

**Universidade do Vale do Paraíba
Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento**

EDSON CARLOS NAGIB

**DESENVOLVIMENTO DE TÉCNICA OPERATÓRIA MINIMAMENTE
INVASIVA COM INSTRUMENTO DE ULTRA-BAIXA ROTAÇÃO E
TERAPIA DE OZÔNIO, ASSISTIDA POR DIAGNÓSTICO DE CÁRIE
COM FLUORESCÊNCIA INDUZIDA POR LASER**

São José dos Campos, SP

2006

EDSON CARLOS NAGIB

**DESENVOLVIMENTO DE TÉCNICA OPERATÓRIA MINIMAMENTE
INVASIVA COM INSTRUMENTO DE ULTRA-BAIXA ROTAÇÃO E
TERAPIA DE OZÔNIO, ASSISTIDA POR DIAGNÓSTICO DE CÁRIE
COM FLUORESCÊNCIA INDUZIDA POR LASER**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioengenharia da Universidade do Vale do Paraíba, como complementação dos créditos necessários para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Biomédica.

Orientador: Prof. Dr. Egberto Munin
Co-orientadora: Profa. Dra. Viviane Pilla

São José dos Campos, SP

2006

N143d

Nagib, Edson Carlos

Desenvolvimento de técnica operatória minimamente invasiva com instrumento de ultra-baixa rotação e terapia de ozônio, assistida por diagnóstico de cárie com fluorescência induzida por laser / Edson Carlos Nagib. São José dos Campos, 2006.

1 disco laser, color

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioengenharia do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento da Universidade do Vale do Paraíba, 2006.

1. Cárie dentária 2. Preparo cavitário 3. Instrumentos dentários 4. Ozônio/ terapia I. Munin, Egberto, Orient., II. Pilla, Viviane, Co-orient., III. Título

CDU: 616.314-002

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, por processo fotocopiadores ou transmissão eletrônica, desde que citada a fonte.



Assinatura do aluno:

Data: 13/11/2006

“DESENVOLVIMENTO DE TÉCNICA OPERATÓRIA MINIMAMENTE INVASIVA COM INSTRUMENTO DE ULTRA-BAIXA ROTAÇÃO E TERAPIA DE OZÔNIO, ASSISTIDA POR DIAGNÓSTICO DE CÁRIE COM FLUORESCÊNCIA INDUZIDA POR LASER”

Edson Carlos Nagib

Banca Examinadora:

Profª. Dra. **VIVIANE PILLA** (UNIVAP)

Viviane Pilla

Prof. Dr. **EGBERTO MUNIN** (UNIVAP)

Egberto Munin

Profª. Dra. **MAIRA REGINA RODRIGUES MAGINI** (UNIVAP)

Maira R. Magini

Profª. Dra. **MARINA DE OLIVEIRA RIBAS** (PUC-PR)

Marina de Oliveira Ribas

Prof. Dr. Marcos Tadeu Tavares Pacheco
Diretor do IP&D - UniVap

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais Airton e Lisete pelo dom da vida que me veio de DEUS através deles!

Agradeço a minha esposa Cláudia, por ter sido pai e mãe no período da execução deste trabalho!

Agradeço ao meu orientador Egberto Munin, que acreditou na germinação da semente deste trabalho, agora concluído e com possibilidades de gerar frutos.

Agradeço também ao Prof. Edino Beltrami (Prof. de Dentística Restauradora aposentado da PUC PR) e à Profa. Vania Aparecida Oliveira Queiroz, professora de Dentística Restauradora da UEPG, pelo conhecimento, ética e exemplo profissionais, primeiros a me incentivar na fase preliminar deste projeto.

Agradeço também pela ajuda e apoio técnico-profissional, de partilha de conhecimento, carinho e atenção aos amigos e Professores:

Dr. Antônio Carlos Pullner (pela ajuda especial na aquisição de dentes);

Dr. João Jabra, Dr. Adão Fontana e Dr. Adriano Gumy e Fabíola T. Meyer (Colegas que enviaram dentes);

Ao Prof. Dr. Raimund Hibst, grande conhecedor de espectroscopia de fluorescência da cárie, por elucidar dúvidas associadas ao trabalho aqui desenvolvido durante minha estada na Universidade de Ulm, além dos inúmeros e-mails, co-orientações e artigos científicos enviados tão generosa e prontamente;

Ao Prof. Dr. Jan Tunér, pela dedicação ao ensino de LASER de Bio-Estimulação, a quem devo boa parte de meu conhecimento nesta área;

Ao Prof. Dr. Markku Larmas da Universidade de Oulu, Finlândia, pelo seu trabalho na pesquisa da cárie e pelo envio tão gentil de artigos de sua autoria e/ou co-autoria relacionados à proteólise dentinária;

À Profa. Josefa Rigau por dividir seus conhecimentos de Laserterapia tão generosa e entusiasticamente;

Ao Prof. Aldo Brugnera, por sua palestra em 1995, a partir da qual me interessei pela Laserterapia;

Às minhas auxiliares Rosemeire Dainezer e Vanessa Moro pelo suporte e ajuda para o Mestrado;

À Ivone Paranaíba Vilela Monteiro (por sua ajuda durante o Mestrado);

À Rúbia Gravito de Carvalho Gomes (por sua ajuda na revisão deste trabalho);

Ao Vice-Presidente de Operações da KaVo do Brasil Giancarlo Schneider por acreditar na micro-mecânica;

Ao Diretor Comercial da KaVo do Brasil para assuntos da América Latina Rogério Almeida;

À Tessa Schmalz, pela indicação de meu nome ao Prof. Robert Gall para o curso de Laserterapia em Ulm;

À Kátia Kalligaris Queiroz (Doutoranda em Engenharia BioMédica);

Ao Leandro Procópio Alves (Laboratório de Aplicações de Laseres de Alta Potência em Bioengenharia);

Ao Allison Gustavo Braz (Mestrando em Engenharia Biomédica);

À Valéria Maeda Alves da Silva (Secretária da Direção do IP&D);

À Audrey R. C. Wrublewski pela ajuda em um momento de dúvida, convertido em decisão e empenho!

Espero, sinceramente, que os frutos advindos do compartilhamento da técnica atraumática associada ao diagnóstico por fluorescência de laser e à ozonioterapia, praticamente desconhecidas no meio odontológico e embasados cientificamente neste trabalho, possam beneficiar e aproximar pacientes e dentistas visando a saúde dentária e o bem-estar durante o tratamento.

***Dedico esse trabalho com amor
Às minhas filhas Laila e Jamille,
Aos meus irmãos Marcelo e Maurício,
À minha mãe Lisete e
Aos meus avós (in memóriam)
Alberto e Nahyr***

DESENVOLVIMENTO DE TÉCNICA OPERATÓRIA MINIMAMENTE INVASIVA COM INSTRUMENTO DE ULTRA-BAIXA ROTAÇÃO E TERAPIA DE OZÔNIO, ASSISTIDA POR DIAGNÓSTICO DE CÁRIE COM FLUORESCÊNCIA INDUZIDA POR LASER

RESUMO

O Objetivo deste trabalho é apresentar uma técnica operatória de ultra-baixa rotação para remoção do tecido cariado *in vitro* visando uso clínico. Para isso foram selecionados 32 dentes extraídos com finalidade ortodôntica ou cirúrgica, e avaliados por fluorescência induzida por laser DIAGNOdent^R (KaVo, Biberach, Alemanha), como meio de diagnóstico. Destes, 16 foram seccionados através de broca de corte em turbina de alta-rotação para avaliar o esmalte e a dentina sadios através da fluorescência ao laser vermelho. Todos os valores registrados variaram entre 3 e 7 unidades. Em outros 16 dentes, 64 lesões indicando valores a partir de 17 unidades de fluorescência foram incluídas e registradas microfotograficamente em várias etapas, com novas leituras a cada passo da ação mecânica. Verificou-se confirmação de presença de destruição tecidual irreversível do esmalte e da dentina a partir do valor sugerido de fluorescência através do exame microscópico das lesões, confirmando que a menor velocidade empregada permite acesso ao tecido deteriorado, com a vantagem de não gerar aerosol contaminado e com menos de um milésimo da rotação, se comparada à turbina de uso odontológico (variando de 60 a 300 rpm contra 120 000 a 400 000 rpm da turbina de alta velocidade). Houve aumento dos valores lidos inicialmente no DIAGNOdent^R, em média, após ter-se obtido uma janela óptica ao laser de diagnóstico, em consequência do melhor acesso à lesão proporcionado pela mecânica. À medida em que a cárie foi progressivamente removida em cada lesão analisada, os valores de fluorescência decresceram, verificando-se inversamente o aumento da resistência tecidual. Quando os valores chegaram entre 15 e 12 unidades lidas no DIAGNOdent^R, aplicou-se ozonioterapia (HealOzoneTM, KaVo, Biberach, Alemanha) para descontaminação residual eficiente e segura. As vantagens do desenvolvimento dessa técnica, observadas *in vitro*, sustentam seu emprego clínico. Houve proteção tecidual seletiva através de um diagnóstico mais preciso, obteve-se alta taxa de descontaminação tecidual e ausência de aerosol contaminado no ambiente de trabalho relacionado à mecânica empregada. A diminuição acentuada da velocidade obtida permitiu acesso a todas as lesões, e está diretamente associada à menor possibilidade de estresse do paciente durante o atendimento. Ao se utilizar a técnica proposta, haverá menor risco de dor, o ruído e a vibração serão consideravelmente menores se comparados à turbina de alta-rotação, diminuindo-se também a possibilidade do uso de anestesia devido ao trauma mecânico ser mínimo, o que tornará o trabalho odontológico mais preciso e menos traumático.

Palavras Chaves: Cáries dentárias, DIAGNOdent, Técnica Minimamente Invasiva, HealOzone, Preparo Cavitário.

**DEVELOPMENT OF A MINIMALLY INVASIVE OPERATIVE TECHNIQUE WITH AN
ULTRA- LOW SPEED ROTARY INSTRUMENT AND OZONE THERAPY, ASSISTED BY
LASER-INDUCED FLUORESCENCE CARIES DIAGNOSIS**

ABSTRACT

This study presents a new technique for cavity preparation using an ultra low speed mechanics to remove decayed tissue *in vitro*, to be used clinically. It was selected 32 extracted teeth with orthodontic or surgery indication, evaluated through laser induced fluorescence, DIAGNOdent^R (KaVo, Biberach, Germany), as a diagnosis method. From these, 16 were cut with high-speed drill to evaluate healthy enamel and dentine through fluorescence examination. All the readings recorded in Diagnodent^R were in the range of 3 to 7 units. In the other 16 teeth, the diagnosis of 64 lesions indicating numbers from 17 units in DIAGNOdent^R were included and registered micro-photographically during the mechanical work, with new measures made in each step of drilling. It was noticed that the fluorescence readings of 17 and higher are related to the irreversible internal destruction compromising the enamel and dentin tissue through the microscopic images of the lesions, confirming that the used lower speed allows the access to the deteriorated tissue with the advantage of no production of contaminated spray and with less than a thousandth part of rotation, if compared to the high speed dental handpiece (ranging from 60 to 300 rpm against 120 000 to 400 000 rpm). As the decayed tissue was being removed, the fluorescent values decreased proportionally and, simultaneously, it could be noticed an increase in the dentine hardness. After reducing the readings to 15 to 12 units in DIAGNOdent^R, ozone therapy was applied (HealOzoneTM) for clinically safe and efficient residual decontamination. The advantages of the developed technique, observed *in vitro*, suggest its clinical use. There was selective protection of the treated tissue through a more precise diagnose. The literature reports a very high coefficient of decontamination of the tissue treated with ozone. In this work we report on the absence of contaminated spray in the work environment related to the proposed mechanics. The employed very low speed allowed access to all treated lesions and can minimize the patient stress during clinical work. When clinically applied, this technique will offer minor risk of pain, the noise and the vibration will be considerably much lower in comparison with the high speed turbine, reducing the possibility of the use of anesthetics, leading the dental work to be more precise and less traumatic.

Key-words: Dental Caries, Diagnodent, Minimal Invasive Technique, HealOzone, Cavity Preparation.

LISTAS DE FIGURAS

FIGURA 1:	Ameloblastos – aspecto histológico.....	24
FIGURA 2:	Corte transversal do esmalte e dentina sadios.....	25
FIGURA 3 a:	Corte longitudinal dos prismas de esmalte.....	25
FIGURA 3 b:	Corte transversal dos prismas de esmalte.....	25
FIGURA 4 (a):	Corte transversal em dentina em microscópio de força atômica mostrando túbulos dentinários abertos em jovem de 25 anos de idade.....	27
FIGURA 4 (b):	Corte transversal de dentina em microscópio de força atômica mostrando túbulos dentinários fechados em idoso de 67 anos de idade.....	27
FIGURA 5:	Corte longitudinal de dentina em microscopia eletrônica de varredura mostrando dentina intertubular e peritubular.....	27
FIGURA 6:	Microrganismos em microscopia eletrônica de varredura <i>Lactobacillus sp</i> ; <i>S. mutans</i> ; e associação de <i>Cândida albicans</i> , <i>Streptococcus mutans</i> e <i>Porphyromonas gingivalis</i> . (Imagem provida sob autorização por escrito enviada por Dennis Kunkel / Copyright Dennis Kunkel Microscopy, Inc.).....	31
FIGURA 7:	Taxa de solubilidade do esmalte relacionada com a concentração total de lactato.....	35
FIGURA 8:	Solubilidade da hidroxiapatita como uma função do pH.....	36
FIGURA 9 (a):	Fotografia intra-oral de lesão cervical de mancha branca.....	39
(b):	Fotografia intra-oral de lesão cervical de mancha branca com biofilme associado.....	39
FIGURA 10 (a, b, c, d):	Dente em corte transversal evidenciando cárie oculta....	44
FIGURA 11:	Árvore filogenética dos Gêneros <i>Bacteróides</i> , <i>Prevotella</i> e <i>Porphyromonas</i>	48
FIGURA 12 :	Gráfico demonstrando a relação da Intensidade Relativa de absorção do tecido cariado para diferentes comp. de onda....	49
FIGURA 13:	Gráfico de micro-dureza tecidual de Fusayama e col.....	56
FIGURA 14:	Gráfico de micro-dureza tecidual de Ogawa e col.....	58

FIGURA 15 (a):	Testes de micro-dureza em estudo de Banerjee e col	59
(b):	Testes de micro-dureza em estudo de Banerjee e col	60
FIGURA 16:	Gráfico de intensidade de Fluorescência de diversas bactérias quando excitadas com lâmpada xenon.....	68
FIGURA 17 (A), (B) e (C):	Espectroscopia de Fluorescência do esmalte em diferentes espessuras; ? exc. 635nm.....	73
FIGURA 18:	Valores de intensidade de fluorescência de tecido cariado em relação à espessura do esmalte sadio.....	74
FIGURA 19 (A) e (B):	Fluorescência com ? exc de 488 nm.....	76
FIGURA 20 (A) e (B):	Fluorescência com ? exc de 640 nm.....	76
FIGURA 21 (A) e (B):	Fluorescência com ? exc de 655 nm	76
FIGURA 22 (A) e (B):	Equipamento DIAGNOdent ^R	79
FIGURA 23:	Esquema interno do aparelho DIAGNOdent ^R	79
FIGURA 24:	Esquema da disposição das fibras condutoras de sinal.....	79
FIGURA 25 (A) e (B):	Pontas de conexão do Diagnodent ^R , mostrando fibras emissora e coletoras (A)	80
FIGURA 26 (A):	Gráfico mostrando a relação da concentração de PPIX com a leitura do DIAGNOdent ^R	82
FIGURA 26 (B):	Fórmula molecular da PPIX.....	82
FIGURA 27:	Proporção da ponta do aparelho de fluorescência.....	83
FIGURA 28 (A) e (B):	Mesmo dente com tecido cariado avaliado por exame visual e Microscopia de Escaneamento a laser (LSM).....	84
FIGURA 28 A:	Gráfico relacionando concentração de protoporfirina IX à fluorescência.....	69
FIGURA 28 B:	Forma molecular da Protoporfirina.....	70
FIGURA 29 (A), (B) e (C):	Espectro de fluorescência para excitação com 442 nm, 532 nm e 632 nm em tecido sadio e cariado.....	87
FIGURA 30 (A) e (B):	O aparelho gerador de ozônio HealOzone TM	95
FIGURA 31:	Peça de mão com cápsula de silicone descartável.....	96
FIGURA 32:	Esquema de operação interna do aparelho.....	97
FIGURA 33 (A), (B) e (C):	Microscópio Leika ^R , DIAGNOdent ^R , e Osseocare ^R	102

FIGURA 34 (A), (B),(C) e (D): Contra-ângulo redutor, HealOzone™, Peça de mão Aplicadora e Painel do HealOzone™	103
FIGURA 35 (A) e (B): Display do Osseocare ^R mostrando a rotação selecionada...	104
FIGURA 36: (a), (b), (c), (d), (e), (f), (g), (h), (i), (j), (k), (l): diagnóstico, preparo cavitário, ozonioterapia.....	108
FIGURA 37 (PARTE 1): (a), (b), (c), (d), (e), (f), (g), (h), (i), (j), (k), (l): diagnóstico, preparo cavitário, pré-aplicação de ozonioterapia.....	109
FIGURA 37 (PARTE 2): (m), (n), e (o): ozonioterapia.....	110
FIGURA 38 (PARTE 1): (a), (b), (c), (d), (e), (f), (g), (h), (i), (j), (k), (l): diagnóstico, preparo cavitário e ozonioterapia.....	111
FIGURA 38 (PARTE 2): (m), (n), (o), (p), (q), (r) diagnóstico, preparo cavitário e ozonioterapia.....	112
FIGURA 39 (PARTE 1): (a), (b), (c), (d), (e), (f), (g), (h), (i), (j), (k), (l): diagnóstico e preparo cavitário.....	113
FIGURA 39 (PARTE 2): (p), (q), (r) preparo cavitário, diagnóstico e ozonioterapia.....	114
FIGURA 40 (PARTE 1): (a), (b), (c), (d), (e), (f), (g), (h), (i), (j), (k), (l), (n), (o): preparo cavitário e diagnóstico.....	115
FIGURA 40 (PARTE 2): (p), (q), (r), (s), (t), (u), (v), (x), (w), (y), (z), (a1), (a2) (a3), (a4): preparo cavitário e diagnóstico.....	116
FIGURA 40 (PARTE 3): (a5), (a6) e (a7): diagnóstico e ozonioterapia.....	117
FIGURA 41 (A), (B), (C), (D) e (E): Fluorescência de esmalte e dentina sadios; corte com alta-rotação; avaliação por fluorescência....	118
FIGURA 42 (A), (B), (C), (D) e (E): Fluorescência de esmalte e dentina sadios; corte com alta-rotação; avaliação por fluorescência....	118
FIGURA 43: Presença de MMP 20 em tecido cariado e sadio demonstrado em microfotografias histológicas de (a) até (c).....	126
FIGURA 44: Presença de MMP 20 em tecido cariado e sadio demonstrado em microfotografias histológicas de (d) até (g).....	126

LISTA DE TABELAS

TABELA 1:	Concentração das principais porfirinas presentes em bactérias produtoras de pigmento negro.....	51
TABELA 2:	Relação de intensidade de fluorescência entre Cárie / Tec. sadio para ? exc de 488 nm.....	78
TABELA 3:	Relação de intensidade de fluorescência entre Cárie / tecido sadio para ? exc em 640 nm e 655 nm.....	78
TABELA 4:	Comparação entre as intensidades de fluorescência entre Cárie / tecido sadio para ? exc de 488 nm, 640 nm e 655 nm....	78
TABELA 5:	Relação de fluorescência do esmalte e dos diversos minerais que compõe o tecido dentário.....	83

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

S	Somatório
l	Comprimento de onda
l_{EXC}	Comprimento de onda de excitação
l_{PICO}	Comprimento de onda de excitação máxima
%	Porcentagem
<	Menor que
>	maior que
mm	Micrometro
B.	Bacteroides
BPPN	Bacteroides Produtores de Pigmento Negro
BSE	Backscattered Scanning Electron (Escaneamento de Elétron Retro-Espalhado)
cm³	Centímetro cúbico
CO	Monóxido de Carbono
E^o	Poder Oxidativo
ECM	Electric Caries Monitor (Monitor elétrico de caries)
He-Cd	Hélio Cádmio
He-Ne	Hélio Neonio
l_{PICO}	Intensidade de pico
KHN	Knoop Hardness Number (Número de dureza Knoop)
LASER	Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation (Amplificação da luz por emissão estimulada de radiação)
LPS	LipoPolissacarídeos (Endotoxina de bactérias anaeróbias)
LSM	Laser Scanning Microscope (Microscópio por Escaneamento a Laser)
m	Metro
mm	Milímetro
mW	MiliWatt
nm	Nanometro
NO₂	Dióxido de Nitrogênio
O₂	Oxigênio Molecular
O₃	Ozônio
P.	Porphyromonas
PCR	Polimerase Chain Reaction (Reação em cadeia de polimerase)
PDT	Photo Dynamic Therapy (Terapia fotodinâmica)
P_{exc}	Potência de excitação
Pp IX	Protoporfirina 9
ppm	Partes por milhão
Prev.	Prevotella
R	Marca registrada (comercialmente disponível no Brasil)
rpm	Rotações por minuto
ROS	Reactive Oxygen Species (Espécies reativas de Oxigênio)
SEM	Scanning Electron Microscope (Microscópio eletrônico de varredura)
TM	Trade Mark (Marca Registrada)
YAG	Yttrium-Aluminium-Garnet
W	Watt

SUMÁRIO

1.	Introdução.....	17
2.	Revisão de Literatura.....	23
2.1	Características do esmalte sadio.....	23
2.2	Características da dentina sadia	26
2.3	Populações bacterianas na boca	29
2.4	Formação da lesão de cárie em esmalte	33
2.4.1	A dissolução da fase mineral do esmalte	34
2.5	O fenômeno da lesão de mancha branca.....	38
2.6	O efeito sistêmico do açúcar na diminuição do metabolismo do odontoblasto... 40	
2.7	A progressão da lesão de cárie na dentina.....	40
2.8	Principais bactérias proteolíticas ligadas à cárie dentinária e à presença de fluoróforos específicos	45
2.9	Microdureza tecidual do tecido sadio e cariado como base da técnica mecânica atraumática.....	54
2.10	O fenômeno da cárie oculta.....	61
2.11	O uso do explorador como instrumento de diagnóstico.....	63
2.12	O uso do exame radiográfico como instrumento de diagnóstico	64
2.13	O espectroscopia de fluorescência no diagnóstico de cárie.....	66
2.13.1	Trabalho de Hibst e Paulus sobre diagnóstico de cárie por fluorescência induzida por laser.....	69
2.13.1.1	O sinal de fluorescência depende da geometria da amostra	70
2.13.2	Trabalho de Hibst, Paulus e Lussi sobre diagnóstico de cárie por fluorescência induzida por laser.....	81
2.13.3	Trabalho de Ribeiro Figueiredo, Kurachi e Bagnato no diagnóstico de cárie por fluorescência induzida por laser.....	85
2.14	Ozonioterapia.....	88
2.14.1	Cuidados na ozonioterapia.....	91

3 . Proposição.....	98
4 . Material e Métodos.....	98
4.1 Metodologia Aplicada.....	98
4.1.1 Tipologia da Pesquisa.....	98
4.2 Seleção da amostra.....	95
4.2.1 Requisitos para a inclusão na amostra.....	99
4.3 Descrição da Técnica aplicada na primeira amostra.....	99
4.4 Descrição da Técnica aplicada na segunda amostra.....	105
5. Resultados.....	106
6. Discussão.....	120
6.1 O fortalecimento do esmalte por fluoretos e a cárie oculta em dentina.....	120
6.2 O diagnóstico por fluorescência induzida por laser.....	122
6.3 O papel das metaloproteínas no enfraquecimento tecidual	124
6.4 O enfraquecimento estrutural dentário associado à geometria do preparo.....	127
6.5 Fatores ligados ao desconforto no preparo cavitário tradicional.....	128
6.6 Fatores ligados à dor durante o preparo cavitário	128
6.7 Fatores ligados à contaminação do ambiente gerado pelo aerosol.....	130
6.8 Fatores ligados ao ruído da mecânica tradicional.....	131
6.9 O emprego da Ozonioterapia no estágio final do trabalho.....	132
6.10 Vantagens que a Técnica oferece sobre a tradicional.....	133
6.11 Desvantagens da Técnica de Ultra-Baixa Rotação.....	133
7. Conclusão.....	136
Referencias Bibliográficas.....	137
Anexo A - Consentimento livre e esclarecido em pesquisa científica.....	152
Anexo B – Aprovação da pesquisa pelo Comitê de ética	156

1. INTRODUÇÃO

O medo do atendimento odontológico é comum e é relatado em muitos estudos (GATCHEL et al., 1983; BERGGREN ; MEYNERT, 1984; TANDLAEGEBLADET, 1990; MOORE et al., 1996). Nos Estados Unidos, ao longo dos últimos 50 anos, há estabilidade no fenômeno da ansiedade relacionado ao tratamento dentário (SMITH; HEATON, 2003).

Esse fenômeno não ocorre apenas nos Estados Unidos, havendo ainda muitos fatores na Odontologia moderna que causam sofrimento aos pacientes, apesar de todo avanço tecnológico ocorrido nesse período (SMITH; HEATON, 2003).

Os itens que mais se associam aos relatos de medo do dentista e/ou do procedimento odontológico são traumas ocorridos durante o atendimento na infância em até 85% dos casos, sendo relevante o medo de sentir dor novamente. O procedimento mais crítico e temerário é a intervenção mecânica rotatória de alta velocidade, a turbina (broca). Ela está associada diretamente à possibilidade de gerar dor devido a sua velocidade ser muito alta, ter ruído estridente e transmitir vibração desconfortável ligado ao atrito produzido; o segundo é o medo da aplicação de anestesia, pois a agulha gera ansiedade por sua invasividade tecidual e também está associada à dor antes de produzir seu efeito químico; e por último, é o medo da extração dentária, que é mutiladora e também oferece riscos ao paciente em muitos casos (BERGGREN; MEYNERT, 1984; TANDLAEGEBLADET et al., 1990; MOORE et al., 1996).

O profissional da área odontológica ainda opta frequentemente por essa mecânica veloz que permite acesso e desgaste rápidos tanto no esmalte quanto na dentina

cariados, apesar de ouvir queixas freqüentes dos pacientes que associam sensações já ocorridas em seu passado, produzindo imediatamente reações psicossomáticas relacionadas ao medo.

Além de provocar fobias, há outros riscos da utilização da mecânica de alta velocidade. Berek e colaboradores investigaram freqüências ultra-sônicas produzidas pela turbina e chegaram a medidas 76% maiores em intensidade nessa faixa, se comparadas com o espectro audível e concluiu que há riscos de surdez a curto e longo prazos ao dentista (BAREK et al., 1999).

Há também possibilidade de infecção cruzada entre pacientes relacionado ao uso da turbina odontológica. O potencial microbiano dos aerossóis produzidos em consultórios tem sido demonstrado em diversos trabalhos (LITSKY et al., 1970, MOHAMED et al., 1970; ROSEN et al., 1983; SCHEID et al., 1990; LEWIS ; BOE, 1992 ; LEWIS, 1992). O preparo cavitário tradicional, tanto em alta-rotação com a utilização da turbina (variando de 100 000 a 400 000 RPM), como em baixa-rotação convencional utilizando o micro-motor (variando de 5 000 a 20 000 RPM), tem a água como refrigerante térmico, a qual gera uma nuvem de contaminantes no ambiente (vírus, fungos e bactérias), oferecendo riscos potenciais de transmissão cruzada entre cirurgião-dentista, membros da equipe de trabalho e pacientes que virão a ser atendidos. Discacciati e colaboradores, avaliando respingos produzidos pela turbina de alta rotação, encontraram dispersão em todas as direções até uma distância de 1,82 m (DISCACCIATI et al., 1998).

Outro problema associado ao emprego da alta velocidade envolve riscos de fratura associados à formação de trincas no esmalte, observados por Mondelli e colaboradores, diminuindo a resistência dentária em função da geometria do preparo

cavitário, reforçando a indicação do uso de técnicas minimamente invasivas para a preservação tecidual (MONDELLI et al., 1980; TYAS et al., 2000).

Ao longo do tempo, trincas insuspeitas e de difícil percepção clínica podem também favorecer a penetração bacteriana e gerar cáries secundárias com grande profundidade de destruição, sendo observadas em áreas com deficiência de mineralização nas lamelas do esmalte (WALKER et al., 1998).

Este trabalho visou reunir evidências científicas que três tecnologias podem ser utilizadas para o tratamento de cáries, numa nova abordagem micro-mecânica. Dois grupos de dentes extraídos foram selecionados para análise, o primeiro composto de dentes com cáries insipientes na área oclusal, aparentemente restritas ao esmalte no exame visual, para o emprego da micro-mecânica, com fluorescência com valores numéricos a partir de 17 (Diagnodent^R); o segundo grupo foi composto de dentes sadios avaliados através de exame visual e de fluorescência. O valor numérico de fluorescência escolhido para o primeiro grupo avaliado (17 unidades na leitura oclusal lida no aparelho de fluorescência induzida por laser, Diagnodent^R) teve como meta verificar se esse valor serviria como indicativo clínico da presença de cárie oculta, atacando de forma insuspeita a dentina. O emprego de uma técnica rotatória de ultra-baixa rotação para a retirada do tecido irreversivelmente decomposto pode ser considerado inovador e intercalar o diagnóstico de cárie em cada passo da ação mecânica visou proteger o tecido para que não haja remoção desnecessária de tecido sadio. A desinfecção do tecido dentinário remanescente realizada através da Ozonioterapia (HealOzoneTM) após o decréscimo dos valores de fluorescência a uma faixa específica pode garantir a descontaminação na área tratada, trazendo eficiência e menor trauma tecidual, quando executadas *in vivo*.

A análise da fluorescência no segundo grupo dentário possibilitou a diferenciação de gradientes médios para a dentina e para o esmalte sadios comparando-se a fluorescência obtida no primeiro grupo de dentes cariados através dos valores numéricos do Diagnodent^R.

Vários estudos demonstram que o tecido cariado em dentina se apresenta infectado por uma associação de bactérias do tipo cocos e bastonetes com predomínio das espécies anaeróbias e se encontra sem resistência mecânica significativa devido à desmineralização extensa associada à destruição irreversível do colágeno, podendo haver recomposição mineral somente se as fibrilas desmineralizadas estiverem ainda íntegras e sem presença de infecção (FUSAYAMA et al., 1966; FUSAYAMA; TERASHIMA, 1972; KUBOKI et al., 1977; OGAWA, 1983; HOSHINO, 1985, LUSSI, 1991; VAN STRIJP et al., 1992; BANERJEE, 1999; BANERJEE et al., 1999, BANERJEE et al., 2000^A; BANERJEE et al., 2000^B; HOSOYA; MARSHALL JR, 2004).

A técnica sugerida é fundamentada na Odontologia minimamente invasiva, onde se preconiza máxima preservação dos tecidos operados (TYAS, 2000).

Os métodos tradicionais de diagnóstico de cárie, como o tátil, visual, radiográfico ou químico demonstram ter baixa sensibilidade (capacidade de identificar a doença), sendo que métodos que envolvem a fluorescência têm demonstrado vantagens sobre os anteriores (LOESCHE, 1979; EKSTRAND, 1987; SAWLE ; ANDLAW, 1988; LUSSI, 1991; KIDD et al., 1993; KÖNIG, et al., 1993; PEARCE, 1994; WEERHEIJM, 1997; WEERHEIJM et al., 1992^A; ; WEERHEIJM et al., 1992^B; STOOKEY et al., 1999; HIBST; GALL, 1998; HIBST; PAULUS, 1999^A; HIBST; PAULUS, 1999^B; McCOMB, 2000; DOVE, 2001; HIBST et al., 2001; IWAMI et al., 2003; LUSSI, 2004; PINHEIRO et al.,

2004, IWAMI et al., 2003; IWAMI et al., 2004; MENDES et al., 2004; EBERHARD et al., 2005; FIGUEIREDO et al., 2005; IWAMI et al., 2006) .

Uma técnica não tradicional para a avaliação tecidual aqui proposta utiliza o diagnóstico de cárie por fluorescência induzida por LASER (Diagnodent^R, KaVo, Biberach, Alemanha). Através deste método, pode-se obter vantagens sobre outros tradicionais: não é invasivo e pode monitorar a regressão, a estabilidade ou a progressão de lesões de cárie ao longo do tempo, quantificando através de um display os valores obtidos no exame, se o controle da lesão em questão for decidido. Esse método mede a fluorescência tecidual que, em relação à cárie, pode exceder uma ordem de magnitude se comparada ao esmalte e à dentina sadios, tornando-o muito eficiente na descoberta de lesões de cárie não aparentes (já em dentina) e na verificação de existência residual de tecido infectado (HIBST; GALL, 1998; HIBST e PAULUS, 1999^A; HIBST; PAULUS, 1999^B; HIBST et al 2001; LUSI, 2001; IWAMI et al., 2003; IWAMI et al., 2004; MENDES et al., 2004; EBERHARD et al., 2005; FIGUEIREDO, et al., 2005; IWAMI et al., 2006).

O diagnóstico precoce e eficiente, com alta sensibilidade a componentes metabólicos bacterianos, dá suporte à execução de medidas para a máxima preservação tecidual.

Uma vez implementados métodos preventivos de orientação ao paciente a respeito da frequência e quantidade de carboidratos em sua dieta, de sua eficiência do controle mecânico do biofilme bacteriano, da necessidade ou não de fluoretação complementar, da análise de fluxo e capacidade tampão salivar, além de outros, pode-se avaliar ao longo do tempo a efetividade dessas ações através da utilização do diagnóstico baseado na fluorescência tecidual durante as visitas de controle, permitindo o monitoramento de lesões suspeitas ao longo do tempo.

Após terem-se esgotados as possibilidades de não intervenção e todas as medidas preventivas não tiverem surtido o resultado esperado, há uma boa alternativa de acesso ao tecido decomposto através da mecânica proposta, pois ela tem características de proteção ao tecido.

A ozonioterapia foi utilizada após o diagnóstico por fluorescência indicar um valor baixo de sinal (entre 10 e 15 no Diagnodent^R), visando proporcionar alta taxa de desinfecção residual relacionado ao seu alto poder oxidante, evitando-se a extensão do preparo cavitário em maior profundidade. Há evidência científica provando que a dentina após ter sido descontaminada pode se remineralizar (FUSAYAMA et al., 1966; FUSAYAMA et al., 1972; OHGUSHI ; FUSAYAMA, 1973; KUBOKI et al., 1977; WEERHEIJM et al., 1999; BAYSAN et al., 2000; TYAS et al., 2000).

A utilização da ozonioterapia pode revolucionar a Odontologia tradicional, tendo grande impacto no aumento da saúde dental no ser humano e na diminuição do medo do atendimento. Ela tem sido utilizada por muitos anos na Medicina e tem-se mostrado eficiente até na destruição de cepas resistentes de *Staphylococcus aureus* em apenas 5 segundos de exposição a uma solução ozonizada (YAMAYOSHI ; TATSUMI, 1993).

Em 2001, a ozonioterapia foi disponibilizada comercialmente somente aos dentistas ingleses e alemães. Em 2005, o mercado foi estendido para toda a Europa, e está presente em mais de 15 países comercialmente (CureOzoneTM nos EUA e HealOzoneTM na Europa e Canadá).

O ozônio é um potente antibacteriano e tem poder para matar eficientemente a grande maioria dos microorganismos onde é exposto, em poucos segundos, proporcionando mais que 99% de morte bacteriana após 10 segundos de aplicação clínica, com máxima segurança (BAYSAN et al., 2000; 2001), servindo de grande estímulo para sua

inclusão neste trabalho devido sua eficiência e permitir, através do conjunto operacional descrito a diminuição do estresse durante o atendimento.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CARACTERÍSTICAS DO ESMALTE SADIO

A formação do esmalte se dá por diferenciação do folheto embrionário ectodérmico, que é o mesmo que origina os tecidos de revestimento na boca, consistindo de quatro camadas distintas: o epitélio externo do esmalte, o retículo estrelado, o retículo intermediário e o epitélio interno do esmalte (camada ameloblástica). O limite entre o epitélio interno e o tecido conjuntivo da papila dentária será a junção amelo-dentinária.(BHASKAR, 1978).

O esmalte do dente permanente humano é formado a partir da mineralização de uma proteína chamada amebgenina secretada por ameloblastos (figura 1), formando uma capa protetora, acelular, de tecido duro, de espessura variável, circundando a dentina na porção coronária do elemento dental (figura 2), podendo alcançar espessura máxima de 2 a 2,5 mm na região das cúspides até se adelgaçar a uma espessura mínima ao nível do colo dentário.

Devido ao seu alto conteúdo mineral e seu arranjo cristalino, o esmalte é o tecido calcificado mais duro do corpo humano, possibilitando à mastigação e proteção das estruturas subjacentes ao longo da vida. Mas as características estruturais e sua alta dureza tornam-no quebradiço, o que é particularmente evidente quando ele perde sua base de dentina sã.

Uma outra propriedade do esmalte é sua permeabilidade, que é demonstrada através de análise de traços radioativos, permitindo passagem completa ou parcial de

moléculas estudadas, também evidenciada por meio da penetração de substâncias corantes (BHASKAR,1978).

Sua constituição é de 96% de material inorgânico, semelhante à apatita, disposto de maneira compacta e somente 4% de matéria orgânica e água, sendo que a porção orgânica pode chegar a apenas 1,3% do seu peso seco (LARMAS, 2001^A).

