser de Er:YAG associada, simultaneamente, a diferentes substâncias químicas irrigantes, em 33 raízes tratadas endodonticamente e divididas em 11 grupos, baseados na solução irrigante final e na sua associação ou não com irradiação laser. As soluções usadas foram: solução salina, EDTA-T 17%, ácido cítrico 15% e hipoclorito de sódio a 1%. Os parâmetros do laser de Er:YAG foram: 2,94 μm , 5 irradiações de 7 segundos com 67,2 mJ *output*, 6 Hz, 0,96 W. As amostras foram analisadas em microscopia eletrônica de varredura. Concluíram que a irradiação com o laser de Er:YAG deve ser realizada em associação a substâncias químicas irrigantes, tendo um melhor resultado na associação do laser com água destilada por proporcionar uma superfície mais limpa e regular.

2.7 Ações bactericidas do Laser de alta potência

Ao analisar as propriedades da radiação laser, essa se apresenta como uma ferramenta importante, na desinfecção do sistema endodôntico devido ao seu alto poder antimicrobiano.

Moshonov et al. (1995), avaliaram o efeito bactericida do laser de Nd:YAG, compararam a ação do laser com a do hipoclorito de sódio a 1%, em 75 dentes extraídos e contaminados com *Enterococcus faecalis*. O laser conseguiu um nível de desinfecção de 99%, porém inferior ao nível de desinfecção alcançado pelo hipoclorito de sódio a 1% quando deixado no interior do canal por dois minutos.

Gutknecht et al. (1996) testaram o efeito bactericida do laser de Nd:YAG contra *Enterococcus faecalis* em 40 canais radiculares, *in vitro*. Os dados foram convertidos em logaritmo de UFC e a porcentagem média de desinfecção alcançada foi de 99,91%.

A irradiação laser de Nd:YAG promoveu um nível de desinfecção menor que o do hidróxido de cálcio, no estudo de Cecchini (2001), em dentes bovinos previamente preparados endodonticamente e posteriormente colonizados por *Enterococcus faecalis*.

Diferentes tipos de sistemas de lasers foram utilizados para avaliar sua ação bactericida em profundidade. Assim, Schoop et al., em 2004, observaram que todos os lasers (Nd:YAG, Diodo, Er:YAG e Er,Cr:YSGG) conseguiram reduzir a microbiota intracanal. O laser de Er:YAG reduziu em 100%, a viabilidade da *Escherichia coli*, quando empregando 1 W, ponteira de 400 µm. Já com 1,5 W, apesar de todos produzirem uma grande redução microbiana, apenas os lasers de Diodo e de Er:YAG produziram completa eliminação do *Enterococcus faecalis*, pois

atingiram maior extensão da parede dentinária. Concluíram que todos os tipos de lasers avaliados podem ser empregados em Endodontia, pois produziram ação em profundidade e proporcionaram grande redução microbiana.

Araki et al. (2006) avaliaram a ação do laser de Er:YAG sobre o biofilme microbiano apical presente no cimento da região apical de dentes recém extraídos. Aplicaram 100 mJ, 1 Hz, e observaram por microscopia eletrônica de varredura as porções irradiadas e não irradiadas. Obtiveram fotomicrografias com a presença do biofilme e a região irradiada apresentou ausência de biofilme e uma estrutura rugosa sem a exposição da dentina subjacente.

Bergmans et al. (2006) avaliaram o efeito bactericida do laser de Nd:YAG (100 mJ, 1,5 W, 15 Hz, 4 aplicações, por 5 segundos e fibra de 300 µm de diâmetro) em canais preparados e irrigados com EDTA a 17% por 2 minutos. Após a irradiação intracanal, observaram que houve uma redução significativa do *Enterococcus faecalis* (99,7%), uma pequena destruição, em profundidade, nas áreas irradiadas que entraram em contato com a fibra. Concluíram que o laser não pode ser considerado uma alternativa, mas um possível suplemento aos protocolos de desinfecção, pois a aplicação do laser possui um efeito aproximado de 1 mm em profundidade na dentina.

2.8 Penetração bacteriana no sistema de canais radiculares

Para Siqueira Jr (1997), a principal causa da infecção endodôntica tem como origem a cárie dental. Assim, as vias de acesso dos microorganismos ao sistema de canais radiculares são: os túbulos dentinários, as exposições pulpares, a via periodontal e o trauma dental. A dinâmica da infecção endodôntica depende, dentre

outros fatores, da tensão de oxigênio do meio, disponibilidade nutricional e interação microbiana. A tensão de oxigênio mais alta no início da infecção faz com que a porcentagem entre anaeróbios facultativos e estritos se iguale. À medida que esse oxigênio é consumido pelos anaeróbios facultativos ou aeróbios presentes, a tensão diminui e a concentração de anaeróbios estritos aumenta em quantidade.

Quanto à prevalência de carboidratos ou proteínas no meio, este atua determinando o crescimento de anaeróbios facultativos e anaeróbios estritos, respectivamente. Além disso, o canal radicular abriga um ecossistema onde relações de sinergismo e antagonismo interferem nas espécies contaminantes. Assim, as espécies mais freqüentemente isoladas nos canais radiculares, são os anaeróbios estritos como: *Fusobacterium nucleatum*, *Eubacterium* ssp., *Peptostreptococcus* ssp., *Prevotella* e *Porphyromonas*. Já, dentre os anaeróbios facultativos: *Streptococcus sanguis*, *Lactobacilos*, *Enterococcus faecalis* (SIQUEIRA JR, 1997).

O *Enterococcus faecalis* é um microorganismo anaeróbio facultativo Gram-positivo presente principalmente nas cavidades entéricas, podendo também ser encontrado na cavidade bucal e na microbiota endodôntica. Esse microorganismo apresenta alta resistência á medicação intracanal, conseguindo suportar longos períodos de penúria alimentar, bem como sobreviver em ambientes adversos. Sua sobrevida ao tratamento endodôntico se dá principalmente pela sua resistência ao pH alcalino das medicações a base de hidróxido de cálcio (SIQUEIRA JR, 1997).

As relações do insucesso da terapêutica endodôntica versus a presença de microorganismos no interior do sistema de canais levaram Akpata e Blechman (1982), a estudarem *in vitro* o mecanismo de invasão dos túbulos dentinários por *Bacteróides melaninogenicus*, *Peptococcus asaccharolyticus*, *Streptococcus sanguis*

e *Enterococcus faecalis*. Observam os autores que, após três semanas, apenas o *Enterococcus faecalis* e o *Streptococcus sanguis* chegaram ao terço apical. O *Enterococcus faecalis* invadiu um pouco mais da metade da área da secção transversal da raiz no terço cervical, metade da área do terço médio e um terço da área da região apical.

A invasão de microorganismos nos túbulos dentinários das paredes do sistema de canais radiculares, levaram Haapasalo e Ørstavik (1987) a idealizarem um modelo de estudo, em dentes bovinos, para detectar a viabilidade bacteriana em profundidade da dentina radicular. Nesse modelo, os dentes foram contaminados por *Enterococcus faecalis* e, posteriormente, as raízes foram cortadas em cilindros e a dentina infectada foi desgastada com brocas esféricas de diâmetros padronizados. As raspas originadas, bem como o cilindro externo restante, foram incubadas por até três semanas para verificação de crescimento bacteriano em meio de cultura apropriado. Observaram a penetração do microorganismo em até 1000 µm no interior dos túbulos dentinários. Os autores testaram, também, o paramonoclorofenol canforado nas formas líquida, gasosa e a medicação intracanal à base de hidróxido de cálcio (Calapset™), os quais não eliminaram o microorganismo mesmo após 10 dias de aplicação. A média de penetração do microorganismo no grupo controle foi de 500 µm.

Em outro estudo, Ørstavik e Haapasalo (1990) testaram, em modelo de cilindro de dentina bovina, a penetração intratubular de *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus sanguis*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, por 14 dias. Nesse experimento o *Enterococcus faecalis* colonizou mais rapidamente toda a extensão dos túbulos dentinários. Os autores testaram medicações intracanal e observaram em ordem decrescente de poder antimicrobiano: paramonoclorofenol

canforado e Calapset. Já as substâncias irrigantes testadas, de poder antimicrobiano, foram ordenadas de forma decrescente: iodo-iodeto de potássio, hipoclorito de sódio e clorexidina.

Estudando, também, a penetração de microorganismos em túbulos dentinários de dentina bovina, Meryon e Brook (1990) utilizaram os seguintes espécimes bacterianos: *Streptococcus sanguis*, *Actinomyces viscosus* e *Corynebacterium spp.* Com a finalidade de testar a citotoxicidade desses microorganismos, os autores colonizaram cilindros de dentina com 100 a 500 µm de espessura, os quais foram imersos em cultura de células de fibroblastos por 72 horas. A velocidade de penetração bacteriana foi em ordem decrescente: *Streptococcus sanguis*, *Actinomyces viscosus* e *Corynebacterium spp.* Os autores observaram também que a penetração dos microorganismos independia da presença de magma dentinário nas paredes do canal e que a sua citotoxicidade era proporcional a sua concentração.

Sundqvist (1992), estudando interações bacterianas da microbiota intracanal, observou que o *Enterococcus faecalis* apresenta papel importante nas infecções de difícil tratamento em Endodontia, pela sua permanência dentro do canal radicular, constatada mesmo depois da instrumentação concluída. O autor expõe que esse microorganismo, embora em pequenas porcentagens em infecções primárias de origem endodôntica, é encontrado em número bem maior, em casos de insucesso dessa terapêutica. O autor salienta ainda que, devido a um desequilíbrio desse ecossistema provocado pelo tratamento endodôntico, o *Enterococcus faecalis* sobrevivente, no interior do sistema de canais, pode vir a se proliferar.

Dählen et al. (2000) analisaram amostras obtidas de 29 dentes com infecção endodôntica e encontraram o *Enterococcus faecalis* em 74% dessas amostras. Em

prosseguimento, foi realizado o preparo químico-cirúrgico e medicação com hidróxido de cálcio e, antes da obturação, fizeram uma nova coleta. Esse material foi incubado por 6 dias em ágar Brucella. A determinação das cepas foi feita seguindo critérios microbiológicos de identificação e testes de suscetibilidade foram feitos em placa de vidro. No *Enterococcus faecalis* residual, foi realizado o antibiograma, constatando suscetibilidade a eritromicina e vancomicina e resistência a benzilpenicilina, ampicilina, clindamicina e metronidazol.

Siqueira Jr et al., em 2002a, avaliaram a predominância de espécies de *Actinomices*, *Streptococcus* e *Enterococcus faecalis* em infecções endodônticas primárias, usando um método genético molecular. Foram obtidas amostras de 53 dentes contaminados, dos quais 27 foram diagnosticados como abscesso perirradicular agudo. Foi extraído o DNA de 13 espécies bacterianas e avaliou-se por meio da hibridização DNA-DNA. Essa metodologia permitiu a detecção de *Streptococcus* em 22,6%, *Actinomices* em 9,4% e *Enterococcus faecalis* em 7,5%. As espécies predominantes foram do gênero dos *Streptococcus anginosos*. Nas lesões assintomáticas, as espécies predominantes foram o *Streptococcus intermédio* (11,5% dos casos), o *Enterococcus faecalis* (11,5%) e o *Streptococcus anginosos* (7,7%). O *Streptococcus constelados* foi a espécie predominante nas amostras com coleção purulenta (25,9% dos casos). As outras espécies com predominância nos abscessos dentais foram os *Actinomyces gerencseriae* (14,8%), *Streptococcus gordonii* (11,1%), *Streptococcus intermédio* (11,1%), *Actinomyces israeli* (7,4%), *Streptococcus anginosos* (7,4%) e o *Streptococcus sanguis* (7,4%). O *Streptococcus constelados* foi à única espécie associada positivamente com o abscesso perirradicular agudo.

Um dos mecanismos de resistência bacteriana do *Enterococcus faecalis* é o biofilme apical, constituído por microorganismos envoltos em uma matriz de polissacarídeos organizados com canais de água para sua alimentação e excreção. Assim, Distel, Hatton e Gillespie (2002) estudaram, empregando microscopia eletrônica de varredura e microscopia confocal de varredura a laser, raízes contaminadas com *E. faecalis* e medicadas com hidróxido de cálcio, por um tempo experimental de 160 dias. Os autores observaram, por meio da microscopia eletrônica de varredura, presença do biofilme nos canais medicados com pasta de hidróxido de cálcio após 77 dias. A análise com microscopia laser confocal mostrou colônias viáveis após 86 dias. Nos canais contaminados por 160 dias foi observada a estrutura típica de um biofilme com forma de cogumelo. Quando o biofilme estava bem caracterizado em forma de cogumelo, puderam observar canais de água e uma espessura do biofilme de 21 a 30 µm. Nesse estudo, a viabilidade bacteriana foi analisada com o uso de um corante fluorescente e os resultados mostraram que 90% dos microorganismos eram viáveis. Os autores salientaram ainda que, pela estrutura física do biofilme, ele pode proporcionar trocas genéticas entre os microorganismos, podendo aumentar a virulência e resistência à ação medicamentosa.

A capacidade do *Enterococcus faecalis* de penetrar em túbulos dentinários em grande profundidade, é um fator de dificuldade para a ação das substâncias químicas sobre o microorganismo. Tentando potencializar o efeito antimicrobiano do hidróxido de cálcio, Zehnder et al. (2003) analisaram a ação do mesmo em conjunto com hipoclorito de sódio e clorexidina usando, para isso, blocos de dentina contaminados por *Enterococcus faecalis*. As duas associações foram eficazes na desinfecção em 24 horas e mantidas por cinco dias, sem diferenças estatísticas

entre ambas as medicações. Porém, quando comparadas com a associação do hidróxido de cálcio com solução salina, as associações de hidróxido de cálcio com hipoclorito de sódio e clorexidina foram mais efetivas com significância estatística.

A resistência à ação de substâncias antimicrobianas desenvolvida pelo *Enterococcus faecalis* acarreta tentativas clínicas de associações, tanto de substâncias irrigadoras, como de medicações intracanal. Em estudo com dentina bovina contaminada, Sirén et al. (2004) testaram a associação de hidróxido de cálcio com iodo-iodeto de potássio e clorexidina, em tempos de incubação de 24 horas e 7 dias. Os autores observaram que, no período de 24 horas, a medicação mais efetiva foi a associação de hidróxido de cálcio e iodo-iodeto de potássio, com área de 700 μm^2 de túbulos desinfetados, seguida pela associação de hidróxido de cálcio e clorexidina. No período de sete dias, o raio de descontaminação do iodo-iodeto de potássio, clorexidina e das associações aumentou para 950 μm de túbulos desinfetados. Os autores concluíram que essas associações foram mais efetivas que a utilização do hidróxido de cálcio isoladamente.

Segura-Egea et al. (2004) analisaram radiograficamente a qualidade das obturações radiculares e restaurações coronárias, em relação às condições periapicais dos dentes tratados. Examinaram radiograficamente 180 pacientes; desses, havia 93 dentes com tratamento endodôntico, dos quais 60 (64,5%) apresentavam periodontite apical. Quando a obturação do canal radicular e a restauração coronária eram adequadas, a incidência da periodontite apical diminuía para 31,3%. Nessa avaliação, só 34,4% dos tratamentos endodônticos foram considerados adequados. Os autores concluíram que os tratamentos endodônticos e restaurações coronárias adequadas proporcionam uma baixa incidência de periodontite apical.

Também estudando o biofilme de *Enterococcus faecalis*, George, Kishen e Song (2005) observaram, em microscopia eletrônica de varredura, as características do biofilme em condições de aerobiose, anaerobiose, ambiente rico em nutriente e ambiente sem nutrição, com o tempo de incubação de 21 dias. A maior espessura de biofilme foi encontrada quando o *Enterococcus faecalis* foi incubado em aerobiose e ambiente rico em nutriente. Mesmo nos grupos sem nutriente, foi observada a proliferação do microorganismo em menor escala.

Siqueira Jr et al. (2005) analisaram radiograficamente a predominância de lesões perirradiculares em dentes tratados endodonticamente e sua relação com restaurações coronárias. Assim, 2.051 dentes foram categorizados, na dependência da adequada ou inadequada obturação do canal radicular e da adequada ou inadequada restauração coronária. Na análise dos resultados, foi observado que a taxa de bom êxito em dentes adequadamente tratados endodonticamente foi de 49,7%. Os casos com tratamentos endodônticos e restaurações coronárias adequados tiveram uma taxa de sucesso de 71%. Porém, nos casos com tratamento endodôntico adequado mas com restauração coronária inadequada, a taxa de bom êxito caía para 65%. Igualmente, casos com tratamento endodôntico adequado e restauração ausente, mostraram um índice de bom êxito de apenas 48%. Já, os dentes com o tratamento endodôntico inadequado associado à restauração adequada apresentaram uma taxa de bom êxito de 38%. E, casos nos quais a combinação de tratamento endodôntico e restauração coronária eram inadequadas apresentaram uma taxa de bom êxito de apenas 25%. Os dentes com tratamento endodôntico inadequado e restauração ausente mostraram a menor taxa de bom êxito nesse estudo, com apenas 18% de sucesso. Com esse estudo, os autores puderam concluir que existe uma elevada predominância de lesões periapicais nos

dentes tratados endodonticamente e que a restauração coronária tem um impacto significativo na prevenção da saúde da região periapical. A qualidade da obturação radicular mostrou-se o fator mais crítico nessa forma de estudo epidemiológico.

Yücel et al., em 2006, compararam *in vitro* a penetração bacteriana após a obturação de canais radiculares de dentes humanos, usando quatro diferentes cimentos endodônticos, a saber: AH26, AH Plus, Sealapex e Ketac-Endo. Os resultados demonstraram que, após 30 dias de exposição ao meio contaminante, a penetração bacteriana foi de 85% no grupo do AH Plus e do Ketac-Endo; 80% no grupo do Sealapex e 75% no grupo do AH 26. Porém, quando os mesmos grupos foram avaliados após 60 dias de exposição ao meio contaminante, os índices de penetração bacteriana para o grupo do AH 26 foi de 95% e, nos demais grupos, o índice de penetração bacteriana foi de 100% das amostras. Concluíram que os cimentos testados não impediram a contaminação microbiana nos canais obturados, nessa condição experimental.

Souza (2006) verificou, *in vitro*, o grau de desinfecção em profundidade na dentina provocado pelo uso de radiação laser de diodo de alta potência, após preparo químico-cirúrgico e inoculação com *Enterococcus faecalis* por quatro semanas, em 30 raízes de dentes unirradiculares. As raízes foram divididas em três grupos. Grupo 1: irradiação com laser de diodo de alta potência com comprimento de onda 830 nm, na potência de 3 W por 5 segundos e 4 repetições, segundo Gutknecht; Grupo 2, substância química sem irradiação e o Grupo 3 (controle), apenas irrigação com 20 mL de solução fisiológica estéril. Os resultados mostraram uma redução da microbiota provocada no Grupo 1 de 100% e no Grupo 2 de 98,39%, ambas em relação ao Grupo 3. Concluiu que a irradiação do laser de diodo,

nos parâmetros e amostras testadas, foi eficaz na redução da contaminação em profundidade da dentina radicular frente ao *Enterococcus faecalis*.