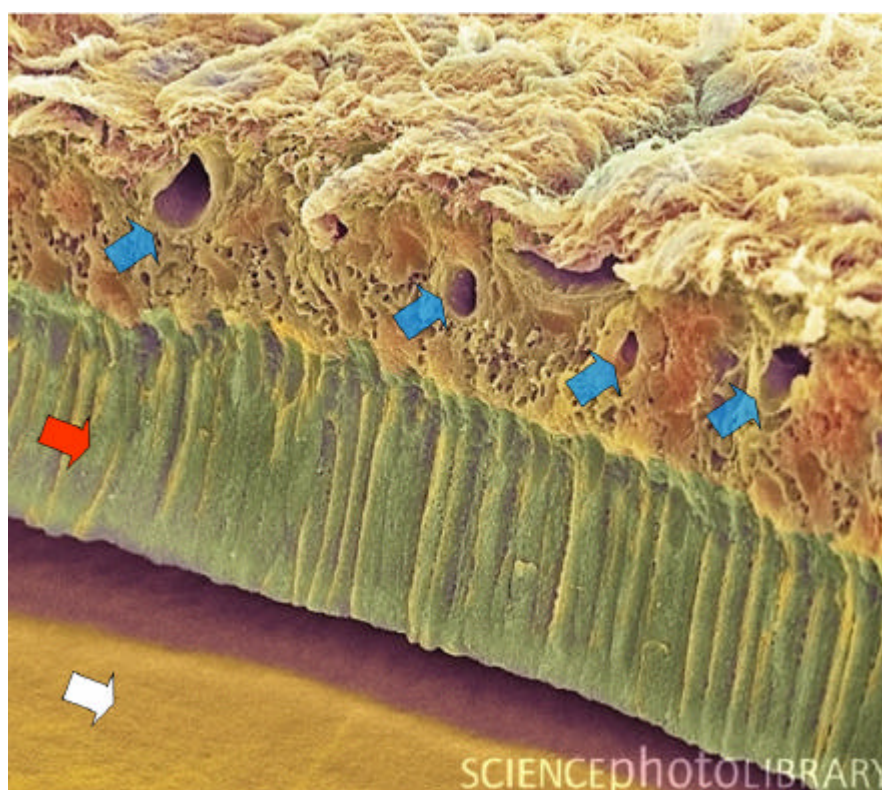


FIGURA 1: Ameloblastos (colunas em verde, seta vermelha) secretando esmalte (camada amarela, indicados pela seta branca); tecido conjuntivo sobre os ameloblastos evidenciando poros (vasos sanguíneos, setas azuis); área em roxo demonstra espaço não existente *in vivo* (Fonte: Adaptado de SciencephotoLibrary.com).

A formação estrutural se dá por prismas, que tem formato de bastões (figura 3) e aspecto de chave-fechadura (figura 4) dispostos de forma ortogonal à junção amelodentinária (figura 2), e uma substância interprismática cimentante (figuras 3 e 4), sendo que os cristais de hidroxiapatita se arranjam paralelamente a eles. Cada cristal é envolvido por um envelope de matriz orgânica (BHASKAR,1978; RISNES, 1989).

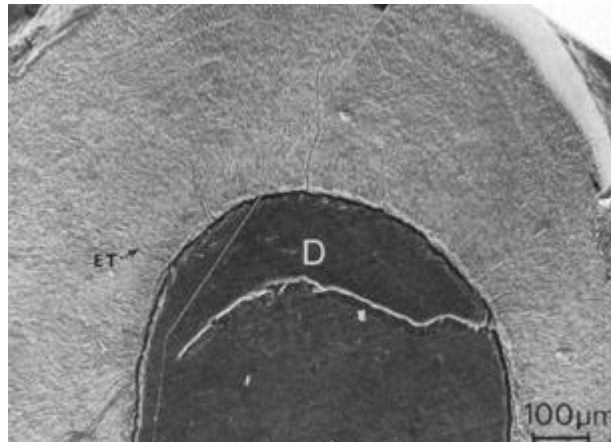


FIGURA 2: Corte transversal de terceiro molar demonstrando estrutura do esmalte circundando o tecido dentinário. A direção dos prismas é ortogonal à junção amelodentinária, mantendo o mesmo arranjo centrípeto até a superfície dentária. Observar D= dentina; ET lesão hipoplásica do esmalte (falha de mineralização tecidual). Adaptado de Risnes, (1989).

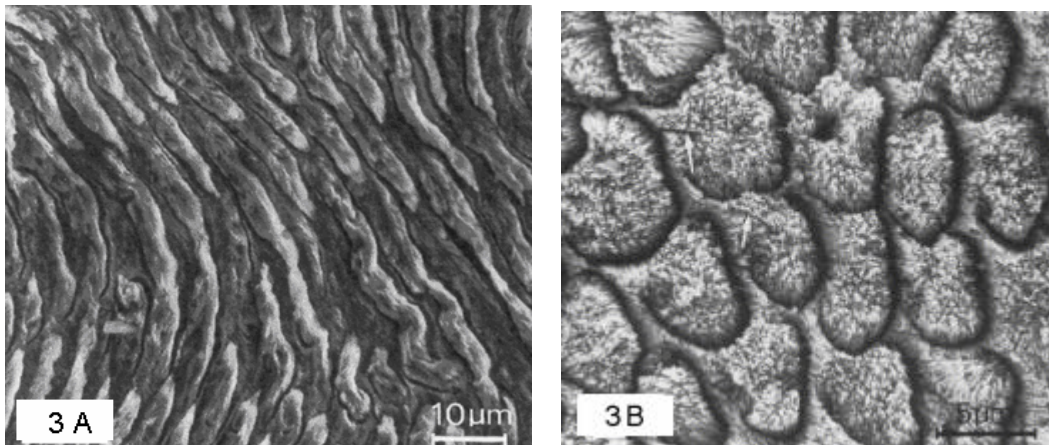


FIGURA 3 A: Corte longitudinal dos prismas de esmalte, demonstrando seu formato cilíndrico, evidenciando substância interprismática. Adaptado de RISNES (1989);
B: Aspecto de chave-fechadura dos prismas de esmalte em corte transversal. Adaptado de Risnes (1989).

2.2 CARACTERÍSTICAS DA DENTINA SADIA

A origem tecidual dentinária vem do mesênquima, a mesma base celular do folheto embrionário que dá origem ao tecido conjuntivo do esqueleto, como a cartilagem, osso,

derme, etc. e apresenta suporte arterial, venoso, linfático e nervoso, diferentemente do esmalte, que é acelular (BHASKAR,1978).

A dentina constitui a maior parte dentária e é a porção mineralizada do complexo dentina-polpa. Como qualquer tecido vivo, ela consiste de células especializadas, os odontoblastos e uma substância circundante peri e intertubular formada por colágeno mineralizado, mostrada na fig. 4 (a) e 4 (b) e na figura 5.

Embora os corpos dos odontoblastos estejam situados na superfície pulpar da dentina, toda a célula pode ser considerada tanto biológica como morfológica, como célula própria da dentina. Em suas propriedades físicas e químicas, a dentina se assemelha muito ao osso. A principal diferença morfológica é que no tecido ósseo o osteócito não está circunscrito, sendo envolto em substância intercelular, enquanto que a dentina contém apenas os prolongamentos citoplasmáticos dos odontoblastos, caracterizando-a como uma estrutura de base orgânica, mais mineralizada que o tecido ósseo.

Ao contrário do esmalte, que é extremamente duro e quebradiço, a dentina está sujeita a deformações leves, e é altamente elástica, apresentando também mais dureza que o osso.

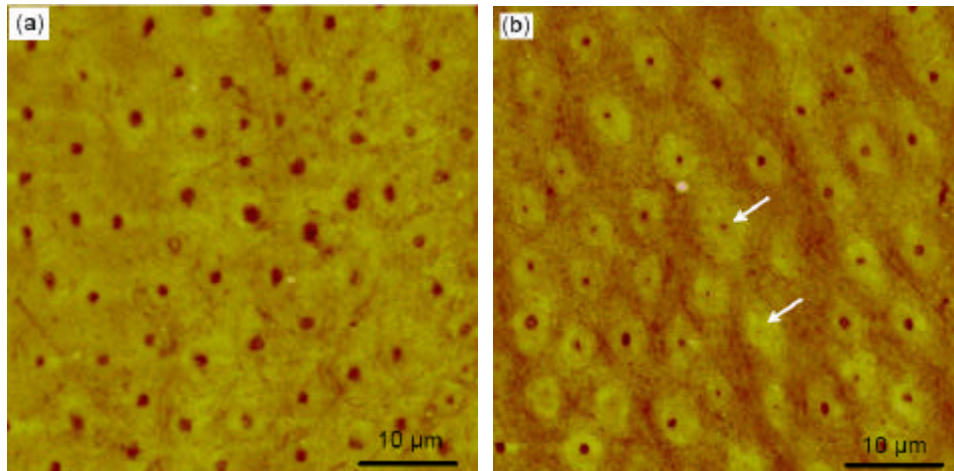


FIGURA 4: Microscopia de força atômica demonstrando dentina em corte transversal de doador jovem com 25 anos de idade em **(a)**, comparado com doador de idoso 67 anos em **(b)**; notar o depósito mineral na dentina intra-tubular, fechando os canalículos em **(b, setas)**; áreas em escuro mostram os lúmens dos túbulos dentinários em **(a)** (Adaptado de NALLA et al., 2005; figura cedida por cortesia ao artigo por M. Balooch).

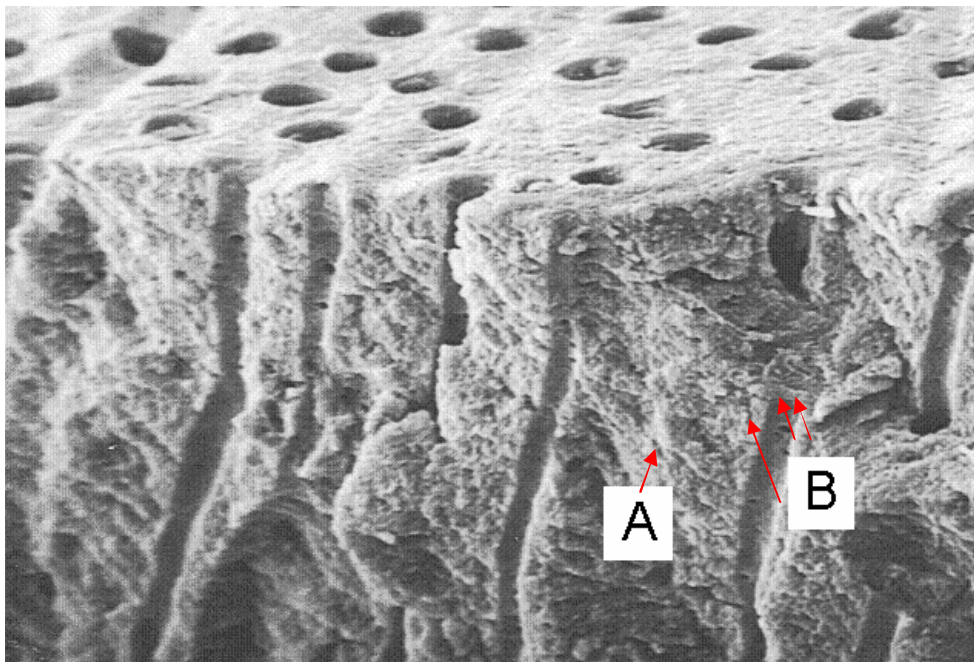


FIGURA 5 Microscopia eletrônica de varredura com aumento de 1500 X, demonstrando em corte longitudinal os canalículos dentinários, evidenciando a dentina intertubular **A** e a peritubular **B** (Adaptado de COSTA ; HERBLING, 2003).

O menor conteúdo de minerais dentinários que o esmalte, e o maior teor orgânico que caracteriza sua estrutura, tornam-na mais radiolúcida. Apesar disso, a dentina é o tecido mineralizado mais abundante do dente. Apresenta uma estrutura basicamente tubular modificando-se ao longo da vida do indivíduo por reações a diversos estímulos, com aposição de minerais na parede interna dos túbulos dentinários (NALLA et al., 2005), mostrada na figura 1. É constituída em peso por 70% de material inorgânico, 18% de material orgânico e 12% de água. A porção mineral da dentina é constituída por cristalitos de hidroxiapatita e fosfato de cálcio, semelhante a do cimento e osso e muito menores que do esmalte. A parte orgânica consiste basicamente de uma matriz de fibrilas colágenas dispostas numa rede irregular e uma substância fundamental de polissacarídeos (BHASKAR, 1978). O colágeno tipo I é a principal proteína formadora, que é ácido-resistente, representando 93% do seu conteúdo orgânico, formando uma rede de disposição irregular coberta por minerais (SOUZA, 1995).

2.3 POPULAÇÕES BACTERIANAS NA BOCA

As características da ecologia da boca a fazem singular em relação ao corpo todo, embora não seja um ambiente com características uniformes. As várias superfícies presentes criam diversos nichos ecológicos, cada um com sua microbiota particular, baseados em fatores físicos e nutricionais que se aplicam àquele lugar específico, aumentando muito sua complexidade. Além disso, as propriedades do microambiente variam constantemente, como consumo de alimentos e a carga glicêmica de cada um, ingestão de líquidos quentes e frios, higiene bucal, fluído salivar, etc. Portanto a boca pode ser considerada um ambiente de “fome ou fartura”. As mudanças não ocorrem apenas durante o dia, mas também durante a vida do hospedeiro. Alterações eventuais, como a ingestão de antibióticos, procedimentos odontológicos, como limpeza e polimento dentário ou colocação de restaurações, podem afetar e alterar a microbiota residente (HARALDSSON, 2005), mudando sua homeostase.

O número de células que constituem o corpo humano é da ordem 10^{14} , mas somente 10% são geneticamente próprias; as células restantes são de microorganismos que fazem parte da microbiota comensal do hospedeiro (HARALDSSON, 2005). Na cavidade bucal, uma vez estabelecida, a placa da microflora permanece relativamente estável ao longo do tempo e isso beneficia o hospedeiro. A composição da microbiota depende muito de seu habitat, mas é relativamente consistente em cada sítio em separado e varia de indivíduo para indivíduo. Em amostras saudáveis de saliva humana há, em média, 10^8 bactérias/ml e a concentração bacteriana no sulco crevicular pode exceder 10^{11} bactérias/ml

(EVALDSSON et al., 1982). De acordo com esse número elevado de bactérias, entre 500 a 1000 espécies podem ser encontradas na cavidade oral (HAFFAJEE et al., 1999; PASTER et al., 2001). Estas diversas bactérias podem ser divididas em duas categorias de acordo com a ocorrência no hospedeiro: flora residente ou transitória (LOESCHE, 1988). A flora normal compõe a microbiota comensal e é quase sempre encontrada em alta prevalência e em grande quantidade no hospedeiro (algumas imagens em microscopia eletrônica de varredura são mostradas na figura 6). Também pode ser chamada de flora residente e em todos os sítios tem um papel fundamental no desenvolvimento da fisiologia normal do hospedeiro, reduzindo as chances de infecção, agindo como barreira a espécies exógenas e freqüentemente patogênicas, oferecendo resistência à colonização (MARSH, 2000; Mc FARLAND, 2000; HARALDSSON, 2005). As espécies transitórias são menos populosas e presentes apenas temporariamente na boca, desaparecendo em tempo relativamente curto. Mas, a proporção de algumas dessas espécies pode ocasionalmente aumentar, devido a circunstâncias ambientais, causando doenças num hospedeiro com imunidade diminuída (HARALDSSON, 2005).

A transmissibilidade bacteriana entre indivíduos tem sido demonstrada. Bebês e crianças estabelecem sua microbiota através de seu relacionamento próximo com quem as cuida com freqüência, especialmente com a mãe (CAUFIELD ; WALKER 1989 ; SOET et al., 1998 ; KLEIN, 2000; KÖHLER ; BRATTHALL, 1978; KÖNÖNEN et al., 1994), mas também com seu pai (REDMO; EMANUELSSON; WANG, 1998), além de contatos com babás e/ou outras crianças de convívio diário (MATTOS-GRANER et al., 2001).

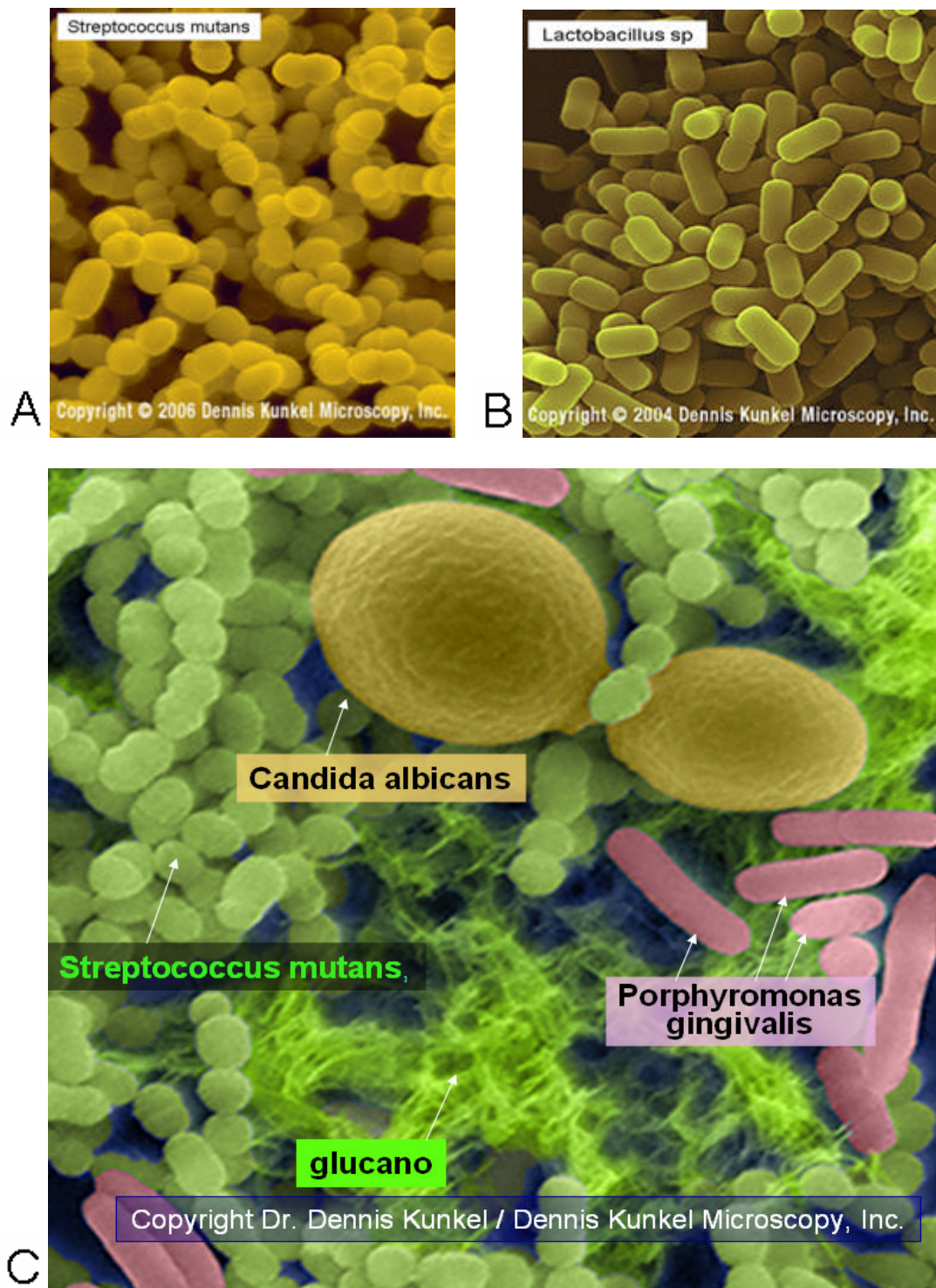


FIGURA 6: Em (A): *S. mutans*; em (B): *Lactobacillus* spp; em (C): associação de bactérias orais discriminadas na cor verde claro: cocos (*S. mutans*), em roxo: bastonetes (*Porphyromonas gingivalis*) e em amarelo: fungos (*Candida albicans*); polímero extra-celular secretado pelo *S. mutans* em verde limão (Imagem provida sob autorização por escrito enviada por Dennis Kunkel / copyright Dennis Kunkel Microscopy, Inc.).

Além disso, clones bacterianos têm sido demonstrados entre pessoas casadas, entre eles patógenos periodontais e *Streptococcus mutans* (SAARELA et al., 1993; REDMO; EMANUELSSON; WANG, 1998), e os mesmos clones bacterianos podem ser identificados frequentemente em todos os membros de uma família (ASIKAINEN et al., 1996; REDMO et al., 1998; SUCHETT-KAYE et al., 1999).

2.4 FORMAÇÃO DA LESÃO DE CÁRIE EM ESMALTE

Numa abordagem inicial, o risco da formação da cárie está ligado primariamente à formação da película adquirida, que é acelular e composta por proteínas salivares e glico-proteínas que se depositam sobre as superfícies dentais, logo após a erupção ou limpeza e onde as bactérias vão inicialmente se aderir (AL-HASHIMI; LEVINE, 1989; HAY; MORENO, 1993).

Em seguida, há formação de polímeros extracelulares bacterianos, que permitem o aglutinamento, o crescimento e a sucessão bacteriana no biofilme. Uma comunidade de bactérias se forma com múltiplas espécies e estão sempre metabolicamente ativas e interagindo entre si, causando flutuações constantes de pH onde estão aderidas. Estas flutuações podem levar à perda mineral tecidual quando o pH está em queda e um ganho de minerais quando o pH da placa se eleva (MANJI et al., 1991).

O efeito cumulativo desta balança remineralizadora e desmineralizadora pode pender para o da perda de minerais, após ciclos sucessivos, levando ao aparecimento da doença cárie em tecidos duros dentários (FEJESKOV, 1997; NYVAD; FEJERSKOV, 1990; KIDD; FEJESKOV, 2004).

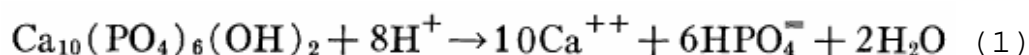
O biofilme tende a se formar onde não haja perturbação mecânica e vários fatores, além do pH gerado pelo biofilme, podem influenciar no desenvolvimento das cáries dentárias, incluindo a composição da dieta, a composição do biofilme, que está relacionado à produção de polímeros extracelulares de glucanos solúveis e insolúveis e hetero-polímeros, favorecendo sua resistência e integridade estrutural. Outros fatores são a co-adesão bacteriana, ligada a sua taxa de replicação, que favorece o aumento da espessura do biofilme, a concentração iônica de fluoretos disponíveis, a taxa de

fluxo e a capacidade tampão salivar, além de outros fatores já citados (FEJESKOV, 1997; MARSH, 2004).

Os sítios onde há prevalência de crescimento bacteriano são a área oclusal, especialmente durante os meses em que o dente está erupcionando, as superfícies proximais cervicais ao ponto de contato e ao longo da margem gengival. Estas áreas são relativamente protegidas da ação mecânica da língua, bochecha, alimentos abrasivos e escovação dentária. Portanto, essas são onde as lesões se tornarão visíveis, geralmente com aspecto de manchas brancas (KIDD; FEJESKOV, 2004).

2.4.1 A DISSOLUÇÃO DA FASE MINERAL DO ESMALTE

A dissolução em meio ácido do esmalte é resultante do ataque do íon hidrogênio a sua porção inorgânica principal: a hidroxiapatita $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, como está descrito a seguir na equação 1 (GRAY, 1962):



Os íons fosfato resultantes na reação acima tem forma acídica e dependerão do pH do sistema. A figura 7 descreve a dissolução do esmalte em diferentes concentrações de ácido láctico, já conhecido na década de 60:

À medida que a concentração de H^+ aumenta, mais e mais fosfato é transformado em íons das espécies HPO_4^{2-} e HPO_4^{4-} (THYLSTRUP; FEJERSKOV, 1986). Assim sendo, devido a essa transformação do fosfato iônico, a solubilidade de todos os fosfatos de

cálcio importantes aumenta à medida que o pH diminui, demonstrado na figura 8. A faixa de produção de ácido bacteriano ocorre num pH entre 4 a 7. Um fator importantíssimo é descrito por Thylstrup e Fejerskov a respeito da dissolução da fase mineral do esmalte: a solubilidade da apatita aumenta 10 vezes para cada unidade de queda de pH que ela é submetida no desafio acidogênico bacteriano. O pH crítico pode ser considerado entre 5,3 a 5,5, valor mínimo a partir do qual há desmineralização. Quando o pH está acima desse valor, há remineralização tecidual (THYLSTRUP; FEJERSKOV, 1986), e no momento que o pH diminui do nível fisiológico, que é em torno de 7, para aproximadamente 5, a solubilidade do esmalte aumenta em torno de 100 vezes (a dissolução é exponencial), indicado na figura 7 (GRAY, 1962) e na figura 8 (THYLSTRUP; FEJERSKOV, 1986).

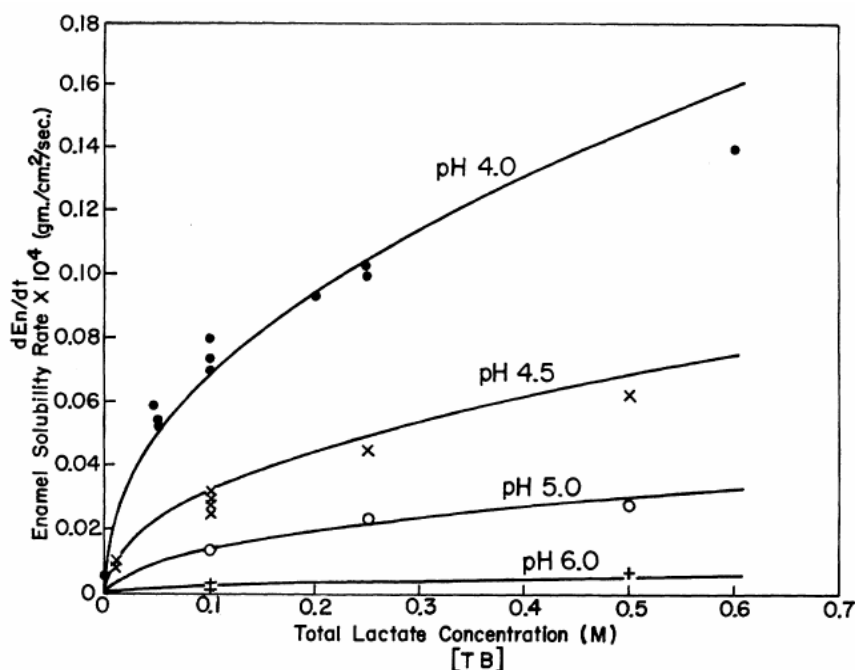


FIGURA 7: Taxa de solubilidade do esmalte relacionada com a concentração total de lactato. Observar que quanto menor o pH que o tecido é exposto, maior a dissolução da fase mineral do esmalte (Fonte: GRAY, 1962).

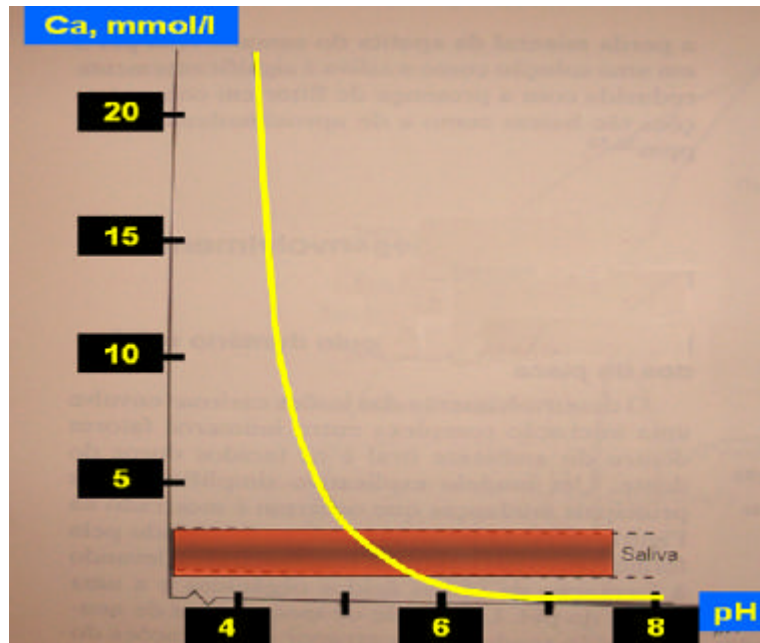


FIGURA 8: Solubilidade da hidroxiapatita como uma função do pH; A proporção entre a concentração de cálcio e fosfato é de 1/2 , similar à encontrada nos fluidos corpóreos. Parece que a solubilidade aumenta rápido com a diminuição do pH; concentrações salivares indicadas (Fonte: Adaptado de THYLSTRUP; FEJERSKOV, 1986).

O único fator capaz de controlar a dissolução progressiva dos minerais dentários no esmalte são os fluoretos, com a substituição da hidroxiapatita pela fluorapatita, que é mais resistente a ácidos bacterianos, mas desde que a lesão não tenha se estendido em profundidade, pois não há grande penetração iônica de fluoretos no corpo da lesão em esmalte (PEARCE et al., 1995). A espessura normal de superfície funciona como barreira de transferência iônica à difusão.

Pearce e colaboradores (1995) em seu estudo por exames de micro-radiografia utilizando aparelho próton probe 2.5-MeV sobre penetrabilidade de fluoretos em lesões de cárie, encontraram apenas 3 lesões onde houve difusão de fluoretos no corpo

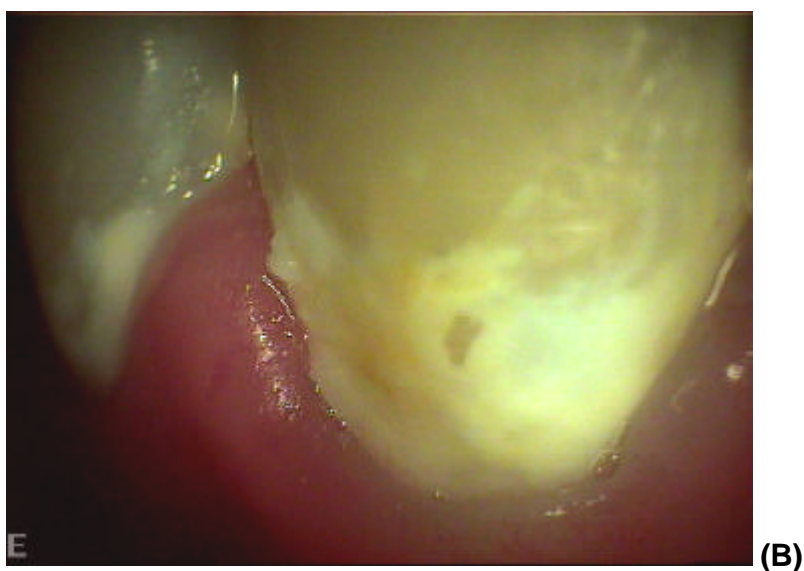
da lesão entre 15 estudadas. Nessas 3 lesões havia uma característica em comum: a pequena espessura do esmalte ou sua baixa densidade mineral, não havendo a penetrabilidade desejada nas 12 outras lesões analisadas de espessura ou de densidade mineral normal, concluindo-se que os fluoretos não podem oferecer proteção em áreas profundas do esmalte, onde eles se fazem mais necessários, pois são impedidos de se difundir, tendo o tecido superficial como barreira iônica, fortalecendo-o maciçamente (PEARCE et al., 1995).

2.5 O FENÔMENO DA LESÃO DE MANCHA BRANCA

A cárie dental é considerada um processo multifatorial e dinâmico caracterizado por alternar períodos de destruição e reparo. Na verdade, é um processo presente na dentição natural que não pode ser evitado ao nível histológico das ultra-estruturas envolvidas. Medidas preventivas, como controle de placa, dieta com redução de frequência de carboidratos e aumento de resistência a ácidos bacterianos relacionada à maior exposição a fluoretos, podem favorecer a remineralização tecidual, aumentando também a dureza do esmalte (WEERHEIJM, 1997). Se houver remineralização, o processo evoluirá formando lesão com aparência esbranquiçada.

O fenômeno das manchas brancas (figura 9), está relacionado ao relativo índice de refração do esmalte, da água e do ar. O índice de refração do esmalte é de 1,62. Na lesão subsuperficial, os poros produzidos pelo ataque ácido bacteriano são preenchidos com um meio aquoso, com índice de refração de 1,33. A diferença nos índices de refração da água e do esmalte afeta o espalhamento ou o *scattering* e faz a lesão ter aparência opaca (diferença entre 1,62 e 1,33). Se a superfície é então seca com jato de ar, com índice de refração de 1,0, há a substituição da água pelo ar nos poros, evidenciando ainda mais a presença da lesão, devido à diferença entre os índices ser ainda maior (1,62 para 1,0). Isso significa que a porosidade patológica pode ser identificada mais obviamente, e lesões em estágios iniciais, geralmente em áreas cervicais onde há acúmulo de massa bacteriana e alimentos fermentáveis, podem ser detectadas através do exame visual, associado à limpeza profilática e do jato de ar. As superfícies que se tornam lesionadas não têm nada que as torna especiais quimicamente para desenvolverem a doença - apenas são suscetíveis ao

desenvolvimento da lesão ão somente porque o biofilme tende a se estagnar lá e se manter “não perturbado” por longos períodos de tempo (KIDD; FEJESKOV, 2004).



FIGURAS 9 (A): Manchas brancas em áreas cervicais (setas);
(B): Mancha branca em detalhe, evidenciando a presença de biofilme bacteriano; Todas as lesões observadas em **(A)** e **(B)** são do mesmo paciente.

2.6 O EFEITO SISTÊMICO DO AÇÚCAR NA DIMINUIÇÃO DO METABOLISMO DO ODONTOBLASTO

A visão tradicional da formação da cárie como resultado principal da ingestão de carboidratos e a sua fermentação por bactérias acidogênicas, sucedidas por bactérias proteolíticas, está sendo complementada por evidência crescente também do efeito sistêmico do açúcar. Estudos recentes provam diminuição da atividade do odontoblasto de 16 a 63% através da alta ingestão de sacarose na dieta (de 41 a 43%), diminuindo sua capacidade de defesa à invasão bacteriana (PEKKALA et al., 2002). A ingestão de alta taxa de glicose perturba o metabolismo do odontoblasto, reduzindo a formação e a mineralização dentinária, além de alterar sua capacidade reacional durante a dentinogênese primária, resultando em rápida progressão da cárie em indivíduos jovens. A concentração crítica de glicose parece estar entre 15 a 30 % (VALIKANGAS et al., 2001; LARMAS, 2003).

2.7 A PROGRESSÃO DA LESÃO DE CÁRIE NA DENTINA

A formação de ácidos microbianos determina a taxa de progressão da lesão cariosa em esmalte, onde o processo é quase que puramente a dissolução da fase mineral (LARMAS, 2001).

Quando o processo de cárie atinge a dentina o micro-ambiente muda. A concentração de componentes orgânicos na dentina é bem maior com cerca de 20% de seu peso desidratado, que difere muito do esmalte com 1,3% do seu peso seco. Os

odontoblastos e seus prolongamentos são o primeiro compartimento celular do hospedeiro envolvidos na doença. O fluído dentinário nos túbulos é o líquido por onde os produtos de dissolução da apatita e componentes da matriz orgânica são destruídos (LARMAS, 2001). Devido às alterações químicas e estruturais na lesão de cárie na dentina, Larmas (2001, 2003) e Magloire (1993) forneceram evidências em seus trabalhos que os processos celulares nessa área regulam a velocidade da progressão da lesão, e induzem a formação de dentina reacional ou terciária para a defesa tecidual, processo que só ocorre se os odontoblastos já tiverem sua fase de formação dentinária completada. O processo de ativação celular reacional da dentina só ocorre a partir da conclusão da formação tecidual do periápice, colocando em risco a capacidade de defesa frente a cáries agudas ou rampantes em dentes que ainda estejam imaturos, (LARMAS, 2001; MAGLOIRE et al., 1992; LARMAS, 2003), atingindo principalmente as crianças.

Tjäderhane e colaboradores (1998), Sulkala e colaboradores (2002) e Chaussain-Miller e colaboradores (2006) evidenciaram bases da ação de enzimas teciduais no processo de destruição do colágeno durante o desenvolvimento da doença cárie, influenciada por Metaloproteinases endógenas (chamadas MMPs, como exemplos a collagenase e a gelatinase presentes no tecido), que são ativadas por queda de pH tecidual em torno de 4,5, reforçando o papel sinérgico das MMPs e de bactérias acidogênicas gram positivas anaeróbias facultativas e microaerófilas na formação da lesão, somados à ação proteolítica de outras espécies, principalmente de gram-negativas anaeróbias restritas, dominantes na cárie média e profunda dentinária e em canais necrosados, com alto poder de decomposição de colágeno, já demonstrado *in vitro* por Larmas e Mäkinen, Sundqvist e colaboradores na década de 70 e por Hoshino na década de 80

(LARMAS; MÄKINEN, 1971; SUNDQVIST et al., 1979; HOSHINO, 1985; TJÄDERHANE et al., 1998; SULKALA et al., 2002; CHAUSSAIN-MILLER et al., 2006).

O predomínio de microrganismos proteolíticos em polpas necrosadas também foi confirmado Dhalén e colaboradores (1980), por Griffée e colaboradores (1980) enquanto que Haapasalo (1993) verificou abundância de espécies de *Prevotella* e *Porphyromonas* nesse tipo de infecção (DHALÉN et al., 1980; GRIFFÉE et al, 1980; SUNDQVIST et al., 1989; HAAPASALO, 1993).