Chivatxaranukul, Dashper e Messer (2008) investigaram a invasão e a aderência do *Enterococcus faecalis* resistente a eritromicina, nos túbulos dentinários de dentes humanos hígidos. Dezesesseis dentes pré-molares foram divididos em dois grupos. Os dentes do grupo 1 foram preparados com solução salina para manter a presença do magma dentinário. Já os dentes do grupo 2 foram preparados e irrigados com hipoclorito de sódio a 1% e EDTA a 17% deixado no canal por 3 minutos antes da irrigação final com 3 mL de hipoclorito de sódio a 1% para remoção do magma dentinário. Após o preparo, as raízes foram divididas no seu eixo transversal, em dois blocos de 3 e 5 mm de altura. Os segmentos foram esterilizados, inoculados com cultura de *Enterococcus faecalis* e incubados por oito semanas. Passado o tempo experimental, os blocos de dentina de três milímetros foram processados para avaliação histológica usando a microscopia óptica e os blocos de dentina de cinco milímetros foram observados em microscopia eletrônica de varredura. Os resultados demonstraram que houve uma invasão de moderada a severa dos túbulos dentinários, após oito semanas. A aderência foi mais elevada na dentina intertubular, menos mineralizada, que na porção dentinária tubular. Os autores concluíram que a colonização dos túbulos dentinários pelo *Enterococcus faecalis* pode ser dependente de outros fatores que podem incluir fatores seletivos para aderência e invasão.

Kishen et al., em 2008, estudaram a influência dos protocolos de irrigação na aderência do *Enterococcus faecalis* na dentina radicular. Avaliaram a aderência das bactérias, usando microscopia de fluorescência e a força dessa aderência valendo-se da microscopia de força atômica. Os autores identificaram aumentos significativos

na aderência e na sua força de adesão, após a irrigação da dentina com EDTA a 17% e uma diminuição, quando usaram o hipoclorito de sódio a 5,25%; quando usaram a clorexidina a 2% os autores identificaram que, apesar de a força de adesão aumentar, o teste da aderência mostrou uma redução no número de bactérias aderidas à superfície tratada. Foi demonstrado que o protocolo de irrigação utilizando EDTA, seguido de hipoclorito de sódio e finalizado com clorexidina conduziu a uma menor aderência de *Enterococcus faecalis*. Os autores concluíram que os produtos químicos alteram as propriedades físico-químicas da dentina, influenciando na aderência, na força da adesão e na formação subsequente do biofilme de *Enterococcus faecalis* na dentina.

Georgopoulou et al. (2008) investigaram, a relação entre a qualidade do tratamento endodôntico, a qualidade da restauração coronária e, conseqüentemente, a presença de lesão periapical discernível radiograficamente, em 320 pacientes. Os resultados mostraram que os tratamentos endodônticos adequados tiveram a incidência mais baixa de periodontite apical quando comparados aos tratamentos endodônticos inadequados (51,7% contra 63,4%). Os tratamentos endodônticos associados a restaurações coronárias adequadas apresentaram a menor incidência de periodontite apical (47,3%) do que aqueles com restaurações inadequadas (67,4%). Baseados nos resultados, os autores concluíram que a qualidade do tratamento endodôntico, assim como a qualidade da restauração coronária, estão associadas diretamente com a incidência da presença de periodontite apical.

Essas assertivas justificam plenamente a proposta deste trabalho, desenvolvendo um estudo que possibilite verificar as variações de permeabilidade,

limpeza e contaminação da dentina radicular após irradiação com o laser de Er:YAG e o de Nd:YAG.

3 PROPOSIÇÃO

O presente estudo teve como objetivo avaliar os índices da permeabilidade dentinária radicular, da limpeza e da contaminação do sistema de canais radiculares após o preparo químico-cirúrgico, com ou sem irradiação com laser de alta potência de Er:YAG e de Nd:YAG respectivamente. Para a avaliação da permeabilidade, usamos o método quantitativo da penetração do radioisótopo ^{99m}Tc . A análise da limpeza foi feita comparativamente por meio da microscopia eletrônica de varredura. Já a qualificação da aderência e da contaminação bacteriana no sistema de canais radiculares foi obtida pela inoculação de *Enterococcus faecalis* e, após 21 dias, foi avaliada com o auxílio da microscopia eletrônica de varredura.

4 MATERIAL E MÉTODOS

	MATERIAL	ORIGEM
1	30 dentes pré-molares íntegros extraídos	Pacientes doadores, curso de especialização de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofaciais da FUNDECTO
2	Ultra-som	Dabi Atlante S.A. – Indústrias Médico Odontológicas – Ribeirão Preto – SP – Brasil
3	Lâmina de bisturi.	
4	Pontas esféricas diamantadas 1016HL, 1012HL	KG Sorensen Ind. E Com. São Paulo
5	Brocas Endo Z	Dentsply - Brasil
6	Cones de papel	Dentsply - Brasil
7	Soro fisiológico	Áster produtos Médicos Ltda – Sorocaba – São Paulo
8	Brocas Largo nº 1, 2, 3 em baixa rotação	Maillefer Instruments S/A – Ballaigues – Suíça
9	Explorador de ponta modificada	Duflex – Rio de Janeiro – Brasil
10	Explorador de ponta reta	Duflex – Rio de Janeiro – Brasil
11	Intermediário metálico	Indusbello Ind. de Instrumentos Odontológicos Ltda – Londrina - Paraná
12	Cânula metálica aspiradora de calibre 50X15	BD Ind, Brás. – Juiz de Fora, MG – Brasil
13	Bomba de vácuo para aspiração	Dabi Atlante S.A. – Indústrias Médico Odontológicas – Ribeirão Preto – SP – Brasil
14	Solução de hipoclorito de sódio a 1% (ph=10)	Fórmula & Ação Farmácia de Manipulação– São Paulo - SP – Brasil.
15	Solução de hipoclorito de sódio a 2,5% (ph=10)	Fórmula & Ação Farmácia de Manipulação– São Paulo - SP – Brasil.
16	Seringa descartável 20ml	BD Ind, Brás. – Juiz de Fora, MG – Brasil
17	Agulha hipodérmica 25X4, destituída de bisel	BD Ind, Brás. – Juiz de Fora, MG – Brasil
18	Gaze	Cremer
19	Régua milimetrada metálica	Maillefer Instruments S/A – Ballaigues – Suíça
20	Limas tipo Flexofile® 1° e 2° série	Maillefer Instruments S/A – Ballaigues – Suíça
21	Creme de Endo PTC	Fórmula & Ação Farmácia de Manipulação– São Paulo - SP – Brasil.
22	EDTA–T (EDTA 17g + Tergentol q.s.p. 100 ml, ph=7)	Fórmula & Ação Farmácia de Manipulação – São Paulo - SP - Brasil.
23	Disco de aço	KG Sorensen Ind. E Com. São Paulo

24	Mandril para contra ângulo	KG Sorensen Ind. E Com. São Paulo
25	Solução tampão fosfato 0,1mol	Laboratório de Pesquisa Básica do Departamento de Dentística da FOU SP
26	Tetróxido de ósmio a 1%	Laboratório de Pesquisa Básica do Departamento de Dentística da FOU SP
27	Álcool	Laboratório de Pesquisa Básica do Departamento de Dentística da FOU SP
28	Hmds	Sigma [®] - Germany (Laboratório de Pesquisa Básica do Departamento de Dentística da FOU SP)
29	Microscópio eletrônico de varredura	EDAX CDU Leap Detector- Phillips
30	Er:YAG	KAVO Key II – Kavo Co – Alemanha
31	Nd:YAG	ADT – USA
32	Água destilada	(ICB – USP);
33	Estufa para esterilização	Olidef CZ Ind. e Com. – Brasil
34	Radiofármaco Tecnécio-99m	Centro de Radiofarmácia do IPEN
35	Papel Absorvente	Snob, Santher, São Paulo – Brasil
36	Resina epóxica (Araldite [®])	Brascola Ltda. – Brasil
37	Blindagem de chumbo portátil (castelinho)	Centro de Radiofarmácia do IPEN
38	Fio de nicr, ø 0,06 mm	Dental Morelli Ltda., SP, Brasil
41	Contador automático modelo D5002	(Cobra II, autogamma, A Packard, Camberra, EUA)
42	Caldo triptone de soja (TSB)	Difco – USA
43	<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212)	(Oxoid – Brasil);
44	Ágar triptone de soja (TSA)	Difco – USA
45	Micropipetas Pipetman [®]	P1000µl, P200µl, P40µl, P10µl (Gilson – França)
46	Glutaraldeído a 2,5% tamponado com fosfato	Fórmula e Ação – Brasil
47	Tubos de polipropileno tipo eppendorf MCT-200C de 1,5 ml	(Axygen – USA);
48	Câmara de Fluxo Laminar	Callmex – Brasil
49	Ponteiras para micropipetas de 1µl a 200µl T-200Y	(Axygen – USA);
50	Ponteiras para micropipetas de 1000µl T-1000B	(Axygen – USA);
51	Agitador Vortex Genie Z [®]	Scientific Ind. – USA
52	Canetas de alta e baixa rotação refrigerado	(Dabi Atlante – Brasil);
53	Autoclave Vertical MOD 103	FABBE - Brasil
54	Cursores de silicone	(Maillefer – Suíça);

Para a realização deste estudo, o plano de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, parecer de aprovação – protocolo 137/07 (Anexo A).

Foram selecionados, da Clínica Odontológica do curso de especialização de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofaciais da FUNDECTO, pacientes com faixa etária entre 12 e 20 anos de idade, doadores (conforme Termo de Consentimento Esclarecido (Anexo B) de 30 primeiros pré-molares superiores humanos hígidos, dotados de completa formação radicular com raízes separadas, indicados para exodontia por razões ortodônticas.

Previamente ao procedimento cirúrgico, cada paciente foi condicionado a fazer uma anti-sepsia bucal com clorexidina a 0,12%. Após anestesia local, era realizada uma cauterização, com bisturi eletrônico, do sulco gengival do dente a ser extraído, a fim de evitar possíveis contaminações radiculares durante a remoção do dente de seu alvéolo. Extraídos os dentes, esses foram armazenados imediatamente em frascos de vidro individualizados contendo hipoclorito de sódio a 2,5%, para manutenção da desinfecção e levados ao congelador, onde ficaram até ser completado o número de espécimes necessários.

4.1 Preparo dos grupos

Todos os procedimentos para o preparo dos espécimes para o estudo foram realizados em capela de fluxo laminar, visando a evitar contaminação bacteriana dos espécimes.

Na execução dos procedimentos endodônticos, os dentes foram envoltos em gaze esterilizada umidecida com soro fisiológico, evitando a possibilidade de desidratação ou contaminação dos dentes durante sua manipulação.

Esses dentes sofreram limpeza da superfície externa com ultra-som e posterior raspagem com lâmina de bisturi.

Foi realizada a cirurgia de acesso à câmara pulpar com pontas esféricas diamantadas 1016HL, 1012HL (proporcionais ao volume da câmara pulpar), refrigeradas, complementando com broca Endo Z, para promover a divergência das paredes axiais da câmara pulpar. Em baixa rotação, utilizamos brocas Gates-Glidden e Largo para o preparo da entrada do canal, sempre irrigando fartamente a câmara pulpar e a entrada dos canais com hipoclorito de sódio a 1%, concomitantemente à aspiração.

Como os dentes eram hígidos, encontramos tecido pulpar no interior dos canais; realizamos seu esvaziamento, utilizando uma lima tipo K de nº 10 associada a irrigação com hipoclorito de sódio a 1%, com a finalidade de remover todo o tecido do interior do canal. A penetração do instrumento foi realizada até atingir o comprimento real do canal.

O comprimento real de trabalho foi determinado, subtraindo 1 mm da medida obtida a partir da introdução de uma lima tipo K de nº 15 no canal radicular até a coincidência da sua ponta com o forame apical (comprimento real do canal), observado com auxílio de uma lupa de 8 vezes de aumento.

Previamente ao preparo químico-cirúrgico, padronizou-se a abertura do forame apical em 0,22 mm de diâmetro, ultrapassando o forame com instrumento manual tipo K de nº 20 em 1 mm. O preparo químico-cirúrgico foi executado conforme técnica seriada proposta por Paiva e Antoniazzi (1991).

Durante a instrumentação, foi utilizado 0,3 mL de creme de ENDO-PTC, que foi depositado na câmara pulpar por meio de uma seringa de 2 mL acoplada a uma agulha hipodérmica; em seguida, o creme foi levado ao interior do canal radicular com auxílio de uma lima manual tipo K de nº 20 até o comprimento de trabalho. Em prosseguimento, foi gotejado hipoclorito de sódio a 1% com seringa plástica descartável de 10 mL acoplada a uma agulha hipodérmica e, verificando-se a reação de efervescência entre as substâncias químicas, iniciou-se o preparo cirúrgico.

A instrumentação foi realizada com limas manuais de tipo K e a primeira lima escolhida foi aquela que ficou ajustada no comprimento de trabalho, seguida de mais quatro instrumentos, sendo que o último foi usado para a confecção do preparo apical.

A cada troca de instrumento, observou-se a presença da reação de efervescência; quando essa não ocorria, mesmo após o gotejamento de nova quantidade de hipoclorito de sódio, aspirava-se o conteúdo do canal radicular, com auxílio de um intermediário metálico acoplado a uma cânula metálica de 20X40 e, em prosseguimento, uma nova quantidade de ENDO-PTC e de hipoclorito de sódio era depositada na câmara pulpar, da mesma forma anteriormente descrita (Figura 4.1).

Figura 4.1 - Efervescência decorrente da reação entre creme de ENDO-PTC e o hipoclorito de sódio

Findo o preparo apical, realizamos a limpeza final do canal com irrigação e aspiração com 10 mL de hipoclorito de sódio a 1%, seguido de 10 mL de EDTA-T a 17% e agitação manual com lima destinada ao preparo apical.

Concluída a limpeza final, novamente era aplicada a desobstrução apical de possíveis raspas de dentina, ultrapassando a lima manual tipo K de nº 20 em 1 mm além do forame apical.

Com auxílio de um disco de carboril adaptado a mandril e contra-ângulo em baixa rotação, promovemos a separação da raiz palatina, padronizando previamente o comprimento de todas as raízes em 10 mm de apical para cervical.

Após a secagem dos canais com cones de papel, os espécimes foram divididos aleatoriamente, em 3 grupos experimentais com 10 raízes cada: no grupo 1 (G-1: n=10) controle; no grupo 2 (G-2: n=10), os canais sofreram 4 irradiações com o laser de Er:YAG (2,940 nm – KAVO Key II – Kavo Co – Alemanha), realizando movimento helicoidal ápico-cervical de 0,5 s/mm, com intervalo de 20 s entre as aplicações (GUTKNECHT et al., 1996), utilizando fibra com 375 µm de diâmetro, nos parâmetros estabelecidos em 100 mJ, 10 Hz, 1 W, *output*; no grupo 3 (G-3: n=10), os canais sofreram 4 irradiações com laser de Nd:YAG (1,064 nm – ADT – USA),

realizando movimento helicoidalápico-cervical de 0,5 s/mm com intervalo de 20 s entre as aplicações, utilizando fibra de 300 µm de diâmetro, nos parâmetros estabelecidos em 100 mJ, 1,5 W, 15 Hz (ARAKI, 2007).

Em seguida, as raízes dos três grupos foram estocadas em frascos de vidro individualizados contendo água destilada esterilizada e mantidas por 72 horas para hidratação dos espécimes a 37 °C.

4.2 Avaliações da permeabilidade dentinária com o ^{99m}Tc

4.2.1 Preparação dos espécimes

Após o período de hidratação, os espécimes dos três grupos foram retirados dos seus frascos e secos externamente com papel absorvente. Posteriormente, os forames apicais das raízes dos diferentes grupos foram impermeabilizados externamente com resina epóxica (Araldite®) na extensão de 1 mm² e mantidos a temperatura ambiente, por 24 horas, para a cura da resina.

Para a utilização do radiofármaco Tecnécio-99m (gerador Centro de Radiofarmácia do IPEN), em completa redução, foi necessária a diluição em água destilada para, aproximadamente, 0,5 µci. É importante ressaltar que esse fármaco é acondicionado em frascos de vidro lacrados hermeticamente; para realizar seu transporte, é obrigatório o uso de uma blindagem de chumbo portátil (castelinho) e sua manipulação é realizada em uma área também blindada com chumbo (Figura 4.2).

Figura 4.2 –Tecnécio em blindagem de chumbo portátil (castelinho)

Foram especialmente confeccionadas hastes metálicas (fio de NiCr, $\varnothing$ 0,06 mm, dental Morelli Ltda., SP, Brasil), para serem fixadas na área cervical de cada amostra com auxílio da resina epóxica, na extensão de 2 mm e mantidas a temperatura ambiente por 24 horas no aguardo da cura (ARAKI, 2007). Após, as amostras foram submersas em frascos de vidro contendo solução fisiológica para reidratação.

As amostras preparadas receberam, no interior do canal radicular, com auxílio de uma microseringa, o ^{99m}Tc livre, no volume necessário para o preenchimento do mesmo. Apreendidas pelas hastes, as 30 amostras (n=10 por grupo) foram colocadas em tubos de ensaio de 10 mL contendo solução salina em volume suficiente para imersão até 1 mm aquém da borda cervical de cada raiz (Figura 4.3).

Figura 4.3 – Colocação da raiz em solução salina após o preenchimento do canal com ^{99m}Tc

Após 1 hora, cada espécime foi transferido a um recipiente contendo nova solução salina e fechado com filme de PVC. O tubo do experimento contendo a solução salina foi depositado em outro tubo para a realização da contagem do radioisótopo ^{99m}Tc (Figura 4.4). Para isso foi empregado um contador automático modelo D5002 (Cobra II, autogamma, A Packard, Camberra, EUA), para análise quantitativa da quantidade de radioisótopo livre na solução salina (Figura 4.5).

Figura 4.4 – Transferência da raiz e do tubo com solução salina a tubos maiores para contagem do radioisótopo ^{99m}Tc

Figura 4.5 – Contador automático para análise da quantidade de radioisótopo livre na solução salina (Modelo D5002 Cobra II, autogamma, A Packard, Camberra, EUA)

Após essa avaliação, os espécimes ficaram submersos em água destilada estéril durante 15 dias, tempo suficiente para eliminação completa do radioisótopo, pois seriam usados em outras análise. Findo esse período, as amostras foram retiradas da água e secas externamente com papel absorvente e os canais, com cones de papel esterilizados (Dentsply, Petrópolis, Brasil).

Na seqüência, três raízes de cada grupo foram processadas para microscopia eletrônica de varredura para análise da limpeza da dentina radicular.

4.3 Processamento para microscopia eletrônica de varredura

Em prosseguimento, nas faces mesial e distal dos espécimes, foi realizado um sulco no sentido longitudinal com disco de aço diamantado acoplado em mandril para baixa rotação, numa profundidade aproximada de 1 mm. Essa manobra teve como objetivo facilitar a clivagem dos espécimes no sentido méso-distal. Assim, o sulco mesial das raízes foi encaixado na base metálica com uma lâmina de aço de

alto valor de dureza. Efetuou-se uma batida sobre a face distal, com um pequeno martelo, para a clivagem da raiz. Somente uma das hemisseções radiculares foi selecionada, considerando a integridade do canal (Figura 4.6).