Massey e colaboradores (1993) correlacionaram, mais especificamente, espécies de *Prevotella* à inflamação e dor de origem endodôntica; investigações recentes com marcadores moleculares confirmam grande número de espécies de *Prevotella* ou até o predomínio de espécies com DNA semelhante à *Prevotella*, chamadas *Prevotella*-like, em infecções polimicrobianas de cárie profunda (MASSEY et al., 1993; MARTIN et al., 2002; MUNSON et al., 2004; NADKARNI et al., 2004; CHHOUR et al., 2005).

Segundo Munson e colaboradores (2004), as bactérias odontopatogênicas coexistem na dentina cariada num complexo ecossistema que está sempre mudando, dividido principalmente em dois habitats fechados: a zona mais superficial de dentina necrótica, macia, e irreversivelmente desmineralizada e a zona mais profunda, sem infecção e reversivelmente mineralizável (FUSAYAMA et al., 1972; MUNSON et al., 2004). A flora cultivável da dentina cariada possui *S. mutans*, *Lactobacillus casei*, *Actinomyces* spp e *Veillonella* spp em ordem decrescente de número. No *front* da lesão encontram-se principalmente espécies anaeróbias restritas. Enquanto bactérias do grupo estreptococcus (que degradam glicoproteínas salivares como fonte energética) terão dificuldade de sobreviver sob restaurações "seladas", bactérias com atividade

proteolítica de crescimento lento serão capazes de sobreviver extraindo nutrientes que se difundem através dos túbulos dentinários (MUNSON et al., 2004).

A partir do estudo de Weerheijm e colaboradores (1989, 1992^A e 1992^B), Pearce e colaboradores (1995), Walker e colaboradores (1998), e de Kidd e Fejerskov (2004), pode-se refletir a respeito da formação de cáries ocultas em áreas de risco (áreas proximais ou sulcos oclusais), onde o esmalte pode ser desmineralizado gradualmente e invadido. A figura 10 mostra uma lamela como possível meio de invasão, demonstrando que a dentina (superficial e profunda) pode já estar atacada de forma insuspeita, principalmente por bactérias anaeróbias restritas, que são predominantes na cárie dentinária (HOSHINO, 1985, WEERHEIJM et al., 1989, 1992^a, 1992^b; PEARCE et al., 1995; WALKER et al., 1998; KIDD; FEJERSKOV, 2004).

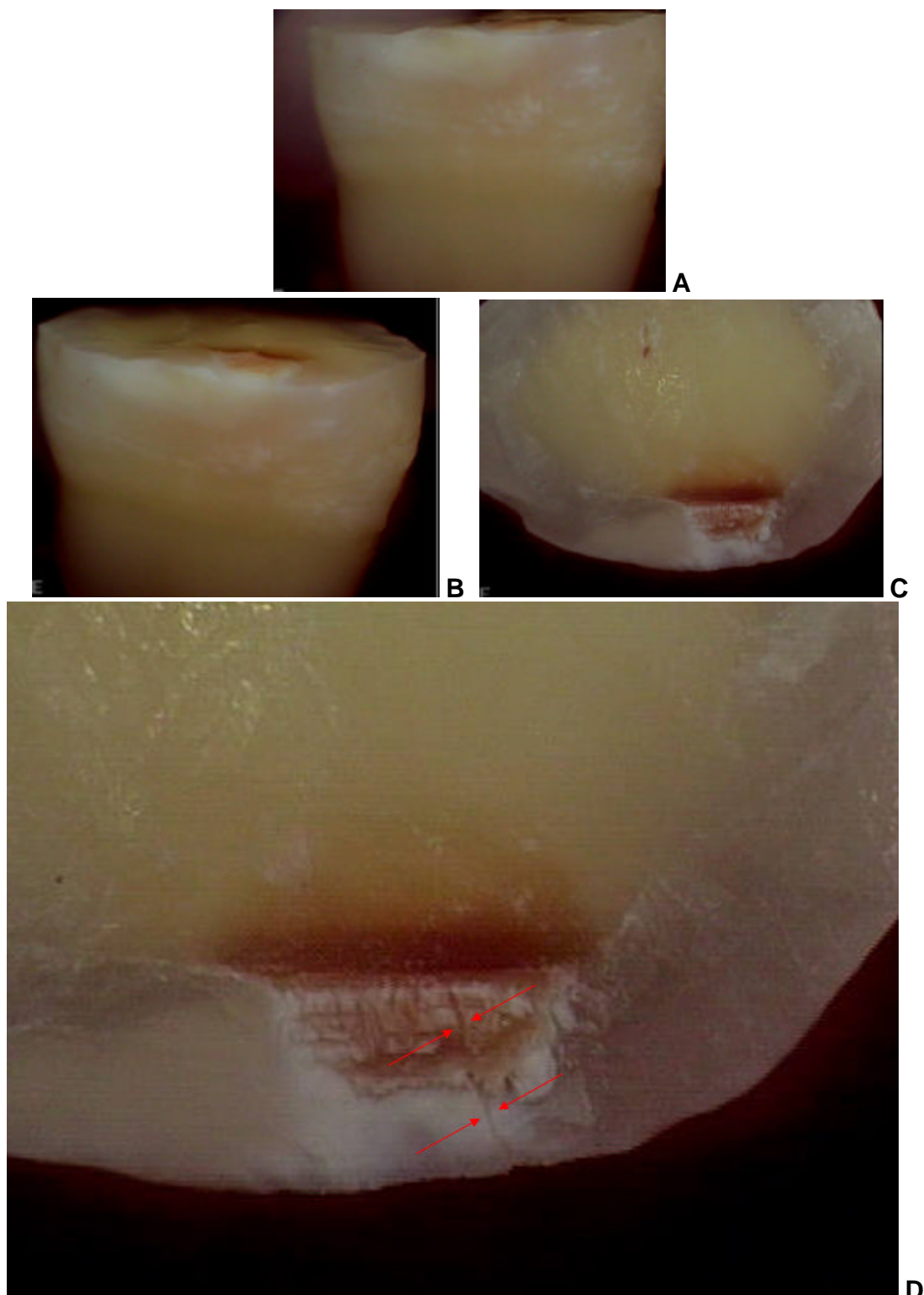


FIGURA 10: Dente cortado transversalmente evidenciando lesão de mancha branca na superfície proximal (A), e cárie dentinária em (B) e (C), demonstrando que cáries ocultas já em dentina podem ocorrer sob manchas brancas no esmalte; maior aumento em (D), mostrando uma lamela em detalhe (setas); imagem captada por câmera intra-oral.

2.8 PRINCIPAIS BACTÉRIAS PROTEOLÍTICAS LIGADAS À CÁRIE DENTINÁRIA E À PRESENÇA DE FLUORÓFOROS ESPECÍFICOS

As populações bacterianas envolvidas em cáries dentais são reconhecidas como altamente complexas e variáveis e não foram ainda completamente identificadas, apesar de que os organismos-chave são geralmente reconhecidos em associação com a progressão da doença; as bactérias envolvidas no desenvolvimento dos estágios iniciais da cárie, particularmente as streptococci do grupo mutans e lactobacilli, acidúricas e acidogênicas, anaeróbias facultativas e micro-aerófilas, mantêm o micro-ambiente em pH ácido, que provoca a desmineralização do esmalte e não apresentam intensidade de fluorescência considerável para diagnóstico inicial quando excitados com laser vermelho, utilizado pelo diagnóstico induzido por fluorescência Diagnodent^R (KÖNIG et al., 1993; VAN HOUTE, 1994; HIBST; PAULUS, 1999^A; HIBST; PAULUS, 1999^B; HIBST et al., 2001; LOVE; JENKINSON, 2002; LENNON et al., 2006).

Quando a cárie avança ao tecido dentinário ocorre a exposição das fibrilas colágenas ao longo do tempo através da desmineralização dos micro-cristais de sua superfície. Sabe-se que o colágeno é ácido-resistente, portanto a destruição da proteína mais abundante do tecido dentinário ocorre através da ação de enzimas chamadas proteinases, que eram reconhecidamente oriundas de bactérias apenas, mas investigações recentes evidenciam que elas também podem ser endógenas (oriundas do próprio hospedeiro), chamadas Metaloproteinases ou MMPs, perfazendo cerca de 24 genes específicos identificados, como colagenase 1 ou MMP-1, colagenase 8 ou MMP-8, colagenase 13 ou MMP-13, gelatinase A, gelatinase B, MT1-MMP, MT2-MMP, entre diversas outras (TJÄDERHANE et al, 1998; PEKKALA et al. 2001; LOVE;

JENKINSON, 2002; CHAUSSAIN-MILLER et al., 2006), e se ativam a partir da neutralização após cada queda acentuada de pH (KAWASAKI; FEATHERSTONE, 1997).

A transição das bactérias predominantemente gram-positivas anaeróbias facultativas na fase inicial, para bastonetes e cocos anaeróbios gram-positivos e bastonetes anaeróbios gram-negativos na cárie profunda leva a ocorrência da proteólise pela ação enzimática bacteriana, levando entre outros efeitos à liquefação do tecido dentinário (LARMAS; MÄKINEN, 1972; HOSHINO, 1985). Alguns exemplos de bactérias anaeróbias restritas presentes na boca são: *Clostridium* spp, *Fusobacterium* spp, *Porphyromonas* spp, *Eubacterium* spp, *Propionibacterium* spp, *Bifidobacterium* spp, *Peptostreptococcus* spp, *Veillonella* spp, *Selenomonas* spp, *Leptotrichia* spp, *Prevotella* spp (LARMAS; MÄKINEN, 1972; HOSHINO, 1985; KÖNÖNEN et al., 1999; LOVE; JENKINSON, 2002; MUNSON et al., 2004).

Os primeiros pesquisadores a associarem diretamente as espécies de bacteróides produtores de pigmento negro ao processo avançado de cárie associado a alterações pulpares inflamatórias severas foram Massey e colaboradores (1993), que encontraram significativa correlação entre o número de microrganismos *Prevotella intermedia* e *Prevotella melaninogenica* na cárie profunda dentinária aos efeitos degenerativos da polpa dental através de análise histológica e de sintomatologia associada (identificando infiltrado inflamatório pulpar e dor, após análise de 64 dentes extraídos de pacientes com pulpíte que rejeitaram o tratamento endodôntico e optaram pela exodontia), não havendo associação importante aparente entre outros microrganismos com o resultado histopatológico (MASSEY et al., 1993).

Antes de 1993, estas espécies eram conhecidas indistintamente como Bacteróides Produtores de Pigmento Negro (BPPN), anaeróbios restritos, gram-negativos, não esporulados, bastonetes pleomórficos, proteolíticos (SIQUEIRA JR, 1997).

Shah e Collins propuseram que o genus Bacteróides fosse dividido em três gêneros (SHAH; COLLINS, 1988):

1. Bacteróides sensu strictu: consistindo em microrganismos sacarolíticos, não pigmentadores (ex.: *B. fragilis*);
2. Prevotella spp: consistindo em microrganismos moderadamente sacarolíticos, bile-sensíveis, espécies predominantemente encontradas na boca (ex.: Prev.. malaninogenica e Prev. intermédia);
3. Porphyromonas spp: geralmente consistindo de microrganismos assacarolíticos, pigmentadores negros, produtor de colagenase, pode ser considerado como um dos mais tóxicos dos bacteróides (SIQUEIRA JR, 1997);

Paster e colaboradores (1994) descreveram a estrutura filogenética dos subgrupos dos cytophaga-flavobacterbacteroides, de forma mais completa, mostrada na figura 11 (PASTER et al., 1994).

Martin e colaboradores (2002) realizaram pesquisas em canais infectados através da análise molecular de DNA (*PCR*), e encontraram presença bacteriana de espécies anaeróbias restritas em abundância, confirmando estudos iniciais de Hoshino (1985) (HOSHINO, 1985; MARTIN et al., 2002).

A importância do gênero Prevotella em número na cárie profunda, na correlação com sintomatologia pulpar e na presença em canais infectados é reconhecida por vários

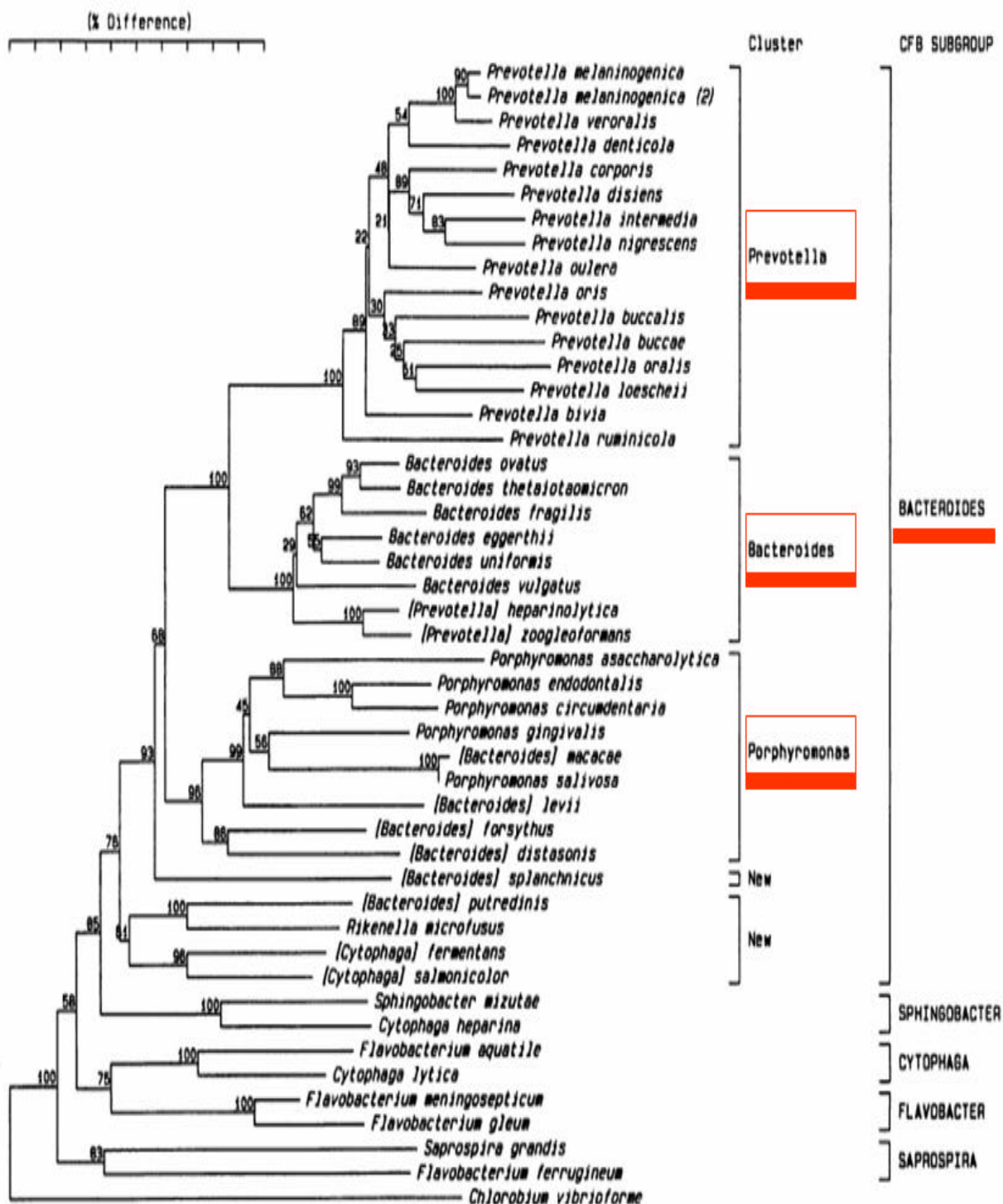


FIGURA 11: Árvore filogenética dos Gêneros *Bacteroides*, *Prevotella* e *Porphyromonas*, que são um subgrupo das cytophaga-flavobacter-bacteroides (CFB), um dos 10 grupos que representam todas as bactérias catalogadas. Fonte: Adaptado de Paster et al. (1994).

autores (MASSEY et al., 1993; MARTIN et al., 2002; MUNSON et al., 2004; NADKARNI, et al., 2004; CHHOUR et al., 2005) e é de grande importância espectroscópica (SOUKOS et al., 2005; LENNON et al., 2006).

Há forte evidência que a detecção de cárie por fluorescência está baseada principalmente na absorção espectral da protoporfirina IX, molécula orgânica intensamente foto-sensível quando excitada na banda do violeta (figura 12), e com menor intensidade na região do vermelho (632 nm), emitindo pico de fluorescência na faixa do infra-vermelho próximo (KÖNIG et al, 1993; HIBST; GALL, 1998; HIBST; PAULUS, 1999^a; HIBST; PAULUS, 1999^b; HIBST et al., 2001, SOUKOS et al., 2005; LENNON et al., 2006), sendo encontrada na superfície bacteriana e como metabólito principalmente nas espécies de *Prevotella* (SOUKOS et al., 2005).

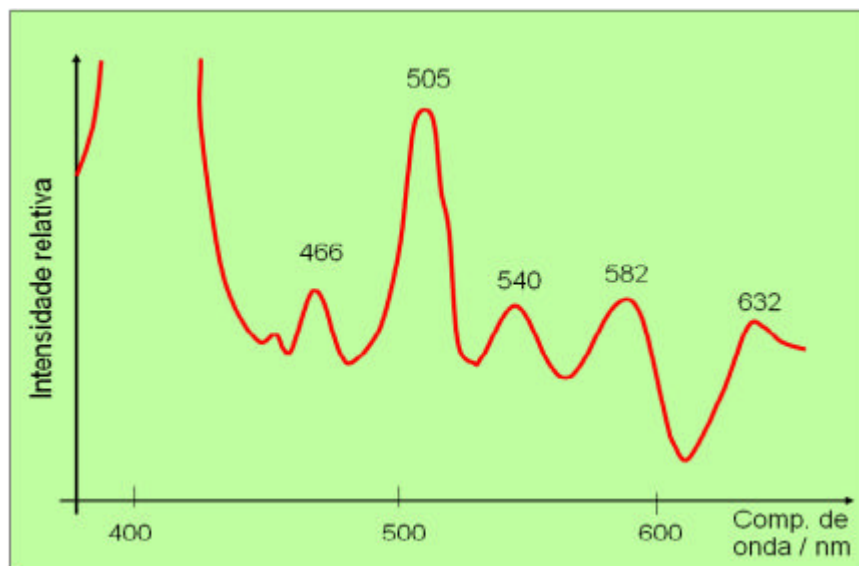


Figura 12 Gráfico representando a intensidade relativa de absorção do tecido cariado para diferentes comprimentos de onda de excitação; Notar a forte absorção na região do violeta (400 nm) e com menor intensidade também na região do vermelho (632 nm); Fonte: Adaptado de KÖNIG et al., 1993.

A protoporfirina pode ser rastreada também em outras espécies de microrganismos, mas com sinal fluorescente de menor intensidade quando excitados com luz laser violeta (407 nm), como *Proteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Actinomyces odontolyticus* e *Cândida albicans* (KÖNIG et al., 1993), sendo esta última considerada extremamente proteolítica por Larmas e Mäkinen (1971), e espécies de *Actinomyces israeli* e *naeslundii*, que emitem cerca de um terço do sinal da *Prevotella intermedia* (LENNON et al., 2006).

Porphyromonas. gingivalis, *Prevotella intermedia* e *Prevotella nigrescens* têm sido implicadas com a iniciação e progressão de periodontite em estudos da década de 90 (DAHLÉN, 1993; HAAPASALO, 1993; SMALLEY et al., 1998).

Há forte evidência que a microbiota de canais radiculares infectados é semelhante à flora de bolsas periodontais em pacientes com doença periodontal ativa, em estudos de pacientes sem atividade patológica periodontal (HAHN et al., 1991; HAFFAJEE et al., 1999; HAFFAJEE; SOCRANSKY, 2000; MARTIN et al., 2002; TRONSTAD; SUNDE, 2003), confirmado através de espectroscopia de DNA bacteriano (análise de reação de cadeia de polimerase – PCR) e indicando desde a presença moderada até o predomínio de bactérias com semelhança de DNA com o gênero *Prevotella*, chamadas *Prevotella-like*, 40 vezes mais presentes por identificação de DNA, se comparados às análises anteriores por cultura (MARTIN et al., 2002; NADKARNI et al., 2004; CHHOUR et al., 2005).

Através desses estudos pode-se dizer que praticantes da Dentística Restauradora quando tratam a doença cárie em dentina, deparam-se com bases microbiológicas semelhantes à Periodontia e à Endodontia, e o diagnóstico precoce por fluorescência pode ser extremamente benéfico ao profissional e ao paciente quanto aos riscos.

Soukos e colaboradores (2005) realizaram terapia fotodinâmica em pacientes com periodontite, conseguindo êxito na destruição de bactérias produtoras de pigmento. As BPPN têm necessidade de produzir protoporfirina IX como passo intermediário para a transferência de elétrons em sua respiração anaeróbica (*Prevotella* spp, *Porphyromonas* spp, além de outras), recobrando sua superfície em abundância nessas espécies (SOUKOS et al., 2005). Seus estudos evidenciaram altas concentrações de protoporfirina endógena na ordem de 267 ng/mg na *Prevotella intermedia*, 47 ng/mg na *Prevotella nigrescens*, 41 ng/mg na *Prevotella melaninogenica* e 2,2 ng/mg na *Porphyromonas gingivalis*. Porcentagens de várias porfirinas presentes em cada espécie estão demonstradas na tabela 1 (SOUKOS et al., 2005).

TABELA I: Concentração de diversos tipos de porfirinas não metálicas produzidos por Bactérias orais produtoras de pigmento negro (Fonte: Adaptado de SOUKOS et al., 2005);

Porphyrin contents expressed in BPB

Porphyrin	% of porphyrin content of:			
	<i>Prev. intermedia</i>	<i>Prev. nigrescens</i>	<i>Prev. melaninogenica</i>	<i>P. gingivalis</i>
Uroporphyrin		33	2	
Heptacarboxyl porphyrin		16		
Hexacarboxyl porphyrin				
Pentacarboxyl porphyrin				
Isocoporphyrin				
Coproporphyrin	17		12	100
Protoporphyrin	83	51	85	

Esses estudos moleculares trazem uma nova compreensão da cárie e sua complexidade bacteriana, sendo que a decomposição dentinária ocorre em ambiente anaeróbico restrito (HOSHINO, 1985; MARTIN et al., 2002) e sub-produtos metabólicos podem ser rastreados (HIBST; PAULUS, 1999^A; HIBST; PAULUS, 1999^B, HIBST et al., 2001; IWAMI et al., 2003; IWAMI et al., 2004; EBERHARD et al., 2005; FIGUEIREDO et al. 2005; IWAMI et al., 2006), tendo o gênero *Prevotella* interesse especial por sua espectroscopia de fluorescência (HIBST et al., 2001; SOUKOS et al., 2005; LENNON et al., 2006), além de outras espécies anaeróbias menos fluorescentes (KÖNIG et al., 1993).

As bactérias anaeróbias produtoras de pigmento negro (BPPN) dependem enormemente para sua respiração e crescimento de fonte externa de ferro, acumulando em sua superfície um pigmento negro que consiste basicamente de μ -oxibisheme de ferro-protoporfirina IX (PpIX) principalmente na *Porphyromonas gingivalis* e hematina (ferro monomérico PpIX) na *Prev. intermédia* e *Prev. Nigrescens* (SMALLEY et al., 1998; SOUKOS et al., 2005). Apesar da protoporfirina metálica (ligada ao ferro) ser predominante nessas espécies, elas também acumulam grande montante de protoporfirina não metálica (Pp IX livre de ferro) que é fotosensível, perfazendo em até 51% do peso da *Prevotella nigrescens*, 83% da *Prevotella intermédia* e 85% da *Prevotella melaninogenica*, tornando-as muito importantes em termos espectroscópicos (SOUKOS et al., 2005, tabela 1).

A terapia fotodinâmica da cárie com embasamento espectroscópico provavelmente será a base tratamento da cárie no futuro (detecção por fluorescência e *pdt* com ou sem fotosensibilizadores aplicados, podendo contar com componentes das próprias bactérias para sua realização).

Martin e colaboradores (2002) foram os pioneiros a estudar a microbiologia da dentina cariada profunda e encontrar correlação entre presença de bactérias gram-negativas anaeróbias restritas e pulpite crônica, enfatizando em número principalmente a espécie *Prevotella* (82 X mais quantidade que demonstrado em cultura pura), associando técnica convencional de cultura e análise molecular PCR em tempo real (quantificação de DNA bacteriano através de fluorescência, identificando precisamente espécie e quantidade bacterianas). Métodos convencionais de cultura subestimam o número de microrganismos anaeróbios presentes (MARTIN et al., 2002).

A análise PCR (reação em cadeia da polimerase) em tempo real demonstrou contagem total de anaeróbios 41 vezes maior que o método convencional de contagem de culturas para anaeróbios; para *Fusobacterium* ssp. a detecção foi de 2,4 vezes maior, respectivamente (MARTIN et al., 2002). A análise por esse método também provou a associação microbiana de diversas espécies, entre elas a *Fusobacterium*, *Porphyromonas endodontalis*, *Prevotella* spp e *Peptoestreptococcus* com a mais severa categoria de inflamação pulpar (MARTIN et al., 2002). Análises semelhantes encontraram os mesmos microrganismos em canais radiculares infectados (SUNDQVIST, 1994; LANA et al., 2001), além de espécies de Bacteróides (*Prevotella* e *Porphyromonas*), *Fusobacterium* e *Peptoestreptococcus* estarem fortemente ligadas a destruição de tecido periapical (SUNDQVIST et al., 1979, 1989).

Modelos em animais demonstraram potencial patogênico e sinergismo entre bactérias produtoras de pigmento negro em infecções anaeróbias (MacDONALD et al., 1963), particularmente em associação com *Fusobacterium nucleatum* (BAUMGARTNER et al., 1992) e com *Peptoestreptococcus* (VAN DALEN et al., 1998).

As bactérias anaeróbias estritas possuem moléculas exclusivas altamente tóxicas chamadas LPS (lipopolissacarídeos ou endotoxinas) que são liberadas em forma de vesículas ou por ruptura da parede do microrganismo. Provocam destruição tecidual de forma indireta, pois promovem a ativação de macrófagos, com conseqüente liberação de citocinas, entre elas fatores de necrose tecidual, prostaglandinas e radicais oxigenados, todos esses considerados mediadores químicos da inflamação e reabsorção óssea (SIQUEIRA JR, 1997).

Sabe-se que há formação de dentina reacional através de células indiferenciadas da polpa e/ou da camada pré-odontoblástica para a defesa pulpar, mas somente há adesão dessas células à pré-dentina com apoptose (morte programada e não tóxica ao tecido) do odontoblasto (LARMAS, 2003).

2.9 A MICRODUREZA TECIDUAL DO TECIDO SADIO E CARIADO COMO BASE DA TÉCNICA MECÂNICA ATRAUMÁTICA

O conceito clássico da remoção da cárie dentária baseia-se na remoção de toda a dentina cariada, incluindo a região infectada e a região afetada da dentina (até se ouvir o chamado grito dentinário, causado por qualquer instrumento rígido ao atritar na dentina rígida), mas uma nova ótica ganha cada vez mais força baseando-se nos conceitos da Odontologia minimamente invasiva (TYAS et al., 2000).

Fusayama e Terashima (1972), Ohgushi (1973), Ohgushi e Fusayama (1975) e Kuboki e colaboradores (1977) evidenciaram duas camadas dentinárias cariadas distintas: uma mais superficial necrótica, altamente infectada e desmineralizada, sem processos odontoblásticos e sem capacidade de se remineralizar fisiologicamente; a outra

camada mais profunda se apresenta parcialmente desmineralizada, com vitalidade e é remineralizável. A possibilidade da camada mais profunda da dentina, que é denominada afetada, mineralizar-se depende diretamente de uma descontaminação eficiente através da remoção da camada infectada. Essa porção afetada, que se encontra enfraquecida, apresenta fibrilas colágenas e dentina peritubular intactas, processos odontoblásticos e túbulos não infectados por microorganismos (FUSAYAMA et al., 1966; FUSAYAMA; TERASHIMA, 1972; OHGUSHI, 1973; OHGUSHI; FUSAYAMA, 1975; KUBOKI et al., 1977; BEELEY, et al., 2000).

A remoção da dentina cariada é considerada uma fase crítica no preparo cavitário, pois implica na retirada do esmalte e da dentina desorganizadas irreversivelmente, sem inclusão do tecido sadio, que deve ser preservado, por ser o melhor material de proteção para a polpa dental, mas de difícil execução clínica de forma atraumática, devido à subjetividade dos marcadores teciduais para se delimitar onde há o limite entre sadio e infectado, numa abordagem tradicional de diagnóstico e tratamento. É comum a remoção da cárie incluindo tecido sadio que leva ao trauma tecidual ou a permanência de cárie remanescente após o término do preparo cavitário (LOPES et al., 1987; BANERJEE et al., 1999; 2000^A).

Estudos sobre a micro-dureza e sua relação com a estrutura dentária datam do final da década de 20 e década de 30 (PROELL; SCHUBERT, 1928; RICHTER, 1931; VAN HUYSEN et al., 1933; 1935; HODGE; MCKAY, 1933; HODGE, 1937; WRIGHT et al., 1938) os quais constituíram a base bibliográfica do estudo realizado por Craig e colaboradores (1959), os quais demonstraram valores médios para a micro-dureza da dentina sadia de 68 KHN (CRAIG et al., 1959). No trabalho de Fusayama e colaboradores (1966) foram analisadas amostras de dentes cariados e sadios, com a

respectiva análise de micro-dureza demonstrado na figura 13. A micro-dureza do tecido sadio é elevada, assim como a da dentina reacional, enquanto que o tecido infectado e a dentina sadia próxima à polpa apresentam valores de baixa microdureza (FUSAYAMA et al., 1966; KUBORI et al., 1977).

Em outro estudo, Ogawa (1983) e colaboradores encontraram valores médios de microdureza para a dentina cariada valores menores que 20 Knoop, e para a dentina translúcida em torno de 60 Knoop, mostrado na figura 14. Os valores de micro-dureza na zona subtranslúcida e os encontrados no tecido irreversivelmente decomposto coincidem com números encontrados por Lussi (1991) e também por Banerjee e colaboradores (1999^{a,b}) e são próximos aos de FUSAYAMA e colaboradores (1966) (FUAYAMA et al. , 1966; OGAWA et al.,1983; LUSSI, 1991; BANERJEE et al., 1999^{a,b}).

Lussi (1991) avaliou amostras de tecido sadio, encontrando no esmalte valores de

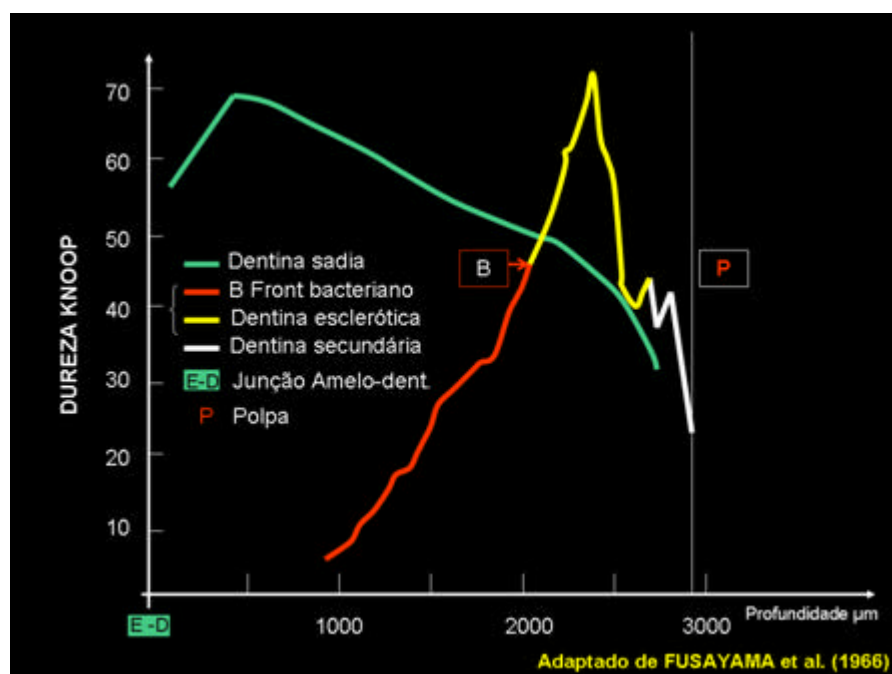


FIGURA 13: Gráfico mostrando a relação entre micro-dureza Knoop entre tecido cariado, dentina de reação e dentina sadia dentina secundária, E, junção amelo-dentinária; B, *front bacteriano*; P, parede da câmara pulpar (Fonte: Adaptado de Fusayama et al., 1966).

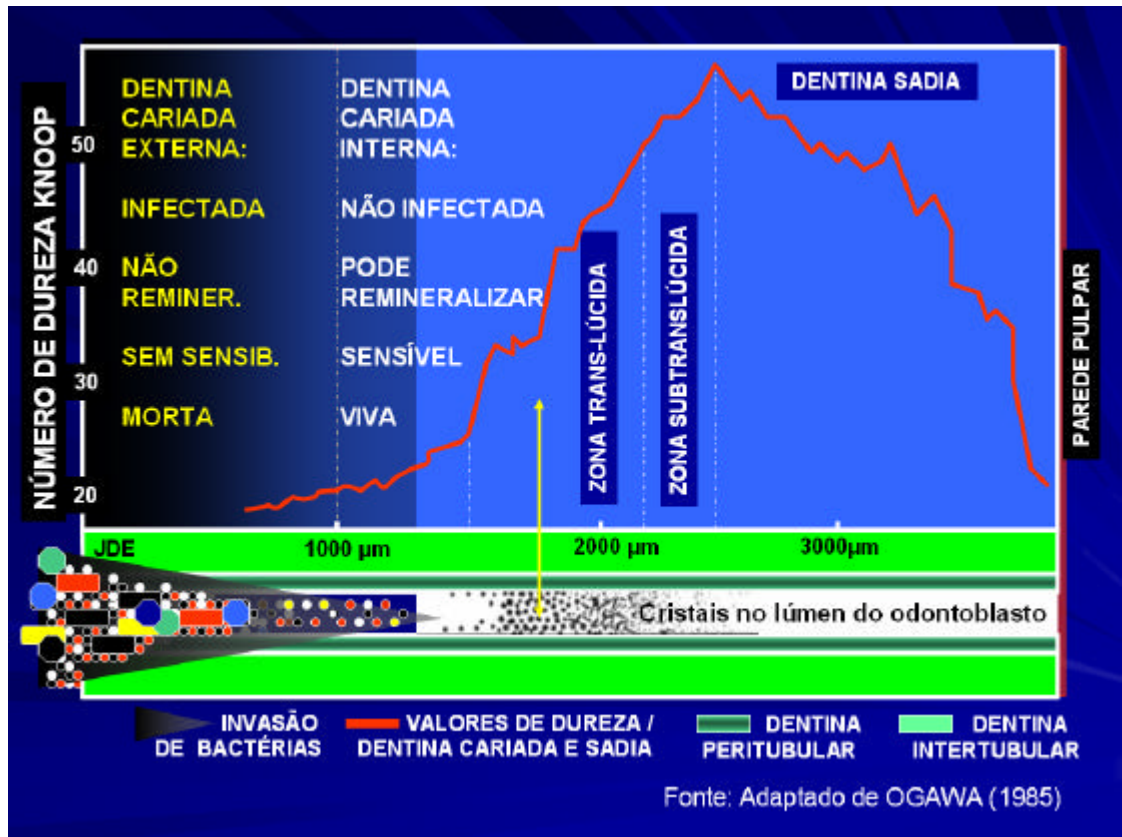


FIGURA 14: Gráfico mostrando valores dureza Knoop da dentina cariada externa, dentina cariada interna, camadas subtransparente e transparente dentinárias. Observar o pico de dureza de quase 60 Knoop na zona subtranslúcida e o baixo valor de dureza Knoop na dentina irreversivelmente destruída e na região dentinária próxima à polpa. Fonte: Adaptado de Ogawa et al. (1983).

microdureza médio de 300 Knoop e 60 Knoop na dentina; nas amostras de tecido cariado obteve valores significativamente menores em média, observando valores de 60 Knoop para o esmalte e 20 Knoop para dentina (LUSSI, 1991).

Van Strijp e colaboradores (1992) também estudaram a ação proteolítica bacteriana após produzirem desmineralização em peças de dentina submetendo-as à ação bacteriana *in situ* registrando grande desintegração de colágeno de até 47%, associando cocos e bastonetes anaeróbios à destruição tecidual (VAN STRIJP et al., 1992).

Outro trabalho que relaciona baixo grau de micro-dureza do tecido cariado ao alto índice de infecção bacteriana foi apresentado por Kidd e colaboradores (1996), que avaliaram 564 dentes, concluindo que toda a dentina amolecida deveria ser removida na junção amelo-dentinária para garantir menor risco de infecção residual para as camadas subjacentes (KIDD et al., 1996).

Weerheijm e colaboradores (1999) concluíram que a completa remoção da dentina cariada ainda é a melhor opção para o tratamento conservador, seja qual for o material restaurador a ser empregado, após avaliar a dentina cariada remanescente após 2 anos, seladas com restaurações de amálgama de prata ou ionômero de vidro (WEERHEIJM et al., 1999). Cobrir tecido cariado na esperança que haja paralisação da atividade bacteriana pode repercutir em aumento de espécies anaeróbias restritas na dentina superficial e profunda (HOSHINO, 1985; WEERHEIJM et al., 1999; MUNSON et al., 2004), obtendo-se o efeito oposto ao desejado.

Banerjee e colaboradores (1999^{A,B}) também avaliaram os tecidos cariado e sadio dentinários, relacionando autofluorescência em áreas mais infectadas à menor microdureza Knoop (figura 15). Os valores obtidos foram de 10,57 Knoop para a área marrom escura até 64,17 Knoop para a dentina sadia. A remoção do tecido cariado com escavadores pode ser guiada pela ausência de dureza apresentada pela dentina, sendo terminada quando a dentina se apresentar novamente rígida. Após avaliação com microscopia confocal a laser, foi concluído, através desse trabalho, que o dentista pode se guiar pela baixa microdureza que caracteriza o tecido cariado e a alta dureza apresentada pela zona translúcida, podendo representar uma fronteira entre o tecido sadio livre de bactérias e o infectado, decomposto irreversivelmente (BANERJEE, 1999^A; BANERJEE, 1999^B).

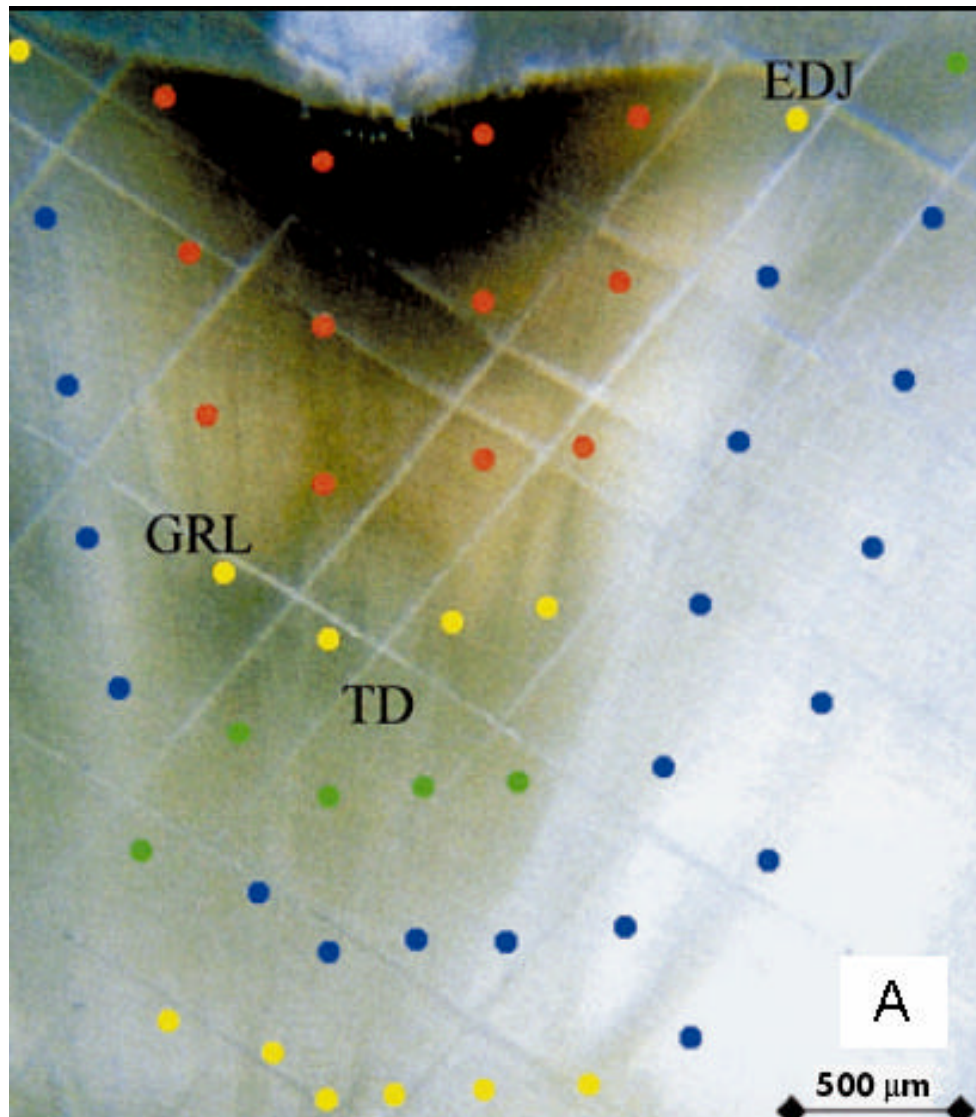


FIGURA 15 A: fotomicrografia de lesão oclusal em dentina com lesão marrom escura subjacente ao limite amelo-dentinário (EDJ), passando a marrom, marrom clara e translúcida (TD) em direção à polpa (abaixo da imagem); GRL: grade com linhas de referência; Pontos superpostos coloridos mostram valores de dureza KNOOP (KHN);

- 10-40 KHN
- 40-49 KHN
- 50-55 KHN
- > 55 KHN

(Fonte: Adaptado de Banerjee et al., (1999^b).

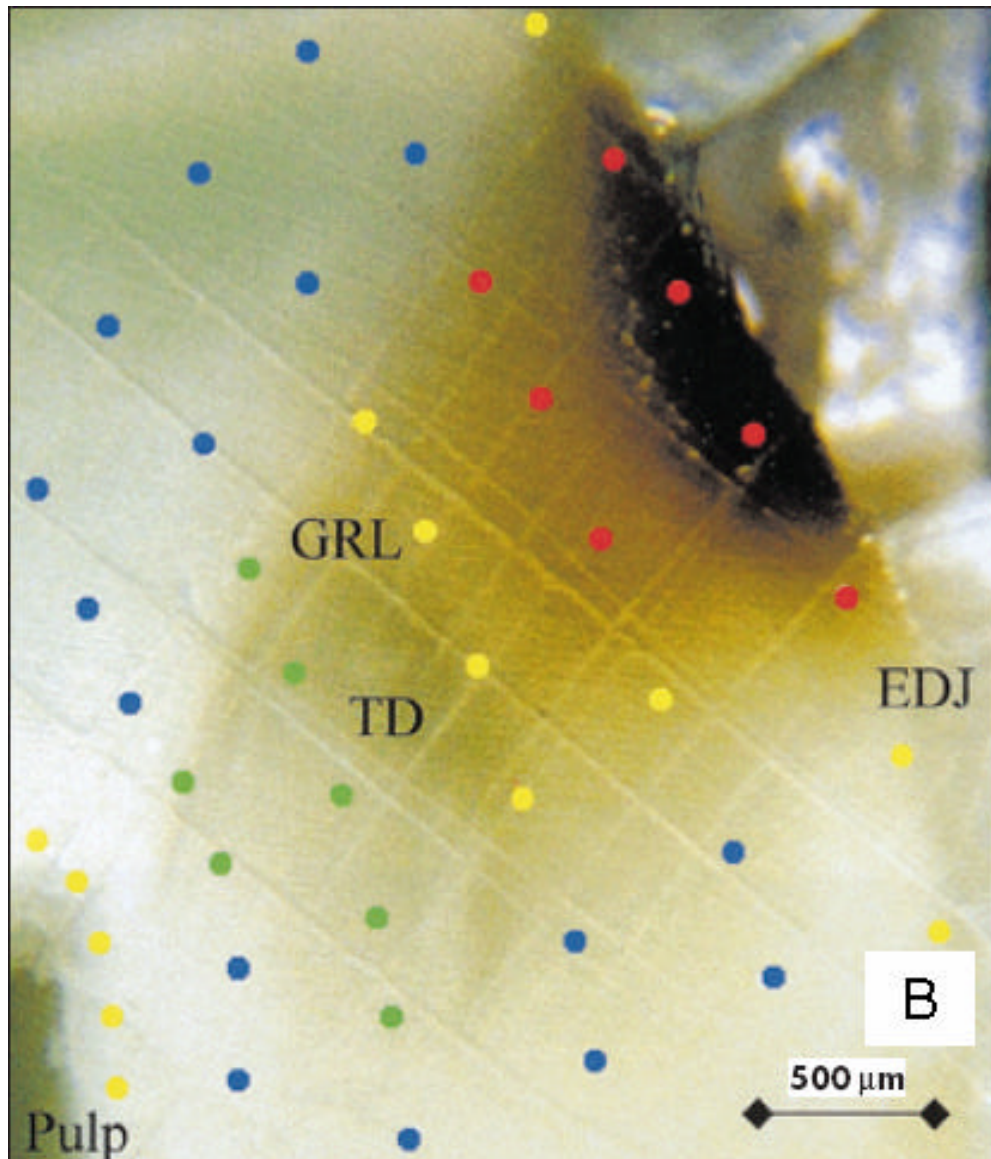


FIGURA 15 B: fotomicrografia de lesão oclusal em dentina com lesão marrom escura subjacente ao limite amelo-dentinário (EDJ), passando a marrom, marrom clara e translúcida (TD) em direção à polpa (abaixo da imagem); GRL: grade com linhas de referência; Pontos superpostos coloridos mostram valores de dureza KNOOP (KHN);

- 10-40 KHN
- 40-49 KHN
- 50-55 KHN
- > 55 KHN

(Fonte: Adaptado de Banerjee et al., (1999^B).

Angker e colaboradores (2004) associaram a deterioração das propriedades mecânicas da dentina cariada à diminuição do seu conteúdo mineral, através de testes de micro-indentação e *BSE* (imagem por escaneamento de elétron retro-espalhado) (ANGKER et al., 2004), assim como Hosoya e Marshall Jr (2004), avaliando amostras de caninos decíduos encontraram baixa micro-dureza em tecido cariado, enquanto a dentina sadia apresentou dureza mais elevada, semelhante aos achados de Fusayama e colaboradores (1966) e Ogawa e colaboradores (1983) e Sakoolnamarka e colaboradores (2005), com exceção da dentina esclerótica, que nos dentes decíduos examinados houve indícios de baixa microdureza (HOSOYA; MARSHALL JR, 2004).

2.10 O FENÔMENO DA CÁRIE OCULTA

Os resultados de medidas preventivas adotadas na Europa puderam ser observados em crianças nos anos 70. O declínio da doença cárie continuou na década de 80 e 90 (MARTHALER et al., 1996).

Certa preocupação foi demonstrada no artigo de Weerheijm (1997), pois houve a comprovação que a prevalência de cárie em crianças de 5 a 6 anos começou a aumentar a partir da metade da década de 90 (WEERHEIJM, 1997).

A utilização de fluoretos contribuiu para a redução dramática na experiência de cáries no mundo, principalmente em crianças (WHITE; EAKLE, 2000). Os cremes dentais são aceitos como o mais importante fator no declínio das cáries (WEERHEIJM, 1997).

Mas há um componente importante ao se escovar os dentes que pode influenciar de forma significativa a ação do flúor na proteção que se deseja dele. O enxágüe com água após cada escovação deve ser reduzido ao mínimo para se obter a máxima

proteção dos fluoretos nas superfícies escovadas. A explicação para isso se dá pela diferença de concentração de fluoretos na água potável (entre 0,7 a 1 ppm, para não causar fluorose) e em cremes dentais (600 a 1500 ppm), pois ao se enxaguar a boca com muita água após cada escovação, diminui-se substancialmente a concentração iônica residual do creme dental, diminuindo sua capacidade de proteção (WEERHEIJM, 1997).

As superfícies que mais tiveram o benefício dos fluoretos são as lisas, pois parecem incorporá-los mais facilmente; mais de 90 por cento das cáries ocorrem em fóssulas e fissuras, e não respondem à remineralização como tão eficazmente como as superfícies lisas, fazendo com que a progressão das cáries em dentina ocorra sem que o esmalte evidencie lesão de cárie na mesma proporção. O número lesões oclusais, desta forma, é subestimada (ALLAN; NAYLOR, 1984; SAWLE; ANDLAW, 1988; WEERHEIJM et al., 1989; CREANOR et al., 1990; WEERHEIJM 1992^A; WEERHEIJM 1992^B; PEARCE et al., 1995; RICKETTS et al., 1997; WEERHEIJM, 1997; WHITE; EAKLE, 2000).

Penning e colaboradores (1992) encontraram boa sensibilidade em apenas 24% dos exames clínicos para o uso do explorador dental em combinação com exame visual (PENNING et al., 1992). Pitts e Lond (1993) discutiram a mudança de caráter da cárie de fissura, com sua tendência para cavar mais tardiamente, se comparado com anos anteriores, citando que o uso do explorador poderia não identificar a lesão oculta presente (PITTS; LOND, 1993). Em ambos os métodos, há inadequação de diagnóstico e a necessidade de remoção de tecido sadio parece prevalecer na escolha entre observar/esperar ou tratar, levando a uma complexa decisão clínica (WHITE; EAKLE, 2000).

Rickets e colaboradores (1997) revisaram seis trabalhos na literatura que avaliavam a presença de cáries ocultas, chegando a valores bastante diferentes, em média, na prevalência dessas lesões (RICKETS et al., 1997):

1. 1,4% a 7,3% (CREANOR et al., 1990);
2. 3,1% a 3,6% (SAWLE e ANDLAW, 1988);
3. 6,3% a 12,9% (KIDD et al., 1992);
4. 15% (WEERHEIJM et al., 1992a);
5. 22% ALLAN e NAYLOR (1984);
6. 26% a 50% (WEERHEIJM et al., 1992b);

Apesar da grande variação de porcentagens de presença de lesões ocultas nos estudos citados (de 1,4% a 50%), há sem dúvida, motivos para preocupação clínica, evidenciando a necessidade de maior atenção do profissional ao diagnóstico de lesões sem evidência clínica, podendo não ser identificadas facilmente através de métodos tradicionais. A utilização do diagnóstico de cárie por fluorescência induzida por laser visa o aumento da sensibilidade a esse problema.

2.11 O USO DO EXPLORADOR COMO INSTRUMENTO DE DIAGNÓSTICO

Loesche e colaboradores (1973) e (1979) apontaram a possibilidade de a sonda servir como meio transmissor de microrganismos cariogênicos entre os dentes da mesma boca, aumentando o risco de desenvolvimento de lesões em áreas livre de cárie antes do exame odontológico (LOESCHE et al., 1973; 1979). Em sua revisão sistemática, Pitts (2001) concluiu não haver sustentação científica para a continuidade do uso do explorador como instrumento de diagnóstico, sugerindo a descontinuidade de seu uso

rotineiro nos consultórios (PITTS, 2001), vindo a confirmar o estudo *in vivo* de Ekstrand e colaboradores (1987), onde terceiros molares foram examinados com exploradores e depois extraídos, confirmando após análise histológica de 196 secções em estéreo-microscopia, lesões em 60 % das superfícies examinadas com explorador, contra 7% nas do controle, provando sua alta capacidade iatrogênica (EKSTRAND et al., 1987).

Estudos do final da década de 60 já consideravam que o diagnóstico através da sondagem do esmalte desmineralizado poderia causar um trauma tecidual irreversível, confirmando seu grande potencial iatrogênico (BERGMAN, 1969; LINDÉN 1969; VAN DORP et al., 1988; BELTRAMI et al., 1990).

Chan, em 1993, criticou os autores americanos e a Organização Mundial de Saúde por recomendarem o uso da sonda exploradora para o diagnóstico da lesão primária na superfície oclusal, por acreditar que esse exame não corresponde às necessidades clínicas quanto à precisão metodológica (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 1991; CHAN, 1993).

2.12 O USO DO EXAME RADIOGRÁFICO COMO INSTRUMENTO DE DIAGNÓSTICO

King e Shaw avaliaram 1172 pacientes entre 11 e 13 anos de idade, realizando exame radiográfico do tipo *bitewing*, complementado por exame com magnificação e iluminação, encontrando apenas 33% das lesões presentes clinicamente nas radiografias avaliadas (KING; SHAW, 1979). A descoberta de lesões oclusais de pequeno diâmetro em dentina através do exame radiográfico é muito difícil de ser percebido. Ocorre sobreposição de imagem de tecido saudável em grande quantidade

sobre a lesão que se quer identificar que tem 3 dimensões (3 D: altura, largura e profundidade), visualizando-se na radiografia que tem duas dimensões (2 D: altura e largura) a área compactada de várias fatias de tecido sadio sobre uma pequena área de cárie (se comparada à área total de tecido), fazendo com que a imagem de lesões ainda insipientes passem despercebidas. Esse é o principal problema num exame radiográfico para o profissional que deseja um diagnóstico precoce de cárie.

Verdonschot e colaboradores (1993) consideram que o exame radiográfico associado ao exame visual não melhora o diagnóstico de lesões de cárie em indivíduos de populações com baixa prevalência (VERDONSCHOT et al., 1993).

Estudos prévios comprovam que lesões de cárie na área oclusal só aparecem na radiografia quando a desmineralização já se estende a partir do terço médio da dentina, ou seja, nível de cárie D 2 (RICKETTS et al., 1995^A). Há também associação entre o número de microorganismos na dentina ser de 1000 a 10000 vezes maior numa lesão já visível radiograficamente se comparada a uma lesão ainda não aparente (RICKETTS et al., 1995^B).

O método radiográfico também é questionado por Dove em seu trabalho de revisão de literatura de 1966 a 1999, tendo encontrado também baixos valores de sensibilidade, e grande proporção de lesões falso-negativas, isto é, a possibilidade da lesão em estados iniciais não ser vista durante o exame e progredir ao longo do tempo (DOVE, 2001).

A lesão quando é vista radiograficamente está mais significativamente infectada com lactobacilli e streptococcus mutans que nas lesões não aparentes radiograficamente (LUSSI et al., 2001)

Mestriner e colaboradores (2006) avaliaram 256 crianças de doze anos de idade em Franca-SP, obtendo 16% de cáries ocultas após exame radiográfico *bitewing*, resultado similar ao encontrado por Weerheijm, que em seu estudo com 359 estudantes holandeses, entre 6 e 18 anos de idade, encontrando 15% de lesões em tecidos apontados inicialmente como sadios no exame clínico (WEERHEIJM et al., 1992^A; MESTRINER et al., 2006).

2.13 A ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCÊNCIA E O DIAGNÓSTICO DE CÁRIE POR FLUORESCÊNCIA INDUZIDA POR LASER

Sabe-se que a dentina e o esmalte apresentam forte fluorescência quando excitados com luz ultra-violeta. A intensidade dessa fluorescência decresce quando o tecido está cariado. No começo dos anos 80 foram feitas pesquisas mudando-se o comprimento de onda de excitação, observando-se fluorescência a partir da luz visível como fonte de excitação tecidual (ALFANO; YAO, 1981; BJELKHAGEN et al., 1982; ALFANO et al., 1984; SUNDSTRÖM et al., 1985).

Desde aquele tempo, exceto com investigação com comprimento de onda de excitação em 407 nm (KÖNIG et al., 1993), a maioria dos trabalhos foi feita utilizando-se comprimento de onda de 488 nm para a excitação (ALFANO; YAO, 1981; BJELKHAGEN et al., 1982; ALFANO et al., 1984; SUNDSTRÖM et al., 1985). Ao se utilizar esse comprimento de onda e uma câmera CCD para detecção, a perda mineral em cáries insipientes pode ser quantificada (AL-KHATEEB et al., 1997).

König e colaboradores (1993) implicaram diretamente vários microrganismos pela fluorescência obtida na região do vermelho do tecido cariado com λ_{exc} 407 nm, entre

eles *Actinomyces odontolyticus*, *Cândida albicans*, *Corynebacterium*, *Proteus*, *Bacteróides* produtores de pigmento negro e *Pseudomonas aeruginosa*, não encontrando fluorescência detectável em espécies de *Lactobacillus* nem de *Streptococcus mutans* (KÖNIG et al., 1993). Lennon e colaboradores (2006) estudaram o sinal emitido de vários microrganismos quando excitados com $\lambda_{\text{EXC}} = 405 \pm 20$ nm (lâmpada xenon), sendo que espécies de *actinomyces* (*israeli* e *naeslundii*) exibiram certa fluorescência em vermelho e a *Prevotella intermedia* emitiu a mais intensa fluorescência em vermelho entre todas as espécies estudadas (LENNON et al., 2006, figura 16), coincidindo com o pico de excitação máxima das porfirinas, que ocorre na faixa espectral do violeta (KÖNIG et al., 1993, figura 12).

O trabalho de Hibst, Paulus e Lussi (2001) investigou a espectroscopia de fluorescência de componentes inorgânicos do tecido dentário demonstrando fluorescência basal (intensidade muito baixa) quando excitadas com laser vermelho com $\lambda_{\text{EXC}} = 655$ nm e 640 nm. No mesmo trabalho, no entanto, cáries avançadas apresentaram fluorescência detectável numa diferença acentuada se comparada ao tecido sadio (HIBST et al., 2001). A questão crucial para se compreender o funcionamento do Diagnodent^R é qual ou quais seriam os componentes responsáveis pela fluorescência ao se excitar o tecido cariado, uma vez que o tecido sadio não exhibe sinal fluorescente ao laser vermelho. A resposta parece estar ligada a subprodutos metabólicos porfirínicos de bactérias proteolíticas anaeróbias restritas, que geralmente são oportunistas e presentes em infecções mistas de microrganismos. Elas são as espécies preponderantes em cárie dentinária rasa e profunda e estão ligadas à decomposição do colágeno por sua ação enzimática combinada com

Metaloproteinases teciduais (HOSHINO, 1985; KAWASAKI; FEATHERSTONE, 1997; TJÄDERHANE et al., 1998; CHAUSSAIN-MILLER et al., 2006).

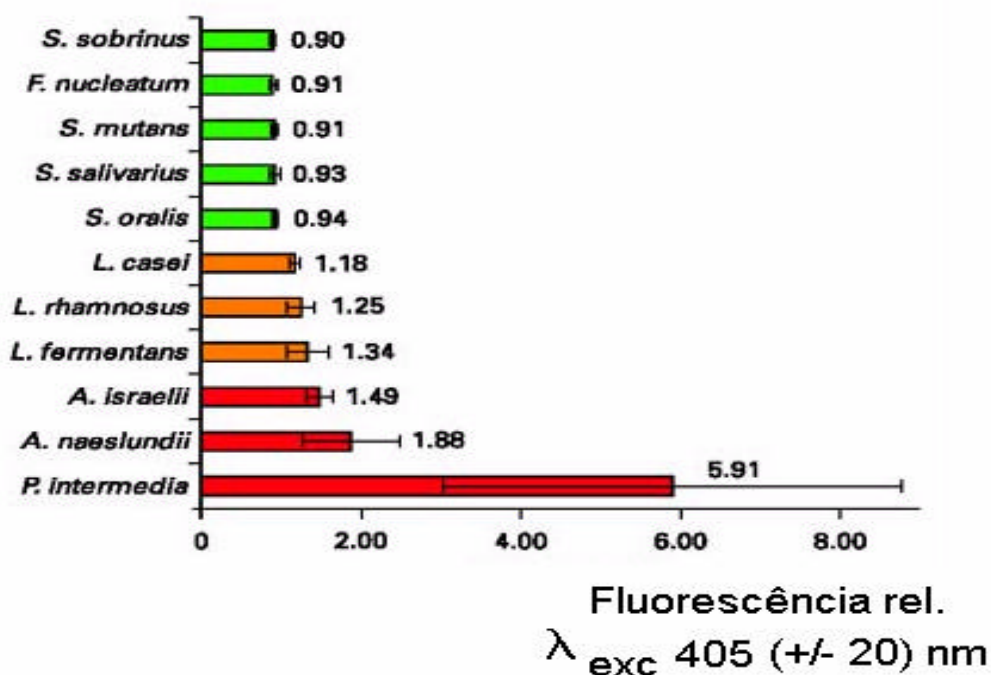


Figura 16: Fluorescência relativa de bactérias quando excitadas com lâmpada xenon; Cores das barras representam a cor da fluorescência emitida pelas amostras (Fonte: Adaptado de Lennon et al., 2006).

As Espécies anaeróbias restritas produtoras de pigmento negro além de serem definitivamente implicadas em alterações inflamatórias graves e necrose pulpares, dor e destruição óssea periodontal e periapical (SUNDQVIST et al., 1979; GRIFFEE et al., 1980; HAAPASALO, 1993; MASSEY et al., 1993; SMALLEY et al., 1998; ALBUQUERQUE et al., 1999), são preponderantes na flora anaeróbia da boca (GUINEY; HASEGAWA, 1992) e no tecido cariado dentinário numa concentração muito maior do que se pensava após análises moleculares em tempo real de *PCR* se

comparadas com análises por cultura apenas (MARTIN et al., 2002; MUNSON et al., 2004; NADKARNI et al., 2004; CHHOUR et al., 2005).

Espécies de *Prevotella* e *Porphyromonas* possuem pigmentos fotosensíveis na sua superfície (protoporfirina IX, principalmente na *Prevotella* spp), presentes em outros microrganismos além dos citados, tendo grande importância em sua respiração, crescimento em ambiente anaeróbio e proteção contra o efeito oxidativo na anaerobiose (SMALLEY et al., 1998; SOUKOS et al., 2005), tendo um papel preponderante na detecção de tecido cariado por fluorescência induzida por laser vermelho (HIBST; PAULUS, 1999; HIBST et al., 2001; IWAMI et al., 2003; IWAMI et al., 2004; EBERHARD et al., 2005; FIGUEIREDO et al., 2005; IWAMI et al., 2006) e por comprimentos de onda de excitação menores (entre 400 e 425 nm) (KÖNIG et al., 1993; SOUKOS et al., 2005; LENNON et al., 2006).

Os trabalhos resumidos a seguir trazem informações espectroscópicas importantes que resultam da interação do laser com tecidos sadio e cariado.

2.13.1 TRABALHO DE HIBST E PAULUS NO DIAGNÓSTICO DE CÁRIE POR FLUORESCÊNCIA INDUZIDA POR LASER

Com o objetivo de aumentar a sensibilidade e a especificidade, que é a capacidade de identificar a presença de doença e a ausência dela no tecido, respectivamente, além de tornar possível a leitura traduzida em números, Hibst e Paulus (1998) desenvolveram um aparelho para detecção de lesões baseados em espectroscopia de fluorescência de tecido sadio e cariado, que também oferece a possibilidade de

diagnóstico de cáries ocultas, sem acesso ótico direto. Comercialmente disponível no mercado mundial desde janeiro de 1998, tem o nome de DIAGOdent^R (KaVo, Biberach, Alemanha) (HIBST; GALL, 1998).

Em seu trabalho de 1999, Hibst e Paulus demonstraram *in vitro* características espectroscópicas do tecido sadio e cariado, excitados com laser vermelho, resumido a seguir (HIBST; PAULUS, 1999^A).

2.13.1.1 O SINAL DE FLUORESCÊNCIA DEPENDE DA GEOMETRIA DA AMOSTRA

Quando a lesão de cárie está oculta sob esmalte sadio, o sinal de fluorescência varia dependendo da geometria, gerando um sinal de fluorescência de intensidade menor, devido ao espalhamento ou *scattering* da luz. Para verificar a hipótese da dependência da intensidade do sinal em relação à profundidade da lesão, Hibst e colaboradores (1999^a) testaram cartões cobertos por material negro não fluorescente, com uma pequena área pontual impregnada com solução desidratada de ftalocianina que por sua vez tem a concentração ajustada similar à fluorescência da cárie, e as cobriu com fatias de esmalte sadio de espessura que variavam de 0,3 a 3,0 mm. Elas foram irradiadas com laser de diodo de 635 nm de comprimento de onda, e o sinal de fluorescência foi integralmente lido (>680 nm). Para a condução de luz foram utilizadas 7 fibras óticas de quartzo com diâmetro de 255 µm, com uma fibra ótica central para excitação, envolvida por 6 fibras concêntricas. Duas medições foram executadas para cada fatia de esmalte: um em cima do spot fluorescente e uma segunda acima da área não fluorescente, definindo um sinal de base. A concentração de ftalocianina foi ajustada de modo que o sinal sem a cobertura de esmalte fosse comparável ao de uma

superfície fortemente cariada. A potência de excitação do laser foi de 1 mW, e foram utilizados diferentes comprimentos de onda para avaliar a espectroscopia para tecido sadio e cariado através da análise dos gráficos respectivos. Os modelos experimentais foram reproduzidos esquematicamente nas figuras 17 (A), (B) e (C). Foi colocada uma amostra embebida de ftalocianina para reproduzir sinal de fluorescência similar à da cárie sob o esmalte sadio. Na figura 17 (A), a avaliação é do sinal de base de fluorescência do esmalte com espessura máxima de 3,0 mm, sendo que o feixe de laser não está apontado na direção da amostra de ftalocianina, excitando tecido sadio apenas e gerando pequena intensidade de sinal, chamada de fluorescência basal. Na figura 17 (B), a espessura do esmalte é também máxima (3 mm), mas percebeu-se sinal de fluorescência maior que em 17 (A) devido à excitação da ftalocianina, mas essa a menor intensidade de sinal fluorescência em todas as espessuras testadas. Quando o feixe de laser foi direcionado em cima da amostra de esmalte sadio com espessura mínima (0,3 mm) houve sensibilização da amostra de ftalocianina com maior intensidade e o sinal de fluorescência gerado foi máximo, demonstrado na figura 17 (C), comprovando-se que a distância entre o feixe de laser e a amostra de ftalocianina é muito importante para a produção de sinal de fluorescência.

Transportando essa experiência ao trabalho aqui descrito, quando em algumas amostras as cáries são avaliadas sob esmaltes aparentemente sadios, a distância entre o feixe de laser e o tecido mais infectado é fundamental para a identificação da existência da lesão por fluorescência induzida por laser. O tecido adamantino pode ser uma barreira maior ou menor na identificação da cárie, dependendo de sua espessura, sendo que o sinal é sempre atenuado em maior ou menor grau; quando o esmalte é removido, permite-se que o feixe de laser penetre levando ao aumento do sinal

fluorescência, exatamente como na experiência descrita por Hibst e Paulus (1999). Os resultados da medição da fluorescência dependente da profundidade estão descritos na figura 18. A detecção de fluorescência decresce exponencialmente com o aumento de espessura do esmalte nas diversas medidas. A espessura $1/e$ (profundidade) é aproximadamente 0,5 mm. Para a espessura de 1 mm, o sinal acima do spot fluorescente é aproximadamente duas vezes maior se comparado com o controle; para uma espessura de 1.5 mm, essa relação é 1.5, e para 2 mm de espessura de esmalte sadio, a diferença é menor que 20% (<0.2).

Os gráficos das figuras 19, 20 e 21 correspondem à espectroscopia de fluorescência do mesmo dente excitado com 1mW em área cariada e sadia, em pontos de exame idênticos, com diferentes comprimentos de onda de excitação 488 nm, 640nm e 655 nm, respectivamente. O comprimento de onda inicial utilizado nessa segunda etapa do trabalho de Hibst e Paulus foi 488nm, exibindo forte fluorescência para o esmalte com pico na região do espectro visível, em 566nm, e com um decréscimo monotônico em direção a comprimentos de onda mais longos (figura 19).

Um dos principais motivos da escolha foi porque esse comprimento de onda sempre foi considerado como padrão de comprimento de onda de excitação no passado para a detecção de cárie. Os resultados foram semelhantes aos trabalhos anteriores feitos por Bjelkbagen e colaboradores (1982), Alfano e colaboradores (1984) e Sundström e colaboradores (1985); (ALFANO; YAO; 1981; BJELKHAGEN et al., 1982; ALFANO et al., 1984; SUNDSTRÖM et al., 1985).

Ao se excitar com comprimento de onda de excitação de 488 nm, a avaliação de tecido cariado exhibe fluorescência decrescente se comparada à fluorescência do tecido sadio,

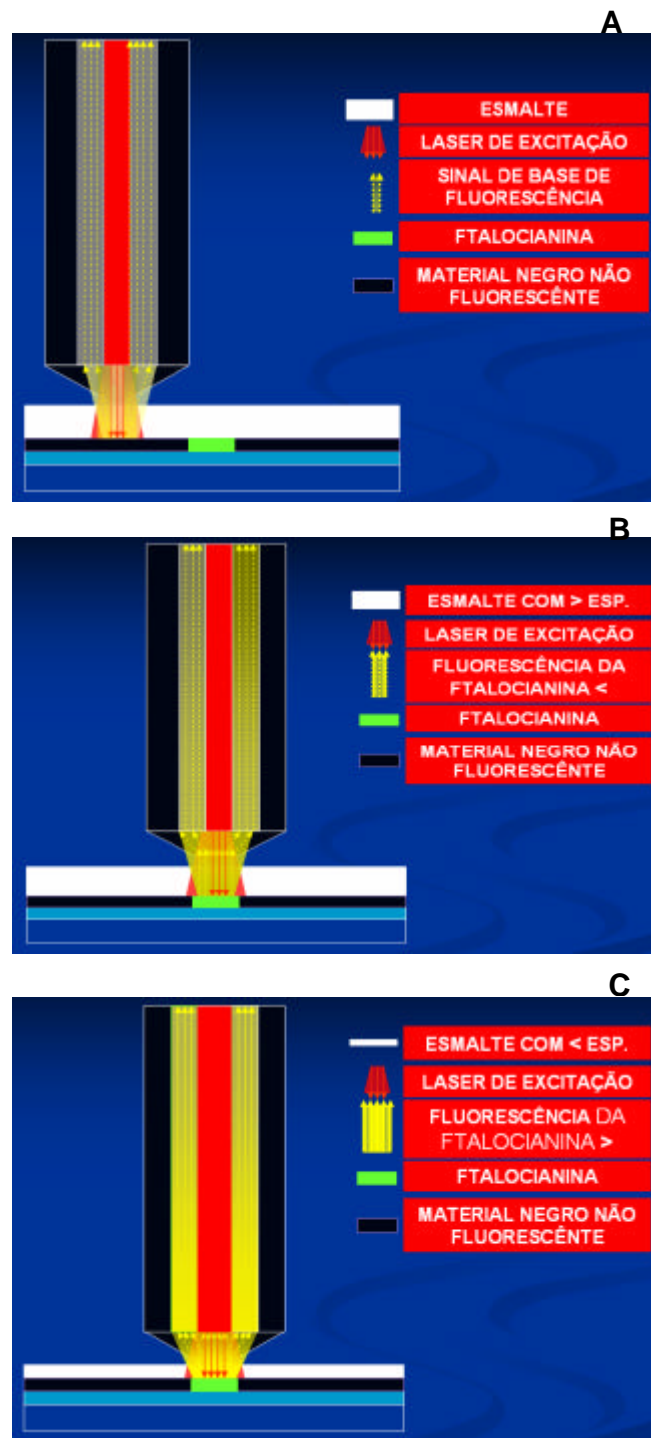


FIGURA 17: Espectroscopia de fluorescência em $\lambda_{exc} = 635 \text{ nm}$ do esmalte com espessuras de 3,0 mm em (A) e (B) e 0,3 mm em (C). As medidas de fluorescência foram realizadas com o feixe de laser incidente no esmalte na ausência de ftalocianina em (A) e na presença de ftalocianina em (B) e (C); A intensidade de fluorescência é crescente na ordem das figuras (A), (B) e (C). Fonte: Adaptado de Hisbst e Paulus (1999^A).

e o espectro é mudado para a região do vermelho, com um pico em 590 nm (tabela 1). Para a amostra utilizada, a relação entre a fluorescência da cárie para o esmalte sadio aumenta monotonicamente 0,1 em 500 nm para 4 em 800 nm, com um ponto de intensidade semelhante aos 646 nm. A intensidade de fluorescência da excitação com laser de Ar⁺ com comprimento de onda de excitação de 488 nm, é mostrada na tabela 2. As figuras 20 e 21 mostram respectivamente a análise de fluorescência espectral de emissão com comprimentos de onda de 640 nm e 655 nm (laseres de diodo), relacionadas na tabela 3, exibindo resultados vantajosos se comparados à excitação com Laser de Argônio (HIBST; PAULUS, 1999^A).

A fluorescência exibida pelo tecido cariado nos comprimentos de onda de excitação mais longos (fóton com menos energia, principalmente na região do vermelho) pode apresentar até uma ordem de magnitude a mais se comparado à fluorescência do tecido sadio (HIBST; PAULUS, 1999^A). Se Comparado com 488 nm, a excitação com luz vermelha produz uma intensidade de sinal integral muito menor, mas a diferença entre as superfícies cariadas e sadias é muito mais pronunciada.

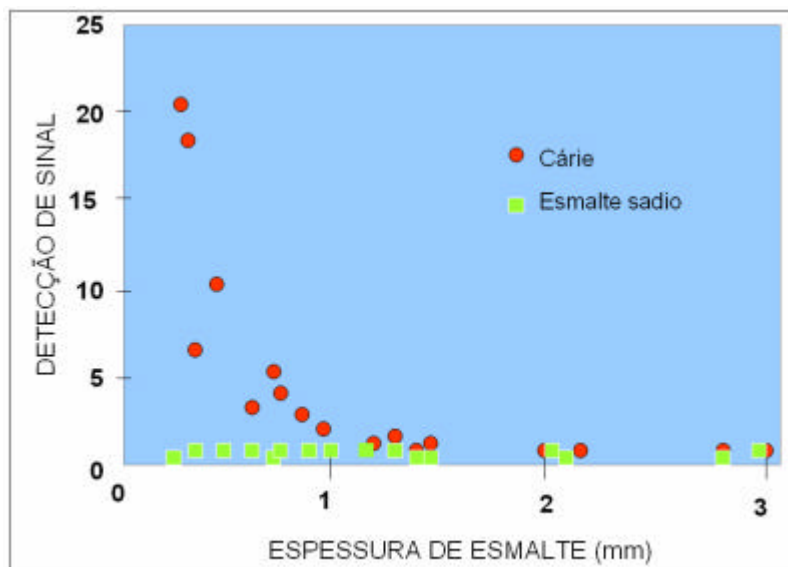


FIGURA 18: Valores de intensidade de fluorescência em tecido sadio e cariado em função da espessura do esmalte; Fonte: Adaptado de Hibst e Paulus (1999^A).