Figura 4.6 - Raiz hemisseccionada selecionada, após clivagem longitudinal

Inicialmente, as hemisseções radiculares selecionadas dos diferentes grupos foram lavadas com solução tampão de fosfato 0,1 mol, pH 7,2, por três vezes, com duração de 5 minutos cada lavagem. Após a lavagem, os espécimes foram pós-fixados com tetróxido de ósmio a 1% no interior da capela de fluxo, durante 20 minutos (Figura 4.7). Em seguida, sofreram três lavagens com solução tampão fosfato de sódio 0,1 mol, por 5 minutos.

Figura 4.7 - Capela de fluxo, para manipulação de substâncias tóxicas

Findo esse processo inicial, as hemisseções radiculares foram submetidas à desidratação em álcool, seqüenciada com concentrações crescentes (30%, 50%,

70%, 90%, 96% e absoluto). Cada concentração de álcool foi utilizada por duas vezes, por um período de 5 minutos. Somente no álcool absoluto, foram realizadas quatro trocas com duração de 5 minutos cada (Figura 4.8).

Figura 4.8 - Desidratação em álcool com concentrações crescentes

Dentro da capela de fluxo, a secagem dos espécimes foi realizada em HMDS (hexametildissilazana) durante 20 minutos; a seguir, o excesso dos mesmos foi retirado e ficaram acomodados por um período de duas horas, com o intuito de secagem e proteção contra a poeira.

Os espécimes, assim preparados, foram fixados em pequenos suportes metálicos (*stubs*) pela superfície externa da raiz, por meio de cola condutora de prata (Balzers - Liechtenstein). Logo depois, as amostras foram colocadas em câmara de vácuo Denton Vacuum® e submetidas à metalização através do sistema da pulverização pelo tempo de 3 minutos (300 Å – ouro 99,999%), numa pressão de 5×10^{-2} Pa, para recobrimento com uma camada de ouro (cerca de 20 nm), que foi obtida pelo bombardeamento de íons de Argônio no eletrodo de ouro, removendo, dessa maneira, átomos desse ouro e depositando-os nas superfícies a serem analisadas (técnica de Sputtering).

Posteriormente, os espécimes foram submetidos ao processo de desumidificação por 12 horas (Figuras 4.9 - 4.10).

Figura 4.9 - Espécimes fixados nos *stubs*

Figura 4.10 - Espécimes metalizados e posicionados no microscópio

As paredes dentinárias das amostras foram analisadas em seus terços cervicais, médios e apicais, sob aumento de 4.000 vezes, no microscópio eletrônico de varredura EDAX CDU Leap Detector com 15 kV (Figura 4.11 e 4.12) (apêndice E).

Figuras 4.11 e 4.12 - Microscópio Eletrônico de Varredura

4.3.1 Metodologia da avaliação pela Microscopia Eletrônica de Varredura

Cada metade dos espécimes foi dividida em 3 partes iguais, nomeadas de terços cervical, médio e apical, que foram padronizados para todos os espécimes. Duas fotomicrografias foram tomadas nas partes centrais da região apical (A) – a 2,5 mm da extremidade apical da raiz; média (M) – a 5,5 mm e cervical (C) – a 8,5 mm, mantendo-se os dentes no sentido horizontal (Figura 4.13).

Figura 4.13 - Diagrama representativo da padronização das regiões do canal radicular que foram fotomicrografadas

Para a avaliação dessas fotomicrografias, o programa Fotoscore foi utilizado (GUERISOLI ET AL. 2002) (Figura 4.14).

Figura 4.14 - Programa Fotoscore

O total de registros foi de 54 fotomicrografias, as quais foram divididas segundo o terço radicular a que pertenciam. Dentre as imagens obtidas, 5 foram selecionadas com o intuito de servirem como gabarito durante a obtenção dos resultados qualitativos por meio da análise pelos avaliadores. Os avaliadores das fotomicrografias foram professores titulados na área de Endodontia. Essas imagens foram divididas em escores (Figuras 4.15, 4.16, 4.17, 4.18 e 4.19), conforme os graus de limpeza da dentina radicular (teste cego).

Escore 1 = superfície dentinária com presença de magma dentinário e sem túbulos dentinários visíveis (Péssimo) (Figura 4.15).

Escore 2 = superfície dentinária com presença de magma dentinário e com 25% dos túbulos dentinários visíveis (Ruim) (Figura 4.16).

Escore 3 = superfície dentinária com presença de magma dentinário e com 50% dos túbulos dentinários visíveis (Regular) (Figura 4.17).

Escore 4 = superfície dentinária com presença de magma dentinário e com 75% dos túbulos dentinários visíveis (Bom) (Figura 4.18).

Escore 5 = superfície dentinária livre de magma dentinário e com túbulos dentinários visíveis (Ótimo) (Figura 4.19).

Figuras 4.15 - Fotomicrografia eletrônica de varredura, representando o escore 1 de limpeza

Figuras 4.16 - Fotomicrografia eletrônica de varredura, representando o escore 2 de limpeza

Figuras 4.17 - Fotomicrografia eletrônica de varredura, representando o escore 3 de limpeza

Figuras 4.18 - Fotomicrografia eletrônica de varredura, representando o escore 4 de limpeza

Figuras 4.19 - Fotomicrografia eletrônica de varredura, representando o escore 5 de limpeza

Com os dados assim obtidos para os espécimes dos grupos analisados qualitativamente, elaboraram-se as Tabelas e a competente análise estatística do tipo paramétrico.

4.4 Inoculação bacteriana nas amostras

A seguir, foram retiradas as hastes metálicas e os resíduos de Araldite[®], da área cervical das vinte e uma raízes restantes e posteriormente mantidas imersas em solução salina a 0,9% por 24 horas para restabelecer a hidratação.

As raízes foram, então, incluídas cuidadosamente em tubos Eppendorf de 1,5 mL e fixadas no extremo apical com Araldite[®] e, novamente, os conjuntos raiz-Eppendorf foram esterilizados com radiação gama-cobalto (gammacell) com dosagem de 25 KGy com a finalidade de garantir a assepsia. Na seqüência, depositou-se 1mL de caldo triptone soja (TSB) por 72 horas, com trocas de meio de cultura a cada 24 horas. Esse procedimento visou a preencher todo o sistema com meio de cultura antes da inoculação das bactérias e a neutralização de possíveis resíduos da resina epóxica do Araldite[®].

4.4.1 Preparo do inóculo

O microorganismo indicador utilizado foi o *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), obtido a partir de um estoque congelado a menos 80 °C. No primeiro dia, a amostra do *Enterococcus faecalis* foi descongelada e 10 µl foram semeados por esgotamento na superfície de ágar triptone de soja (TSA), processo esse seguido de incubação por 24 horas, em estufa a 37°C.

No segundo dia, uma colônia de *Enterococcus faecalis* foi colocada em duplicata, em tubos contendo 5 mL de caldo triptone de soja (TSB) e centrifugada com a finalidade de homogeneizar os microorganismos no caldo. Essa cultura foi incubada a 37 °C, durante 24 horas.

No terceiro dia após a incubação, a concentração dos microorganismos, em 3 mL do caldo, foi ajustada a uma absorbância óptica (A) (espectrofotometria) de A 600 nm = 0,5 correspondente a $1,5 \times 10^9$ UFC/mL, equivalente a 0,5 da escala de McFarland. Novamente em duplicata, foram inoculados 100 µl da alíquota da cultura em 5 mL de caldo TSB e incubados por 2 horas até atingir a densidade óptica equivalente a A 600 nm = 0,1 correspondente a $3,0 \times 10^8$ UFC/mL. Após atingir a densidade desejada, foi realizada a inoculação microbiana na porção interna do canal radicular do conjunto raiz-Eppendorf, com a quantidade suficiente para o seu preenchimento. Essa manobra foi realizada com auxílio de uma micropipeta (Eppendorf de 10-100 µl).

Após 24 horas, foi preenchido o restante do tubo Eppendorf até 3 mm aquém de sua borda, com caldo triptone de soja (TSB). Os espécimes foram incubados por 21 dias em estufa a 37°C, realizando-se trocas do meio de cultura (TSB) esterilizado a cada 24 horas, até completar o tempo suficiente para se obter a proliferação e a penetração das bactérias nos túbulos dentinários (GEORGE; KISHEN; SONG, 2005).

Durante todo o período experimental, a cada dia foi verificada a viabilidade do microorganismo indicador, pela presença ou ausência da turvação do meio de cultura.

Decorrido o período de contaminação, as raízes foram fixadas com glutaraldeído a 2,5% tamponado com fosfato, por 24 horas.

Na sequência, as sete raízes de cada grupo foram clivadas e uma das hemisecções radiculares foi selecionada e processada para o exame sob a óptica da microscopia eletrônica de varredura e todas as hemisecções foram fotografadas nos seus respectivos terços radiculares (protocolo descrito no item 4.2). Essa avaliação qualitativa teve, por objetivo, analisar a presença e a aderência de microorganismos na superfície dentinária radicular.

Para a avaliação dessas fotomicrografias, o programa Fotoscore foi utilizado novamente.

Um total de 63 fotomicrografias foi analisado e, da mesma forma, divididas segundo o terço radicular ao qual pertenciam. Dentre as imagens obtidas, 3 foram selecionadas com o intuito de servirem como gabarito durante a obtenção dos resultados qualitativos por meio da análise pelos avaliadores. Os avaliadores das fotomicrografias foram professores titulados na área de Endodontia. Essas imagens foram divididas em escores (Figuras 4.20, 4.21 e 4.22), conforme os graus de limpeza da dentina radicular (teste cego).

Escore 1 = superfície dentinária livre de bactérias ou com algumas bactérias visíveis (Bom).

Escore 2 = superfície dentinária com a presença de poucas bactérias visíveis (Regular).

Escore 3 = superfície dentinária com presença de muitas bactérias visíveis (Ruim).

Figuras 4.20 - Fotomicrografia eletrônica de varredura, representando o escore 1 de contaminação

Figuras 4.21 - Fotomicrografia eletrônica de varredura, representando o escore 2 de contaminação

Figuras 4.22 - Fotomicrografia eletrônica de varredura, representando o escore 3 de contaminação

Com os dados assim obtidos (Apêndice A, B, C), para os espécimes dos grupos analisados, elaboramos as adequadas tabelas e a competente análise estatística do tipo paramétrico por meio do teste Anova e Tukey.

5 RESULTADOS

Os resultados deste estudo foram obtidos a partir da análise das amostras, pela avaliação da permeabilidade radicular com radioisótopo ^{99m}Tc (Apêndice A) e da análise qualitativa da limpeza (Apêndice B) e da contaminação (Apêndice C) das paredes dos canais radiculares dos três grupos experimentais.

5.1 Avaliação da permeabilidade dentinária radicular com o radioisótopo ^{99m}Tc livre

Os valores médios dos diferentes grupos do ^{99m}Tc livre estão expressos em porcentagens (%) na tabela 5.1 e gráficos 5.1.

Tabela 5.1 – Média, em porcentagem, da penetração do ^{99m}Tc livre nos diferentes grupos

Grupos versus Penetração do ^{99m}Tc	^{99m}Tc Extra-radicular	^{99m}Tc Intra-radicular
G1- Controle ^{99m}Tc livre	33,42%	66,58%
G2- Er:YAG ^{99m}Tc livre	28,24%	71,76%
G3- Nd:YAG ^{99m}Tc livre	20,07%	79,93%

Gráfico 5.1 – Médias, em porcentagem, da penetração do ^{99m}Tc livre nos grupos das amostras.

Assim, os melhores resultados obtidos quanto à diminuição de permeabilidade ocorreram no Grupo 3, seguido do Grupo 2 e do Grupo 1.

Esses dados foram devidamente tratados estatisticamente e os resultados da análise de variância encontram-se na tabela 5.2; os resultados do teste Tukey estão apresentados na Tabela 5.3 e nos gráficos 5.2 e 5.3.

Não houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo controle e grupo irradiado com Er:YAG. Foi demonstrada diferença estatisticamente significativa, em nível de 5%, quando se comparou o grupo irradiado com o laser de Nd:YAG ao grupo irradiado com o laser de Er:YAG e ao grupo controle, os quais apresentaram maior permeabilidade na dentina radicular.

Tabela 5.2 – Análise de variância da permeabilidade dentinária radicular analisada com ^{99m}Tc livre

FONTES DE VARIAÇÃO	GL	SQ	QM
Tratamentos	2	90,5 e+01	452,5760
Erro	27	11,5 e+02	42,5330
F =	10,6406		
(p) =	0,0006		
Média (Coluna 1) =	33,4160		
Média (Coluna 2) =	28,2360		
Média (Coluna 3) =	20,0720		

Tabela 5.3 - Resultados estatísticos do teste Tukey da análise de variância da permeabilidade dentinária radicular entre os diferentes grupos experimentais

Tukey:	Diferença		
Média (Coluna 2) =	28,2360		
Média (Coluna 3) =	20,0720		
Tukey:	Diferença	Q	(p)
Médias (1 a 2) =	5,1800	2,5117	Ns
Médias (1 a 3) =	13,3440	6,4703	< 0.01
Médias (2 a 3) =	8,1640	3,9586	< 0.05

Gráfico 5.2 - Resultados estatísticos do teste Tukey, da porcentagem de isótopo radiativo, ^{99m}Tc , encontrado na solução salina extra-radicular

Gráfico 5.3 - Resultados estatísticos do teste Tukey, da porcentagem de isótopo radiativo, ^{99m}Tc , encontrado retido intra-radicular nos diferentes grupos

5.2 Análises qualitativas dos três grupos experimentais

A análise qualitativa se deu em dois momentos. A primeira avaliação foi realizada em três dentes de cada grupo, num total de nove dentes sendo analisadas, por seis avaliadores, as fotomicrografias eletrônicas de varredura dos diferentes terços radiculares. A segunda avaliação qualitativa se deu nos demais dentes dos diferentes grupos experimentais (21 dentes) após a contaminação, por 21, dias com o *Enterococcus faecalis*. Após esse período esses dentes foram preparados para a análise qualitativa do grau de aderência e a contaminação foi avaliada por meio das fotomicrografias, quando da observação sob microscopia eletrônica de varredura.

5.2.1 Análise qualitativa da limpeza dentinária radicular

De posse dos dados da avaliação qualitativa da limpeza das paredes radiculares realizada pelos seis avaliadores, dados representados pela conversão em valores numéricos dos escores adotados neste estudo, foi considerada a presença de magma dentinário sobre as paredes do canal radicular nos terços cervical, médio e apical de cada um dos espécimes dos grupos experimentais (Apêndice B). Foram obtidas as médias dos valores totais das leituras dos escores de cada terço dos grupos experimentais, as quais se encontram na tabela 5.4 e gráfico 5.4.

Tabela 5.4 - Média dos valores das leituras dos escores para os terços: cervical, médio e apical de cada grupo

GRUPOS	TERÇOS		
	Cervical	Médio	Apical
G1	3,6666	4,1388	1,2500
G2	3,5833	4,3333	3,4444
G3	2,9722	2,8888	2,8055

Gráfico 5.4 - Média dos valores das leituras dos escores para os terços: cervical, médio e apical

Para cada grupo experimental, foram obtidas as médias dos valores totais das leituras dos escores, as quais estão representadas na tabela 5.5 e gráfico 5.5.

Tabela 5.5 – Valor médio total dos escores para cada grupo experimental.

GRUPOS	MÉDIAS
G1 - grupo controle	3,02
G2 - grupo irradiado com Er:YAG	3,79
G3 - grupo irradiado com Nd:YAG	2,89

Gráfico 5.5 - Média dos valores totais de limpeza de cada grupo experimental

Assim, os melhores resultados obtidos quanto à limpeza das paredes dentinárias do canal radicular ocorreram no G2 - grupo irradiado com Er:YAG, seguido do G1 - grupo controle e do G3 - grupo irradiado com Nd:YAG. Os dados originais (Apêndice B) foram devidamente tratados estatisticamente, empregando-se

Análise de Variância e seus resultados encontram-se expressos na tabela 5.6. Ao analisar os resultados de toda a dentina radicular, observamos que não houve diferença estatisticamente significativa quando se comparou o G2 (grupo irradiado com Er:YAG) ao G1 (grupo controle). Houve, porém, diferença estatisticamente significativa, em nível de 5%, entre o grupo G2 e o G3, apresentando o G2 maior índice de limpeza total da dentina radicular (Tabela 5.6).

Tabela 5.6 - Análise de variância qualitativa da limpeza total das paredes dentinárias radiculares entre os diferentes grupos experimentais

FONTES DE VARIAÇÃO	GL	SQ	QM
Tratamentos	2	8.492	4.246
Erro	51	47.771	0.937
F =	4.5331		
(p) =	0.0152		
Média (Coluna 1) =	3.0189		
Média (Coluna 2) =	3.7872		
Média (Coluna 3) =	2.8883		
Teste de Tukey	Diferença	Q	(p)
Médias (1 a 2) =	0.7683	3.3681	Ns
Médias (1 a 3) =	0.1306	0.5723	Ns
Médias (2 a 3) =	0.8989	3.9404	< 0.05

Analisando, a seguir, somente os resultados do terço apical da dentina radicular no tabela 5.7 e Figuras 5.1 A e B, 5.2 A e B e 5.3 A e B, observou-se que não houve diferença estatisticamente significativa entre o G2 e o G3. Houve, porém, diferença estatisticamente significativa em nível de 1%, entre o grupo G1 e os grupos G2 e G3, apresentando o G2 maior índice de limpeza no terço apical da dentina radicular.

Tabela 5.7- Análise de variância qualitativa da limpeza das paredes dentinárias radiculares dos terços apicais entre os diferentes grupos experimentais

FONTES DE VARIAÇÃO	GL	SQ	QM
Tratamentos	2	15.272	7.636
Erro	15	2.772	0.185
F =	41.3202		
(p) =	< 0.0001		
Média (Coluna 1) =	1.2500		
Média (Coluna 2) =	3.4433		
Média (Coluna 3) =	2.8050		
Tukey	Diferença	Q	(p)
Médias (1 a 2) =	2.1933	12.4975	< 0.01
Médias (1 a 3) =	1.5550	8.8603	< 0.01
Médias (2 a 3) =	0.6383	3.6372	Ns

Ao analisarmos os resultados de limpeza do terço médio, figuras 5.4 A e B, 5.5 A e B e 5.6 A e B, da dentina radicular na tabela 5.8 e do terço cervical, figuras 5.7 A e B, 5.8 A e B e 5.9 A e B, na tabela 5.9, observa-se que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos G1, G2 e G3.