Essa diferença é encontrada no espectro de fluorescência integrada. Esta relação é de 6,9 (690% mais sinal de fluorescência para a cárie, se comparado ao tecido sadio) para comprimento de onda de excitação de 640 nm, e 7,3 (730% mais) para 655 nm, respectivamente, sendo o último comprimento de onda utilizado no DIAGNOdent^R (tabela 3). A comparação dos resultados obtidos com os três comprimentos de onda é apresentada na tabela 4. Ao comparar a excitação vermelha com a azul, há obviamente algumas desvantagens para a banda mais longa do espectro eletromagnético: primeiramente, é claro, a faixa do espectro utilizável para a detecção por fluorescência é menor e, em segundo lugar, também a intensidade de pico decresce. Por outro lado, a excitação no vermelho oferece a vantagem de melhor contraste entre a cárie e o esmalte sadio.

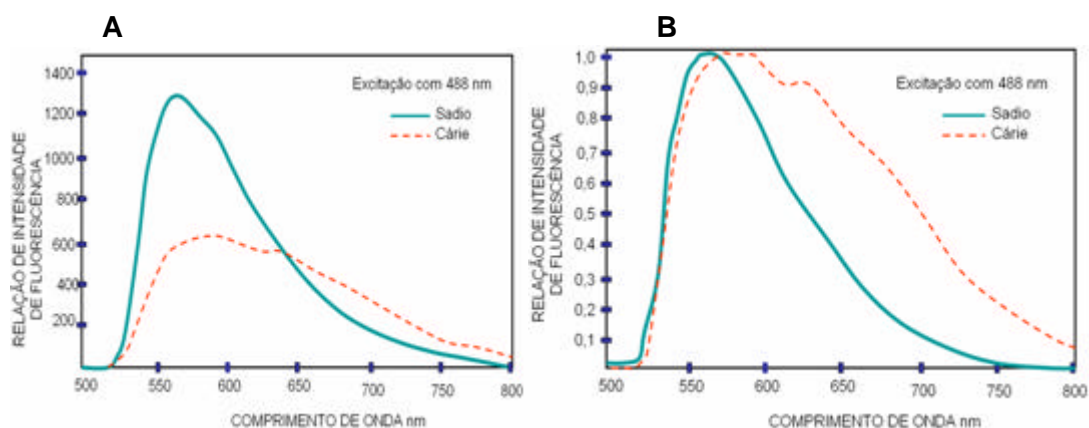


FIGURA 19 (A): Intensidade do espectro de fluorescência de tecido sadio e cariado do mesmo dente; λ_{exc} 488nm e P_{exc} 1mW; **(B):** Espectro normalizado para a intensidade de pico. Adaptado de Hibst e Paulus (1999^A).

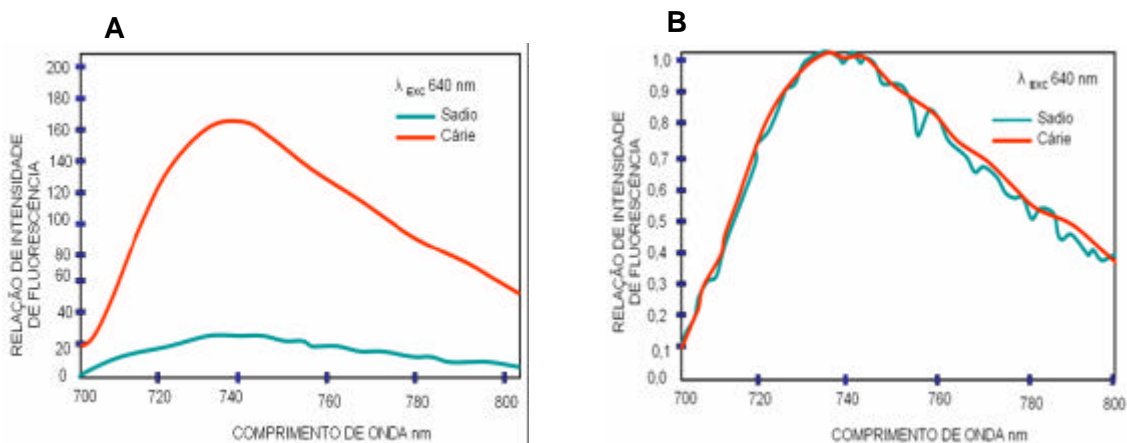


FIGURA 20 (A): Intensidade do espectro de fluorescência de tecido sadio e cariado do mesmo dente; λ_{exc} 640nm e P_{exc} 1mW; **(B):** Espectro normalizado para a intensidade de pico. Adaptado de Hibst e Paulus (1999^A).

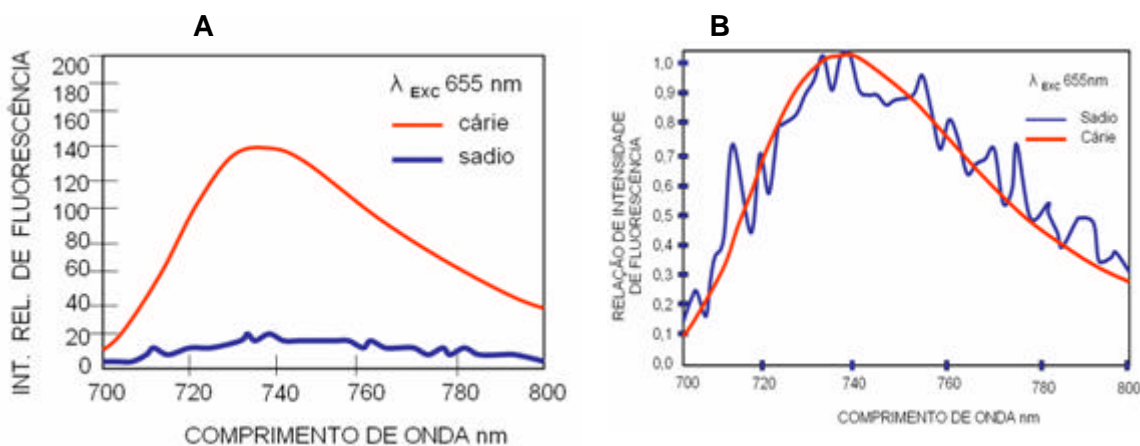


FIGURA 21 (A): Intensidade do espectro de fluorescência de tecido sadio e cariado do mesmo dente; λ_{exc} 655 nm e P_{exc} 1mW; **(B):** Espectro normalizado para a intensidade de pico. Fonte: Adaptado de Hibst e Paulus (1999^A).

Enquanto em 488 nm a diferença entre a cárie e esmalte sadio varia muito no comprimento de onda de fluorescência (até mesmo muda o sinal), para a excitação com o vermelho, a relação de sinal é constante. O uso da faixa total de fluorescência (700 a 800 nm) tem a vantagem de ter o mesmo contraste nas intensidades de pico. Portanto, o uso da intensidade completa da fluorescência é favorável na discriminação da cárie. Comparando 640 nm com 655 nm, parece haver uma pequena vantagem no comprimento de onda maior (tabela 4). A fluorescência induzida por laser vermelho é muito mais forte para cáries que para tecido sadio de esmalte, ajudando muito a detecção de cáries ocultas, se comparado com a excitação de 488 nm, que mascara cáries em profundidade porque são menos fluorescentes (tabela 4), como uma cortina de espalhamento (HIBST; PAULUS, 1999 ^A).

Esse experimento possibilitou a comprovação que é perfeitamente possível detectar tecido cariado na dentina, desde que a distância entre a cárie e a ponta da sonda não exceda 1 milímetro, tendo como distância ideal até 0,5 mm para uma sondagem ótica segura (quanto menor a distância entre a sonda ótica e o tecido cariado, mais confiável a leitura. As figuras 22 (A) e (B) apresentam o aparelho Diagnodent^R, a figura 23 apresenta o esquema de funcionamento interno e a figura 24 mostra o detalhamento da disposição das fibras óticas de emissão e de coleta. As figuras 25 (A) e 25 (B) mostram as fibras de conexão da parte traseira do aparelho Diagnodent^R.

Comparações histológicas *in vitro* em dentes extraídos (LUSSI et al., 1998), e *in vivo* (LONGBOTTOM et al., 1998), com dentes programados para a extração, com as

TABELA 2: Análise de espectro das figuras 18 A e 18 B. Excitação com laser de Ar⁺ 488 nm; λ : Comp. de onda; I: Intensidade de sinal; Σ : Integração; Fonte: Adaptado de Hibst e Paulus (1999^A).

λ_{exc} 488 nm			
	λ pico (nm)	I pico (U.A.)	Σ 500 – 800 nm (U.A.)
Dente sadio	566	1280	66 108
Cárie	590	629	49 553

TABELA 3: Análise de espectro das figuras 19 A e B, e 20 A e B, com laser vermelho para excitação em 640nm e 655nm; λ : comprimento de onda; I: Intensidade de sinal; Σ : Integração; Fonte: Adaptado de Hibst e Paulus (1999^A);

	λ_{exc} 640 nm			λ_{exc} 655 nm		
	λ pico (nm)	I pico (U.A.)	Σ 700-800 nm	λ pico (nm)	I pico (U.A.)	Σ 700-800 nm (U.A.)
Dente sadio	736	23,6	766	736	19,4	625
Cárie	736 nm	163	5441	736 nm	141	4414

TABELA 4: Relação entre as intensidades de pico e integração da emissão de fluorescência obtidos nos dentes avaliados sadios e cariados nos três comprimentos de onda de excitação; Fonte: Adaptado de Hibst e Paulus (1999^A).

λ_{exc} nm	I_{pico_c} / I_{pico_s}	$R \Sigma$ 700-800 nm
488	0,5	0,75
640	6,9	7,1
655	7,3	7,1

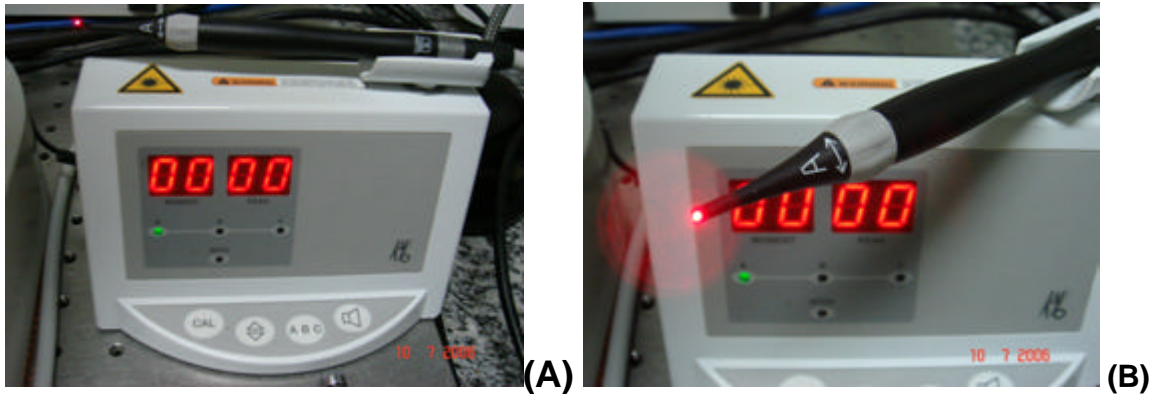


FIGURA 22 (A) e (B): O aparelho comercialmente disponível Diagnodent^R

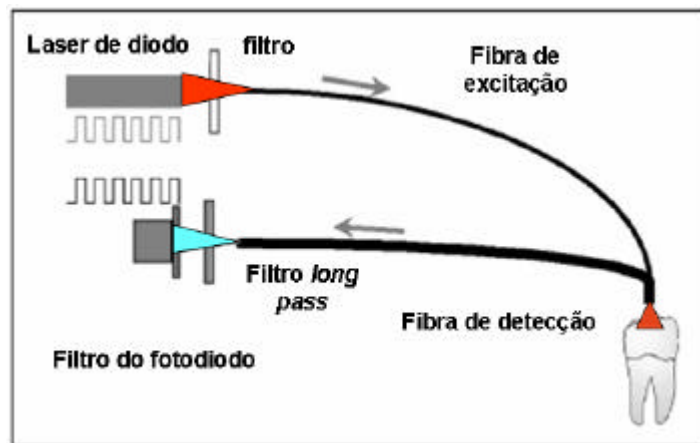


FIGURA 23: Esquema interno do Diagnodent^R.
Fonte: Adaptado de Hibst e Paulus (1999^A).

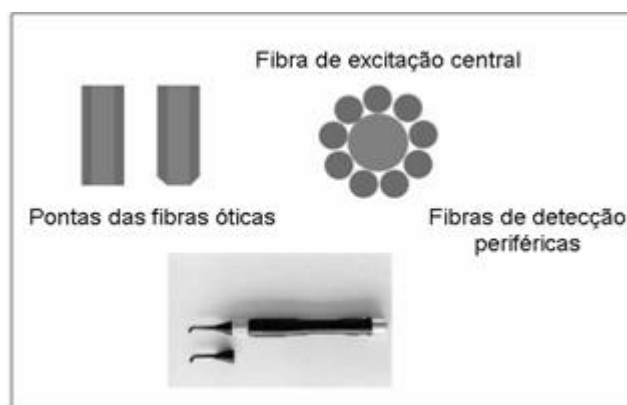


FIGURA 24: Esquema das pontas e disposição das fibras de detecção. Fonte: Adaptado de Hibst e Paulus (1999^A).



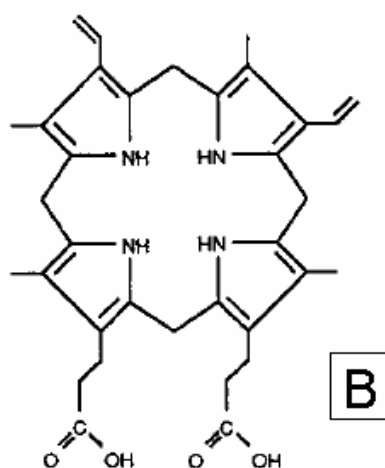
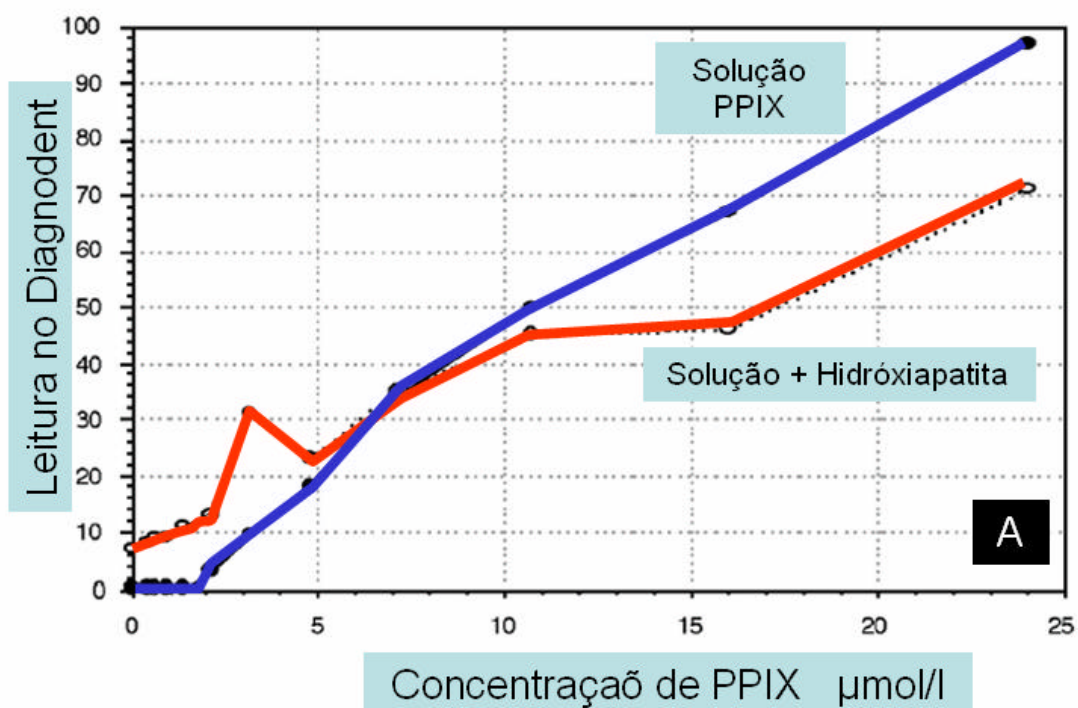
FIGURA 25 A e B: encaixe metálico que contém fibras óticas que são conectadas na parte traseira do Diagnodent[®], mostrando uma fibra emissora (A) e nove fibras coletoras (B), microfotografado no laboratório do Prof. Zângaro, no IP&D.

excitação e coleta do sinal de fluorescência, respectivamente. O filtro *long pass* na figura 23 tem a função de deixar em compasso a luz laser com a captação do sinal de fluorescência, para que a luz ambiente não gere interferência ao sinal captado a medições de fluorescência revelaram que as cáries oclusais podem ser detectadas com grande sensibilidade e especificidade (ambos com mais de 80%, com similar ou até com melhores resultados se comparados com medições elétricas de impedância ECM). O sinal de fluorescência permite uma previsão clínica de quanto a lesão de cárie pode progredir em direção à polpa (esmalte, porção intermediária da dentina, porção dentinária próxima à polpa), e também permite monitoramento das lesões ao longo do tempo, devido suas características de alta reprodutibilidade (LUSSI et al., 1998).

2.13.2 TRABALHO DE HIBST, PAULUS E LUSSI NO DIAGNÓSTICO DE CÁRIE POR FLUORESCÊNCIA INDUZIDA POR LASER

O trabalho de Hibst, Paulus e Lussi (2001) investigou a espectroscopia de fluorescência de componentes inorgânicos do tecido dentário observando intensidades muito baixas, quando excitadas com laser vermelho no $\lambda_{\text{EXC}} = 655 \text{ nm}$, mostrando que o esmalte e seus componentes individuais não exibem fluorescência significativa, mostrada na tabela 5. No mesmo trabalho, no entanto, cáries avançadas apresentaram fluorescência detectável numa diferença acentuada se comparada ao tecido sadio (HIBST et al., 2001).

A relação da concentração de protoporfirina IX e as leituras exibidas no Diagnodent^R foram estudadas por Hibst e colaboradores (2001) e são mostradas na figura 26 A. O Diagnodent^R exibe aumento de 4,3 unidades lidas no para cada $\mu\text{MOL/l}$ de aumento de concentração de protoporfirina IX, sendo que a quantidade mínima detectável pelo aparelho é de aproximadamente 1,5 a 2 $\mu\text{mol/l}$ (HIBST et al., 2001). A fórmula química da protoporfirina IX é mostrada na figura 26 (B). A figura 27 apresenta a avaliação de um dente em corte, evidenciando-se a proporção da ponta do aparelho de fluorescência, que reúne uma fibra emissora de 600 microns de diâmetro e nove fibras coletoras de 400 microns de diâmetro em uma só ponta de 1 mm de espessura num sulco oclusal com cárie oculta; nas figuras 28 (A) e 28 (B) as lesões evidentes num mesmo dente avaliado sem e com espectroscopia de fluorescência mostrado através de LSM com λ_{exc} de 633 nm (HIBST et al., 2001).



Protoporfirina IX

FIGURA 26 (A): Um dos fluoróforos presentes na cárie, a protoporfirina exibe aumento de 4,3 unidades lidas no Diagnodent[®] para cada $\mu\text{mol/l}$ de aumento de concentração; detecção mínima de 1,5 a 2 $\mu\text{mol/l}$ (Fonte: Adaptado de HIBST et al, 2001). **(B):** forma molecular da Protoporfirina IX (Adaptado de Bollivar et al., 1995).

TABELA 5: Intensidade de fluorescência do esmalte comparativamente a outros componentes minerais dentários (fosfatos de cálcio) abundantes no tecido dentário, excitados com comprimento de onda 655 nm. Notar que todos os valores provenientes das amostras (com pureza de 97%, comprimidos para o teste) têm intensidade de fluorescência muito baixa, sugerindo que são responsáveis pelo sinal de base de fluorescência lidas pelo Diagnodent^R. Fonte: Adaptado de Hibst et al. (2001).

material	sinal relativo
esmalte	1
$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$	0.06
$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	0.12
$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.05
CaCO_3	0.03
CaHPO_4	0.10

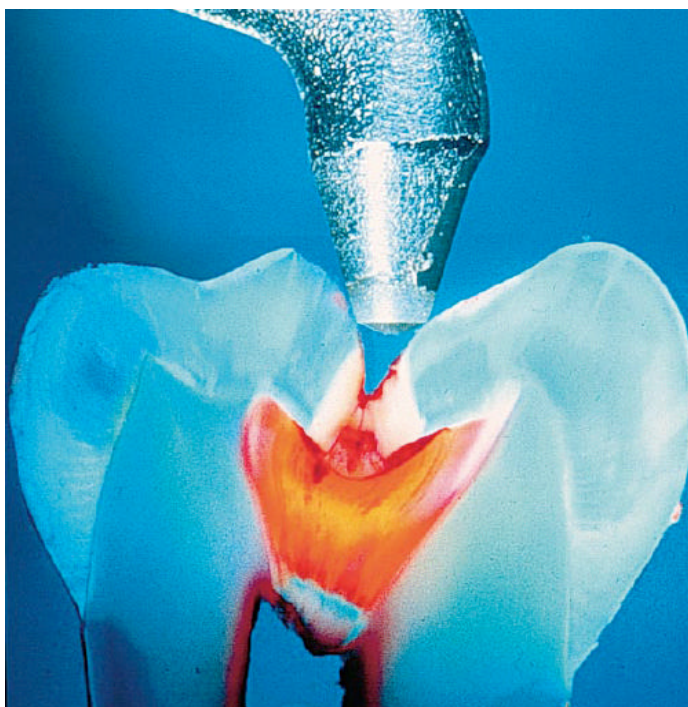
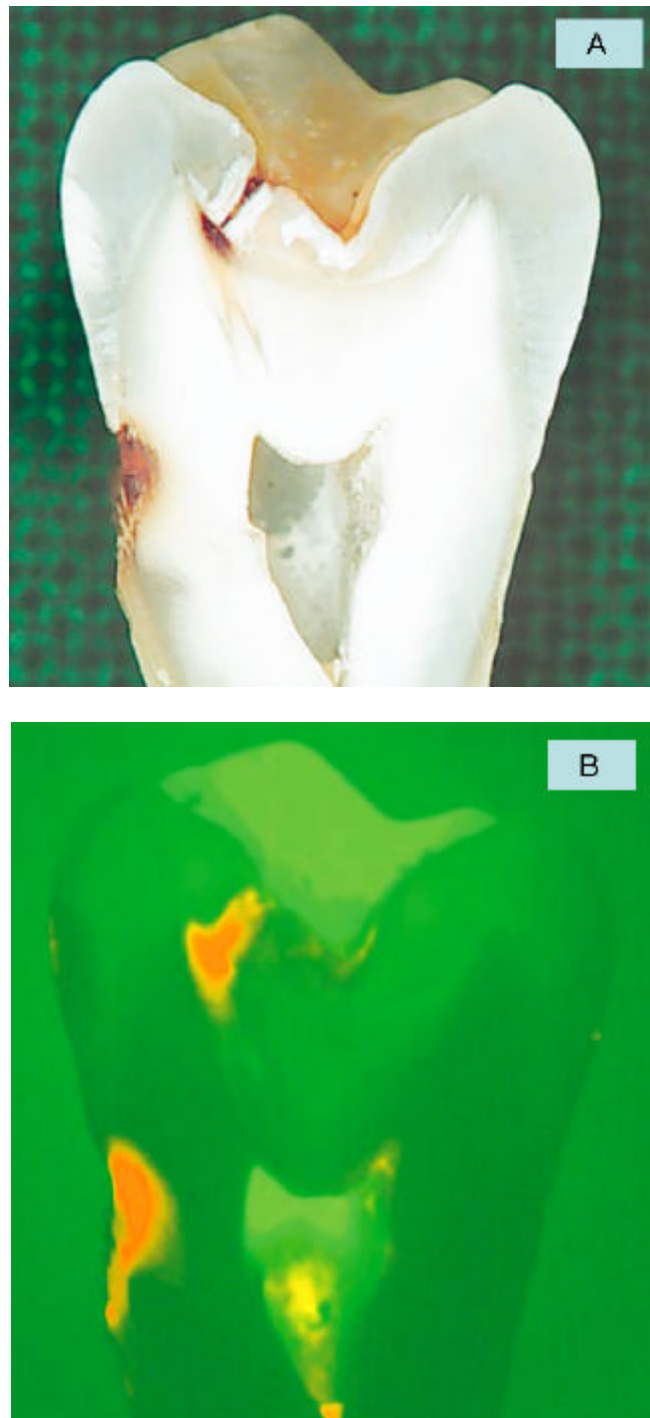


FIGURA 27: Proporção da ponta do aparelho de fluorescência que reúne fibras emissora de 600 microns de diâmetro e fibras coletoras de 400 microns de diâmetro em uma só ponta de 1 mm de espessura num sulco oclusal com cárie oculta. Fonte: Adaptado de HIBST et al. (2001).



FIGURAS 28 (A) e (B): Mesmo dente em exame visual e em espectroscopia de fluorescência na detecção de cáries; fluoróforo principal sugerido por Hibst e colaboradores é a protoporfirina IX, que tem absorção também na região do vermelho; Notar que na área desmineralizada na fossa oclusal não apresenta fluorescência significativa, apenas onde a cárie avançou até a dentina (lesão à esquerda), exibindo forte fluorescência; imagem adquirida através de LSM – Laser Scanning Microscope, λ_{exc} 633 nm. Fonte: Adaptado de HIBST et al. (2001).

2.13.3 TRABALHO DE FIGUEIREDO, KURACHI E BAGNATO NO DIAGNÓSTICO DE CÁRIE POR FLUORESCÊNCIA INDUZIDA POR LASER

Em seu trabalho Figueiredo e colaboradores (2005), do Instituto de Física da USP de São Carlos, pesquisaram espectros de fluorescência em esmalte sadio, dentina sadia e dentina cariada com três comprimentos de onda de excitação: 442 nm de um laser HeCd com potência de 5mW, 532 nm com potência de 7mW de um laser Nd:YAG dobrado e 632 nm de um laser HeNe com potência de 3mW. Uma fibra ótica tipo Y foi usada em modo de contato nas amostras, levando e coletando sinais independentemente. O diâmetro das fibras era de 400 microns individualmente, formando em conjunto de três fibras um diâmetro final de 1 mm. As três fibras se dirigiam: a primeira ao laser de excitação respectivo, a segunda para um ponto de contato com a amostra e a terceira, para o espectrômetro. A fluorescência e o retro-espalhamento foram avaliados por um policromador conjugado a um computador que gravou todas as faixas do espectro de fluorescência; o computador também continha um software para o processamento de dados. As figuras 29 (a), (b) e (c) mostram o espectro de fluorescência de emissão com os três comprimentos de onda de excitação, demonstrando resultado similar ao trabalho de Hibst e Paulus em relação à diferença da fluorescência tecidual da cárie, se comparado aos outros comprimentos de onda utilizados na pesquisa.

Figueiredo e colaboradores (2005) avaliaram picos de fluorescência para o $\lambda_{exc} = 632$ nm, chegando a valores de pico em 686 nm para o esmalte sadio e dentina cariada, e em 686 nm para dentina sadia. A dentina cariada apresentou intensidade de fluorescência de na ordem de 3 ± 2 , a dentina sadia na ordem de $0,4 \pm 0,2$ e o

esmalte íntegro na ordem de $0,3 \pm 0,1$. A conclusão de seu trabalho colocou dois comprimentos de onda melhores para a detecção de lesões de cárie em tecido dentário, oferecendo os melhores contrastes: o de 442 nm (região inicial do espectro eletromagnético, entre o violeta e o azul) e 632 nm (região do vermelho do espectro visível). Enquanto que para o comprimento de onda de excitação de 442 nm, mostrada na figura 29 (a), a diferença entre dentina cariada e sadia foi de 30% em média, para a excitação na faixa do vermelho em 632 nm, mostrada na figura 29 (c), essa diferença foi em média de 400%. Para o esmalte a diferença é ainda maior, evidenciando a capacidade de identificação de cárie através da fluorescência tecidual com excitação na faixa do vermelho, pois há melhor contraste nesse comprimento de onda para a identificação de tecido cariado, pois o tecido sadio fluoresce muito pouco para essa faixa do espectro (FIGUEIREDO et al., 2005), confirmando trabalhos de Hibst e Paulus (1998) e (1999^A) e Hibst e colaboradores (2001) (HIBST; PAULUS, 1998; 1999^A; HIBST et al., 2001).

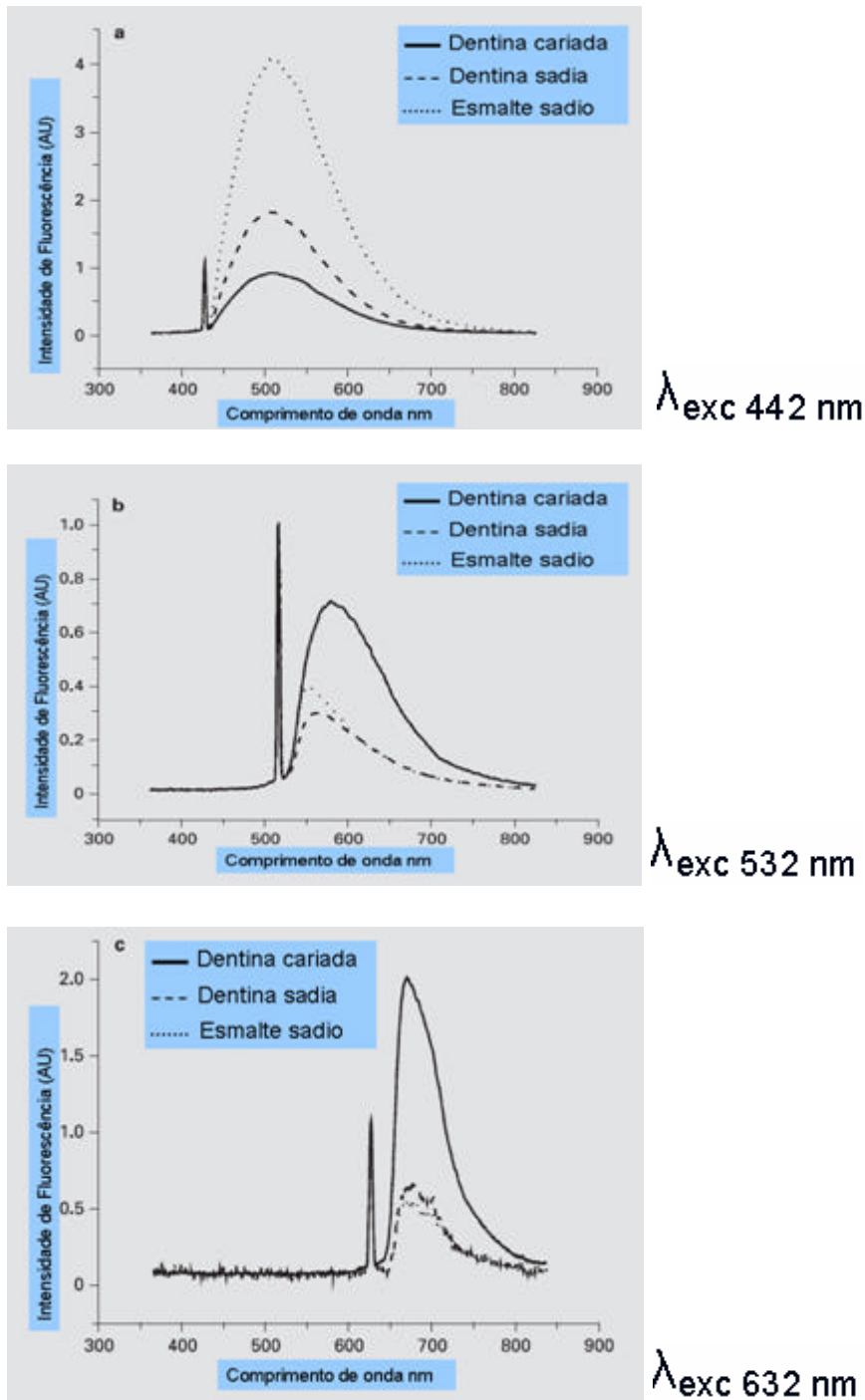


FIGURA 29: Espectro para três comprimentos de onda de excitação: **a)** 442 nm de um laser HeCd com potência de 5mW, **b)** 532 nm com potência de 7mW, de um laser Nd:YAG dobrado e **c)** um laser HeNe em 632 nm, com potência de 3mW; observar o aumento da fluorescência para o tecido cariado na excitação na faixa do vermelho (último gráfico); Fonte: Adaptado de Figueiredo et al. (2005).

2.14 OZONIOTERAPIA

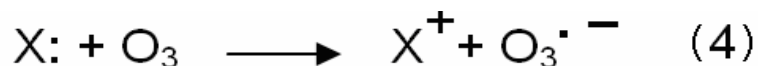
Schonbein foi o primeiro a descobrir o ozônio (O_3) em 1840, e seu emprego em ambientes industriais tem uma história impressionante. Por outro lado, os Índios americanos, para quem a pesca representava uma fonte de alimentação central para sua sobrevivência, já sabiam há muito tempo a relação entre uma pesca bem sucedida e um forte odor gerado pela ação de raios subsequentes a uma tempestade eletromagnética, também observado pelos antigos gregos, que deram o nome de “ozein” a esse cheiro característico. Esses grupos culturais praticavam a pesca após tempestades com raios. Esse fenômeno é explicado por uma geração elevada de O_3 na biosfera, ligado a um enriquecimento de O_2 na camada mais superficial da água lacustre, atraindo os peixes à superfície (GROOTVELD et al., 2004).

O ozônio tem uma grande história de uso benéfico tanto na Medicina tradicional quanto na alternativa. Por mais de 150 anos, milhões de pessoas já se beneficiaram dos efeitos positivos do ozônio, que elimina focos de doença e encoraja a resposta natural de cura do organismo. Para um exemplo, dados da Sociedade Médica da Alemanha de 1980, declarou que até aquele ano 384775 pacientes foram tratados com ozonioterapia, com um mínimo de 5 579 238 aplicações, com taxa de efeito colateral mensurada de 0,00005 por aplicação, resultando em 279 pessoas com algum efeito colateral registrado. Comparativamente, em 1978 nos Estados Unidos, houve hospitalização de 1 500 000 pessoas por efeitos de medicações prescritas, indicando que as taxas de efeitos colaterais são infinitamente menores com o uso correto da ozonioterapia (HOLMES; LYNCH, 2004).

A geração de O_3 é alcançada pela fotodissociação do oxigênio molecular em átomos de oxigênio ativados, que por sua vez reagem com um O_2 complementar (equações 2 e 3):

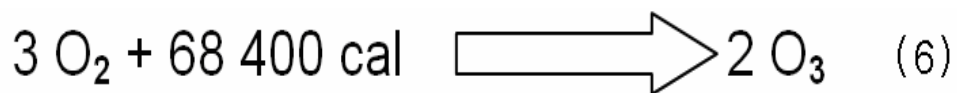


A reação de O_3 com doadores únicos de elétron gera o $O_3^{\cdot -}$ (ozônio anion radical) (JACOBS, 1983 apud GROOTVELD et al., 2004), uma espécie transitória que se forma em solução aquosa, formando HO_3^{\cdot} , que por sua vez se decompõe em radical hidroxila ($\cdot OH$) como mostrado nas equações 4 e 5:



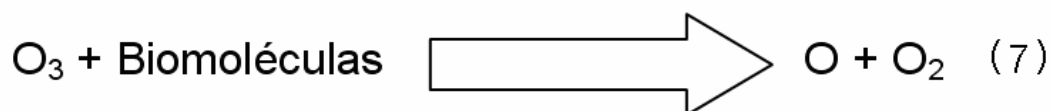
Conseqüentemente, as equações demonstradas em 3 e 4 evidenciam o ozônio transformado em oxidantes ainda mais poderosos. Na verdade, o ozônio é precursor da formação de um espectro de radicais livres capazes promover reações de oxidação tanto *in vitro* como *in vivo* (GOLDSTEIN; BALCHUM, 1967; GOLDSTEIN et al., 1969; ROEHM et al., 1971; MENZEL et al., 1975; DILLARD et al., 1978; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1989)

Para produzir ozônio através de um aparato médico, o oxigênio é exposto a um gradiente de alta voltagem, como representado na equação (6):



Em conseqüência, a coleta é de uma mistura de gases, perfazendo 95% de O_2 e não mais que 5% de O_3 . O ar deve ser excluído, porque além da formação de O_3 , haverá formação de dióxido de nitrogênio, que é tóxico (BOCCI, 2004).