Tabela 5.8 - Análise de variância qualitativa da limpeza das paredes dentinárias radiculares dos terços médios entre os diferentes grupos experimentais

FONTES DE VARIAÇÃO	GL	SQ	QM
Tratamentos	2	1.826	0.913
Erro	15	6.405	0.427
F =	2.1379		
(p) =	0.1512		

Tabela 5.9 - Análise de variância qualitativa da limpeza das paredes dentinárias radiculares dos terços cervicais entre os diferentes grupos experimentais

FONTES DE VARIAÇÃO	GL	SQ	QM
Tratamentos	2	1.728	0.864
Erro	15	7.763	0.518
F =	1.6698		
(p) =	0.2205		

Quando comparado o índice de limpeza do terços apical, médio e cervical do grupo G1, na tabela 5.10, a região com maior limpeza foi o terço médio (Apêndice F2, F3, F4) seguido pelos terços cervical (Apêndice F, F1) e apical (Apêndice F5, F6). Houve diferença estatisticamente significativa, em nível de 1%, entre os terços médio e cervical e o terço apical.

Tabela 5.10 - Análise de variância qualitativa da limpeza das paredes dentinárias radiculares dos terços cervical, médio e apical do grupo controle (G1)

FONTES DE VARIAÇÃO	GL	SQ	QM
Tratamentos	2	172.907	86.454
Erro	105	73.056	0.696
F =	124.2567		
(p) =	< 0.0001		
Média (Coluna 1) = apical	1.2500		
Média (Coluna 2) = médio	4.1389		
Média (Coluna 3) = cervical	3.6667		
Tukey:	Diferença	Q	(p)
Médias (1 a 2) =	2.8889	20.7802	< 0.01
Médias (1 a 3) =	2.4167	17.3835	< 0.01
Médias (2 a 3) =	0.4722	3.3968	Ns

No G2, a maior limpeza foi encontrada no terço médio (Apendice G2, G3) seguido pelos terços cervical (Apêndice G1) e apical (Apendice G4, G5) (Tabela 5.11). Houve diferença estatisticamente significativa, em nível de 1% ($p > 0,001$), entre o terço médio e o apical e entre o terço médio e o cervical. Quando, porém, confrontadas as médias do terço cervical e do apical não houve diferença significativa, em nível de 5%.

Tabela 5.11 - Análise de variância qualitativa da limpeza das paredes dentinárias radiculares dos terços cervical, médio e apical do grupo do Er:YAG (G2)

FONTES DE VARIAÇÃO	GL	SQ	QM
Tratamentos	2	16.463	8.231
Erro	105	81.639	0.778
F =	10.5869		
(p) =	0.0002		
Média (Coluna 1) = apical	3.4444		
Média (Coluna 2) = médio	4.3333		
Média (Coluna 3) = cervical	3.5833		
Tukey:	Diferença	Q	(p)
Médias (1 a 2) =	0.8889	6.0485	< 0.01
Médias (1 a 3) =	0.1389	0.9451	Ns
Médias (2 a 3) =	0.7500	5.1034	< 0.01

No G3, tabela 5.12, não houve diferença estatisticamente significativa entre os terços cervical (Apendice H, H1), médio (Apendice H3, H4) e apical (Apendice H6, H7, H8) quando comparados entre si.

Tabela 5.12 - Análise de variância qualitativa da limpeza das paredes dentinárias radiculares dos terços cervical, médio e apical do grupo do Nd:YAG (G3).

FONTES DE VARIAÇÃO	GL	SQ	QM
Tratamentos	2	0.685	0.343
Erro	105	112.750	1.074
F =	0.3190		
(p) =	0.7323

Figura 5.1 A e B - Fotomicrografias eletrônicas de varredura, representando a região mais limpa (A) e a menos limpa (B) do terço apical do G1 (aumento de 4.000 X)

Figura 5.2 A e B - Fotomicrografias eletrônicas de varredura, representando a região mais limpa (A) e a menos limpa (B) do terço apical do G2 (aumento de 4.000 X)

Figura 5.3 A e B - Fotomicrografias eletrônicas de varredura, representando a região mais limpa (A) e a menos limpa (B) do terço apical do G3 (aumento de 4.000 X)

Figura 5.4 A e B - Fotomicrografias eletrônicas de varredura, representando a região mais limpa (A) e a menos limpa (B) do terço médio do G1 (aumento de 4.000 X)

Figura 5.5 A e B - Fotomicrografias eletrônicas de varredura, representando a região mais limpa (A) e a menos limpa (B) do terço médio do G2 (aumento de 4.000 X)

Figura 5.6 A e B - Fotomicrografias eletrônicas de varredura, representando a região mais limpa (A) e a menos limpa (B) do terço médio do G3 (aumento de 4.000 X)

Figura 5.7 A e B - Fotomicrografias eletrônicas de varredura, representando a região mais limpa (A) e a menos limpa (B) do terço cervical do G1 (aumento de 4.000 X)

Figura 5.8 A e B - Fotomicrografias eletrônicas de varredura, representando a região mais limpa (A) e a menos limpa (B) do terço cervical do G2 (aumento de 4.000 X)

Figura 5.9 A e B - Fotomicrografias eletrônicas de varredura, representando a região mais limpa (A) e a menos limpa (B) do terço cervical do G3 (aumento de 4.000 X)

5.2.2 Análise da aderência e contaminação do *Enterococcus faecalis*

A análise dos dados da avaliação qualitativa da contaminação das paredes dentinárias radiculares, realizada pelos seis avaliadores, está representada pela conversão em valores numéricos dos escores adotados neste estudo.

Os dados originais (Apêndice C) foram devidamente tratados, estatisticamente, por meio da Análise de Variância; seus resultados encontram-se expressos nas tabelas de 5.13 a 5.21 e nos gráficos de 5.6 a 5.10.

Considerou-se a aderência e a contaminação do *Enterococcus faecalis* sobre as paredes do canal radicular nos terços cervical, médio e apical de cada um dos espécimes dos grupos experimentais. Foram obtidas as médias dos valores totais das leituras dos escores de cada terço desses grupos, as quais se encontram na tabela 5.13 e no gráfico 5.6.

Tabela 5.13 - Média dos valores de contaminação das leituras dos escores para os terços cervical, médio e apical em cada grupo experimental

GRUPOS	TERÇOS		
	Cervical	Médio	Apical
G1	2,11	2,44	1,61
G2	1,06	2,33	2,11
G3	2,06	2,28	2,39

Gráfico 5.6 - Média dos valores de contaminação das leituras dos escores para os terços cervical, médio e apical em cada grupo experimental

Para cada grupo experimental, foram obtidas as médias dos valores totais das leituras dos escores, as quais estão representadas na tabela 5.14 e gráfico 5.14.

Tabela 5.14 - Média dos valores totais de contaminação das leituras dos escores para cada grupo experimental

GRUPOS	MÉDIAS
G1	1,74
G2	2,35
G3	2,04

Gráfico 5.7 - Média dos valores totais de contaminação dos escores para cada grupo experimental

Assim, segundo a tabela 5.14 e o gráfico 5.7, os piores resultados, qualificados numericamente pelos avaliadores, quanto à aderência e à contaminação das paredes dentinárias do canal radicular ocorreram no G2 (grupo irradiado com Er:YAG), seguido do G3 (grupo irradiado com Nd:YAG) e do G1 (grupo controle – somente preparo químico-cirúrgico).

Porém, o tratamento estatístico, por meio da Análise de Variância (Tabela 5.15), quando comparado à contaminação radicular total dos diferentes grupos, demonstra que não houve diferença estatisticamente significativa, entre os grupos G1, G2 e G3.

Tabela 5.15 - Análise de Variância qualitativa da contaminação total das paredes dentinárias radiculares entre os diferentes grupos experimentais

<i>FONTES DE VARIAÇÃO</i>	<i>GL</i>	<i>SQ</i>	<i>QM</i>
Tratamentos	2	1.687	0.844
Erro	24	6.066	0.253
F =	3.3381		
(p) =	0.0514		

Na tabela 5.16, quando comparada à contaminação dos terços apicais dos diferentes grupos, foi demonstrado que não houve diferença estatisticamente significativa entre os terços apicais dos mesmos.

Tabela 5.16 - Análise de Variância qualitativa da contaminação das paredes dentinárias radiculares dos terços apicais entre os diferentes grupos experimentais

<i>FONTES DE VARIAÇÃO</i>	<i>GL</i>	<i>SQ</i>	<i>QM</i>
Tratamentos	2	1.056	0.528
Erro	6	2.168	0.361
F =	1.4608		
(p) =	0.3044		

Segundo a tabela 5.16, a contaminação do terço médio foi maior no G2 seguido pelo G3 e pelo G1. Houve diferença estatisticamente significativa, em nível de 1%, entre o terço médio do G1 e os do G2 e do G3, sendo que esses dois últimos grupos não apresentaram diferença significativa em nível de 1% (Gráfico 5.8).

Tabela 5.17 - Análise de Variância qualitativa da contaminação das paredes dentinárias radiculares dos terços médios entre os diferentes grupos experimentais

FONTES DE VARIAÇÃO	GL	SQ	QM
Tratamentos	2	2.789	1.395
Erro	6	0.259	0.043
F =	32.3664		
(p) =	0.0011		
Média (Coluna 1) = G1	1.0567		
Média (Coluna 2) = G2	2.3333		
Média (Coluna 3) = G3	2.1100		
Tukey	Diferença	Q	(p)
Médias (1 a 2) =	1.2767	10.6526	< 0.01
Médias (1 a 3) =	1.0533	8.7891	< 0.01
Médias (2 a 3) =	0.2233	1.8635	Ns

Gráfico 5.8 - Análise de Variância qualitativa da contaminação das paredes dentinárias radiculares dos terços médios entre os diferentes grupos experimentais

Na Tabela 5.8, quando comparamos a contaminação e a aderência dos microorganismos no terço cervical dos diferentes grupos, por meio da Análise de Variância, não se constatou diferença estatisticamente significativa entre esses grupos.

Tabela 5.18 - Análise de Variância qualitativa da contaminação das paredes dentinárias radiculares dos terços cervicais entre os diferentes grupos experimentais

<i>FONTES DE VARIAÇÃO</i>	<i>GL</i>	<i>SQ</i>	<i>QM</i>
Tratamentos	2	0.174	0.087
Erro	6	0.561	0.094
F =	0.9295		
(p) =	0.5527		

Quando comparamos, na tabela 5.19, a contaminação e a aderência bacteriana nos terços apical, médio e cervical do mesmo grupo, constatamos que, no G1, a maior contaminação foi encontrada no terço apical (Figura 5.10 A e B), seguido pelo terço cervical (Figura 5.16 A e B) e médio (Figura 5.13 A e B). Houve diferença estatisticamente significativa, em nível de 1%, entre o terço médio e os terços apical e cervical (Gráfico 5.9).

Tabela 5.19 - Análise de Variância qualitativa da contaminação das paredes dentinárias radiculares dos terços apical, médio e cervical do grupo G1

<i>FONTES DE VARIAÇÃO</i>	<i>GL</i>	<i>SQ</i>	<i>QM</i>
Tratamentos	2	12.704	6.352
Erro	51	17.667	0.346
F =	18.3365		
(p) =	< 0.0001		
Média (Coluna 1) =	2.1111		
Média (Coluna 2) =	1.0556		
Média (Coluna 3) =	2.0556		
<i>Tukey</i>	<i>Diferença</i>	<i>Q</i>	<i>(p)</i>
Médias (1 a 2) =	1.0556	7.6090	< 0.01
Médias (1 a 3) =	0.0556	0.4005	Ns
Médias (2 a 3) =	1.0000	7.2085	< 0.01

Gráfico 5.9 - Análise de Variância qualitativa da contaminação das paredes dentinárias radiculares dos terços cervical, médio e apical do grupo controle (G1)

No grupo de Er:YAG (G2), não houve diferença estatisticamente significativa, quando da Análise de Variância qualitativa da contaminação das paredes dentinárias radiculares dos terços cervical, médio e apical (Tabela 5.20 e Figura 5.11 A e B; Figura 5.14 A e B e Figura 5.17 A e B).

Tabela 5.20 - Análise de Variância qualitativa da contaminação das paredes dentinárias radiculares dos terços cervical, médio e apical do grupo Er:YAG (G2)

<i>FONTES DE VARIAÇÃO</i>	<i>GL</i>	<i>SQ</i>	<i>QM</i>
Tratamentos	2	0.259	0.130
Erro	51	22.056	0.432
F =	0.2997		
(p) =	0.7465		

Finalizando, na tabela 5.21 e no gráfico 5.10, do G3 (Nd:YAG), a maior contaminação foi encontrada no terço cervical (Figura 5.18 A e B), seguido pelos terços médio (Figura 5.15 A e B) e apical (Figura 5.12 A e B).

Na Análise de Variância qualitativa da contaminação das paredes dentinárias

radiculares dos terços cervical, médio e apical deste grupo, o teste constatou diferença estatisticamente significativa, em nível de 1%, entre o terço cervical e o terço apical.

Tabela 5.21 - Análise de Variância qualitativa da contaminação das paredes dentinárias radiculares dos terços cervical, médio e apical do grupo de Nd:YAG (G3)

FONTES DE VARIAÇÃO	GL	SQ	QM
Tratamentos	2	5.593	2.796
Erro	51	20.333	0.399
F =	7.0137		
(p) =	0.0024		
Média (Coluna 1) = Apical	1.6111		
Média (Coluna 2) = Médio	2.1111		
Média (Coluna 3) = Cervical	2.3889		
Tukey	Diferença	Q	(p)
Médias (1 a 2) =	0.5000	3.3596	Ns
Médias (1 a 3) =	0.7778	5.2260	< 0.01
Médias (2 a 3) =	0.2778	1.8664	Ns

Gráfico 5.10 - Análise de Variância qualitativa da contaminação das paredes dentinárias radiculares dos terços cervical, médio e apical do grupo de Nd:YAG.

Figura 5.10 A e B - Fotomicrografias eletrônicas de varredura, representando a região menos contaminada (A) e a mais contaminada (B) do terço apical do G1 (aumento de 4.000 X)

Figura 5.11 A e B - Fotomicrografias eletrônicas de varredura, representando a região menos contaminada (A) e a mais contaminada (B) do terço apical do G2 (aumento de 4.000 X)

Figura 5.12 A e B - Fotomicrografias eletrônicas de varredura, representando a região menos contaminada (A) e a mais contaminada (B) do terço apical do G3 (aumento de 4.000 X)

Figura 5.13 A e B - Fotomicrografias eletrônicas de varredura, representando a região menos contaminada (A) e a mais contaminada (B) do terço médio do G1 (aumento de 4.000 X)

Figura 5.14 A e B - Fotomicrografias eletrônicas de varredura, representando a região menos contaminada (A) e a mais contaminada (B) do terço médio do G2 (aumento de 4.000 X)

Figura 5.15 A e B - Fotomicrografias eletrônicas de varredura, representando a região menos contaminada (A) e a mais contaminada (B) do terço médio do G3 (aumento de 4.000 X)

Figura 5.16 A e B - Fotomicrografias eletrônicas de varredura, representando a região menos contaminada (A) e a mais contaminada (B) do terço cervical do G1(aumento de 4.000 X)

Figura 5.17 A e B - Fotomicrografias eletrônicas de varredura, representando a região menos contaminada (A) e a mais contaminada (B) do terço cervical do G2 (aumento de 4.000 X)

Figura 5.18 A e B – Fotomicrografias eletrônicas de varredura, representando a região menos contaminada (A) e a mais contaminada (B) do terço cervical do G3 (aumento de 4.000 X)

6 DISCUSSÃO

O sucesso em qualquer tratamento, na área da saúde, depende, indiscutivelmente, da excelência na execução de todas as etapas pertinentes ao plano de tratamento proposto.

O tratamento endodôntico depende da realização de todas as etapas, até a restauração definitiva e controle clínico e radiográfico do dente tratado. A eliminação dos microorganismos presentes no sistema de canais radiculares e a manutenção da desinfecção obtida durante o tratamento constituem os objetivos primordiais da terapia endodôntica.

No entanto, a complexidade anatômica, associada à inacessibilidade terapêutica em toda a extensão do sistema de canais, torna impossível a completa eliminação dos microorganismos contaminantes (CUNNINGHAM; BALEKJIAN, 1980; PAIVA; ANTONIAZZI, 1991; PINHEIRO et al., 2003; PROKOPOWITSCH, 1988; SUNDQVIST et al., 1979).

Em relação à infecção, a eliminação dos microorganismos assume um papel importante e decisivo no processo de cura da região periapical. Quando o processo infeccioso se instala no interior do sistema de canais radiculares, todo o processo reparativo, na região periapical, torna-se ineficiente (BERGMANS et al., 2006; CECCHINI, 2001; KISHEN et al., 2008; MERYON; BROOK, 1990; PAIVA; ANTONIAZZI, 1991; PINHEIRO et al., 2003; SIQUEIRA Jr., 1997; SIQUEIRA Jr., et al., 2002a, 2005;).

Com o intuito de eliminar os microorganismos, recorre-se ao uso de substâncias químicas auxiliares, com propriedades físico-químicas eficazes na desinfecção e na ação conjunta dos instrumentos endodônticos. Para a obtenção da

sanificação do sistema de canais radiculares, é necessária uma associação entre as substâncias químicas auxiliares e os instrumentos próprios da Endodontia, tendo, cada qual, uma ação específica, sob a condição, porém, de um recurso potencializar a ação do outro (FREITAS; GOMES; PROKOPOWITSCH, 2006; GOMES; FREITAS; PROKOPOWITSCH, 2005; MOURA; ROBAZZA; PAIVA, 1978; PAIVA; ANTONIAZZI, 1973; PAIVA; ANTONIAZZI, 1991; PROKOPOWITSCH, 1988; PROKOPOWITSCH; MOURA; MUENCH, 1989; PROKOPOWITSCH, 1994; ROBAZZA; PAIVA; ANTONIAZZI, 1981; YAMAZAKI, 2006).

Seguindo esse raciocínio, um eficiente preparo químico-cirúrgico relativo à desinfecção, à limpeza e à modelagem do sistema de canais radiculares é de suma importância. Assumindo tal caráter fundamental, a fase de preparo do canal radicular favorece as condições para uma adequada obturação (GUERISOLI et al., 2002; MOURA; ROBAZZA; PAIVA, 1978; PROKOPOWITSCH, 1988; PROKOPOWITSCH; MOURA; MUENCH, 1989; ROBAZZA; PAIVA; ANTONIAZZI, 1981).

As soluções químicas auxiliares atuam, em duas fases, durante o preparo químico-cirúrgico do canal radicular. Na primeira fase, agem conjuntamente com os instrumentos, permitindo manter a sujidade em suspensão, lubrificando de modo a reduzir o atrito entre o instrumento e a parede dentinária do canal; dissolvendo tecidos orgânicos vitais ou não e promovendo uma ação antimicrobiana no sistema de canais radiculares. Na segunda fase do preparo químico-cirúrgico, a irrigação-aspiração final do canal radicular age, objetivando a máxima remoção da sujidade dentinária produzida durante o preparo químico-cirúrgico. Além dessas importantes propriedades, essas substâncias devem apresentar boa biocompatibilidade para com os tecidos periodontais apicais (PAIVA; ANTONIAZZI, 1991; PROKOPOWITSCH, 1994; SIQUEIRA Jr., et al, 2002b).