Apesar do ozônio não ser uma molécula com radical, é o terceiro oxidante mais potente ($E^{\circ} = +2,076 \text{ V}$), depois do flúor e do persulfato, e devido a sua instabilidade química, deve ser usado imediatamente após sua produção. Seu tempo de meia vida é de 40 minutos a $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$, significando que sua concentração cai pela metade a cada 40 minutos. A única exceção é se for dissolvido em água e mantido hermeticamente fechado, desta forma pode manter suas propriedades desinfetantes ativas por até dois dias. Mas, com qualquer variação na taxa de oxigênio, o ozônio reage imediatamente, tão rápido quanto solubilizado em água biológica, mostrada na equação 7 (plasma, linfa, urina) (BOCCI, 2004):



Nesta reação, o oxigênio atômico é muito reativo (O). Contrariamente à crença que o ozônio penetra através da mucosa e atinge as células, enfatiza-se que, após a reação descrita acima, o ozônio não existe mais, transformado em espécies reativas de oxigênio. Em ordem de preferência, há reação com ácidos graxos poli-insaturados, anti-oxidantes como o ácido ascórbico e úrico, com compostos tiol com grupos $-\text{SH}$, como a cisteína, glutathiona (GSH) e albumina. Dependendo da dose, carboidratos,

enzimas e RNA podem ser afetados. Todos esses compostos agem como doadores de elétrons e se oxidam.

A reação principal é mostrada na equação (8):



A reação descrita mostra a formação simultânea de espécies reativas de oxigênio (ROS) e produtos de oxidação lipídica (LOP). A molécula principal de nas espécies reativas de oxigênio é o peróxido de hidrogênio (H₂O₂), que é um oxidante menos reativo, capaz de agir como mensageiro do ozônio, responsável por desencadear muitos efeitos biológicos e terapêuticos (BOCCI, 2004).

2.14.1 CUIDADOS NA OZONIOTERAPIA

O ozônio é um gás controvertido porque é muito útil na estratosfera por absorver perigosos raios ultravioleta B e C, mas é muito perigoso para o trato respiratório, principalmente se misturado com monóxido de carbono (CO), dióxido de nitrogênio (NO₂) e traços de ácidos.

Há três requisitos para um equipamento de ozônio operar com segurança e eficiência clínicas (BOCCI, 2004):

1. Utilizar um gerador equipado com fotômetro standardizado;
2. Ser capaz de coletar um volume de gás com definição precisa da concentração de ozônio;

3. Saber-se a dose otimizada para se alcançar os efeitos terapêuticos, sem causar danos aos tecidos;

A conjuntiva ocular, a mucosa pulmonar e o sangue são extremamente sensíveis ao ozônio porque esses tecidos tem poder anti-oxidante e capacidade neutralizadora mínimos. Portanto, o ozônio nunca deverá ser inalado no ambiente, devendo haver um monitor apropriado, um destruidor de ozônio residual e depurador de ar de emergência, no caso do aparelho empregado opere com pressão positiva durante o atendimento.

O poder desinfetante do ozônio se dá por sua habilidade de destruir, neutralizar ou suprimir o crescimento de microrganismos patogênicos. Uma concentração de 0,35 mg/litro reduz pelo menos 5 escalas logarítmicas na população de aproximadamente 1×10^6 bactérias de *E. coli*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella typhi*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas hydrophila*, *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus* quando comparado à concentração de 0,50 mg/ml de cloro (onde se observa ação similar de ambos os compostos, mas com concentração do ozônio menor que 1 milésimo, se comparado ao cloro, ao final do tempo de exposição), com exceção do *Vibrio cholerae* (TORICELLI, 1959).

Se por um lado há forte evidência científica do uso eficiente e benéfico do ozônio, por outro, ele é altamente tóxico e ataca fortemente o tecido pulmonar humano, podendo ser letal, dependendo da concentração e do tempo da exposição (HOLMES; LYNCH, 2004).

A dose permitida de exposição ao ozônio no Reino Unido, disposta em forma de lei, é de no máximo 0,1 ppm ($0,2 \text{ mg/m}^3$), calculado em média por um período de 8 horas, num ambiente fechado. Há também o limite para exposições de curto prazo, limitadas

em 0,3 ppm (0,6 mg/m³), calculado para uma exposição de 15 minutos em média, também em ambiente fechado (HOLMES; LYNCH, 2004).

O ozônio pode ser considerado um dos tratamentos mais seguros para os dentistas e médicos no mundo, ao ser usado adequadamente, (HOLMES; LYNCH, 2004).

Há apenas um equipamento que tem o selo de aprovação de qualidade (CE) para o tratamento da cárie em humanos. Seu nome é Healozone, fabricado pela KaVo GmbH, Biberach, Alemanha, e é utilizado neste trabalho de pesquisa, mostrado em detalhes nas figuras 30 (A) e 30 (B), 31 e 32.

A produção de ozônio pelo aparelho se dá pela captação de ar atmosférico, onde é desidratado ao máximo mostrado na figura 30 (B), procedimento essencial para que não prejudique a concentração produzida.

Os aparelhos disponíveis no mercado produzem ozônio com pressão positiva de gás, e essa forma de entrega é arriscada, levando a inúmeros fatores de risco ligados à possibilidade de exposição inalatória do gás, já abordados.

A operação do HealozoneTM não permite em hipótese alguma a liberação de ozônio no ambiente de trabalho, em nenhuma etapa do tratamento. O aparelho possui uma peça de mão autoclavável, mostrada na figura (31) onde uma cápsula de silicone descartável pode ser acoplada (identificada por cores diferentes) e com 5 diâmetros para a melhor adaptação ao formato e tamanho dentários. Após se acoplar a cápsula de silicone à área desejada para o tratamento, liga-se o aparelho através do pedal de acionamento ou do painel de controle, iniciando-se automaticamente uma sucção para dentro da cápsula. Só ocorre a liberação de ozônio, se o aparelho registrar vácuo através da pressão negativa que se produz e do selamento perfeito ao tecido que é identificado eletronicamente, e só então inicia-se a liberação de gás, que tem tempo

programável de 20 a 60 segundos por operação (em escala progressiva de 10 em segundos).

A concentração de ozônio produzida é de 2100 ppm com tolerância de concentração de 5% para mais ou para menos. A taxa de fluxo do gás é de 615 cc/min.

Se não se conseguir o selamento desejado na operação dentro de um determinado tempo programado, não há alternativa para o funcionamento do aparelho, havendo o desarmamento da operação eletronicamente.

A unidade ao funcionar gera um *beep* a cada segundo, para indicar que está liberando O_3 , além do controle visual no painel do decréscimo do tempo programado. Ao final do processo, o aparelho continua a sucção por mais 10 segundos, para quebrar o O_3 residual dentro da cápsula em O_2 , através de um dispositivo interno, diminuindo ao máximo qualquer risco de exposição.

Há dois aparatos na lateral do aparelho para verificação constante: o desidratador do ar de entrada e o filtro biológico, mostrado na figura 30 (B). Há uma coluna de sílica-gel (grânulos marrons escuros e claros, figura 30 B) ligada à entrada de ar, devendo ser substituída com regularidade, principalmente se o aparelho ficar numa sala exposta a vapores de autoclaves ou aparelhos destiladores de água. A umidade do ar deve ser reduzida ao máximo para otimizar a disponibilidade de ar seco para a produção de ozônio. O filtro biológico é descartável, devendo ser substituído quando a saliva incorporada no processo de sucção atingir um nível pré-determinado. Isso protege o aparato interno que é responsável pela destruição do O_3 residual. A manutenção preventiva deve ser executada na fábrica a cada 6 meses, garantindo a segurança de utilização. O aparelho se auto desliga automaticamente após um número de

operações, devendo ser encaminhado à manutenção preventiva de forma obrigatória (HOLMES; LYNCH, 2004).

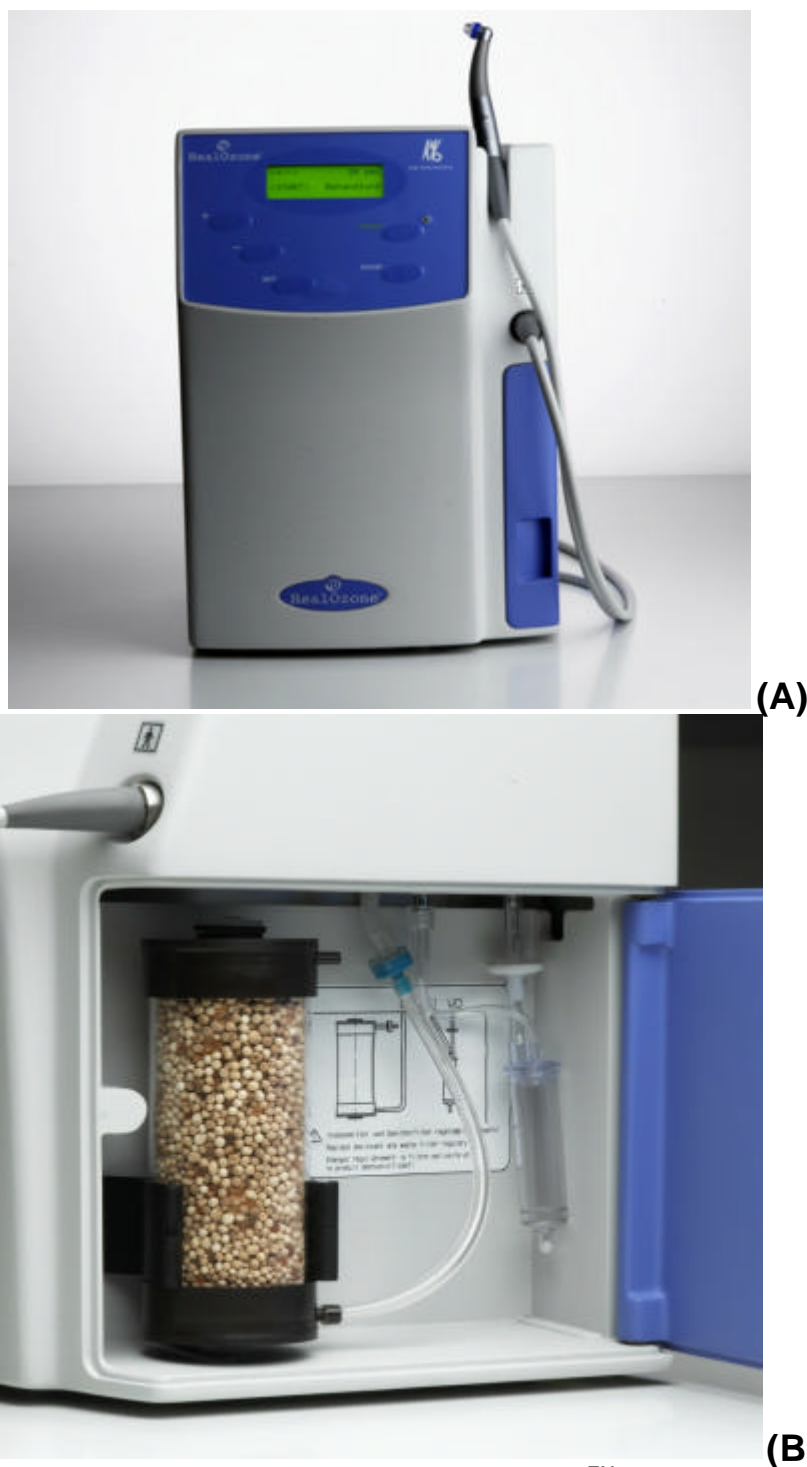


Figura 30 (A): O aparelho gerador de ozônio Healozone™ **(B):** Painel lateral demonstrando o desidratador de ar à esquerda, e o filtro descartável à direita.



FIGURA 31: Peça de mão autoclavável com cápsula de silicone descartável acoplada (parte superior).

Desta forma, pode ser considerado o único aparelho 100 % seguro para o tratamento com ozônio disponível na atualidade na Odontologia.

O Esquema interno de funcionamento está esquematizado na figura 32 com a legenda detalhada em (1): desidratador de ar de entrada; (2): sensor de diferença de pressão; (3): gerador de O_3 ; (4): passagem de O_3 para a cápsula na peça de mão somente se houver vácuo identificado pelo sensor (2); (5): retorno de possíveis resíduos sugados pelo vácuo depositam-se no filtro biológico descartável; (6): neutralizador de O_3 ; (7): bomba de vácuo para realizar a sucção, fornecendo o vácuo para a pressão negativa necessária à segurança clínica

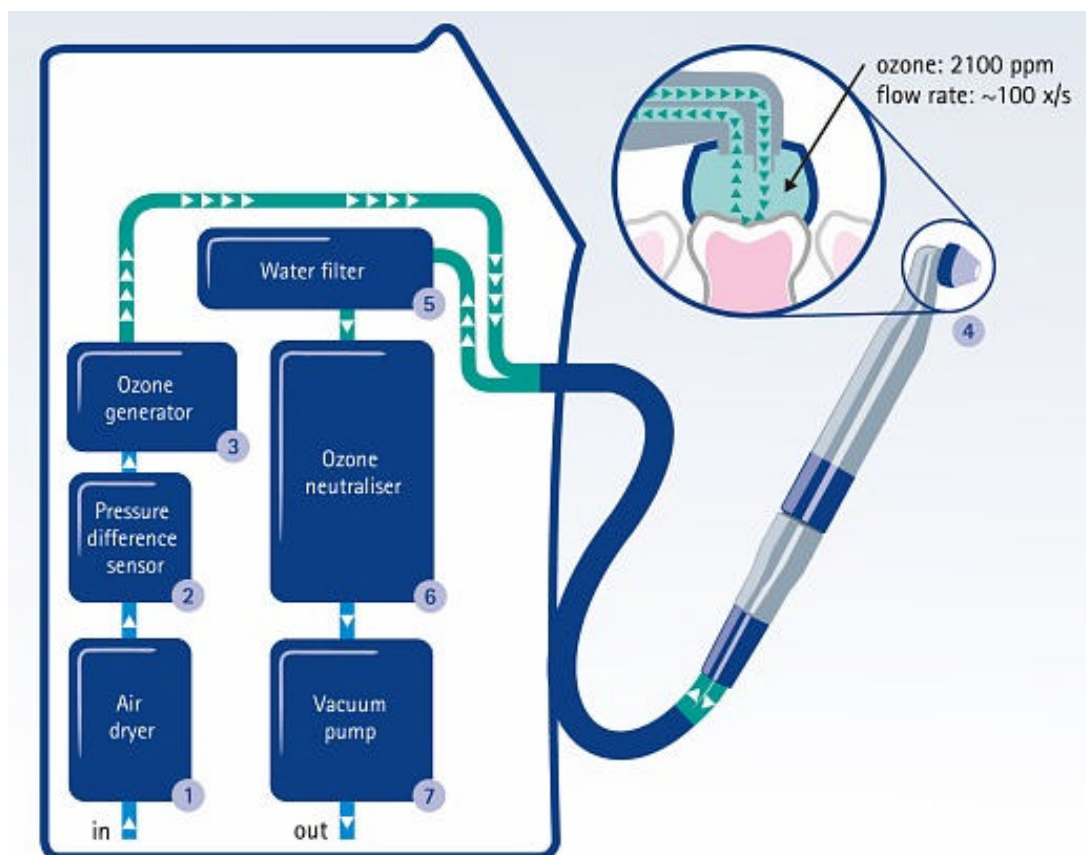


FIGURA 32: Esquema interno de funcionamento: (1): desidratador de ar de entrada; (2): sensor de diferença de pressão; (3): gerador de O_3 ; (4): passagem de O_3 para a cápsula na peça de mão somente se houver vácuo identificado pelo sensor (2); (5): retorno de possíveis resíduos sugados pelo vácuo depositam-se no filtro biológico descartável; (6): neutralizador de O_3 ; (7): bomba de vácuo para realizar a sucção, fornecendo o vácuo para a pressão negativa necessária à segurança clínica.

3. PROPOSIÇÃO

1. Reunir três tecnologias *in vitro* registradas microfotograficamente, utilizando-se primeiramente da fluorescência induzida por laser sobre tecidos dentários para o diagnóstico de cárie inicial (Diagnodent^R), intercalando-se a técnica rotatória de ultra-baixa rotação para a retirada do tecido irreversivelmente decomposto com o diagnóstico de cárie e por último a desinfecção do tecido dentinário remanescente através da Ozonioterapia (HealozoneTM), após a verificação do decréscimo dos valores de fluorescência a uma faixa específica;
2. Diferenciar gradientes médios para a dentina e para o esmalte sadios e cariados com a utilização da fluorescência induzida por laser (Diagnodent^R);
3. Promover menos agressão tecidual dentária através da técnica de ultra-baixa rotação.
4. Promover a desinfecção do preparo cavitário através do uso da Ozonioterapia (HealozoneTM);
5. Delinear o método para a utilização das técnicas *in vivo*.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 METODOLOGIA APLICADA

4.1.1 TIPOLOGIA DA PESQUISA

Estudo do tipo experimental descritivo segundo Freire e Patussi (2001) (FREIRE; PATUSSI, 2001)

4.2 SELEÇÃO DA AMOSTRA

Foram utilizados 32 dentes molares ou pré-molares extraídos, divididos em 2 grupos, com indicação para remoção por motivo cirúrgico ou ortodôntico em pacientes sem distinção etária, utilizados num prazo máximo de 48 h, doados pelos pacientes sob autorização escrita em um termo de consentimento após ter sido aprovado pelo Comitê de Ética da UNIVAP, sob protocolo número H080 / CEP / 2006 (Vide ANEXO I).

4.2.1 REQUISITOS PARA A INCLUSÃO DA AMOSTRA

Os critérios para a formação do primeiro grupo de 16 dentes foram o exame visual associado ao diagnóstico por fluorescência induzida por laser indicando valores de no mínimo 17 unidades, em pacientes de qualquer faixa etária, com indicação de remoção dentária por motivo cirúrgico ou ortodôntico, optando-se por dentes com lesões insipientes em esmalte, mas sem envolvimento visual da cárie em tecido dentinário,.

Os critérios para a inclusão no segundo grupo composto por outros 16 dentes com indicação de remoção dentária por motivo cirúrgico ou ortodôntico, em pacientes de

qualquer faixa etária, foi a integridade tecidual por exame visual associado a valores de fluorescência menores que 7 em todas as superfícies examinadas;

4.3 DESCRIÇÃO DA TÉCNICA APLICADA NA PRIMEIRA AMOSTRA

Após a remoção dos dentes eles foram lavados em água corrente e armazenados em frascos plásticos em água destilada por até 48 horas em temperatura ambiente, num total de 16 pré-molares e molares; Os dentes receberam profilaxia inicial com pedra pomes⁽¹⁾ com escova do tipo Robinson⁽²⁾ em contra-ângulo comum de baixa-rotação 1:1⁽³⁾ em 20 000 RPM; Já em laboratório, os dentes foram fixados em plataforma de cera⁽⁴⁾ sob o microscópio de luz incidente com CCD acoplado⁽⁵⁾ (figura 33-A) sob aumentos de 10, 20, 30 e 40 X, microfotografados em cada passo de diagnóstico, do trabalho micro-mecânico e após a ozonioterapia; As imagens armazenadas digitalmente foram convertidas para arquivos do tipo J-PEG, com escala de medida em cada imagem de 300 µm, 500 µm e 1 mm; O acesso ao tecido cariado foi feito após leitura inicial igual ou superior a 17 no aparelho de fluorescência induzida por laser⁽⁶⁾ (figura 33-B), acoplando-se brocas laminadas⁽⁷⁾ (com tamanhos compatíveis ao tamanho inicial da lesão, variando dos tamanhos 1/4, 1/2, 1, 2 e 3, progressivamente) ao motor de implante⁽⁸⁾ (figura 33-C) através de um adaptador ⁽⁹⁾ em contra-ângulo redutor 16:1⁽¹⁰⁾ (figura 34-A).

A rotação foi estabelecida dentro das opções oferecidas pelo motor de implante em 8000 RPM (figura 35-A); Pôde-se perceber a rotação alcançada durante o trabalho rotatório através de um gráfico (barra horizontal no display do aparelho de implante

-
- (1) Pedra pomes SSWHITE[®];
 - (2) Escova do tipo Robinson SSWHITE[®];
 - (3) Contra-ângulo KaVo[®] 1:1 (20 000 RPM);
 - (4) Placa de cera número 7 CLÁSSICO[®];
 - (5) Microscópio de luz incidente LEIKA[®], Alemanha;
 - (6) Aparelho de diagnóstico por fluorescência induzida por laser Diagnodent[®], KaVo, Biberach, Alemanha;
 - (7) Brocas JET[®] (tamanhos 1/4, 1/2, 1, 2), Canadá;
 - (8) Motor Elétrico de Implante OSSEOCARE[®], Suécia;
 - (9) Adaptador de broca de alta para baixa velocidade JON[®];
 - (10) Contra-ângulo KaVo[®] 16:1, KaVo[®], Biberach, Alemanha;

dividida em dez marcações, figura 35-B), que indicou a porcentagem de rotação de 5 a 20% da velocidade máxima (400 a 1600 RPM), programada inicialmente em 8000 RPM (figura 34-A); O contra-ângulo redutor 16:1 produziu rotação final entre 25 RPM a 100 RPM. Após a abertura de cada lesão, foi comum a formação de debris devido o acesso mecânico não ser refrigerado simultaneamente, havendo necessidade de lavagem com água potável através de seringa plástica de 20 cm³ ⁽¹¹⁾ após cada etapa mecânica e secagem através de jato de ar produzido por outra seringa de 20 cm³ ⁽¹¹⁾; A etapa de lavagem e secagem foi necessária para a leitura de fluorescência que se intercalou a cada etapa do trabalho; Os passos de acesso micro-mecânico através da técnica de ultra-baixa rotação e a avaliação tecidual através do diagnóstico de fluorescência induzida por laser repetiram-se de forma intercalada, até a obtenção de valores numéricos no Diagnodent[®] entre 10 e 15 unidades em cada lesão, notando-se aumento da resistência tecidual à medida que os valores de fluorescência tecidual baixaram; A seguir aplicou-se em cada lesão o Ozônio⁽¹²⁾ (figura 34-B); a técnica de aplicação é realizada através de uma cápsula individual de silicone⁽¹³⁾, acoplada a um contra-ângulo⁽¹⁴⁾, que é selecionada entre 5 diâmetros diferentes (figura 34-C),

justando-se perfeitamente à superfície de cada dente tratado; o gás de Ozônio só é liberado se há registro de vácuo percebido de forma eletrônica; O tempo de aplicação

-
- (11) Seringas plásticas de 20 cm³ BD®;
 - (12) Aparelho de Ozonioterapia HEALOZONE™, KaVo®, Biberach, Alemanha;
 - (13) Cápsulas de silicone, reposição, KaVo®, Biberach, Alemanha;
 - (14) Contra-ângulo para o acoplamento das cápsulas de silicone, KaVo®, Biberach, Alemanha;



FIGURA 33: (A) Microscópio Leica^R com CCD para a transferência de imagem ao computador (parte superior); (B) Aparelho Diagnodent^R; (C) Motor de implantes Osseocare^R;

selecionado em 60 segundos em todos os dentes tratados (tempo programável antes da operação através das teclas (+) para acrescentar ou (-) para diminuir 10 segundos de aplicação, a partir de 20 segundos, em detalhes na figura 34-D).

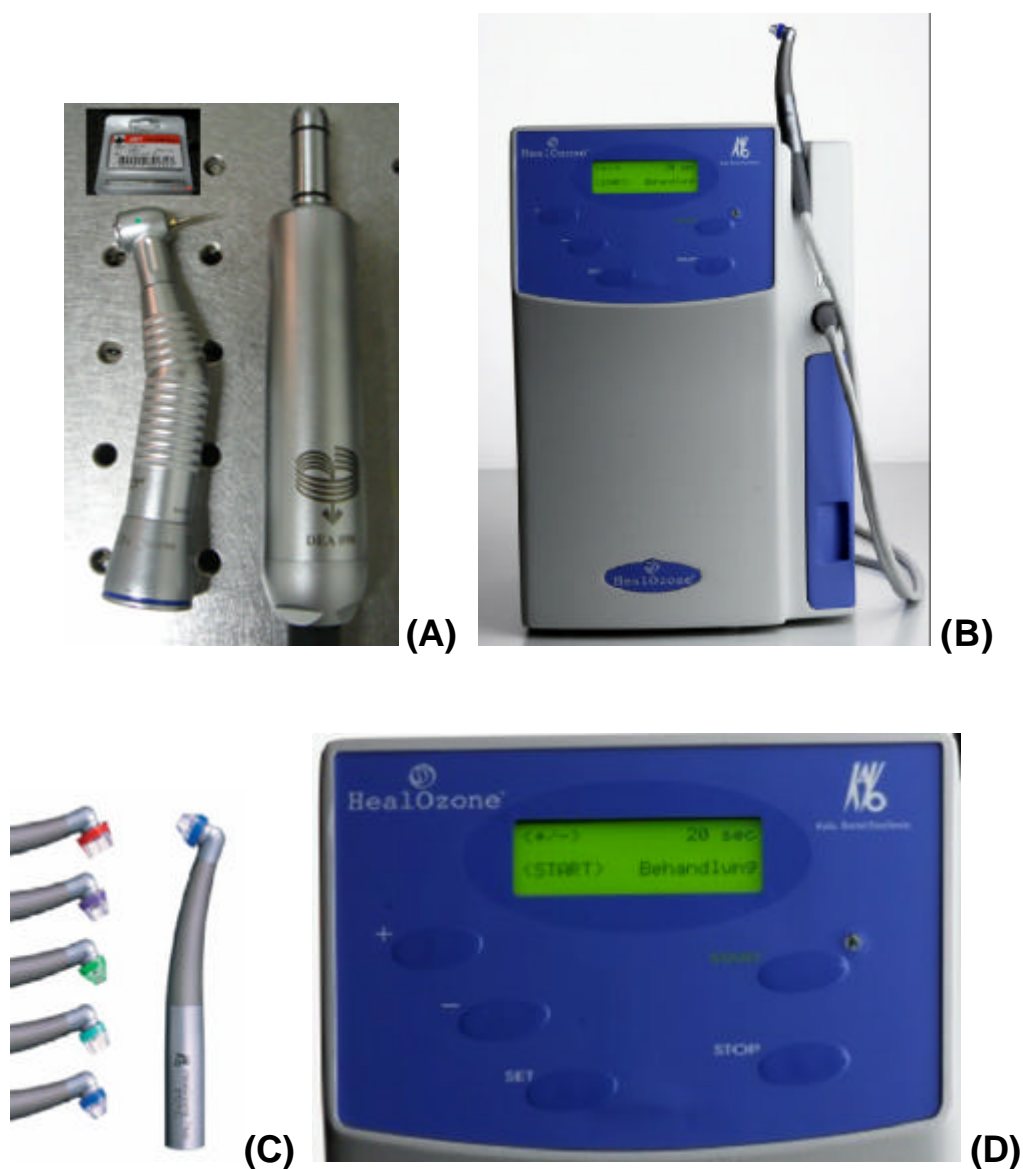


FIGURA 34: **A)** Contra-ângulo de redução 16:1 com adaptador de broca e broca de alta rotação JET^R e micro-motor elétrico **B)** Aparelho HealOzoneTM **C)** Contra-ângulo em que se acopla a ponta de silicone para a aplicação do Ozônio, demonstrando várias cores de cápsula, representando diâmetros diferentes **D)** Painel do Aparelho HealOzoneTM em detalhes;

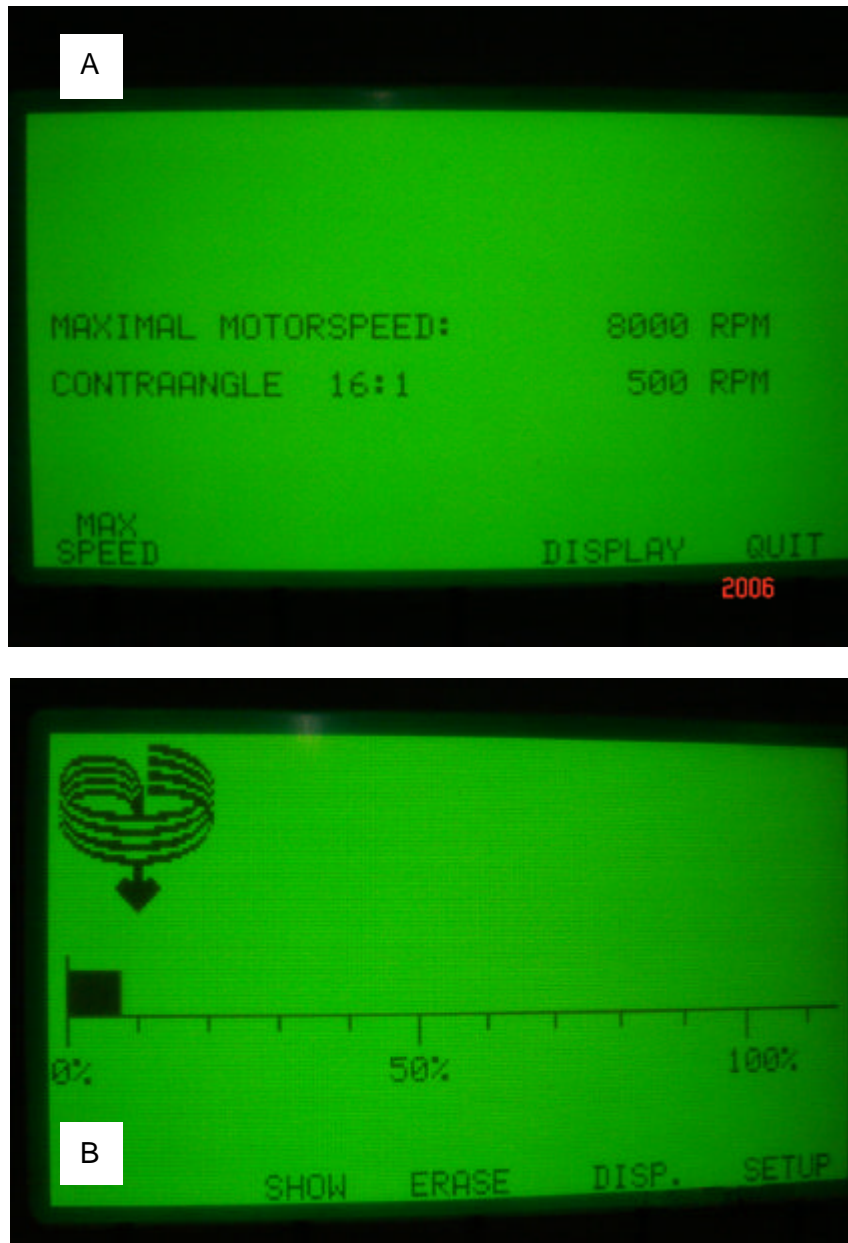


FIGURA 35: A) Indicação da rotação selecionada; **B)** Quantificação da rotação final através do display (valor máximo de 500 RPM equivalendo a 100%);

4.4 DESCRIÇÃO DA TÉCNICA APLICADA NA SEGUNDA AMOSTRA

No segundo grupo composto por outros 16 dentes, houve profilaxia com escova do tipo Robinson⁽¹⁾ com pedra pomes ⁽²⁾ em contra-ângulo comum⁽³⁾ de 20 000 RPM previamente ao trabalho de leitura e corte; os dentes foram fixados em placa de cera⁽⁴⁾ seguindo-se aferições com o aparelho de fluorescência induzida por laser⁽⁵⁾ antes e após do corte no terço médio vestibular e palatino ou lingual, obtendo-se leituras externas (esmalte) iniciais iguais ou inferiores a 7 unidades no máximo em toda a amostra; Após abertura com turbina de alta-rotação⁽⁶⁾ com broca cilíndrica 1558⁽⁷⁾ no terço médio da coroa de cada dente, as medidas de fluorescência foram refeitas individualmente na porção interna de esmalte e dentina em ângulo de 90°, sendo registradas microfotograficamente em câmera intra-oral⁽⁸⁾, convertidas digitalmente em arquivos J-PEG. Todas as leituras internas no esmalte não ultrapassaram 7 unidades de fluorescência em toda a amostra testada, permanecendo os mesmos valores externo e interno antes a após cada corte. Para a dentina, todos os valores variaram entre 6 e 7 em média, e para o esmalte entre 2 a 7 unitariamente,

(1) Pedra pomes SSWHITE®;

(2) Escova do tipo Robinson SSWHITE®;

(3) Contra-ângulo KaVo® 1:1 de baixa rotação acoplado em micro-motor pneumático KaVo® de 20 000 RPM;

(4) Placa de cera número 7 CLÁSSICO®;

(5) Aparelho de diagnóstico por fluorescência induzida por laser Diagnodent®, KaVo®, Biberach, Alemanha;

(6) Turbina de alta-rotação KaVo® 605 C (300 000 RPM);

(7) Brocas JET®, Canadá;

(8) Câmera intra-oral Digital Doc™, Estados Unidos;

5. RESULTADOS

1. As leituras de fluorescência guiaram a intervenção micro-mecânica e tiveram seus valores aumentados após a abertura inicial em todas as cáries da primeira amostra;
2. Uma vez iniciado o trabalho de ultra-baixa rotação sobre o tecido cariado, pôde-se observar que cada lesão cariada era maior ou muito maior do que se previa inicialmente; a superfície íntegra do esmalte ocultou cárie em dentina em 64 lesões investigadas nos 16 dentes com cáries insipientes em esmalte da primeira amostra;
3. Mecanicamente, foi percebida certa facilidade para a remoção do tecido cariado, demonstrando sua baixa micro-dureza em média; em cáries agudas, o tecido oferece ainda menor resistência; em cáries crônicas, há maior resistência tecidual à micro-mecânica, mas não de forma significativa a ponto de impedir a execução da técnica sugerida;
4. Houve grande formação de debris resultante da ação em ultra-baixa rotação empregada nas primeiras etapas da remoção do tecido cariado;
5. À medida que se removia o tecido decomposto, percebia-se maior resistência tecidual, com diminuição gradual da formação de debris e menores intensidades de fluorescência;
6. Os registros microscópicos durante várias etapas do trabalho evidenciaram a possibilidade de remoção do tecido decomposto com a micro-mecânica

proposta, de forma atraumática ao tecido, com grande possibilidade de emprego futuro *in vivo*;

7. Após a Ozonioterapia o tecido dentinário tomou uma coloração esbranquiçada, resultante da oxidação das biomoléculas;
8. No segundo grupo de dentes sadios, seccionados para as medições de fluorescência induzida por laser em esmalte e dentina íntegros, obtiveram-se valores entre 3 a 7 em todos os dentes da amostra em leitura externa e interna.

As figuras demonstrando o trabalho na primeira amostra com o diagnóstico inicial, o emprego da técnica micro-mecânica em diversos passos e a aplicação de Ozônio, registrados microfotograficamente, estão demonstradas em detalhes nas figuras 36 a - l, 37 (parte 1) a - l, 37 (parte 2) m - o, 38 (parte 1) a - l, 38 (parte 2) m - r, 39 (parte 1) a - o, 39 (parte 2), p - r, 40 (parte 1) a - o 40 (parte 2) p - a4 e finalmente a figura 40 (parte 3) a5 - a7;

No segundo grupo foram avaliados 16 dentes sadios, seccionados para medições de fluorescência induzida por laser em esmalte e dentina sadios, obtendo-se valores entre 3 e 7 em todos os dentes, detalhados nas figura 41 a – e e na figura 42 a - e.