O uso da irradiação laser de alta intensidade em Endodontia, quando aplicada como coadjuvante do saneamento de canais radiculares, ocupa lugar de destaque, sendo de grande interesse à terapia endodôntica quanto à complementação da desinfecção e da limpeza obtida durante o preparo do canal (ARAKI et al., 2006; BERGMANS et al., 2006; CECCHINI, 2001; GUTKNECHT et al., 1996; KISHEN, et al., 2008; MOSHONOV et al., 1995).

A irradiação laser, de alta intensidade, quando aplicada à dentina radicular, produz efeito térmico com alta capacidade bactericida, promovendo também, pela ação dessa energia aplicada, alterações estruturais da dentina, como: fusão e recristalização da matriz de dentina ou superfície rugosa com túbulos dentinários abertos e isenta de magma, podendo modificar a permeabilidade dentinária radicular, alterando os índices de penetração medicamentosa nos túbulos dentinários. Outrossim, o tratamento com irradiação laser poderia prevenir ou mitigar a contaminação do sistema endodôntico após sua irradiação (ARANHA et al., 2005; BELLO-SILVA et al., 2006; BIEDMA et al., 2005; BRUGNERA JR., et al., 2003; CAMARGO et al., 2005; GUTKNECHT; EDUARDO, 2004; KHAN et al., 1997; KURUMADA, 1990; LAGE-MARQUES; EDUARDO; MATSUMOTO, 1995; LAGE-MARQUES; EDUARDO, 1998; LAN, 1999; LIN et al., 2001; PÉCORA et al., 2000; PICK, 1987; TAKEDA et al., 1998; TAKEDA et al., 1999; TANJI; GOUW-SOARES; EDUARDO, 1998; SANTOS et al., 2005; SCHOOP et al., 2002; SOARES et al., 2006).

Muitos estudos da permeabilidade dentinária do canal radicular lançam mão de diferentes evidenciadores, tais como isótopos radiativos: S^{35} , Na^{22} , I^{131} , P^{32} , usados como marcadores para estudos *in vivo* e *in vitro* (ARAKI, 2007; IVANOVIC;

PAJIC, 1990; LEVER, 1995; MARSHALL; MASSLER; DUTE, 1960; PASHLEY et al., 1981).

Sendo assim, avaliamos as possíveis variações do índice da permeabilidade dentinária radicular em raízes humanas, previamente submetidas ao preparo químico-cirúrgico e, posteriormente, irradiadas ou não com laser de Er:YAG e de Nd:YAG.

Nos nossos resultados quantitativos, pela avaliação da permeabilidade dentinária radicular com o radioisótopo ^{99m}Tc livre e analisando as médias, em porcentagem, de sua penetração nos diferentes grupos, observamos os melhores resultados, quanto à diminuição da permeabilidade dentinária radicular, ocorrida no Grupo 3 (Nd:YAG - 20,07% ^{99m}Tc extra-radicular e 79,93% ^{99m}Tc intra-radicular) seguido do Grupo 2 (Er:YAG - 28,24% ^{99m}Tc extra-radicular e 71,76% ^{99m}Tc intra-radicular) e do Grupo 1 (Controle - 33,42% ^{99m}Tc extra-radicular e 66,58% ^{99m}Tc intra-radicular).

Estatisticamente, através da Análise de Variância, quanto à permeabilidade dentinária radicular, não houve diferença significativa, em nível de 5% ($p > 0,05$), entre o Grupo 1 (^{99m}Tc extra-radicular - 33,42% e ^{99m}Tc intra-radicular - 66,58%) e o Grupo 2 (^{99m}Tc extra-radicular - 28,24% e ^{99m}Tc intra-radicular - 71,76%). Interessante notar que o Grupo 2, que recebeu a irradiação com Er:YAG, não aumentou de forma significativa a permeabilidade dentinária radicular, com 95% de confiança, quando comparada à permeabilidade do Grupo 1 (controle), que não recebeu irradiação laser (Tabela 5.1 e Gráfico 5.1).

Esse resultado é discordante dos trabalhos de diversos autores que observaram aumento da permeabilidade quando da irradiação com Er:YAG (ARANHA et al., 2005; TAKEDA et al., 1998; TANJI; GOUW-SOARES; EDUARDO,

1998). Outrossim, Pécora et al. (2000) observaram que o laser de Er:YAG, irradiado com água destilada no interior do canal, promove maior aumento da permeabilidade dentinária do que quando irradiado com NaOCl a 1%. O diferencial dos resultados pode estar relacionado ao fato de, em nosso experimento, os canais terem sido secas antes de serem irradiados com laser de Er:YAG.

Já o G3 (^{99m}Tc extra-radicular - 20,07% e ^{99m}Tc intra-radicular - 79,93%) apresentou diferença estatisticamente significativa, em nível de 5% ($p>0,05$), em sua permeabilidade, quando sua média foi confrontada com as médias do G1 e do G2, os quais apresentaram maior permeabilidade da dentina para o meio de solução salina extra-radicular. Esse fato é concordante com vários trabalhos na literatura pertinente (ARANHA et al., 2005; LAGE-MARQUES; EDUARDO; MATSUMOTO, 1995; LAGE-MARQUES; EDUARDO, 1998; LAN, 1999; LIN et al., 2001). Outrossim, Lee et al., (2002), que irradiaram com Nd:YAG a superfície dentinária impregnada com nanquim, observaram que esse laser pode ser empregado para reduzir a permeabilidade dentinária. Aranha et al. (2005) observaram redução da permeabilidade dentinária em 26,05%, quando irradiaram com laser de Er:YAG e redução de 19,03% quando irradiaram com laser de Nd:YAG.

Durante as manobras de preparo químico-cirúrgico dos canais radiculares, sempre ocorre a formação do magma dentinário nas paredes dentinárias (CZONSTKOWSKY; WILSON; HOLSTEIN, 1990; PAIVA; ANTONIAZZI, 1991). A controvérsia, em torno da remoção ou não do magma dentinário, é amplamente discutida na literatura pertinente (BELLO-SILVA et al., 2006; BIEDMA et al., 2005; CAMARGO et al., 2005; GOUW-SOARES; EDUARDO, 1998; GUTKNECHT; EDUARDO, 2004; MELLO; ROBAZZA; ANTONIAZZI, 2004; PÉCORÁ et al., 2000;

PICOLI et al., 2003; TAKEDA et al., 1998; TANJI; SCHOOOP et al., 2002; SOARES et al., 2006).

Supõe-se que a remoção do magma dentinário permite, entre outras vantagens, melhor imbricamento mecânico do material obturador nas paredes dos canais radiculares e não limita a ação de desinfetantes e medicações intracanaís (PROKOPOWITSCH; MOURA; MUENCH, 1989; PROKOPOWITSCH, 1994; SEN; WESSELINK; TÜRKÜN, 1995).

Inúmeros estudos foram realizados, sempre buscando substâncias químicas ou associações dessas ou métodos e técnicas, capazes de remover, de maneira eficiente, esse magma dentinário (BELLO-SILVA et al., 2006; GOMES; FREITAS; PROKOPOWITSCH, 2005; GOMES et al, 2001; FREITAS; GOMES; PROKOPOWITSCH, 2006).

Dentre as substâncias de uso intermitente, o hipoclorito de sódio é o mais comumente utilizado. São definidas como bases fortes cloradas, sendo classificadas como compostos halogenados (PAIVA; ANTONIAZZI, 1991). Devido às suas características favoráveis na sanificação do canal radicular, o hipoclorito de sódio continua sendo alvo de estudos comparativos com outras substâncias químicas novas. Desde muito, essa solução vem sendo empregada, de maneira rotineira, em variadas concentrações, relacionada com toxicidade e dissolução do tecido pulpar (ARI; ERDEMIR, 2005; GOMES et al., 2001; SIQUEIRA; SANTOS; BOMBANA, 2005; SIRTES et al., 2005; SPANÓ et al., 2001; ZEHNDER, 2006; ZEHNDER et al, 2003).

Desse modo, analisamos qualitativamente a limpeza das paredes dentinárias do sistema de canais radiculares, previamente submetidas ao preparo químico-cirúrgico e, posteriormente, irradiadas ou não com laser de Er:YAG e de Nd:YAG.

Os melhores resultados obtidos quanto às médias totais de limpeza das paredes dentinárias do canal radicular ocorreram no G2 (Grupo irradiado com Er:YAG – média = 3,79), seguido do G1 (Grupo controle - média = 3,02) e do G3 (Grupo irradiado com Nd:YAG - média = 2,89). Por meio da Análise de Variância e de seus resultados (Tabela 5.6), observou-se que não houve diferença estatisticamente significativa entre o Grupo 2 e o Grupo 1. Houve, porém, diferença estatisticamente significativa, em nível de 5%, entre o Grupo 2 e o Grupo 3. O Grupo 2 apresenta o maior índice qualitativo de limpeza total da dentina radicular (Tabela 5.5 e Gráfico 5.5).

Ao analisarmos somente os resultados de limpeza qualitativa do terço apical dos espécimes dos três grupos (Tabela 5.7), observou-se que não houve diferença estatisticamente significativa entre o G2 e o G3. Temos, porém, diferença estatisticamente significativa, em nível de 1% ($p > 0,001$), para o grupo G1 quando comparado ao G2 e ao G3 (Figuras 5.1 A e B, 5.2 A e B e 5.3 A e B).

Quando comparamos o índice de limpeza qualitativa do terços apical, médio e cervical no mesmo Grupo, no grupo G1 (Tabela 5.4 e Figura 5.1 A e B, 5.4 A e B, 5.7 A e B), a região com maior limpeza foi o terço médio (4,14) seguido pelo terço cervical (3,67) e pelo apical (1,25). Houve diferença estatisticamente significativa, em nível de 1%, para o terço médio e o terço cervical, comparados ao terço apical, quando da aplicação da Análise de Variância.

No G2 (Grupo do Er:YAG), a maior limpeza qualitativa foi encontrada no terço médio (Tabela 5.11), seguido pelo terço cervical e pelo apical. Houve diferença estatisticamente significativa, em nível de 1% ($p > 0,01$), entre o terço médio e o terço apical (Figura 5.5 A e B, 5.2 A e B) e entre o terço médio e o terço cervical (Figura 5.5 A e B, 5.8 A e B). Quando, porém, confrontadas as médias de limpeza qualitativa

do terço cervical e do apical não houve diferença significativa, em nível de 5%. Da mesma forma que em nossos estudos, Takeda et al. (1998) avaliaram a eficácia da irradiação com laser de Er:YAG na remoção do magma dentinário. Obtiveram diferença estatisticamente significativa na remoção do magma dentinário de forma total do canal radicular. Neste estudo, porém, quando comparados os diferentes terços radiculares, essa diferença não ocorreu no terço médio e no apical.

Os resultados observados na avaliação qualitativa da limpeza das paredes dentinárias dos canais radiculares, dos espécimes dos grupos 1, 2 e 3, são similares aos da literatura pertinente, pois o laser de Er:YAG, além de agir complementando a desinfecção da dentina exposta a essa irradiação, promoveu maior limpeza da superfície tratada, com remoção do magma dentinário e abertura de maior número de túbulos dentinários (Apêndice G), em comparação aos grupos que receberam a irradiação com laser de Nd:YAG ou simplesmente não receberam aplicação de qualquer irradiação laser (Apêndice F) (ARAKI et al., 2006; ARAKI, 2007; ARANHA et al., 2005; BELLO-SILVA et al., 2006; BERGMANS et al., 2006; BIEDMA et al., 2005; CAMARGO et al., 2005; CECCHINI, 2001; GUERISOLI et al., 2002; LAGE-MARQUES; EDUARDO; MATSUMOTO, 1995; LAGE-MARQUES; EDUARDO, 1998; LAN, 1999; LEE et al., 2002; LIN et al., 2001; MELLO; ROBAZZA; ANTONIAZZI, 2004; MOSHONOV et al., 1995; SANTOS et al., 2005; SCHOOP et al., 2002; SOARES et al., 2006; TAKEDA et al., 1998; TANJI; GOUW-SOARES; EDUARDO, 1998).

Em contrapartida, em nossa análise, o grupo que recebeu a irradiação com laser de Nd:YAG teve, nas paredes dentinárias do canal radicular, a remoção do magma e posterior selamento do sistema tubular, pois o magma dentinário sofreu a fusão e posterior recristalização da matriz de dentina, criando uma nova estrutura

cristalina, obliterando alguns túbulos dentinários (Apêndice H2, H5). Assim, o laser de Nd:YAG, além de agir na redução da microbiota do sistema de canais radiculares, promove o derretimento do magma dentinário e sua recristalização (*melting*); observamos uma superfície fundida e recristalizada, com a formação de uma superfície vítrea (Figura 5.6 A e B) (Apêndice H6, H7), tendo como consequência o fechamento de vários túbulos dentinários, expostos a essa irradiação (ARANHA et al., 2005; ARAKI et al., 2006; ARAKI, 2007; BELLO-SILVA et al., 2006; BERGMANS et al., 2006; BIEDMA et al., 2005; CECCHINI, 2001; GUERISOLI et al., 2002; GUTKNECHT et al., 1996; GUTKNECHT; EDUARDO, 2004; KHAN et al., 1997; LAGE-MARQUES; EDUARDO; MATSUMOTO, 1995; LAGE-MARQUES; EDUARDO, 1998; LAN, 1999; LEE et al., 2002; LIN et al., 2001; CAMARGO et al., 2005; SCHOOP et al., 2002; SOARES et al., 2006; TAKEDA et al., 1998).

Lee et al., em 2002, analisando o efeito do laser de Nd:YAG, obtiveram três zonas que foram observadas: zona com estrutura ordenada e colunar composta por hidroxiapatita e beta-fosfato tricálcico; zona intermediária, composta por substância amorfa e zona interna, bem cristalizada. Essas três zonas tinham ausência de poros; puderam concluir que o laser de Nd:YAG pode ser empregado para reduzir a permeabilidade dentinária.

O número e o diâmetro dos túbulos, na dentina radicular, são menores na dentina da região apical, em comparação com a da porção cervical e, com o passar dos anos, a calcificação desses túbulos é mais freqüente, em consequência da neoformação de dentina reacional, sendo que a permeabilidade é dependente do número e do diâmetro dos túbulos dentinários (HOLLAND, 1985; CAMARGO et al., 2007; MJÖR; NORDAHL, 1996).

A predominância de lesões perirradiculares nos dentes tratados endodonticamente e sua relação direta com a qualidade das restaurações coronárias afeta, de forma significativa, o resultado nos dentes inadequadamente tratados. Já os tratamentos endodônticos e as restaurações coronárias adequadas proporcionam baixa incidência de periodontite apical (SEGURA-EGEA et al., 2004; SIQUEIRA et al., 2005). Igualmente, a penetração bacteriana após a obturação de canais radiculares de dentes humanos é independente dos diferentes cimentos em uso atualmente na Endodontia, os quais não impedem esses a contaminação microbiana de canais obturados, quando expostos por mais de 90 dias ao meio bucal (YÜCEL et al., 2006).

Avaliamos, assim, a possível qualificação da aderência e da contaminação bacteriana do sistema de canais radiculares dos mesmos dentes que já tinham sido avaliados em relação à sua permeabilidade, com isótopos radiativos de ^{99m}Tc , quando contaminados, inoculando *Enterococcus Faecalis* em raízes humanas, previamente submetidas ao preparo químico-cirúrgico e posteriormente irradiadas ou não com laser de Er:YAG e de Nd:YAG.

Assim, os piores resultados, qualificados pelos avaliadores, quanto à aderência e contaminação das paredes dentinárias do canal radicular ocorreram no G2 (grupo irradiado com Er:YAG – média = 2,35), seguido do G3 (grupo irradiado com Nd:YAG – média = 2,04) e o do G1 (grupo controle – somente preparo químico-cirúrgico – média = 1,74). Sob a luz da análise estatística, quando comparada à contaminação radicular total dos diferentes grupos, resulta que não há diferença estatisticamente significativa, entre os grupos G1, G2 e G3 (Tabela 5.14, 5.15 e o Gráfico 5.7).

Na comparação da contaminação dos terços apicais dos diferentes grupos, o

teste estatístico mostra que não houve diferença estatisticamente significativa entre os diferentes grupos experimentais (Tabela 5.16).

Quando comparamos a contaminação dos terços médios, essa foi maior no G2 (2,33), seguido pelo G3 (2,11) e pelo G1 (1,06). Houve diferença estatisticamente significativa, em nível de 1% ($p > 0,001$), para o terço médio do G1 quando comparado ao do G2 e do G3. Já os grupos G2 e G3 não apresentaram diferença estatisticamente significativa, com 95% de confiabilidade (Tabela 5.17 e Gráfico 5.8).

Ao comparar a contaminação e a aderência bacteriana nos terços apical, médio e cervical do grupo G1 (Figuras 5.10 A e B; 5.13 A e B; 5.16 A e B), a maior contaminação foi encontrada no terço apical (2,11), seguido pelo terços cervical (2,06) e médio (1,06). Observamos existir diferença estatisticamente significativa, em nível de 1%, entre os terços médios e os terços apical e cervical (Tabela 5.19 e Gráfico 5.9).

No grupo G2, não houve diferença estatisticamente significativa, quando da Análise de Variância qualitativa da aderência e da contaminação das paredes dentinárias radiculares dos terços cervical, médio e apical (Tabela 5.20 e Figuras 5.11 A e B; 5.14 A e B; 5.17 A e B).

Já no G3, a maior contaminação foi encontrada no terço cervical (2,39), seguido pelo terço médio (2,11) e pelo apical (1,61). Na Análise de Variância qualitativa da contaminação das paredes dentinárias radiculares dos terços cervical, médio e apical desse grupo, o teste constatou diferença estatisticamente significativa, em nível de 1%, entre o terço cervical e o apical (Tabela 5.21, Gráfico 5.10 e Figuras 5.12 A e B; 5.15 A e B; 5.18 A e B).

Frente aos resultados da aderência e da contaminação dos diferentes grupos,

um fato chama nossa atenção: dentre as mais diversas comparações da média dos grupos analisados, o G1 (controle) foi o que apresentou menor aderência e contaminação do *Enterococcus Faecalis* às paredes dentinárias dos canais radiculares tendo, em alguns confrontos das médias, diferenças estatisticamente significantes na grandeza de 95% de confiabilidade. Como podemos, pois, interpretar esse fato?

Reportando-nos à literatura concernente ao assunto, verificamos que alguns fatos devem ser considerados.

Em dentes não preparados endodonticamente, Akpata e Blechman (1982) estudaram, *in vitro*, o mecanismo de invasão de túbulos dentinários pelo *Enterococcus faecalis*. Esse microorganismo invadiu até mais da metade do perímetro do terço cervical, metade do perímetro do terço médio e um terço do perímetro da região apical. Para Haapasalo e Ørstavik (1987), a invasão de microorganismos nos túbulos dentinários das paredes do sistema de canais radiculares pode chegar à penetração de até 1.000 µm no interior dos túbulos dentinários onde a média de penetração do microorganismo foi de 500 µm. Estudando a penetração de microorganismos nos túbulos dentinários, notou-se também que ela independia da presença de magma dentinário nas paredes dentinárias e que a sua citotoxicidade era dependente de sua concentração (MERYON; BROOK, 1990).