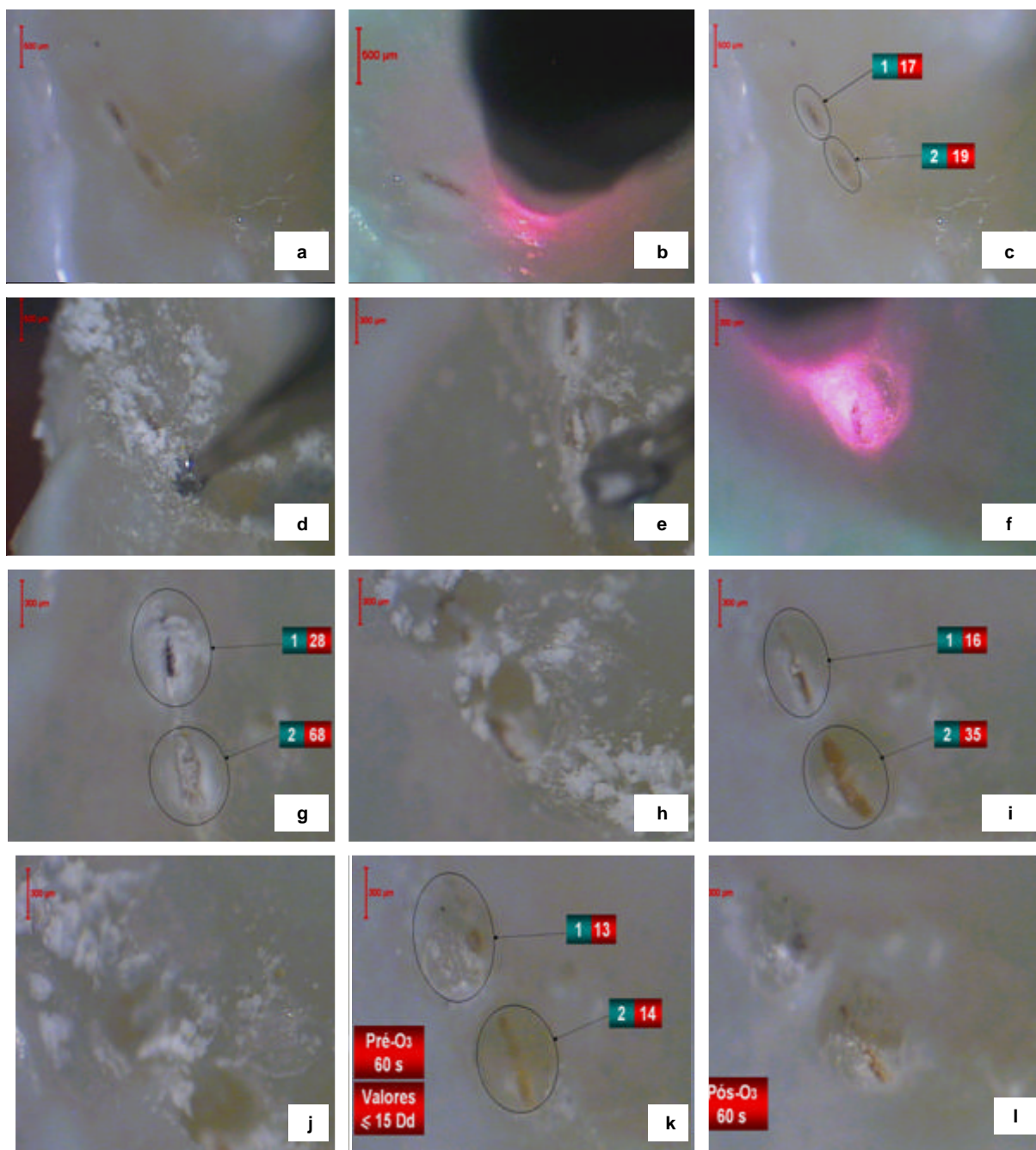


FIGURA 36: Imagens microfotográficas de a até l, onde são identificadas visualmente e através da fluorescência tecidual as lesões (a, b, c, f), alternando-se a mecânica rotatória sugerida com passos alternados de diagnóstico (d,e,f,g,h i); formação constante de debris (d, e, h, j); leitura inferior a 15 no Diagnodent (k); pós Ozônio (l);

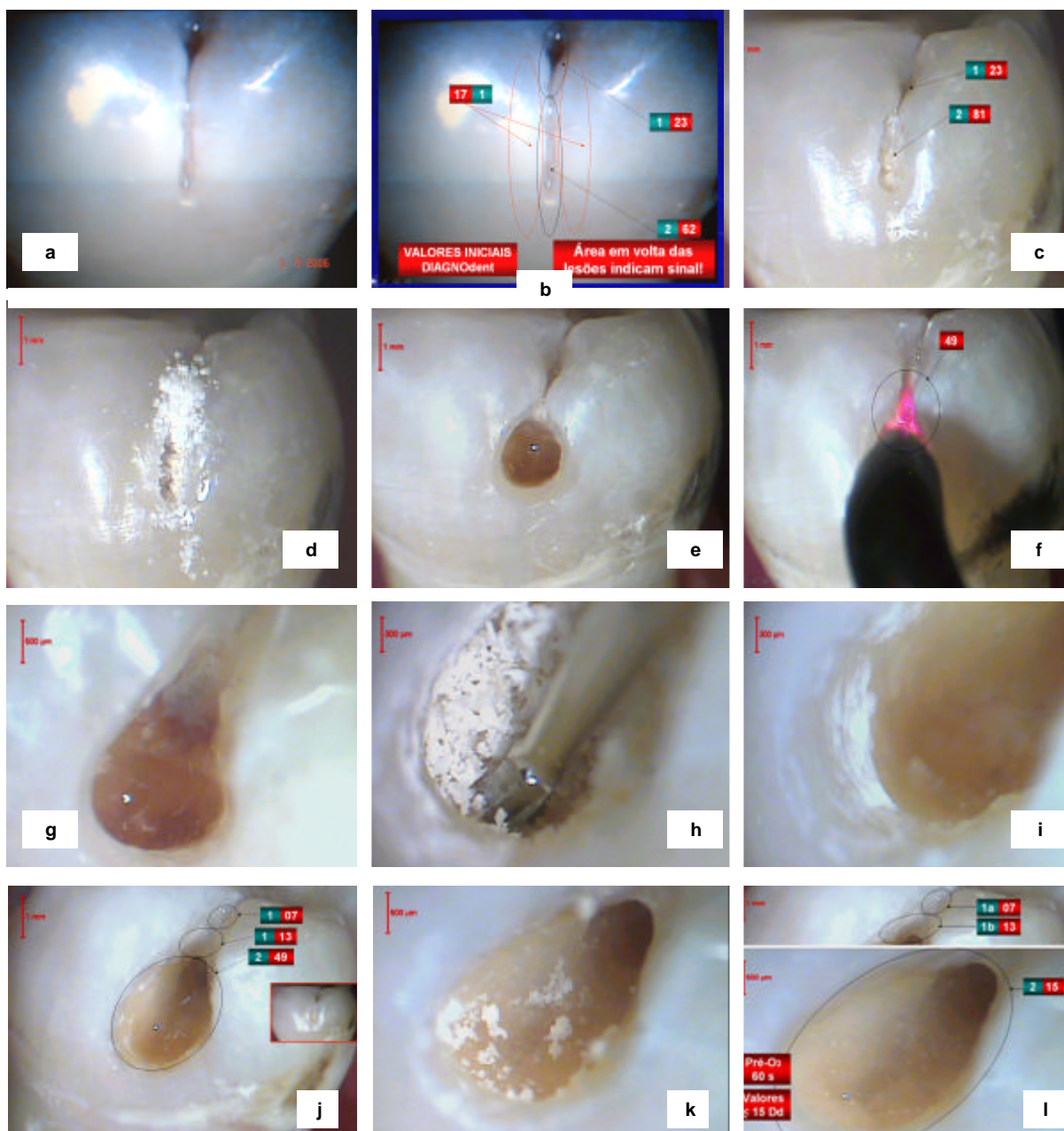


FIGURA 37 (PARTE 1): Imagens microfotográficas de (a) até (l), onde são identificadas visualmente e através da fluorescência tecidual as lesões (a, b), seguindo-se a mecânica rotatória sugerida com passos alternados de diagnóstico (c, d, e, f, g, h, i, j, k); formação constante de debris (d, h, k); leitura inferior a 15 no Diagnodent, pré-aplicação de Ozônio (l);

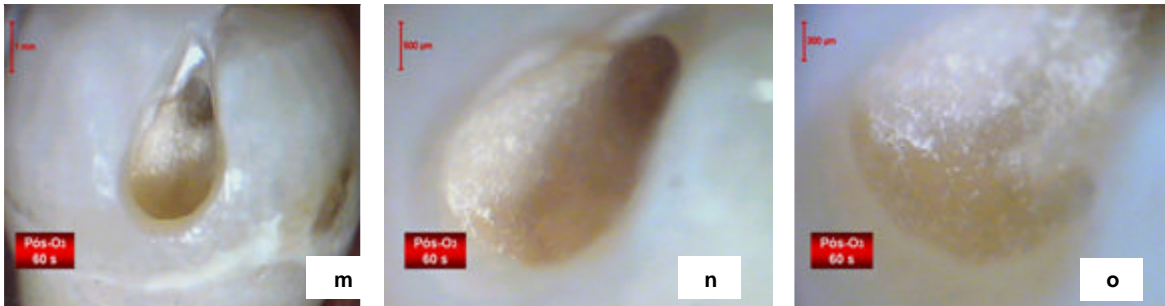


FIGURA 37 (PARTE 2): pós Ozônio (m, n, o);

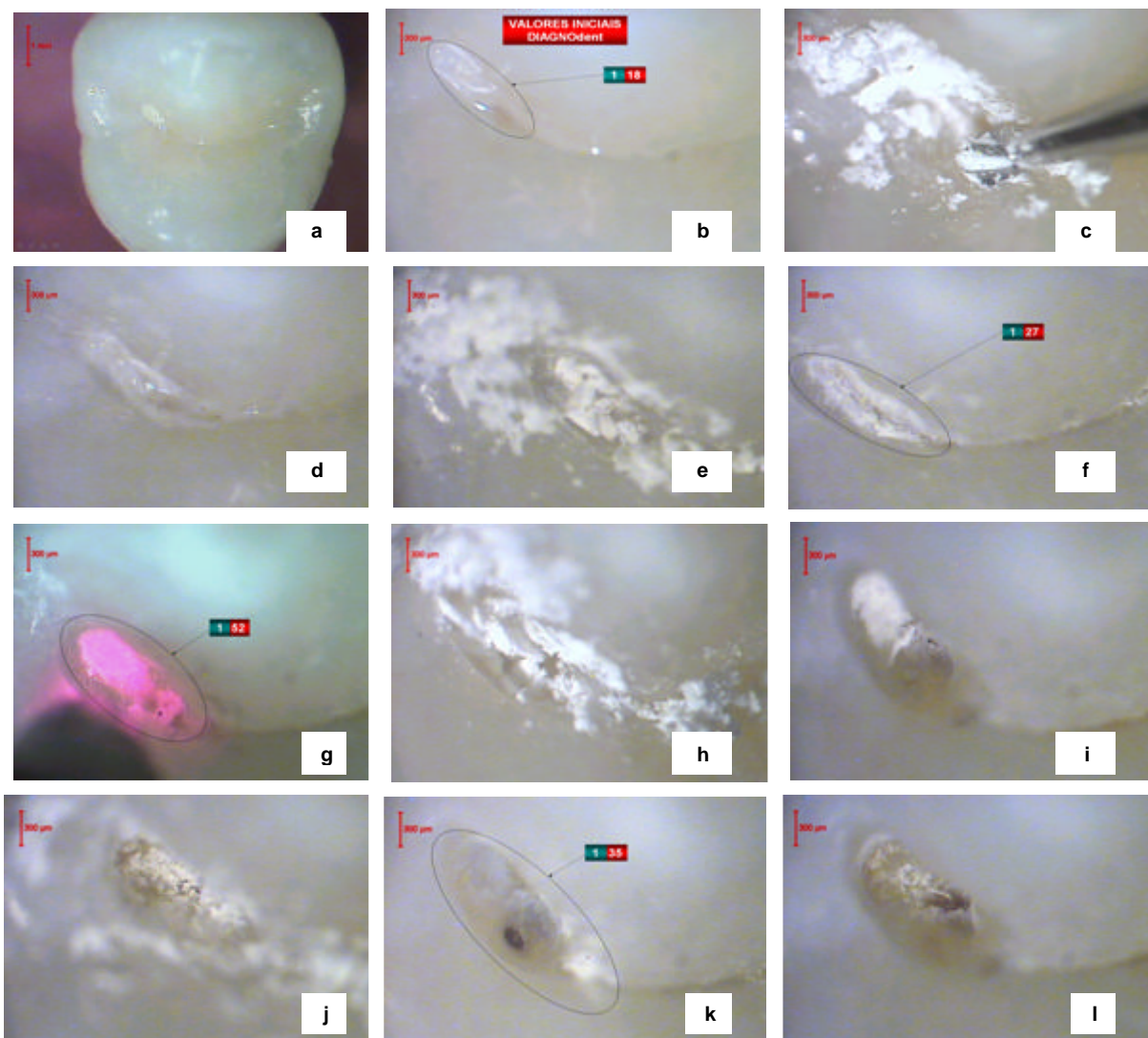


FIGURA 38 (PARTE 1): Imagens microfotográficas de (a) até (l), onde são identificadas visualmente e através da fluorescência tecidual as lesões (a, b e c), seguindo-se a mecânica rotatória sugerida com passos alternados de diagnóstico (d,e,f,g,h i); formação constante de debris (d, e, h, j); evidente lesão oculta em (i, j, k, l);

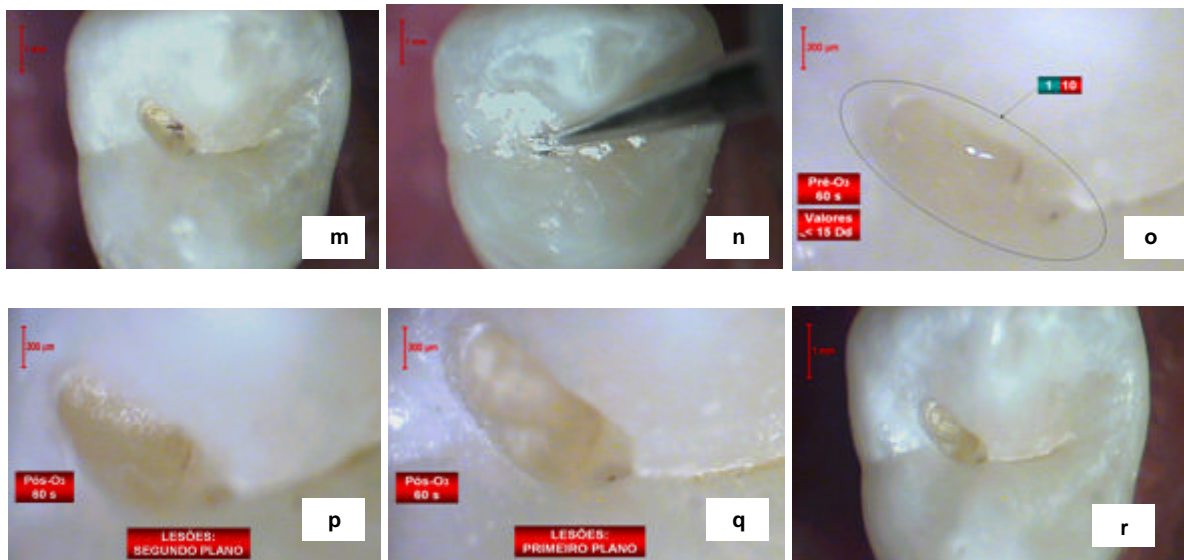


FIGURA 38 (PARTE 2): Imagens microfotográficas de (m) até (r), onde são identificadas visualmente e através da fluorescência tecidual a presença de cárie oculta em dentina (m), seguindo-se a mecânica rotatória sugerida com passos alternados de diagnóstico (n, o); formação de debris (n); leitura inferior a 15 no Diagnodent (o); pós O3 em segundo plano (p); pós Ozônio em lesão em primeiro plano (q); imagem final (r);

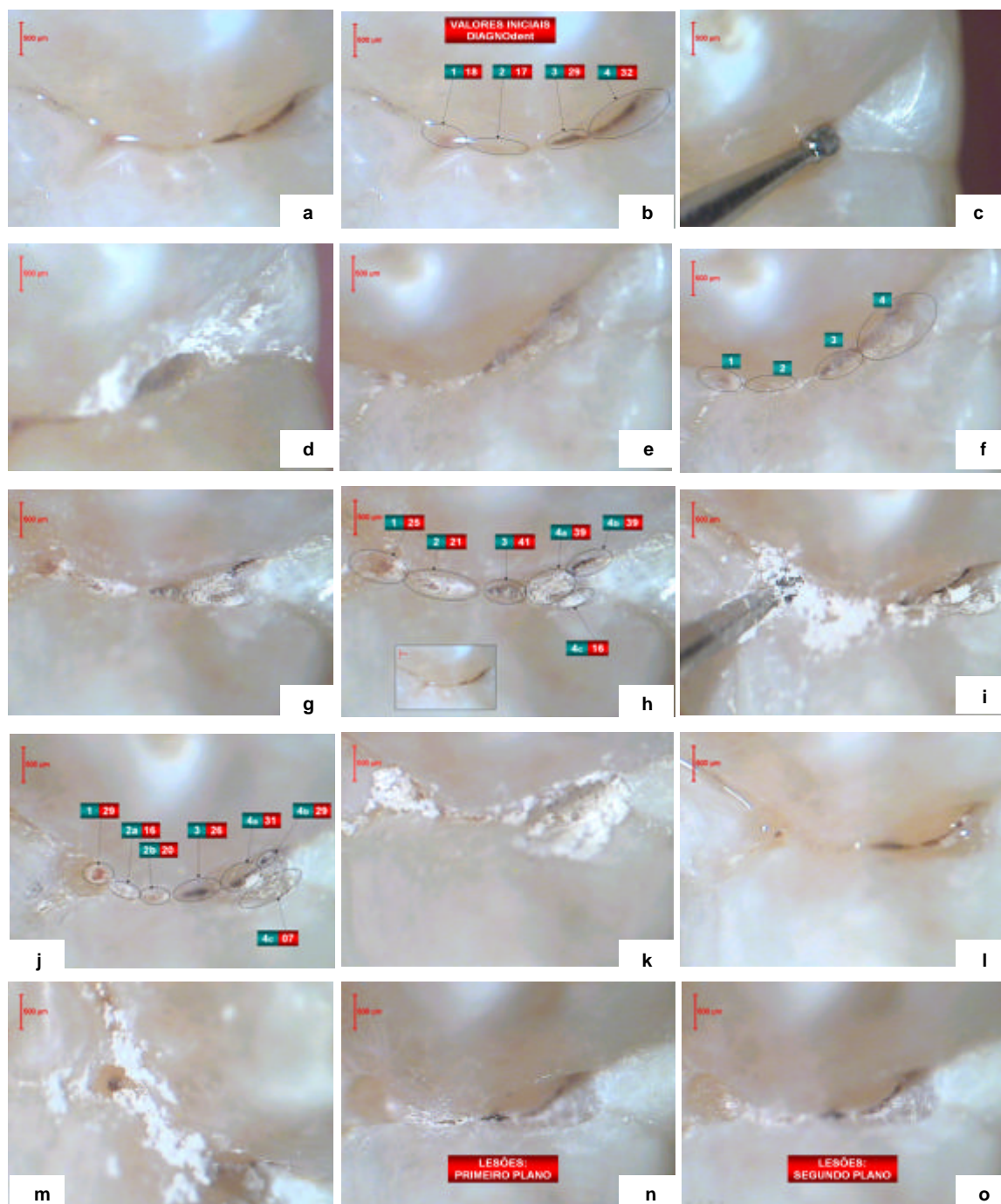


FIGURA 39 (PARTE 1): Imagens microfotográficas de (a) até (o), onde são identificadas visualmente e através da fluorescência tecidual as lesões (a, b), seguindo-se a mecânica rotatória sugerida com passos alternados de diagnóstico (c, d, e, f, g, h, i, j, k, l, m, n, o); formação constante de debris (d, i, k, m);

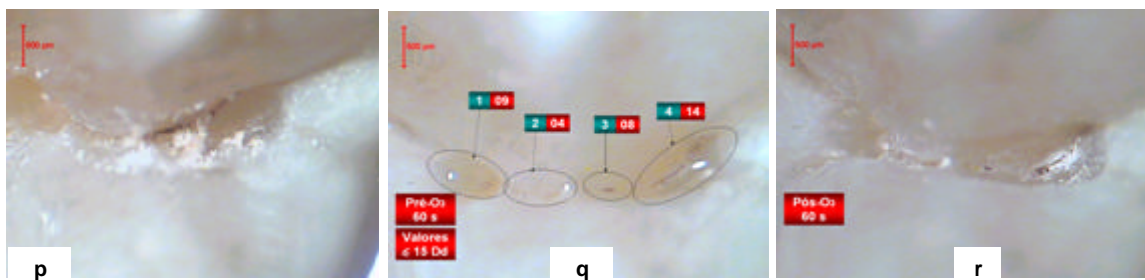


FIGURA 39 (PARTE 2): formação de debris (p) devido à ação mecânica rotatória (p); leituras inferiores a 15 no Diagnodent (q); pós Ozônio (r);

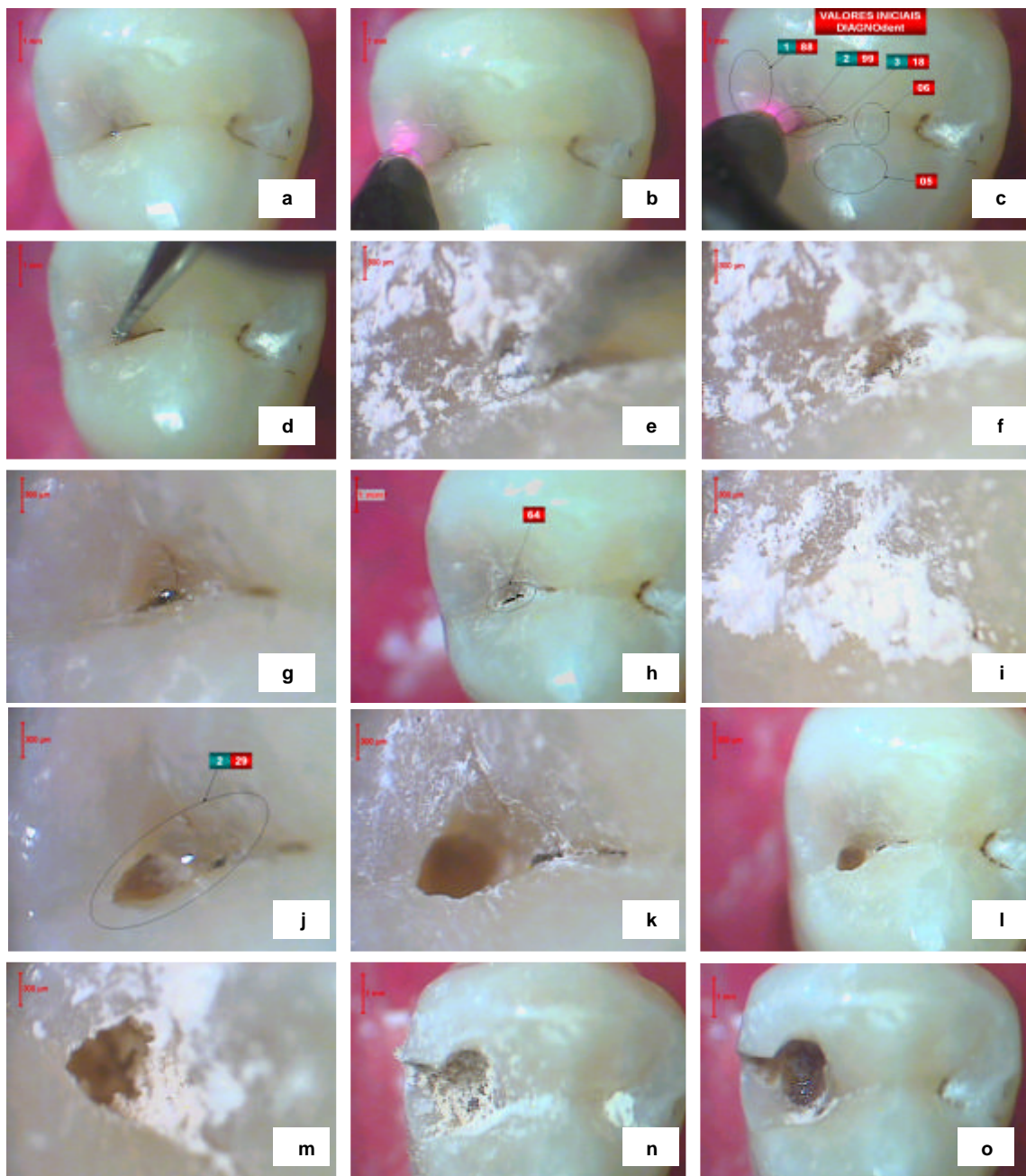


FIGURA 40 (PARTE 1): Imagens microfotográficas de a até o, onde são identificadas visualmente e através da fluorescência tecidual as lesões (a, b e c), seguindo-se a mecânica rotatória sugerida com passos alternados de diagnóstico (d, e, f, g, h, i, j, k, l, n, o); formação constante de debris (e, f, i, m, n); lesão oculta mais exposta em (o);

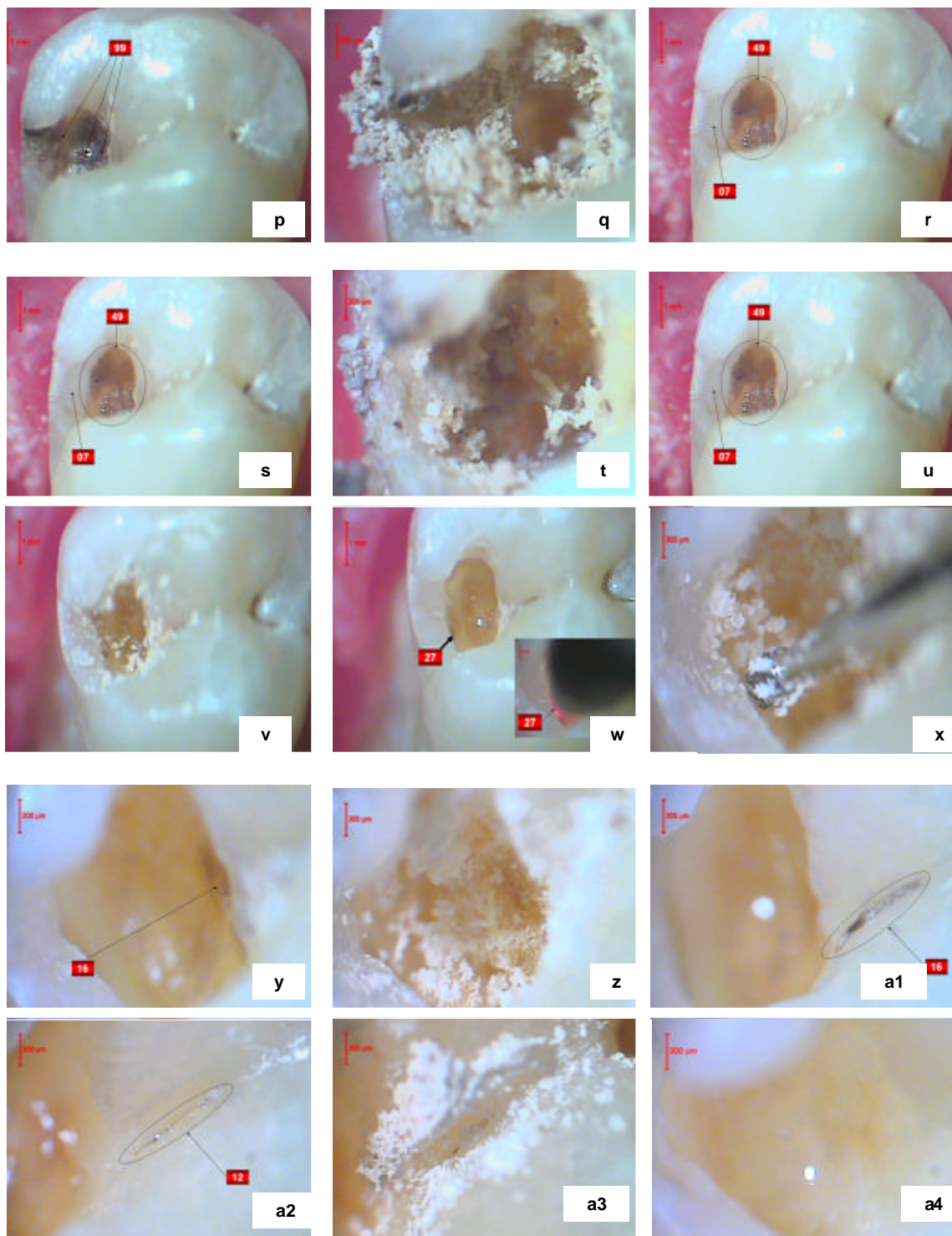


FIGURA 40 (PARTE 2): Formação constante de debris (q, s, t, v, x, z, a3); limpeza progressiva da lesão é conseguida sem exercer grande pressão na cavidade, devido à grande deterioração tecidual; valor máximo de leitura de fluorescência tecidual (99, p); observar a limpeza gradual do tecido com diminuição gradual dos valores no Diagnodent^R até a (a4);

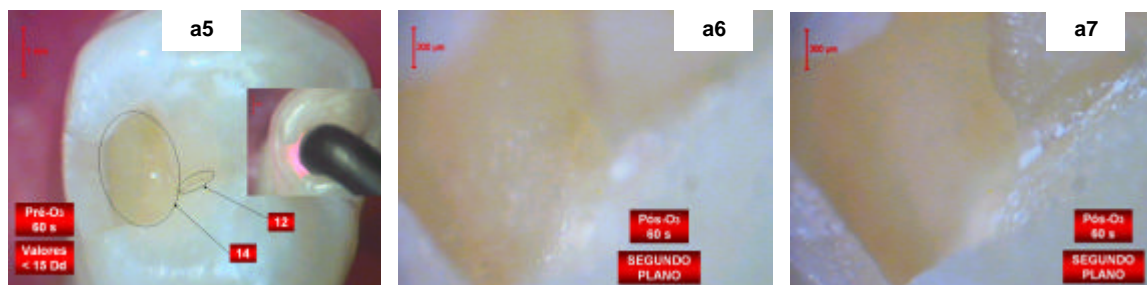


FIGURA 40 (PARTE 3): Valores finais do Diagnodent^R menores que 15 (a5); visão da área após a aplicação de 60 s O₃ mostrando o fundo da cavidade em segundo plano (a6); visão em primeiro plano da outra lesão mais superficial (a7).

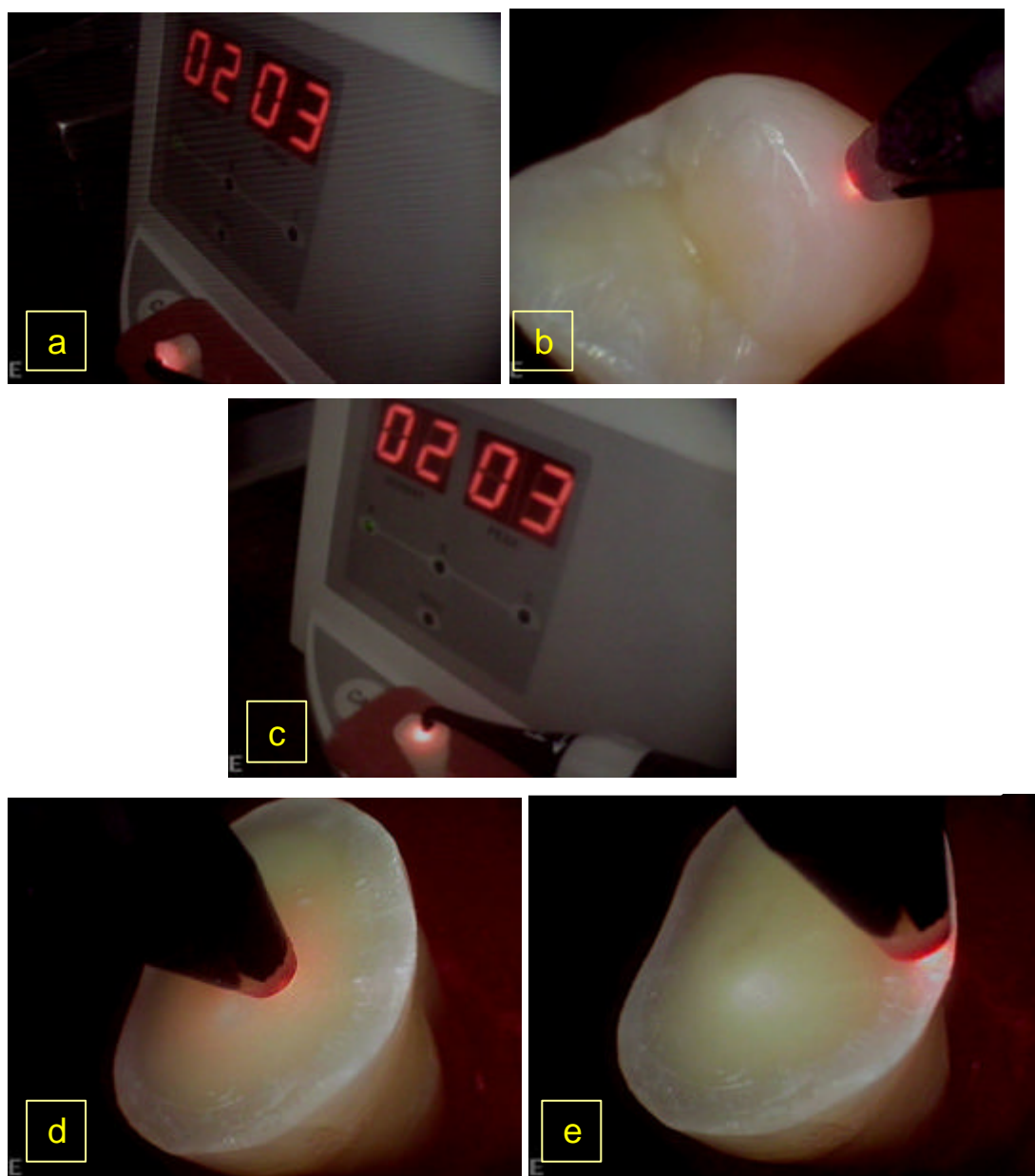


FIGURA 41:

- (a): Leitura inicial pré-corte no Diagnodent^R de 03 unidades de fluorescência no máximo em toda a face externa Vestibular e Palatina (no terço médio) do esmalte;
- (b): Leitura inicial em detalhes;
- (c): Após corte transversal com broca em turbina de alta-rotação, a leitura em 90° com o Diagnodent^R em dentina exibiu valores de fluorescência de no máximo 3 unidades;
- (d): Leitura em dentina em detalhes;
- (e): Leitura em em 90° do esmalte apresentou valor máximo de 03 unidades de fluorescência no Diagnodent^R;

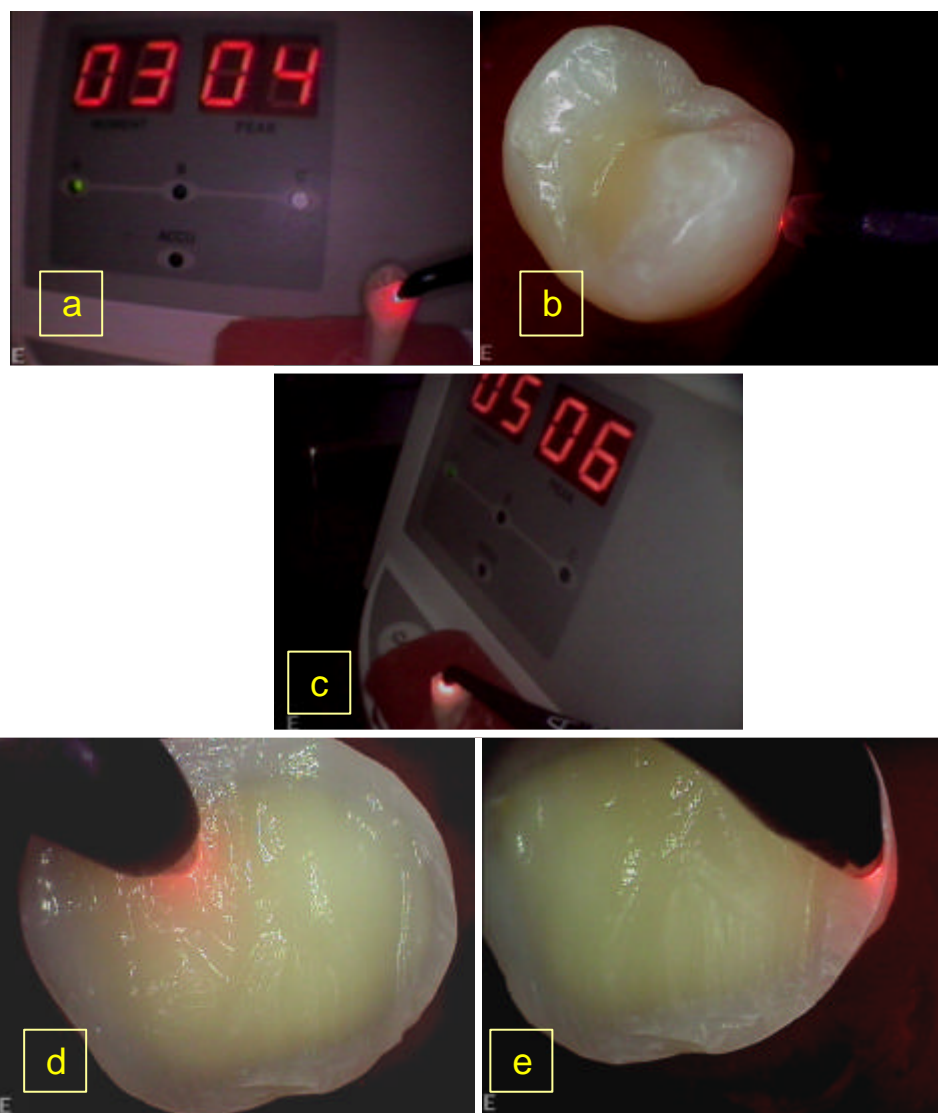


FIGURA 42: (a): Leitura inicial pré-corte no Diagnodent^R de 04 unidades de fluorescência no máximo em toda a face externa Vestibular e Palatina ou Lingual (no terço médio) do esmalte;
 (b): Leitura inicial em detalhes;
 (c): Após corte transversal com broca em turbina de alta-rotação, a leitura em 90° com o Diagnodent^R em dentina exibiu valores de fluorescência de no máximo 6 unidades;
 (d): Leitura em dentina em detalhes;
 (e): Leitura em em 90° do esmalte apresentou valor máximo de 04 unidades no Diagnodent^R;

6. DISCUSSÃO

6.1 O FORTALECIMENTO DO ESMALTE POR FLUORETOS E A CÁRIE OCULTA EM DENTINA

As cáries eram maiores do que se previa no exame visual inicial e invadiam dentina em todas as amostras, denotando presença de bactérias marcadamente anaeróbias em dentina, conforme estudos de Hoshino (1985), Massey e colaboradores (1993), Martin e colaboradores (2002), NADKARNI e colaboradores (2004), CHHOUR e colaboradores (2005) e MUNSON e colaboradores (2004);

Contraditoriamente, os principais motivos para que se formem cáries ocultas podem estar ligados à fluoretação abundante a que se expõe a população atualmente associados à presença não perturbada de biofilme em regiões de risco.

Os fluoretos colaboram de forma inegável para diminuir a prevalência de cáries, fortalecendo maciçamente o esmalte e aumentando sua resistência aos ataques ácidos bacterianos, mas há suspeita de estarem ligados ao aumento de lesões não aparentes no tecido dentinário, pois parecem não se difundir mais profundamente e dar a mesma proteção à dentina, podendo colaborar na formação de lesões ocultas (SAWLE; ANDLAW, 1988; LUSSI, 1991; WEERHEIJM et al., 1992^A; WEERHEIJM et al., 1992^B; PEARCE et al., 1995; RICKETTS et al., 1997; WEERHEIJM, 1997). Com isso, ausência de sinal clínico de lesão não é garantia de saúde dentária (WEERHEIJM et al., 1992^A; 1992^B).