Estudando as interações da microbiota intracanal, Sundqvist (1992) salientou que, devido a um desequilíbrio do ecossistema do sistema de canais radiculares, provocado pelos produtos utilizados durante o tratamento endodôntico, o *Enterococcus faecalis* pode sobreviver no interior dos túbulos dentinários. Examinando, em microscopia eletrônica de varredura, a presença de

microorganismos no interior do canal radicular e na intimidade dos túbulos dentinários, foi observada a penetração dessa bactéria em até 160 µm, no terço apical (SIQUEIRA et al., 2002a). A capacidade do *Enterococcus faecalis* de formar biofilme, também é alta. Após cinco meses, o biofilme caracteriza-se sob forma de cogumelo com canais de água, espessura de aproximadamente 30 µm e viabilidade bacteriana de 90% (DISTEL; HATTON; GILLESPIE, 2002). Outrossim, a capacidade do *Enterococcus faecalis* de penetrar em túbulos dentinários em grande profundidade também é fator de dificuldade em combatê-lo, pela ação de substâncias químicas auxiliares (ZEHNDER et al., 2003).

Investigações referentes à invasão e à aderência do *Enterococcus faecalis*, nos túbulos dentinários de dentes humanos intactos, demonstra haver uma invasão de moderada a severa dos túbulos dentinários, após oito semanas de contaminação.

Já a aderência foi mais elevada na dentina intertubular, menos mineralizada, que na parede dentinária tubular, mais mineralizada, sendo que a colonização dos túbulos dentinários pelo *Enterococcus faecalis* pode ser dependente de outros fatores que podem incluir fatores seletivos para aderência e invasão (CHIVATXARANUKUL; DASHPER; MESSER, 2008).

Igualmente, Kishen et al., (2008) estudaram a influência de soluções irrigadoras na força de aderência e de adesão do *Enterococcus faecalis* na dentina radicular. Registraram aumentos significativos nessa força, após a irrigação da dentina com EDTA a 17%, enquanto que o hipoclorito de sódio a 5,25% reduziu essa relação físico-química dentinária. Com uso de uma solução de clorexidina a 2%, promoveram um aumento na força de adesão bacteriana, mas a aderência mostrou uma redução no número de bactérias presentes na superfície radicular. Já, quando usaram uma associação de soluções irrigadoras de: EDTA a 17%,

hipoclorito de sódio a 5,25% e solução de clorexidina a 2%, houve menor quantidade de células aderidas de *Enterococcus faecalis*.

Este estudo destaca que as substâncias químicas que utilizamos durante o tratamento endodôntico alteram as propriedades físico-químicas da dentina radicular, influenciando na aderência e na adesão, desfavorecendo a formação do biofilme de *Enterococcus faecalis*, na dentina radicular tratada.

Esses novos conceitos podem explicar o fato de que o Grupo controle (G1) foi o que apresentou a menor aderência e contaminação do *Enterococcus Faecalis* às paredes dentinárias dos canais radiculares, com uma diferença estatisticamente significativa em nível de 1%. Parece que, nesse grupo, tivemos a ação residual das substâncias químicas auxiliares no sistema endodôntico. É sabido que a irrigação, com varias soluções endodônticas, tem efeito sobre o conteúdo mineral da dentina do canal radicular (ARI; ERDEMIR, 2005), a qual pode também apresentar alterações físico-químicas, após o tratamento químico sofrido (KISHEN et al., 2008); a irrigação pode, ainda, ter efeito sobre fatores seletivos para aderência e invasão (CHIVATXARANUKUL; DASHPER; MESSER, 2008).

O mesmo fato pode ser explicado de tal sorte que, nos Grupos 2 e 3, após a irradiação com o laser de Er:YAG e o de Nd:YAG respectivamente, a ação térmica desses lasers de alta intensidade promoveu a remoção e a inativação dos produtos residuais do preparo químico-cirúrgico desses grupos. Convém lembrar que o colágeno da dentina radicular é, fundamentalmente, o substrato dos microorganismos presentes na infecção endodôntica e as suas propriedades e características são fatores determinantes para a contaminação e a aderência bacteriana nesse sistema de canais. Soares et al. (2006) realizaram análise molecular da dentina irradiada com o laser de Er:YAG e observaram que a dentina

apresentou maior perda mineral quando a densidade de energia de irradiação foi maior, enquanto que a perda de material orgânico e inorgânico foi menor quando a densidade de energia de irradiação foi média, em relação à anterior.

Com relação à permeabilidade dos diferentes terços, sabe-se que o terço apical é a região mais crítica, não só no que se refere aos aspectos de tratamento químico das paredes dentinárias do canal, como também do ponto de vista cirúrgico da instrumentação; e, ainda, a mais impermeável aos evidenciadores disponíveis (PROKOPOWITSCH, 1988), devendo-se aí concentrar todos os esforços, na tentativa de lograr uma ação mais eficiente da substância química auxiliar, no combate aos microorganismos. Tal fato vem confirmar os estudos quanto à dificuldade de aumento da permeabilidade do terço apical, sendo esse o que deve receber, por parte do endodontista, o maior cuidado no preparo (PROKOPOWITSCH, 1988; PROKOPOWITSCH; MOURA; MUENCH, 1989).

Quanto ao método de avaliação qualitativa da limpeza das superfícies dentinárias radiculares, a microscopia eletrônica de varredura é um método eficiente para a visualização da remoção do magma dentinário e conseqüentemente, a análise da exposição dos túbulos dentinários, em aumentos variáveis entre 1.000 e 4.000 vezes (PROKOPOWITSCH, 1994). George, Rutley e Walsh, em 2008, avaliando a presença de magma dentinário no terço apical de raízes de dentes humanos, valendo-se de análises de imagens automatizadas e da análise de imagens por avaliadores experientes, recomendam o uso da análise de fotomicrografias, na quantificação do grau de limpeza das paredes do canal radicular.

Dentre as substâncias químicas auxiliares de uso contínuo existentes, o creme de ENDO-PTC, seja na forma cremosa ou na mais fluida é o que, dentre

muitas vantagens, permite o incremento da permeabilidade dentinária radicular, principalmente no terço apical, sendo ainda bem tolerado pelos tecidos periapicais (BOMBANA et al., 1974; LAURETTI et al., 1990; MOURA; ROBAZZA; PAIVA, 1978; PAIVA; ANTONIAZZI, 1991; PROKOPOWITSCH, 1988; PROKOPOWITSCH, 1994; PROKOPOWITSCH; MOURA; MUENCH, 1989; ROBAZZA; PAIVA; ANTONIAZZI, 1981).

Temos ainda, na técnica preconizada pela Disciplina de Endodontia da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, no momento da limpeza final do canal radicular (irrigação-aspiração), a ação desmineralizante ou quelante, respectivamente, dos ácidos orgânicos e inorgânicos sobre a dentina, como o ácido cítrico a 15% e o EDTA a 17%, associado ou não a um detergente aniônico que auxilia na remoção do magma dentinário impregnado nas paredes dentinárias do canal radicular (FREITAS; GOMES; PROKOPOWITSCH, 2006; GOMES; FREITAS; PROKOPOWITSCH, 2005; PAIVA; ANTONIAZZI, 1991; SIQUEIRA Jr., 1997). Assim, a adição de uma solução detergente à formulação original do EDTA a 17% promove uma diminuição da tensão superficial da substância irrigante e, dessa maneira, propicia melhor permeabilidade em relação aos túbulos dentinários e uma melhor limpeza das paredes dentinárias do canal radicular (FREITAS; GOMES, PROKOPOWITSCH, 2006; PICOLI et al., 2003; PROKOPOWITSCH, 1988; PROKOPOWITSCH, 1994).

A utilização dos lasers de alta potência, em Endodontia tem aumentado significativamente nas últimas décadas. Estudos investigaram as aplicações e benefícios da associação dos diversos lasers no tratamento endodôntico, analisando a ação dessa tecnologia como coadjuvante do sucesso do tratamento. Na atualidade, destacam-se, na prática clínica, os lasers de Nd:YAG, Er:YAG,

Er;Cr:YSGG e diodos (GUTKNECHT; EDUARDO, 2004; LAGE-MARQUES; EDUARDO, 1998).

A escolha, neste trabalho, da contaminação com *Enterococcus faecalis*, para avaliação da contaminação e da aderência na dentina radicular após o seu tratamento superficial nas diferentes condições experimentais, baseou-se no fato de ser esse o microorganismo mais freqüentemente encontrado nas infecções responsáveis por insucessos endodônticos (AKPATA; BLECHMAN, 1982; BUCK et al., 2001; DAHLÉN et al., 2000; DISTEL; HATTON; GILLESPIE, 2002; GEORGE; KISHEN; SONG, 2005; SIQUEIRA Jr., 1997; SIQUEIRA Jr., et al., 2002a,b; SIRÉN et al., 2004; SUNDQVIST, 1992; ZEHNDER et al., 2003).

A esta altura, vale dizer que sempre, nas pesquisas *in vitro*, há a preocupação em aproximar o experimento às condições reais para adquirir resultados que justifiquem o uso *in vivo*. Não se desconhece o fato de que os estudos *in vitro* não traduzem fielmente os achados *in vivo*. Porém, em relação à permeabilidade da dentina radicular em dentes humanos, Moura, Robazza e Paiva (1978) verificaram que os métodos de estudo são igualmente válidos para avaliar a permeabilidade dentinária radicular, pois não existe diferença estatisticamente significativa entre ambas as técnicas. A mesma afirmação é correta quando avaliamos a capacidade de limpeza da superfície radicular frente às diferentes substâncias químicas auxiliares da instrumentação.

Por isso, neste estudo, foram empregados 30 primeiros pré-molares superiores humanos hígidos, com completa formação radicular com raízes separadas, indicados para exodontia por razões ortodônticas. Extraídos os dentes, esses foram armazenados imediatamente em frascos de vidro individualizados contendo hipoclorito de sódio a 2,5% para manutenção da desinfecção. Todos os

procedimentos para o preparo dos espécimes para o estudo foram realizados em capela de fluxo laminar visando, evitar contaminação bacteriana dos espécimes. Na execução dos procedimentos endodônticos, os dentes foram envoltos em gaze esterilizada umedecida com soro fisiológico, evitando a possibilidade de desidratação ou contaminação dos dentes durante sua manipulação.

Foram utilizados os seguintes lasers, com os seus respectivos parâmetros sugeridos para o emprego na clínica: Er:YAG com 2,94 μm - 100 mJ, 10 Hz, 1 W, movimento helicoidal ápico-cervical, 2 mm por segundo, 4 vezes, fibra com 0,375 μm de diâmetro, 42 mJ *output* e para o laser de Nd:YAG com 1,064 μm - 100 mJ, 1,5 W, 15 Hz, fibra com 300 μm , movimento helicoidal ápico-cervical, 2mm por segundo, 4 vezes (ARCHILLA; LAGE-MARQUES; MIRAGE, 2002; BACHMAN et al., 2000; GUTKNECHT et al., 1996; GUTKNECHT; EDUARDO, 2004).

Camargo et al. (2005) avaliaram, por microscopia eletrônica de varredura, os efeitos do laser de Nd:YAG, quando irradiado no interior do canal radicular com movimento circular ou longitudinal. Concluíram que, quando aplicado em movimentos circulares, o laser não produz fusão em toda a superfície, possuindo assim uma limitada alteração morfológica.

Bergmans et al. (2006) avaliaram o efeito bactericida do laser de Nd:YAG. Após a irradiação intracanal observaram que houve significativa redução do *Enterococcus faecalis* (99,7%). Uma pequena destruição, em profundidade, nas áreas irradiadas que entraram em contato com a fibra, foi observada e reforça que a aplicação do laser possui um efeito aproximado de 1 mm, em profundidade, na dentina.

Pudemos observar, nas diferentes fotomicrografias, o mesmo fato que Bergmans et al. (2006). Nas Figuras apêndice G (Er:YAG) e apêndice H6 (Nd:YAG),

pudemos ver áreas irradiadas (A) e áreas não irradiadas com presença de magma dentinário (B).

O experimento foi dividido em 3 etapas; para a avaliação da permeabilidade, usamos o método quantitativo da penetração do radioisótopo ^{99m}Tc ; a análise da limpeza foi feita comparativamente, empregando-se microscopia eletrônica de varredura. Já a qualificação da contaminação do sistema de canais radiculares foi obtida pela inoculação de *Enterococcus faecalis*, a qual foi analisada com auxílio da microscopia eletrônica de varredura.

Para avaliação da limpeza radicular, por meio da leitura ao microscópio eletrônico de varredura, três espécimes de cada grupo foram cortados com cinzel e martelo, tendo sido, previamente, realizado um sulco no sentido proximal, baseado nos estudos de Prokopowitsch, 1994 e Yamazaki, 2006.

Vale ressaltar a padronização das regiões previamente determinadas para as fotomicrografias eletrônicas, as quais foram iguais para todos os espécimes, evitando a possibilidade de seleção viciada, por parte do pesquisador, de regiões mais representativas de limpeza.

O método de avaliação utilizado para a análise da capacidade de limpeza das substâncias químicas no preparo químico-cirúrgico do canal radicular, fundamentou-se na escolha de escores, pelo uso do programa Fotoscore, onde o nº 1 caracteriza superfície dentinária livre de magma dentinário e com túbulos dentinários visíveis; o nº 2 caracteriza superfície dentinária com presença de magma dentinário e com 75% dos túbulos dentinários visíveis; o nº 3 caracteriza superfície dentinária com presença de magma dentinário e com 50% dos túbulos dentinários visíveis; o nº 4 caracteriza superfície dentinária com presença de magma dentinário e com 25% dos túbulos dentinários visíveis e o nº 5 caracteriza superfície dentinária com presença

de magma dentinário e sem túbulos dentinários visíveis (GEORGE; RUTLEY; WALSH, 2008; GUERISOLI et al., 2002).

A limpeza dentinária radicular promovida pela utilização de irradiação com laser de Er:YAG mostrou ser similar nas raízes que não sofreram irradiação com laser, porém mais eficiente que quando utilizada a irradiação com laser de Nd:YAG. Esse efeito poderia ser explicado pela afinidade do laser de Er:YAG à água presente na matriz orgânica da dentina que, em contacto com ela, provoca reação explosiva pela acelerada evaporação, provocando erosões e maior remoção de magma dentinário, expondo assim um maior numero de túbulos dentinários.

A região do terço apical, dessa forma, apresentou-se com muita quantidade de magma, sendo significativamente maior no grupo onde não foi utilizada irradiação com laser de Er:YAG ou de Nd:YAG.

Para avaliação da contaminação da dentina radicular, os outros sete espécimes restantes foram contaminados através da inoculação de *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212); os espécimes foram incubados por 21 dias em estufa a 37°C, realizando-se trocas de meio de cultura (TSB) esterilizado a cada 24 horas, até completar o tempo suficiente para se obter a proliferação e a penetração das bactérias nos túbulos dentinários. Decorrido o período de contaminação, as raízes foram fixadas com glutaraldeído a 2,5% tamponado com fosfato por 24 horas (GEORGE; KISHEN; SONG, 2005).

Na seqüência, as sete raízes de cada grupo foram clivadas e uma das hemisseções radiculares foi processada para o exame sob a óptica da microscopia eletrônica de varredura, para análise da presença de microorganismos na superfície dentinária radicular.

Finalmente, Georgopoulou et al. (2008) investigaram a relação entre a qualidade do tratamento endodôntico e a qualidade da restauração coronária. Concluíram que ambas estão associadas, diretamente, com a incidência da presença de periodontite apical. Devemos considerar sempre a possibilidade de que os tratamentos endodônticos podem perder-se, quando o selamento coronário, por qualquer motivo, venha a falhar e possa ocorrer uma contaminação em casos de polpa viva ou a recontaminação, em casos de polpa morta.

Em nosso estudo, foi observado que nenhum tratamento proposto para o tratamento da dentina radicular foi suficientemente eficaz para impedir ou mitigar a contaminação das paredes dentinárias dos três grupos experimentais. Chama nossa atenção o fato de o grupo controle ser o que apresentou os menores índices de aderência bacteriana, mas parece que, por algum motivo desconhecido até o momento, a aplicação do laser de Er:YAG limita a contaminação da superfície do canal radicular, com pouca presença de *Enterococcus faecalis* no interior dos túbulos dentinários.

Frente a uma análise global dos resultados contidos no presente trabalho, no que se refere à permeabilidade, limpeza, aderência e contaminação bacteriana da dentina radicular em relação aos diferentes grupos experimentais, reforça-se a necessidade de um preparo adequado, impondo-se correta escolha e utilização de uma substância química auxiliar, visando a um saneamento eficaz, incrementado pelo uso dos lasers de alta intensidade; já o laser de Nd:YAG parece ser o mais indicado para mitigar a permeabilidade. Se o intuito final do uso da irradiação laser, porém, for o de limpeza e abertura dos túbulos dentinários em maior número, sobre o laser de Er:YAG deverá recair a escolha.

É recomendável que mais estudos venham a ter oportunidade de ser realizados para aclarar o que mais buscar, para o alcance de máximos níveis de saneamento do canal radicular, quando da aplicação da irradiação laser como complemento de tratamentos endodônticos.

7 CONCLUSÕES

Mediante a análise dos resultados deste estudo e de acordo com as metodologias empregadas na avaliação do índice da permeabilidade, grau de limpeza e qualidade da aderência e contaminação com *Enterococcus faecalis*, parece lícito concluir que:

1. A irradiação com o laser de Nd:YAG provocou uma diminuição significativa da permeabilidade dentinária das paredes do canal radicular, enquanto que a irradiação com o laser de Er:YAG e o controle, em relação à permeabilidade dentinária das paredes do canal radicular, não apresentaram diferença estatisticamente significativa em nível de 5% ($P < 0.05$).

2. A irradiação com Er:YAG mostrou ser a mais eficiente na limpeza das paredes dentinárias do canal radicular. Em relação aos terços radiculares dos grupos, o terço apical apresentou menor limpeza das paredes dentinárias do canal radicular, seguido pelo terço cervical e pelo médio.

3. O G1 apresentou os menores índices de aderência e contaminação da parede dentinária radicular, nos diferentes terços avaliados, sendo maior no G2, seguido pelo G3.

REFERÊNCIAS

- Akpata ES, Blechman H. Bacterial invasion of pulpal dentin wall *in vitro*. J Dent Research 1982;61(2):435-8.
- Anic I, Segovic S, Katanec D, Prskalo K, Najzar-Fleger D. Scanning electron microscopic study of dentin lased with argon, CO₂, and Nd:YAG laser. J Endod 1998;24(2):77-81.
- Araki AT. O emprego de radioisótopo na avaliação da permeabilidade dentinária intracanal tendo como variáveis as soluções irrigadoras e a irradiação com diferentes lasers [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2007.
- Araki AT, Ibraki Y, Kawakami T, Lage-Marques JL. Er:YAG laser irradiation of the microbiological apical biofilm. Braz Dent J 2006;17(4):296-9.
- Aranha AC, Domingues FB, Franco VO, Gutknecht N, Eduardo CP. Effects of Er:YAG and Nd:YAG lasers on dentin permeability in root surfaces: a preliminary *in vitro* study. Photomed Laser Surg 2005;23(5):504-8.
- Archilla JRF, Lage-Marques JL, Mirage A. Análise térmica de diferentes técnicas de utilização do laser de Nd:YAG [resumo H003]. Pesqui Odontol Bras 2002;16 Supl:15.
- Ari H, Erdemir A. Effects of endodontic irrigant solution on mineral content of root canal dentin using ICP-AES technique. J Endod 2005;31(3):187-89.
- Arisu HD, Bala O, Alimzhanova G, Türköz E. Assessment of morphological changes and permeability of apical dentin surfaces induced by Nd:Yag laser irradiation through retrograde cavity surfaces. J Contemp Dent Pract 2004; 5(2):102-13.
- Auerbach MB. Antibiotics vs. instrumentation in endodontics. N Y State D J 1953;19(5):225-8.
- Bachman L, Strefezza C, Zezzel D, Eduardo CP. Alternative procedure for laser irradiation in endodontic therapy. In: 7° International Congress on Laser in Dentistry; 2000;Brussels.
- Bello-Silva MS, Lage-Marques JL, Ramalho KM, Eduardo CP, Gouw-Soares S, Marques MM. Irradiação intracanal com laser de Er:YAG associada a diferentes substâncias químicas irrigantes. Braz Oral Res, 2006; 20 (Supplement).
- Bergmans L, Moisiadis P, Teughels W, Van Meerbeek B, Quirynen M, Lambrechts P. Bactericidal effects of Nd:YAG laser irradiation on some endodontic pathogens *ex vivo*. Int Endod J 2006;39(7):547-57.
- Biedma BM, Varela Patino P, Park SA, Barciela Castro N, Magan Munoz F, Gonzalez Bahillo JD, et al. Comparative study of root canals instrumented manually

and mechanically, with and without Er:YAG laser. Photomed Laser Surg 2005;23(5):465-9.

Bombana, A.C.; Paiva, J.G.; Alvares, S.; Antoniazzi, J.H. Reação inflamatória do olho de coelho que se segue à instilação de alguns fármacos de uso endodôntico. Rev Assoc Paul Cir Dent, v.28, n.4, p.216-223, jul/ago. 1974

Boyd RE. Technetium-99m generators – The available options. Int J Appl Radiat Isot 1982;33:801-9.

Brugnera Jr A, Zanin F, Barbin EL, Spanó JC, Santana R, Pécora JD. Effects of Er:YAG and Nd:YAG laser irradiation on radicular dentine permeability using different irrigating solutions. Laseres Surg Med 2003;33:256-9.

Buck RA, Eleazer PD, Staat RH, Scheetz JP. Effectiveness of three endodontic irrigants at various tubular depths in human dentin. J Endod 2001;27(3):206-8.

Camargo CH, Siviero M, Camargo SE, de Oliveira SH, Carvalho CA, Valera MC Topographical, Diametral, and Quantitative Analysis of Dentin Tubules in the Root Canals of Human and Bovine Teeth. JOE 2007 Apr; 33(4).

Camargo SE, Valera MC, Camargo CH, Fonseca MB, Menezes MM. Effects of Nd:YAG laser irradiation on root canal dentin wall: a scanning electron microscopic study. Photomed Laser Surg 2005;23(4):399-404.

Carvalho CAT, Valera MC, Gow-Soares S, Eduardo CP. Effects of Nd:YAG and Er:YAG laseres on the sealing of root canal fillings. J clin Laser Med Surg 2002;20(4):215-9.

Carvalho GL, Habitante SM, Lage-Marques JL. Análise da alteração da permeabilidade dentinária promovida pela substância Endo-PTC empregando diferentes veículos. Cien Odontol Bras 2005;8(4):23-8.

Cassatly MG, Rostock M, Gocke MW. Iatrogenic osteonecrosis of the maxilla caused by laser injury. J Oral Maxil Surg 1999;57(2):184-6

Cecchini SCM. Desinfecção de dentina radicular pela irradiação dos laseres de Nd:YAG, Ho:YLF e Er:YAG: um modelo *in vitro* [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2001.

Chivatxaranukul P, Dashper SG, Messer HH. Dentine tubule invasion and adherence by *Enterococcus faecalis*. Int Endod J 2008;(41) 873–882.

Crompton BJ, Goodell GG, McClanaban SB. Effects on smear layer and debris removal with varying volumes of 17% REDTA after rotary instrumentation. J Endod 2005;31(7):536-38.

Cunningham WT, Balekjian AY. Effect of temperature on collagen-dissolving ability of sodium hypochlorite endodontic irrigant. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1980;49(2):175-7.

Czonstkowsky M, Wilson EG, Holstein FA. The smear layer in endodontics. Dent Clin North Am 1990;34(1):13-25.

Dählen G, Samuelsson W, Molander A, Reit C. Identification and antimicrobial susceptibility of *enterococci* isolated from the root canal. Oral Microbiol Immunol 2000;15(5):309-12.

Dederich DN. Laser/tissue interaction: what happens to laser light when it strikes tissue. J Am Dent Assoc 1993;124(2):57-61.

Distel JW, Hatton JF, Gillespie MJ. Biofilm formation in medicated root canals. J Endod 2002;28(10):689-93.

Eriksson AR, Albrektsson T. Temperature threshold levels for heat induced bone tissue injury: a vital-microscopic study in the rabbit. J Prosthet Dent 1983;50(1):101-7.

Freitas TR, Gomes VN, Prokopowitsch I. Análise *in vitro* da permeabilidade dentinária radicular pós-preparo químico-cirúrgico, variando o tipo da solução irrigadora e o número de irrigações. Rev ABO Nac 2006;14(1):49-54.

Gekelman D, Prokopowitsch I, Eduardo CP. *In vitro* study of the effects of Nd:YAG laser irradiation on the apical sealing of endodontic fillings performed with and without dentin plugs. J Clin Laser Med Surg 2002;20(3):117-21.

Genovese WJ, Prokopowitsch I. Características Físicas da Radiação Laser. In: Genovese WJ. Laser de baixa intensidade – aplicações terapêuticas em Endodontia. 1a. ed. São Paulo:Editora Santos; 2007. cap. 2, p. 5-12.

George R, Rutley EB, Walsh LJ. Evaluation of smear layer: a comparison of automated image analysis versus expert observers. J Endod. 2008 Aug;34(8):999-1002.

George S, Kishen A, Song KP. The role of environmental changes on monospecies biofilm formation on root canal wall by *Enterococcus faecalis*. J Endod 2005;31(12):867-72.

Georgopoulou MK, Spanaki-Voreadi AP, Pantazis N, Kontakiotis EG, Morfis AS. Periapical status and quality of root canal fillings and coronal restorations in a Greek population. Quintessence Int 2008 Feb;39(2):e85-92.

Gomes BPFA, Ferraz CCR, Vianna ME, Berber VB, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. *In vitro* antimicrobial activity of several concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine gluconate in the elimination of *Enterococcus faecalis*. Int Endod J 2001;34:424-8.

Gomes VN, Freitas TR, Prokopowitsch I. Estudo *in vitro* da limpeza das paredes dos canais radiculares após o preparo químico-cirúrgico, através da microscopia eletrônica de varredura, variando o tipo de solução irrigadora e o número de irrigações. Rev Assoc Bras Odontol 2005;13(4):229-35.

Grande NM, Plotino G, Falanga A, Pomponi M, Somma F. Interaction between EDTA and sodium hypochlorite: a nuclear magnetic resonance analysis. *J Endod* 2006;32(5):460-4.

Guerisoli DMZ, Marchesan MA, Walmsley AD, Lumle PJ, Pecora JD. Evaluation of smear layer removal by EDTAC and sodium hypochlorite with ultrasonic agitation. *Int Endod J* 2002;35:418-21

Gutknecht N, Eduardo CP. Odontologia e laser – atuação do laser na especialidade odontológica. São Paulo: Quintessence; 2004.

Gutknecht N, Moritz A, Conrads G, Sievert T, Lampert F. Bactericidal effect of the Nd:YAG laser in vitro root canal. *J Clin Laser Med Surg* 1996;14(2):77-80.

Haapasalo M, Ørstavik D. *In vitro* infection and disinfection of dentinal tubules. *J Dent Res* 1987;66(8):1375-9.

Hamaoka L, Moura AAM. Avaliação *in vitro* da permeabilidade dentinária radicular, tendo como fonte de variação três diferentes tipos de corantes. *Rev Odontol Univ São Paulo* 1996;10(1):39-42.

Holland GR. The odontoblast process: form and function. *J Dent Res*. 1985 Apr;64 Spec N° 499-514.

Ingle JI, Zeldow BJ. An evaluation of mechanical instrumentation and the negative culture in endodontic therapy. *J Am Dent Assoc* 1958;57(4):471-6.

Ivanovic V, Pajic M. Quantitative evaluation of permeability of root canalicular system. *Stomatol Glas Srb* 1990;37(1):11-8.

Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald JR. The effects of surgical exposure of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1965;20(1):340-9.

Khan A, Kham FR, Khan W, Matsumoto W. Effects of laser treatment on root canal of human teeth. *Endod Dent Traumatol* 1997;13:139-45.

Kimura Y, Yamazaki R, Goya C, Tomita Y, Yokoyama K, Matsumoto K. A comparative study on the effects of three types of laser irradiation at the apical stop and apical leakage after obturation. *J Clin Laser Med Surg* 1999; 17(9):261-6.

Kishen A, Sum CP, Mathew S, Lim CT. Influence of Irrigation Regimens on the Adherence of *Enterococcus faecalis* to Root Canal Dentin. *J Endod* 2008;34(7):850-4

Kurumada F. A study on the application of Ga-As semiconductor laser to endodontics. The effects of laser irradiation on the activation of inflammatory cells and the vital pulpotomy. *Ohu Daigaku Shigakushi* 1990; 17 (3): 233-44.

Kutsch VK. Lasers in dentistry: comparing wavelengths. *J Am Dent Assoc* 1993;124(2):608-13.

Lage-Marques JL. Avaliação da metodologia de impermeabilização radicular externa com vistas ao estudo da permeabilidade dentinária marginal [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 1992.

Lage-Marques JL, Eduardo CP. O emprego do laser na endodontia. In: Berger CR. Endodontia. São Paulo: Pancast; 1998. p. 401-14.

Lage-Marques JL, Eduardo CP, Matsumoto K. Study of microscopic changes of apical and intracanal surface after laser irradiation. J Clin Laser Med Surg 1995;13(3):113-5.

Lan WH. Temperature elevation the root surface during Nd:YAG laser irradiation in the root canal. J Endod 1999;25(3):155-6.

Lauretti MB, Alvares S, Paiva JG, Araújo NS. Potencial irritativo do creme de Endo-PTC neutralizado pelo líquido de Dakin, seguido de irrigação com tergentol-furacin, sobre o conjuntivo de ratos. Rev Assoc Paul Cir Dent 1990;44(1):8-13.

Lee BS, Lin CP, Lin FH, Lan WH. Ultrastructural changes of human dentin after irradiation by Nd:YAG laser. Laseres Surg Med 2002;30(3):246-52.

Lever JR. Principles of nuclear medicine. Philadelphia, PA: Saunder; 1995.

Levy G. Cleaning and shaping the root canal with a Nd:YAG laser beam: a comparative study. J Endod 1992;18(3):123-7.

Lin CP, Lee BS, Lin FH, Kok SH, Lan WH. Phase, compositional, and morphological changes of human dentin after Nd:YAG laser treatment. J Endod 2001;27(6):389-93.

Mader CL, Baumgartner JC, Peters D. Scanning electron microscopisc investigation of the smeared layer on root canal wall. J Endod 1984;10(10):477-83.

Maiman TH. Biomedical laseres evolve toward clinical applications. Hosp Manage 1966;101(4):39-41.

Mallmann J, Felipe WT, Soares I. Smear layer – É necessário removê-lo. Rev Bras Odontol 1996;53(5):35-8.

Marshall FJ, Massler M, Dute L. Effects of endodontic treatment on permeability of root dentine. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1960;13(2):208-23.

McHugh CP, Zhang P, Michalek P, Eleazer PD. pH required to kill *Enterococcus faecalis* in vitro. J Endod 2004;30(4):218-9.

Mello I, Robazza CR, Antoniazzi JH. Influence of Er: YAG laser irradiation on apical sealing of four different sealers. Braz Dent J 2004;15(3):190-3.

Mello JB. Interação Laser/Tecido. In: Mello JB, Mello GP. Laser em odontologia. 1°. Ed. São Paulo: Editora Santos; 2001. cap.3, p.25-38

Meryon SD, Brook AM. Penetration of dentine by three oral bacteria *in vitro* and their associated cytotoxicity. *Int Endod J* 1990;23(4):196-202.

Miletic I, Anic I, Pazeij-Ribaric S, Jukic S. Leakage of five root canal sealers. *Int Endod J* 1999;32:415-8.

Miller WD. An introduction to the study of the bacterio-pathology of the dental pulp. *Dental Cosmos* 1894;36:505-28.

Mjör IA, Nordahl I. The density and branching of dentinal tubules in human teeth [Arch Oral Biol](#). 1996 May;41(5):401-12.

Möller AJ, Fabricius L, Dahlén G, Ohman AE, Heyden G. Influence on periapical tissues of indigenous oral bacteria and necrotic pulp tissue in monkeys. *Scand J Dent Res* 1981;19(6):475-84.

Moshonov J, Ørstavik D, Yamauchi S, Pettiette M, Trope M. Nd:YAG laser irradiation in root canal disinfection. *Endod Dent Traumatol* 1995;11(11):220-4.

Moura AAM, Robazza CRC, Paiva JG. A relação entre permeabilidade dentinária e o uso do Endo-PTC no preparo do canal. Estudo *in vitro* e *in vivo*. *Rev Assoc Paul Cir Dent* 1978;32(1):37-44.

Ørstavik D, Haapasalo M. Disinfection by endodontic irrigants and dressings of experimentally infected dentinal tubules. *Endod Dent Traumatol* 1990;6(21):142-9.

Paiva JG, Antoniazzi JH. Endodontoterapia. In: Paiva JG, Antoniazzi JH. *Endodontia – bases para a prática clínica*. 2a. ed. Artes Medicas; 1991. cap. 7, p. 499-693.

Paiva JG, Antoniazzi JH. O uso de uma associação de peróxido de uréia e detergente (Tween 80) no reparo químico-mecânico dos canais radiculares. *Rev Assoc Paul Cir Dent* 1973;27(7):416-23. Edição extra.

Pashley DH, Kehl T, Pashley E, Palmer P. Comparison of *in vitro* and *in vivo* dog dentin permeability. *J Dent Res* 1981;60(3):763-8.

Pécora JD, Brugnera-Junior A, Cussioli AL, Zanin F, Silva R. Evaluation of dentin root canal permeability after instrumentation and Er:YAG laser application. *Laseres Surg Med* 2000;26(3):277-81.

Pick RM. Laseres in dental surgery. *Calif Dent Assoc J* 1987;15:10-4.

Picoli F, Brugnera-Junior A, Saquy PC, Guerisoli DMZ, Pecora JD. Effect of Er:YAG laser and EDTA-C on the adhesiveness to dentine of different sealers containing calcium hydroxide. *Int Endod J* 2003;36:472-5.

Pinheiro ET, Gomes BPFA, Ferraz CCR, Sousa ELR, Teixeira FB, Souza-Filho FJ. Microorganism from canals of root-filled teeth with periapical lesions. *Int Endod J* 2003;36:1-11.

Prokopowitsch I. Análise “in vitro” da permeabilidade dentinária radicular do terço apical, tendo como fonte de variação a substância química auxiliar da instrumentação (contribuição para o estudo) [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 1988.

Prokopowitsch I. Influência do uso do hidróxido de cálcio como medicação intracanal na permeabilidade e limpeza dentinária radicular em dentes portadores de rizogênese incompleta (estudo “in vitro”) [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 1994.

Prokopowitsch I, Moura AAM, Muench A. Análise *in vitro* da permeabilidade dentinária radicular do terço apical, tendo como fonte de variação a substância química auxiliar da instrumentação. Rev Odont USP 1989;3(2):345-53.

Robazza CRC, Paiva JG, Antoniazzi JH. Variações na permeabilidade da dentina radicular quando do emprego de alguns fármacos auxiliares do preparo endodôntico. Contribuição ao estudo. Rev Assoc Paul Cir Dent 1981;35(6):528-33.

Santos C, Sousa-Neto MD, Alfredo E, Guerisoli DZ, Pecora JD, Comelli Lia RF. Morphological evaluation of the radicular dentine irradiated with Nd:YAG laser under different parameters and angles of incidence. Photomed Laser Surg 2005; 23(6):590-5.

Schoop U, Kluger W, Moritz A, Nedjelic N, Georgopoulos A, Sperr W. Bactericidal effect of different laser systems in the deep layers of dentin. Lasers Surg Med 2004;35:111-6.

Schoop U, Moritz A, Kluger W, Patruta S, Goharkhay K, Sperr W, et al. The Er:YAG laser in endodontics: results of an *in vitro* study. Lasers Surg Med 2002;30:360-4.

Segura-Egea JJ, Jiménez-Pinzón A, Poyato-Ferrera M, Velasco-Ortega E, Ríos-Santos JV. Periapical status and quality of root fillings and coronal restorations in an adult Spanish population. Intl Endod J 2004;37, 525– 30.

Sen BH, Wesselink PR, Türkün M. The smear layer: a phenomenon in root canal therapy. Int Endod J 1995;28:141-8.

Simões W, Sampaio JMP, Debelian GJ. Verificação da tolerância tecidual e poder bactericida do hipoclorito de sódio a 0,5% e 1% usados na clínica odontológica. Rev Paul Odontol 1989;11(6):35-8.

Siqueira EL, Santos M, Bombana AC. Dissolução de tecido pulpar bovino por duas substâncias químicas do preparo do canal radicular. RPG 2005;12(3):308-15.

Siqueira Jr JF. Tratamento das infecções endodônticas. Rio de Janeiro: MEDSI; 1997. cap. 3, p. 31-51.

Siqueira JF Jr, Rôças IN, Alves FR, Campos LC. Periradicular status related to the quality of coronal restorations and root canal fillings in a Brazilian population. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2005 Sep;100(3):369-74.

Siqueira Jr JF, Rôças IN, Souto R, Uzeda M, Colombo AP. Actinomyces Species, Streptococci, and Enterococcus faecalis in primary root canal infections. J Endod 2002a;28(3):168-72.

Siqueira Jr JF, Rôças IN, Santos SRLD, Lima KC, Magalhães FAC, Uzeda M. Efficacy of instrumentation techniques and irrigation regimens in reducing the bacterial population within root canals. J Endod 2002b;28(3):181-4.

Sirén EK, Haapasalo MPP, Waltimo TMT, Ørstavik D. In vitro antibacterial effect of calcium hydroxide combined with chlorhexidine or iodine potassium iodide on Enterococcus faecalis. Eur J Oral Sci 2004;112(4):326–31.

Sirtes G, Waltimo T, Schaetzle M, Zebnder M. The effects of temperature on sodium hypochlorite short-term stability, pulp dissolution capacity, and antimicrobial efficacy. J Endod 2005;31(9):669-71.

Skelton Macedo MC. Comparação de diferentes métodos de leitura aplicados à infiltração de corante em dentina humana. [Tese de Doutorado] São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2003.

Soares LES, Brugnera Jr A, Zanin F, Pacheci MTT, Martin AA. Molecular analysis of Er:YAG laser irradiation on dentin. Braz Dent J 2006;17(1):15-9.

Souza EB. Avaliação da desinfecção da dentina radicular em profundidade provocada pela irradiação do laser de diodo de alta potência [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2006.

Spanó JCE, Barbin EL, Santos TC, Guimarães LF, Pécora JD. Solvent Action of sodium hypochlorite on bovine pulp and physico-chemical properties of resulting liquid. Braz Dent J 2001;12(3):154-7.

Stern RH, Sognnaes RF. Laser beam on dental hard tissues [abstract 307]. J Dent Res 1964;43(5):873.

Sundqvist GK. Ecology of the root canal flora. J Endod 1992;18(9):427-30.

Sundqvist GK, Eckerbom MI, Larsson AP, Sjogren UT. Capacity of anaerobic bacteria from necrotic dental pulps to induce purulent infections. Infect Immun 1979;25(2):685-93

Takeda FH, Harashima T, Kimura Y, Matsumoto K. A comparative study of the removal of smear layer by three endodontic irrigants and two types of laser. Int Endod J 1999 Jan;32(1):32-9.

Takeda FH, Harashima T, Kimura Y, Matsumoto K. Efficacy of Er: YAG laser irradiation in removing debris and smear layer on root canal walls. J Endod 1998;24(8):548-51.

Tanji EY, Gouw-Soares SC, Eduardo CP. MEV de canais radiculares irradiados com Er:YAG e Nd:YAG lasers. In:15a reunião da SBPqO; 1998; Águas de São Pedro Cidade: Editora; ano. 47.

Teixeira CS, Felipe MCS, Felipe WT. The effect of application time of EDTA and Hipoclorito de sódio on intracanal smear layer removal: an SEM analysis. Int Endod J 2005;38:285-90.

Wang X, Sun Y, Kimura Y, Kinoshita JI, Ishizaki NT, Matsumoto K. Effects of diode laser irradiation on smear layer removal from root canal walls and apical leakage after obturation. [Photomed Laser Surg.](#) 2005 Dec;23(6):575-81.

Wey Filho R, Aun CE, Paiva JG, Rezende E. Efeito antimicrobiano *in vitro* de algumas substâncias químicas auxiliares do preparo químico-mecânico do canal, utilizadas na desinfecção de canais radiculares. (Contribuição ao estudo). Rev Assoc Paul Cir Dent 1975;29(6):40-7.

Wiebkin OW, Cardaci SC, Heithersay GS, Pierce AM. Therapeutic delivery of calcitonin to inhibit external inflammatory root resorption. I. Diffusion kinetics of calcitonin through the dental root. Endod Dent Traumatol 1996;12(6):265-71.

Yamazaki AK. Análise *in vitro* da limpeza das paredes dos canais radiculares, através da microscopia eletrônica de varredura, após o seu preparo químico-cirúrgico com o creme de Endo-PTC associado ao hipoclorito de sódio com diferentes concentrações e soluções irrigadoras [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2006.

Yücel A, Güler E, Güler A, Ertas E. Bacterial Penetration After obturation With Four Different Root Canal Sealers. J Endod 2006;32:890–3.

Zehnder M. Root canals irrigants. J Endod 2006;32(5):389-98.

Zehnder M, Grawher M, Hasselgren G, Waltimo T. Tissue-dissolution capacity and dentin-disinfecting potential of calcium hydroxide mixed with irrigating solutions. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2003;96(5):608-13.

Zingg P, Sakura C, Moura AAM. Avaliação *in vitro* da eficiência na remoção do magma dentinário da parede do canal radicular, através da microscopia eletrônica de varredura, após irrigação com diferentes soluções ativadas por ultra-som. Rev Inst Ciênc Saúde 1997;15(1):15-22.

APÊNDICE A – Tabela dos resultados da análise quantitativa da permeabilidade do ^{99m}Tc

G1-C-SAL	G1-C-DENT	G1-C-100%	G1-%-SAL	G1-%-DENT
176615	431983	608598	29,02	70,98
190416	576462	766878	24,83	75,17
227627	380676	608303	37,42	62,58
207285	405804	613089	33,81	66,19
604319	642729	1247048	48,46	51,54
227500	390707	618207	36,80	63,20
185401	556499	741900	24,99	75,01
215080	632694	847774	25,37	74,63
283040	415824	698864	40,50	59,50
217279	441940	659219	32,96	67,04
		MEDIA	33,42	66,58
G2-Er-SAL	G2-Er-DENT	G2-Er-100%	G2-%-SAL	G2-%-DENT
237554	881399	1118953	21,23	78,77
195941	759402	955343	20,51	79,49
206099	337555	543654	37,91	62,09
283005	899138	1182143	23,94	76,06
195730	762320	958050	20,43	79,57
232448	818879	1051327	22,11	77,89
234203	424966	659169	35,53	64,47
381121	705313	1086434	35,08	64,92
205850	403895	609745	33,76	66,24
176905	378353	555258	31,86	68,14
		MEDIA	28,24	71,76
G3-Nd-SAL	G3-Nd-DENT	G3-Nd-100%	G3-%-SAL	G3-%-DENT
106523	441435	547958	19,44	80,56
104683	551637	656320	15,95	84,05
143754	603409	747163	19,24	80,76
102656	425683	528339	19,43	80,57
112960	323686	436646	25,87	74,13
134808	703548	838356	16,08	83,92
105253	541267	646520	16,28	83,72
127482	611972	739454	17,24	82,76
272869	820794	1093663	24,95	75,05
288290	810378	1098668	26,24	73,76
		MEDIA	20,07	79,93

APÊNDICE B – Tabela dos resultados dos avaliadores na análise da limpeza

Grupos	Terços	OBS A	OBS B	OBS C	OBS D	OBS E	OBS F	Total	MÉDIA	Média por Grupo
CONTROLE (G1)	A1	2	2	2	2	2	2	12	1,2500	3,0184
	A2	1	2	1	1	2	2	9		
	A3	1	1	1	1	1	1	6		
	A4	1	1	1	1	1	1	6		
	A5	1	1	1	1	1	1	6		
	A6	1	1	1	1	1	1	6		
	M1	4	4	5	5	5	4	27	4,1388	
	M2	4	5	5	5	5	4	28		
	M3	3	3	5	5	5	3	24		
	M4	3	3	5	5	5	4	25		
	M5	2	3	5	4	5	3	22		
	M6	2	3	5	5	5	3	23		
	C1	4	4	5	3	5	4	25	3,6666	
	C2	2	2	4	3	3	3	17		
	C3	3	4	5	4	3	4	23		
	C4	3	4	4	3	3	3	20		
	C5	2	5	5	4	5	4	25		
	C6	2	3	3	5	5	4	22		
Er:YAG (G2)	A1	4	3	5	3	4	2	21	3,4444	3,7870
	A2	3	4	5	4	5	3	24		
	A3	3	3	4	3	4	3	20		
	A4	3	3	5	3	4	3	21		
	A5	4	3	4	3	4	3	21		
	A6	2	2	4	2	4	3	17		
	M1	5	5	5	5	5	5	30	4,3333	
	M2	4	4	5	5	5	5	28		
	M3	4	3	5	4	4	4	24		
	M4	4	4	5	5	5	4	27		
	M5	4	4	5	4	4	4	25		
	M6	4	4	4	3	4	3	22		
	C1	4	4	4	5	5	3	25	3,5833	
	C2	3	3	5	5	4	4	24		
	C3	4	3	5	5	5	3	25		
	C4	4	4	5	5	5	3	26		
	C5	2	2	2	2	2	2	12		
	C6	3	3	3	3	2	3	17		
Nd:YAG (G3)	A1	1	1	4	2	2	2	12	2,8055	2,8888
	A2	2	2	4	2	4	3	17		
	A3	2	2	4	2	4	3	17		
	A4	2	2	5	2	4	3	18		
	A5	3	3	5	3	4	3	21		
	A6	2	2	4	2	4	2	16		
	M1	3	2	4	3	5	3	20	2,8888	
	M2	3	3	5	4	5	3	23		
	M3	2	2	5	3	5	2	19		
	M4	1	1	1	1	2	2	8		
	M5	3	3	3	2	4	3	18		
	M6	3	3	3	2	2	3	16		
	C1	2	2	4	3	2	2	15	2,9722	
	C2	2	2	3	3	3	2	15		
	C3	3	3	3	3	2	3	17		
	C4	3	3	4	3	2	3	18		
	C5	3	2	4	3	2	3	17		
	C6	4	4	5	4	4	4	25		

APÊNDICE C – Tabela dos resultados dos avaliadores na análise da contaminação

Grupos	Terços	OBS A	OBS B	OBS C	OBS D	OBS E	OBS F	Total	MÉDIA
CONTROLE (G1)	A1	2	2	3	2	2	2	2,12	1,74
	A2	1	2	3	2	1	1		
	A3	3	3	2	3	3	1		
	A4	3	2	2	2	3	1		
	A5	2	2	2	2	1	2		
	A6	1	3	3	3	2	1		
	A7	2	3	3	2	2	2		
	M1	1	1	1	1	1	1	1,05	
	M2	1	1	1	1	1	1		
	M3	1	2	1	1	1	1		
	M4	1	2	1	1	1	1		
	M5	1	1	1	1	1	1		
	M6	1	1	1	1	1	1		
	M7	1	1	1	1	1	1		
	C1	2	3	2	2	1	1	2,05	
	C2	2	2	1	2	2	2		
	C3	3	2	3	2	2	3		
	C4	2	2	1	2	2	2		
	C5	3	3	2	2	1	1		
	C6	2	2	3	2	2	3		
	C7	2	2	2	2	2	2		
Er:YAG (G2)	A1	3	3	3	3	3	3	2,45	2,35
	A2	2	2	1	2	1	2		
	A3	3	3	3	3	2	2		
	A4	3	3	3	3	3	3		
	A5	2	2	1	2	1	2		
	A6	3	3	3	3	2	2		
	A7	3	3	3	2	2	2		
	M1	2	2	1	2	3	2	2,33	
	M2	3	2	2	3	2	3		
	M3	2	3	3	3	2	2		
	M4	2	2	1	2	3	2		
	M5	3	2	2	3	2	3		
	M6	2	3	3	3	2	2		
	M7	2	2	3	3	2	2		
	C1	3	1	1	2	2	2	2,26	
	C2	2	2	2	2	1	2		
	C3	3	3	3	3	2	3		
	C4	3	1	1	2	2	2		
	C5	3	2	2	2	1	2		
	C6	3	3	3	3	2	3		
	C7	3	3	2	3	2	3		
Nd:YAG (G3)	A1	2	2	2	3	2	2	1,62	2,03
	A2	2	2	1	2	1	2		
	A3	1	1	1	1	1	1		
	A4	2	2	1	3	1	1		
	A5	2	1	1	2	1	2		
	A6	1	2	2	1	2	2		
	A7	1	2	1	2	2	2		
	M1	3	3	3	2	2	2	2,10	
	M2	2	2	2	2	1	2		
	M3	2	2	2	2	2	2		
	M4	3	3	3	2	1	2		
	M5	2	2	2	2	2	2		
	M6	2	2	2	2	2	2		
	M7	2	2	2	2	2	2		
	C1	3	3	2	1	3	2	2,38	
	C2	2	3	3	3	3	1		
	C3	2	2	1	3	3	3		
	C4	2	3	1	3	3	2		
	C5	2	3	1	3	3	1		
	C6	3	2	3	1	3	3		
	C7	2	3	3	3	2	2		

APÊNDICE E – Fotomicrografia (Aumento de 10X) das hemisseções radiculares preparadas para microscopia eletrônica de varredura (MEV).

APÊNDICE F – Fotomicrografia de espécime do G1 (Controle) terço cervical (aumento de 700X) apresentando superfície dentinária sem presença de magma dentinário.

APÊNDICE F1 – Fotomicrografia de espécime do G1 (Controle) terço cervical (aumento de 1000X) apresentando superfície dentinária sem presença de magma dentinário.

APÊNDICE F2 – Fotomicrografia de espécime do G1 (Controle) terço médio (aumento de 700X) apresentando superfície dentinária sem presença de magma dentinário.

APÊNDICE F3 - Fotomicrografia de espécime do G1 (Controle) terço médio (aumento de 700X) apresentando superfície dentinária sem presença de magma dentinário.

APÊNDICE F4 - Fotomicrografia de espécime do G1 (Controle) terço médio (aumento de 1000X) apresentando superfície dentinária sem presença de magma dentinário.

APÊNDICE F5 - Fotomicrografia de espécime do G1 (Controle) terço apical (aumento de 700X) apresentando superfície dentinária com presença de magma dentinário.

APÊNDICE F6 - Fotomicrografia de espécime do G1 (Controle) terço apical (aumento de 1000X) apresentando superfície dentinária com presença de magma dentinário.

APÊNDICE G - Fotomicrografia de espécime do G2 (raízes irradiadas com laser de Er:YAG) terço cervical (aumento de 700X) apresentando superfície dentinária irradiada livre de magma (A) e áreas não irradiadas com presença de magma dentinário (B).

APÊNDICE G1 - Fotomicrografia de espécime do G2 (raízes irradiadas com laser de Er:YAG) terço cervical (aumento de 10000X) apresentando superfície livre de magma dentinário e exposição da entrada dos túbulos dentinários.

APÊNDICE G2 - Fotomicrografia de espécime do G2 (raízes irradiadas com laser de Er:YAG) terço médio (aumento de 1000X) apresentando superfície sem presença de magma dentinário e exposição da entrada dos túbulos dentinários.

APÊNDICE G3 - Fotomicrografia de espécime do G2 (raízes irradiadas com laser de Er:YAG) terço médio (aumento de 10000X) apresentando superfície livre de magma dentinário e exposição da entrada dos túbulos dentinários.

APÊNDICE G4 - Fotomicrografia de espécime do G2 (raízes irradiadas com laser de Er:YAG) terço apical (aumento de 1000X) apresentando superfície sem presença de magma dentinário e exposição da entrada dos túbulos dentinários.

APÊNDICE G5 - Fotomicrografia de espécime do G2 (raízes irradiadas com laser de Er:YAG) terço apical (aumento de 10000X) apresentando superfície com presença de áreas com ablações (A), magma dentinário (B) e exposição da entrada dos túbulos dentinários (C).

APÊNDICE H - Fotomicrografia de espécime do G3 (raízes irradiadas com laser de Nd:YAG) terço cervical (aumento de 1000X) apresentando núcleos de recristalização (A), superfície derretida e recristalizada de aparência vitrificada, obstruindo a luz de túbulos dentinários (B).

APÊNDICE H1 - Fotomicrografia de espécime do G3 (raízes irradiadas com laser de Nd:YAG) terço cervical (aumento de 1000X) apresentando áreas não irradiadas com presença de magma dentinário.

APÊNDICE H2 - Fotomicrografia de espécime do G3 (raízes irradiadas com laser de Nd:YAG) terço cervical (aumento de 10000X) apresentando núcleos de recristalização (A), sobre superfície derretida e recristalizada de aparência vitrificada (B).

APÊNDICE H3 - Fotomicrografia de espécime do G3 (raízes irradiadas com laser de Nd:YAG) terço médio (aumento de 700X) apresentando áreas não irradiadas com presença de magma dentinário (A) e áreas de recristalização (B).

APÊNDICE H4 - Fotomicrografia de espécime do G3 (raízes irradiadas com laser de Nd:YAG) terço médio (aumento de 1000X) apresentando áreas não irradiadas com presença de magma dentinário, obstruindo a luz de túbulos dentinários (B).

APÊNDICE H5 - Fotomicrografia do espécime do G3 (raízes irradiadas com laser de Nd:YAG) terço médio (aumento de 10000X) apresentando núcleo de recristalização (A), sobre superfície derretida e recristalizada de aparência vitrificada (B).

APÊNDICE H6 - Fotomicrografia de espécime do G3 (raízes irradiadas com laser de Nd:YAG) terço apical (aumento de 200X) apresentando áreas irradiadas(A) e não irradiadas (B).

APÊNDICE H7 - Fotomicrografia de espécime do G3 (raízes irradiadas com laser de Nd:YAG), terço apical (aumento de 700X) apresentando áreas não irradiadas com presença de magma dentinário (A) e núcleos de recristalização, superfície derretida e recristalizada de aparência vitrificada, obstruindo a luz de túbulos dentinários (B).

APÊNDICE H8 - Fotomicrografia de espécime do G3 (raízes irradiadas com laser de Nd:YAG) terço apical (aumento de 1000X) apresentando áreas não irradiadas com presença de magma dentinário.

ANEXO A – Parecer de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

PARECER DE APROVAÇÃO
Protocolo 137/07

O grupo de trabalho indicado pelo Comitê de Ética em Pesquisa APROVOU o protocolo de pesquisa **"AVALIAÇÃO DA PENETRAÇÃO MICROBIANA NA DENTINA RADICULAR DE DENTES HUMANOS INOCULADOS COM ENTEROCOCCUS FAECALIS, APÓS O PREPARO QUÍMICO-CIRÚRGICO E IRRADIAÇÃO COM LASER DE Nd:YAG E Er:YAG"**, de responsabilidade do Pesquisador: **RICARDO JULIO CABRALES SALGADO**, sob orientação do Professor Doutor **ANTONIO CARLOS BOMBANA**.

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados a este Comitê relatórios anuais referentes ao andamento da pesquisa e ao término cópia do trabalho em "cd". Qualquer emenda do projeto original deve ser apresentada a este CEP para apreciação, de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

São Paulo, 04 de outubro de 2007

Prof. Dr. João Gualberto de Cerqueira Luz
Coordenador do CEP-FOUSP

ANEXO B – Termo de Consentimento Esclarecido

DECLARAÇÃO DE DOAÇÃO

Declaro ao Comitê de Ética em Pesquisa, a cessão de __ dentes, ao pesquisador RICARDO JULIO CABRALES SALGADO, a fim de viabilizar a execução do Projeto de Pesquisa de sua Tese de Doutorado intitulado: **“ESTUDO DA VARIAÇÃO DA PERMEABILIDADE, LIMPEZA E CONTAMINAÇÃO DO SISTEMA DE CANAIS RADICULARES, APÓS O PREPARO QUÍMICO-CIRÚRGICO E APLICAÇÃO DE LASER DE ALTA INTENSIDADE”**. Os dentes foram extraídos na Clínica Odontológica do Curso de Especialização de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofaciais da FUNDECTO, previamente à Resolução 196/96, do Conselho Nacional de Saúde e armazenados em hipoclorito de sódio a 2,5% e levados ao congelador, sem identificação dos doadores.

Afirmo que a indicação da extração fundamentou-se em exames clínicos e/ou radiográficos, não tendo relação com o desenvolvimento da pesquisa científica.

As informações acima mencionadas são verdadeiras e de minha inteira responsabilidade, sendo que estou ciente das suas eventuais repercussões cíveis e penais.

São Paulo, ____ de março de 2007.

Dr. Ricardo – CROSP 90.423
Inscrição Temporária restrita ao
Curso de Especialização.

Nome do paciente doador do Órgão dental

RG _____,

Telefone _____