Quando a lesão de cárie é escondida por tecido de esmalte relativamente íntegro clinicamente, os métodos convencionais de diagnóstico freqüentemente falham. Lussi reportou sensibilidade de apenas 15% para o diagnóstico visual incluindo o uso de sonda exploratória para detectar lesões de cárie em dentina, quando nenhum sinal aparente era evidente no esmalte. Adicionando o uso de radiografias tipo *bitewing*, a sensibilidade aumentou significativamente para 49%, significando que a metade das lesões ocultas ainda permaneceu sem diagnóstico (LUSSI,1998).

Mestriner acredita haver mudança no padrão de desenvolvimento da lesão de cárie. As lesões têm progredido e atingido a dentina, sem demonstrar alterações nos aspectos clínicos do esmalte (MESTRINER et al., 2006).

Esse fenômeno não é recente e já foi citado inclusive por Black em 1908, onde lesões oclusais foram descritas como “cáries muito extensas que ocorrem com freqüência, enquanto a entrada superficial mantém-se pequena” e que “a taxa de progressão da lesão é bem provável ser maior por se encontrar oculta sob o esmalte que a recobre” (BLACK, 1908). Em 1931, Hyatt também descreveu “o quão profundamente uma cárie pode progredir sob a base de uma fóssula ou fissura sem dar nenhuma evidência de sua presença” (HYATT, 1931). Mas, com certeza, vários estudos chegam à mesma conclusão: o diagnóstico principalmente da cárie oclusal é uma tarefa difícil! Por isso, o diagnóstico mais correto possível tem papel tão importante.

Apesar da diminuição da prevalência de cáries, sua detecção e tratamento são a mais proeminente tarefa dos dentistas, tendo ainda como principais ferramentas o exame visual, radiográfico e/ou químico, além da iatrogênica sonda exploratória. Todos eles apresentam baixa sensibilidade para a identificação precisa da doença mais prevalente que afeta o ser humano em todo o mundo: a cárie. O diagnóstico por fluorescência

induzida por laser é considerado eficiente em vários estudos, confirmando os achados neste trabalho (LOESCHE, 1979; EKSTRAND, 1987; SAWLE; ANDLAW, 1988; LUSI, 1991; KÖNIG et al., 1993; PEARCE, 1994; STOOKEY et al, 1999; HIBST; PAULUS, 1999a; HIBST; PAULUS, 1999b; IWAMI et al., 2003; IWAMI et al., 2004; LUSI, 2004; PINHEIRO et al., 2004, FIGUEIREDO et al., 2005; EBERHARD et al. 2005; IWAMI et al., 2006).

6.2 O DIAGNÓSTICO DE CÁRIE POR FLUORESCÊNCIA INDUZIDA POR LASER

O trabalho evidenciou que o diagnóstico através da fluorescência induzida por laser pode identificar colônias bacterianas sob o esmalte em atividade proteolítica na dentina em maior ou menor grau, com grande sensibilidade na descoberta de cáries não evidentes clinicamente, e pode ser empregado com segurança, pois ele é capaz de rastrear sítios de contaminação anaeróbia que podem representar risco iminente.

As bactérias proteolíticas anaeróbias são preponderantes na cárie superficial e profunda dentinária (HOSHINO, 1985) e a fluorescência do tecido sadio é extremamente baixa quando se excita o esmalte com laser vermelho (HIBST; PAULUS, 1999; FIGUEIREDO et al., 2005). Essas características fazem grande diferença em termos clínicos para a detecção de cáries ocultas, mas com a limitação geométrica da fluorescência da amostra quando excitada, afinal, a distância entre o tecido infectado e a ponta de diagnóstico pode não permitir uma detecção suficiente devido à grande espessura do esmalte em determinados dentes; a distância ideal para avaliação deve

ser menor que 1 mm, conforme descrito por Hibst e Paulus (1999 ^A), e o ideal é a menor distância possível (em contato direto, se possível).

A identificação de bactérias, anteriormente descritas como presentes apenas em doença periodontal ativa, associadas à sintomatologia dolorosa em dentes com pulpíte crônica e em canais radiculares infectados, trás uma nova visão à Dentística Restauradora no que se refere ao risco da cárie em dentina: as bases microbiológicas são semelhantes à Periodontia e à Endodontia.

Espécies de *Prevotella* são consideradas como as principais representantes com interesse espectroscópico. Além disso, estas têm sido evidenciadas como sendo as principais responsáveis pela dor de origem inflamatória pulpar (MASSEY et al., 1993). São consideradas desde relativamente abundantes em cáries profundas (MUNSON et al., 2004) até as predominantes em cáries profundas (NADKARNI et al., 2004; CHHOUR et al., 2004), subestimadas em número até em 80 escalas logarítmicas após estudos moleculares comparados com métodos de cultura (MARTIN et al., 2002). Chhour e colaboradores (2004) evidenciaram presença de espécies chamadas *Prevotella-like* na cárie profunda, considerando-as as mais prevalentes nessa região dentinária, chegando a essa conclusão após a análise de DNA bacteriano, altamente preciso (CHHOUR et al., 2004).

Além de importância em número, outros estudos comprovam a fluorescência de espécies de *Prevotella* devido ao seu alto conteúdo de protoporfirina IX, molécula orgânica fotosensível presente em até 83% do peso da *Prevotella melaninogenica* e 85% na *Prevotella intermedia* (SOUKOS et al., 2005), e segundo estudos de Lennon e colaboradores (2006) é a espécie que mais fluoresce quando excitada com lâmpada de xenon, coincidindo fortemente com o espectro de fluorescência da protoporfirina IX

(KÖNIG et al., 1993; LENNON et al., 2006), que também tem outro pico de fluorescência quando excitada com laser vermelho (KÖNIG et al., 1993; HIBST; PAULUS, 1999^A; FIGUEIREDO et al., 2005).

6.3 O PAPEL DAS METALOPROTEINASES NO ENFRAQUECIMENTO TECIDUAL

A atividade proteolítica que denatura e enfraquece irreversivelmente o colágeno ocorre após sua desmineralização e diminui marcadamente a resistência tecidual, permitindo o emprego da técnica de ultra-baixa rotação, conforme vários estudos sobre micro-dureza tecidual baixa em tecido cariado, já abordados anteriormente neste trabalho (FUSAYAMA et al., 1966; FUSAYAMA; TERASHIMA, 1972; OHGUSHI, 1973; OHGUSHI; FUSAYAMA, 1975; KUBORI et al., 1977; OGAWA, 1983; LUSSI, 1991; Van STRIJP et al., 1992; BANERJEE et al, 1999^A; BANERJEE et al, 1999^B; HOSOYA; MARSHALL JR, 2004).

A penetração da broca em ultra-baixa velocidade, praticamente sem trauma ao tecido só é possível através da diminuição acentuada de resistência tecidual induzida por metaloproteinasas associadas à ação bacteriana de proteólise. A vantagem da técnica sugerida reside no diagnóstico que rastreia subprodutos metabólicos bacterianos, impedindo que seja removido tecido enfraquecido por metaloproteinasas que eventualmente já tenha amolecido marcadamente a dentina.

Além do enfraquecimento tecidual provocado pela alta ingestão do açúcar (PEKKALA et al., 2002) as bactérias já presentes na dentina secretam grande variedade de enzimas hidrolíticas no fluido dentinário, já que estão em íntimo contato com os túbulos

e promovem a queda do pH tecidual pela formação de ácidos durante a glicólise anaeróbica, resultando na dissolução das paredes dos túbulos dentinários e levando também à ativação de enzimas naturais do próprio tecido, como a colagenase ou MMP-20, demonstradas nas figuras 43 e 44, através de corante imunohistoquímico. Pode-se observar o corante (pigmentação avermelhada evidente no tecido testado para metaloproteinase e não evidenciado no controle).

Além de colagenases, já foram descritas também gelatinases e outras enzimas teciduais, como a MMP-2, MMP-8 e MMP-9, capazes de catalisar a proteólise do colágeno na dentina, enfraquecendo ainda mais o tecido já atacado por metabólitos bacterianos (LARMAS, 1971; TJÄDERHANE et al., 1998; LARMAS, 2001; PEKKALA, 2002; FERRARI et al., 2004; PASHLEY et al., 2004; CHAUSSAIN-MILLER et al., 2006).

A dissolução de íons da parede dentinária e os produtos de degradação da matriz extracelular são levados ao fluido dentinário. Como não se é percebido acúmulo desses íons, o sistema parece conter mecanismos de remoção do fluido dentinário em direção à lesão de cárie no esmalte e para a direção dos odontoblastos na parede pulpar, estando ligado à alta taxa de minerais encontrada na dentina reacional (LARMAS, 2001; LARMAS, 2003).

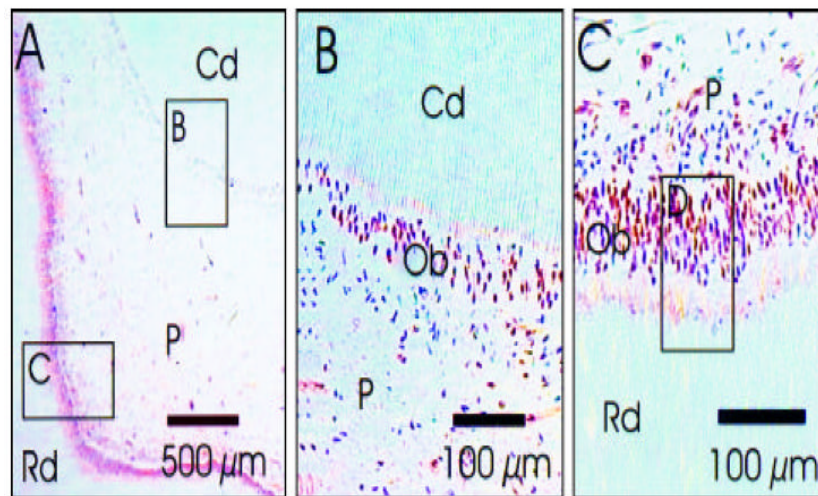


FIGURA 43: Corante imunohistoquímico em corte de dente humano maduro, demonstrando MMP-20 em odontoblastos e túbulos dentinários dilatados em lesões de cárie. Legenda: Ob = Odontoblastos, P = Polpa, Cd = Coroa dentinária, Rd = dentina radicular, Pd = Pré-dentina. (A) Corante em dente sadio. Marcador positivo na camada de células odontoblásticas foi detectado em 3 / 4 das amostras de tecido sadio e em 4 / 4 dos dentes cariados. Os retângulos mostram área de maior magnificação em (B) e em (C). (B) maior aumento da margem dentino-pulpar mostrando marcador para odontoblastos e área mais fraca marcada para Pré-dentina. Marcador positivo para a área de Pré-dentina foi observado em 3 / 4 das amostras de tecido sadio e em 2 / 4 das amostras de tecido cariado. (C) Maior magnificação da dentina radicular mostrando maior densidade de odontoblastos com marcador e marcador mais forte para a área da Pré-dentina se comparado com a porção coronária da câmara pulpar (B). Fonte: Adaptado de Pekkala (2002);

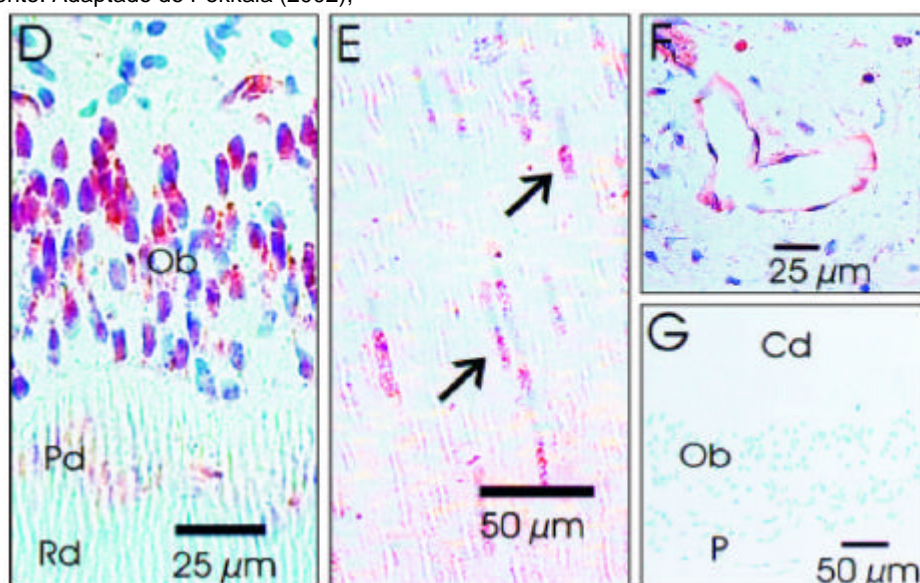


FIGURA 44: Corante imunohistoquímico em corte de dente humano maduro, demonstrando MMP-20 em odontoblastos e túbulos dentinários dilatados em lesões de cárie. Legenda: Ob = Odontoblastos, P = Polpa, Cd = Coroa dentinária, Rd = dentina radicular, Pd = Pré-dentina. (D) Maior magnificação da área na figura 43(C) - marcador positivo é observado no corpo das células dos odontoblastos, em maior grau do lado pulpar. (E) Em todos os tecidos dentários cariados, alguns túbulos dilatados mostraram evidência de marcador corante (setas). (F) Nos capilares da polpa de todos os dentes sadios e cariados, células endoteliais mostraram marcadores positivos. (G) Amostras do controle negativo para o soro imunológico MMP-20, mostrando ausência de marcadores imunohistoquímicos. Fonte: Adaptado de Pekkala (2002).

6.4 O ENFRAQUECIMENTO ESTRUTURAL DENTÁRIO ASSOCIADO À GEOMETRIA DO PREPARO

Em todas as cáries tratadas no primeiro grupo, a técnica de diagnóstico somada ao acesso tecidual investigativo de ultra-baixa rotação, com broca laminada de diâmetro a partir de 1/4 ou 1/2, pôde permitir acesso ao tecido decomposto para sua remoção de forma atraumática ao tecido.

Não houve remoção de tecido íntegro em nenhuma amostra testada, fazendo com que a mecânica possa ser empregada clinicamente de forma confiável. Houve máxima preservação dentária contra trincas resultantes de uma ação mecânica vibratória convencional, pois não há velocidade suficiente para promover fissuras no esmalte, como aconteceria com o uso da turbina de alta-rotação, gerando riscos estruturais e possibilidade de invasão bacteriana futura (MONDELLI et al., 1980; WALKER et al., 1998).

Mondelli e colaboradores avaliaram tipos diferentes de formas geométricas de cavidades dentárias realizadas com brocas de alta rotação e concluiu que os preparos cavitários superiores a um quarto da distância intercuspídica levaram a riscos significativamente maiores de fratura dental, princípio de preparo cavitário preconizado por Black, realizados até hoje em restaurações não adesivas de amálgama de prata, onde há remoção de tecido sadio para retenção de material restaurador, confirmando vantagens da Odontologia minimamente invasiva, onde não se preconiza extensão por prevenção (BLACK, 1924; MONDELLI et al., 1980, TYAS et al, 2000). Através da micro-mecânica de ultra-baixa rotação os princípios de máxima preservação tecidual são mantidos e não há trincas ou risco de fratura advindos da mecânica empregada..

6.5 FATORES LIGADOS AO DESCONFORTO NO PREPARO CAVITÁRIO TRADICIONAL

A história e o desenvolvimento dos instrumentos rotatórios são revisados em trabalho de Yip e Samaranayake (YIP; SAMARANAYAKE, 1998). Apesar do uso da mecânica rotatória em Odontologia ser praticamente universal, há ainda muitos problemas a serem superados.

Alguns fatores são potencialmente responsáveis pelo desconforto e dor que estão associados com o preparo cavitário (BLACK, 1950; MYERS, 1954):

1. Sensibilidade da dentina vital;
2. Pressão sobre o tecido dentário (isto é, estímulo mecânico);
3. Vibração e ruído ósseo-conduzido;
4. Ruído característico da turbina pneumática odontológica;
5. Desenvolvimento de altas temperaturas na superfície de corte (estímulo térmico);

A técnica proposta evidencia-se vantajosa sobre todos os aspectos enumerados, possuindo características de grande interesse para seu emprego clínico.

6.6 FATORES LIGADOS À DOR DURANTE O PREPARO CAVITÁRIO

A broca em velocidade corta através da dentina cariada e até eventualmente expõe túbulos dentinários saudáveis e em conjunto com a água para refrigeração diretamente no processo odontoblástico, resultará em dor associada ao preparo cavitário (BANERJEE

et al, 2000). Comparando-se a alta-rotação, a baixa-rotação e os escavadores manuais, Banerjee e colaboradores (2000) defenderam que o uso do escavador seria mais seguro na remoção de dentina cariada, por ser auto-limitante e devido à sensibilidade do paciente ser maior durante a técnica mecânica de rotação (BANERJEE et al, 2000). Muitos estudos demonstram que a temperatura na superfície de corte das brocas ou pedras diamantadas podem facilmente subir acima do limiar de dor, mesmo com irrigação para refrigeração e algum dano à polpa subjacente pode ocorrer (HENSCHEL, 1943; ANDERSON, 1942; BEEBE, 1954; PEYTON, 1954).

Na técnica proposta, percebe-se ao remover o tecido cariado, que não há resistência mecânica no tecido cariado, formando-se facilmente e com muita frequência debris, notando-se certa semelhança com a remoção manual. Adicionalmente, a escavação com ultra-baixa rotação aqui desenvolvida apresenta a propriedade de auto-limitação, pois à medida que o tecido decomposto é removido, há aumento de resistência tecidual, não devendo haver remoção do tecido sadio subjacente associando-se a sensação tátil durante a mecânica à resposta de sensibilidade do paciente.

Não há desenvolvimento térmico perceptível durante a execução da técnica mecânica proposta, pois a velocidade empregada é mínima, diminuindo muito o risco de dor e desconforto durante seu emprego clínico. A dentina que se evidencia contaminada e denaturada irreversivelmente deve ser removida, pois está morta, não devendo haver sensibilidade aguda durante o emprego clínico da técnica de ultra-baixa rotação.

Numa situação clínica, se houver sensibilidade durante a mecânica antes de se alcançar diminuição significativa da fluorescência tecidual ao laser vermelho para diagnóstico, representa indício claro de presença de inflamação tecidual importante e o comprometimento pulpar (reversível) deve ser considerado, desde que haja

descontaminação da área de forma eficiente e a ozonioterapia poderá ser a única solução clínica possível com alta possibilidade de reversão segura da inflamação através de sua alta taxa de oxidação das bactérias anaeróbias restritas (extremamente sensíveis ao oxigênio). A mecânica deverá ser interrompida imediatamente e aplicação da ozonioterapia associada à colocação de um material remineralizador (ionômero de vidro) e um controle periódico da lesão (incluindo-se radiografias e teste térmico) deverão ser instituídos pelo profissional; nesse caso foi alcançada dentina vital, mas a presença de fluorescência ao laser vermelho de diagnóstico indica predomínio de bactérias anaeróbias e seus metabólitos tóxicos (LPS) na cárie crônica e/ou profunda que geram a inflamação, mas a vitalidade dentinária, sua descontaminação e a presença de fluoretos (via ionômero de vidro e sua recaptção) asseguram a possibilidade de sua remineralização ao longo do tempo.

6.7 FATORES LIGADOS À CONTAMINAÇÃO DO AMBIENTE GERADO PELO AEROSOL

Há possibilidade de infecção cruzada entre pacientes relacionado ao uso da turbina odontológica. O potencial microbiano dos aerossóis produzidos em consultórios tem sido demonstrado em diversos trabalhos (LITSKY et al., 1970, MOHAMED et al., 1970; ROSEN et al., 1983; SCHEID et al., 1990; LEWIS; BOE, 1992; LEWIS, 1992). O preparo cavitário tradicional, tanto em alta-rotação com a utilização da turbina (variando de 100 000 a 400 000 RPM), como em baixa-rotação convencional utilizando o micro-motor elétrico ou pneumático (variando de 5 000 a 20 000 RPM), tem a água como refrigerante térmico, a qual gera uma nuvem de contaminantes no ambiente (vírus,

fungos e bactérias), oferecendo riscos potenciais de transmissão cruzada entre cirurgião-dentista, membros da equipe de trabalho e pacientes que virão a ser atendidos. Discacciati e colaboradores, avaliando respingos produzidos pela turbina de alta rotação, encontraram dispersão em todas as direções até uma distância de 1,82 m (DISCACCIATI et al., 1998).

Litsky e colaboradores relatam que o jato refrigerador de alta rotação, por entrar em contato com a cavidade bucal numa determinada pressão, produz um aerossol microbiano decorrente da suspensão de partículas dentais, material restaurador, microrganismos, saliva etc, que pode atingir distâncias que vão além do campo operatório (LITSKY et al., 1970).

A técnica proposta no presente trabalho não produz aerossol.

6.8 FATORES LIGADOS AO RUÍDO DA MECÂNICA TRADICIONAL

Barek e colaboradores investigaram frequências ultra-sônicas produzidas pela turbina de alta rotação e chegaram a medidas 76% maiores em intensidade nessa faixa, se comparadas com o espectro audível e concluiu que há riscos de surdez a curto e longo prazos ao dentista (BAREK et al., 1999).

O ruído gerado pela turbina de alta-rotação também pode gerar ansiedade no atendimento (BERGGREN; MEYNERT, 1984), uma vez que o paciente já tenha sido traumatizado anteriormente.

A ausência de ruído desconfortável da ultra-baixa rotação se apresenta como uma grande vantagem no atendimento clínico diário ao profissional por ter seu aparelho

auditivo protegido e ao paciente por não desencadear reações fóbicas associadas a traumas de atendimento no passado.

6.9 O EMPREGO DA OZONIOTERAPIA NO ESTÁGIO FINAL DO TRABALHO

A aplicação da ozonioterapia na última etapa do trabalho visou eliminar a contaminação residual de áreas ainda fluorescentes ao diagnóstico, pois a principal característica das moléculas de Ozônio está ligada a sua alta capacidade oxidativa (terceiro maior oxidante da natureza); além de destruir bactérias, vírus e fungos do tecido cariado, proporcionando altíssima taxa de desinfecção onde está exposto, oxida também os metabólitos bacterianos, convertendo-os em gás carbônico e acetato (LYNCH, 2004). Ocorre, em consequência, uma grande diminuição da possibilidade de reinfecção tecidual, uma vez que o ambiente torna-se hostil à recolonização, destruindo-se o ambiente ácido favorável às bactérias cariogênicas que são acidófilas e acidogênicas (LYNCH et al., 2002; HOLMES, 2003).

Percebeu-se um aspecto final geralmente esbranquiçado das lesões, evidenciando nitidamente a oxidação das biomoléculas.

O emprego de ar atmosférico como matéria prima para a produção de Ozônio no aparelho HealOzone™ (KaVo, Biberach, Alemanha) é uma grande vantagem clínica e a decomposição do ozônio é atóxica e segura em termos ambientais, resultando em oxigênio. É rápido em sua operação de um minuto (no máximo) em cada ciclo, não havendo necessidade de injeções ou destruição tecidual.

Em seu estudo, Baysan e colaboradores (2000) encontraram redução de mais de 99% das bactérias no tecido cariado exposto a dez ou vinte segundos de aplicação, sendo

que o principal mecanismo de ação é a ruptura da parede bacteriana (YAMAYOSHI; TATSUMI, 1993; BAYSAN et al., 2000).

Desta forma, a utilização da ozonioterapia foi demonstrada como segura, eficiente e atraumática, oferecendo vantagens revolucionárias com sua utilização rotineira.

6.10 VANTAGENS QUE A TÉCNICA OFERECE SOBRE A TRADICIONAL

As principais vantagens são:

1. A possibilidade de sofrimento ao paciente que a técnica oferece é muito pequena, pois não deve agredir a dentina vital de forma traumática (controle absoluto sobre a velocidade de acesso, que é muito reduzida);
2. A pressão sobre o tecido é mínima, não devendo ser capaz de gerar dor aguda;
3. A vibração e o ruído ósseo-conduzido podem ser considerados mínimos, pois o tecido cariado encontra-se decomposto, oferecendo baixa resistência, e com isso há baixo índice de vibração se comparado tanto à mecânica de baixa velocidade tradicional (20 000 RPM) quanto à mecânica de alta velocidade (100 mil a 400 000 RPM); a velocidade sugerida é de 30 a no máximo 240 rpm (1/2 a 4 voltas por segundo), diminuindo também drasticamente a possibilidade de gerar trincas no esmalte por trauma mecânico;
4. Não há ruído estridente (semelhante à turbina), não despertando traumas ou reações psicossomáticas no paciente nem riscos de danos auditivos ao profissional ao longo do tempo, como os da turbina e suas frequências ultrassônicas;

5. Não há desenvolvimento de temperaturas elevadas na superfície de corte devido à velocidade ser extremamente baixa, mesmo não havendo irrigação contínua, não representando um estímulo térmico relacionado ao desconforto;
6. Não há formação de aerossol contaminado no ambiente de trabalho;
7. Risco praticamente inexistente de exposição pulpar, a não ser que haja decomposição avançada do tecido dentinário que inclui o tecido pulpar, indicando provável comprometimento pulpar já existente (associada à ausência completa de sensibilidade durante o acesso mecânico);
8. A alta taxa de desinfecção tecidual após ozonioterapia favorece a longevidade clínica do procedimento baseado no controle bacteriano, indicando-se a colocação de materiais liberadores de fluoretos, como o ionômero de vidro, para a contínua remineralização tecidual posterior (considerando-se a capacidade de re-incorporação e liberação gradual de fluoretos à superfície dentária, que é uma característica química básica do cimento de ionômero de vidro associada a uma mudança orientada de hábito do paciente, visando a diminuição dos riscos através da partilha de conhecimentos ligados à Odontologia Preventiva);
9. Precisão de diagnóstico ligado à detecção de metabólitos bacterianos (protoporfirina IX como principal metabólito orgânico fluorescente);
10. Ótima aceitação ao procedimento por parte do paciente poderá ser o estímulo mais potente para sua execução clínica, gerando grande satisfação, tanto ao profissional, quanto ao paciente que já experenciou traumas anteriores.

6. 11 DESVANTAGENS DA UTILIZAÇÃO DA TÉCNICA DE ULTRA-BAIXA ROTAÇÃO

As desvantagens são o maior custo do conjunto Motor de Implante Osseocare^R / peça redutora 16:1/ Diagnodent^R / HealozoneTM por serem importados, e o tempo empregado para o tratamento ser maior, devido à velocidade de acesso ser mais lenta.

7. CONCLUSÃO

A técnica proposta oferece muitas vantagens sobre a tradicional: precisão de diagnóstico, abordagem micro-mecânica atraumática e alta taxa de desinfecção final.

Mas a maior delas é a possibilidade de aproximar profissionais e pacientes!

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, D.S.; DINIZ, A.S.; MATHEUS, T.C.U. Considerações clínicas sobre a microbiota endodôntica. **Revista do CRO-PE**. p. 18-24, 1999. Disponível em: <http://www.cro-pe.org.br/revista/revista/rev1099/art5.html>,

ALFANO, R, R; YAO, S, S; Human teeth with and without dental caries studied by visible luminescent spectroscopy. **Journal of Dental Research**. v. 60, p.120-122, 1981.

ALFANO, R.R.; LAM, W.; ZARRABI, M.A.; ALFANO, M.A.; CORDERO, J.; TATA, D.B.; SWENBERG, C.E.S.; Human teeth with and without caries studied by laser scattering, fluorescence, and absorption spectroscopy. **IEEE J Quantum Electronics**., v. QE-20, 1984.

AL-HASHIMI, I.; LEVINE, M.J.; Characterization of *in vivo* saliva-derived enamel pellicle. **Arch Oral Biol.**, v. 34, p.289-295, 1989.

ALLAN, C.D.; NAYLOR, M.N.; Radiographs in the identification of occlusal caries. **J Dent Res.**, v.63, p.504, 1984.

ANDERSON, J. Van; PRAAGH, G. Preliminary investigation of the temperatures produced in burring. **Br Dent J.**, v. 73, p. 62-64, 1942.

ANGKER, L.; NOCKOLDS, C.; SWAIN, M.V.; KILPATRICK, N. Correlating the mechanical properties to the mineral content of carious dentine- a comparative study using a ultra-micro indentation system (UMIS) and SEM-BSE signals. **Arch Oral Biol.**, v. 49, n. 5, p. 369-378, 2004.

ASIKAINEN, S; CHEN, C; SLOTS, J. Likelihood of transmitting *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in families with periodontitis. **Oral Microbiol Immunol.**, v. 11, p.387-394, 1996.

BANERJEE, A. **Applications of scanning microscopy in the assessment of dentine caries and methods for its removal**. London: University of London, (PhD Thesis), 1999.

BANERJEE, A; SHERRIF, M; KIDD, E.A.M.; WATSON, T.F. A confocal microscopy study relating the auto fluorescence of carious dentine to its microhardness. **British Dent Journal**. v.187, n.4, p.206-210, 1999.

BANERJEE, A.; KIDD, E. A.M.; WATSON, T.F. In vitro evaluation of five alternative methods of carious dentine excavation. **Caries Res.**, v. 34, p-144-150, 2000a.

BANERJEE, A; WATSON, T.F; KIDD, E.A.M. Dentine caries excavation: a review of current clinical technics. **British Dent Journal**. v. 188, n.9, p.476-482, 2000b.

- BAREK, S; ADAM, O; MOTSCH, J.F. Large band analysis and harmful risks of dental turbines. **Clinical Oral Investigations**. v.3, n.1,p.49-54, 1999.
- BAUMGARTNER, J.; FALKLER, W.; BECKERMAN, T. Experimentally induced infection by oral anaerobic microorganisms in a mouse model. **Oral Microb. Immunol.**, v.215, p.253-256, 1992.
- BAYSAN A; WHILEY, R.A; LYNCH, E. Antimicrobial Effect of a Novel Ozone-Generating Device on Micro-Organisms Associated with Primary Root Carious Lesions in vitro. **Caries Research.**, v.34, n 6, p.498-501, 2000.
- BAYSAN,A.; LYNCH, E.; GROOTVELD, M. The use of ozone for management of primary root carious lesions. In: **Tissue preservation and Caries Treatment**. Quintessence Book,. Chapter 3, p.49-67, 2001.
- BEEBE, D. M. Efficiency of high operating speeds with water lubrication in cavity preparation. **JADA.**, v. 49, p.650-655, 1954.
- BELTRAME, E. O efeito da sonda exploradora no esmalte desmineralizado. **Dens**, v.6, n.1, p.1-4, 1990.
- BERGGREN, U.E.; MEYNART, G.; Dental fear and avoidance: causes symptoms, and consequences **JADA.**, v.109, n.2, p.247-251, 1984.
- BERGMAN, G.; LINDÉN, L. A. The action of the explorer on incipient caries. **Svensk Tendläkare Tidsskrift**, v.62, n.10, p.629-634, 1969.
- BJELKHAGEN, H; SUNDSTRÖM, B; ANGMAR-MÅNSSON B, Early detection of enamel caries by the luminescence excited by visible laser light. **Swed Dent J.**, v. 6, p.1-7, 1982.
- BLACK, G.V. The pathology of the hard tissue of the teeth. In: **Operative Dentistry**. Chicago: Medico-Dental Publishing Co., v.1, 1908.
- BLACK, G.V.; BLACK, A.D. Cavity preparation. In: **Operative dentistry**, 6.ed. Chicago: Medico-Dental Publishing Company,. v.2, p. 442-448, 1924.
- BLACK, R. B. Airbrasive: some fundamentals. **JADA.**, v. 41, p. 701-710, 1950.
- BOCCI, V. How ozone acts and how it exerts therapeutic effects. In: **Ozone: The Revolution in Dentistry**. Chicago: Quintessence Publishing Co, Edward Lynch, p.15-22, 2004.
- BOLLIVAR, D. W.; ELLIOTT, T.; BEALE, S. I. Anaerobic Protoporphyrin Biosynthesis does not require incorporation of methyl groups from methionine. **Journal of Bacteriology.**, v. 177, n. 20, p. 5778–5783, 1995.

CAUFIELD, P.W.; WALKER, T.M, Genetic diversity within *Streptococcus mutans* evident from chromosomal DNA restriction fragment polymorphisms. **J Clin Microbiol.**, v. 27, p. 274-278, 1989.

CHAN, D. C. N. Current methods and criteria for diagnosis in North America. **J Dent Educ**, v.57, n.6, p.422- 427, 1993.

CHAUSSAIN-MILLER, C.; FIORETTI, F., GOLDBERG, M.; MESSASHI, S. The role of Matrix Metalloproteinases (MMPs) in human caries. **Journal of Dental Research**, v. 85, n.1, p. 22-32, 2006.

CHHOUR K.; NADKARNI M, A; BYUN, R; MARTIN, F. E. MARTIN; JACKES, N. A.; HUNTER, N. Molecular analysis of microbial diversity in advanced caries. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n.2, p.843-849, 2005.

CONRADO, C.A. Remineralization of carious dentin. I: *In vitro* microradiographic study in human teeth capped with calcium hydroxide. **Braz Dent J.**, v. 15, n.3,p.59-62, 2004.

COSTA, C.A.S.; HEBLING, J. Biología del complejo dentino-pulpar en relación a su protección mediante adhesivos. **Adhesión em Odontologia Restauradora**. Rio de Janeiro: Editora Maio, 2003.cap. 7, p.163-193.

CRAIG, R.G.; GERHING, P.E.; PEYTON, F.A. Relation of structure to the microhardness of human dentin. **J Dent Res.**, v. 38, n. 3, p.624-630, 1959.

CREANOR, S.L.; RUSSEL, J.I.; STRANG, D.M.; STEPHEN, K.W.; BURCHEL, C.K. The prevalence of clinically undetected occlusal dentin caries in Scottish adolescents. **Br Dent J.**, v. 169, p.126-129, 1990.

DAHLÉN, G G., BERGENHOLTZ, G. Endotoxic activity in teeth with necrotic pulps. **J Dent Res.**, v. 59, 1033–1040, 1980.

DAHLÉN, G.G. Black pigmented gram negative anaerobes in periodontitis. **FEMS Immunol Med Microb.**, v. 6, p.181-192, 1993.

DARLING, A.I. Dentin caries. In: Carlin R.J, Goldman H.M, editors. **Thoma's oral pathology**. 6th ed. St. Louis: C.V. Mosby, p.285-286, 1970.

DILLARD, C.J.; LITOV, R.E.; SAVIN, W.M.; DUMELIN, E.E.; TAPPEL, A.L. Effect of exercise, vitamin E and ozone on pulmonary function and lipid peroxidation. **J App Physiol.**, v. 45, p.927-932, 1978.

DISCACCIATI, J. A. C.; SANDER, H. H.; CASTILHO, L. S.; RRESENDE, V. L. S. Confirmation of spatter dispersion during dental work. **Rev Panam Salud Publica.**, v.3, n.2, p.84-87, 1998.

DOVE, S.B. Radiographic diagnosis of dental caries. **Journal of Dental Education**, v.65, n.10, p.985-990, 2001.

EBERHARD, J.; EISENBEISS, A.K.; BRAUN, A.; HEDDERICH, J.; JEPSEN, S. Evaluation of selective caries removal by a fluorescence feedback-controlled Er: YAG laser in vitro. **Caries Res.**, v. 39, p.496-504, 2005.

EKSTRAND, K.; QVIST, A. THYLSTRUP A, Light microscope study of the effect of probing in occlusal surfaces. **Caries Res.**, v.21, p.368-374, 1987.

EVALDSSON, G.; HEIMDAHL, A.; KAGER, L.; NORD, C.E.; The normal human anaerobic microflora. **Scand J Infect Dis Suppl.**, v. 35, p. 9-15, 1982.

FERRARI, M.; MASON, P. N.; GORACCI, C; PASHLEY, D. H.; TAY, F.R. Collagen degradation in endodontically treated teeth after clinical function. **J Dent Res.**, v 83, n. 5, p.414-419, 2004.

FEJESKOV, O. Concepts of dental caries and their consequences for understanding the disease. **Community Dent Oral Epidemiol.**, v. 25, p.5-12, 1997.

FIGUEIREDO, A. C. R.; KURACHI, C.; BAGNATO, V. S. Comparison of Fluorescence Detection of Carious Dentin for Different Excitation Wavelengths. **Caries Research.**, v. 5, n.39, p.393-396, 2005.

FUSAYAMA T., OKUSI K., HOSODA H. Relation between hardness, discoloration and microbial invasion in carious dentin. **J Dent Res.**, v. 45, n. 4, p. 1033-1046, 1966.

FUSAYAMA T.; TERASHIMA, S.; Diferentiation of two layers of carious dentin by staining. **Tokyo Med Dent Univ.**, v. 19, n. 83, 1972.

FREIRE, M. C. M.; PATUSSI, M. P. Tipos de estudos In: **Metodologia Científica, Ensino e Pesquisa em Odontologia**. Carlos Estrela, Artes Médicas, Cap. 8, p. 121-143, 2001.

GATCHEL, R.J.; INGERSOLL, B.D.; BOWMAN, L.; ROBERTSON, M. C.; WALKER, C. The prevalence of dental fear and avoidance: a recent survey study. **JADA.**, v. 107, n.4, p.609-610, 1983.

GOLDSTEIN, B.D.; BALCHUM, O.J. Effect of ozone on lipid peroxidation in red blood cell. **Proc Soc Exp Biol Med.**, v. 126, p.356-358, 1967.

GOLDSTEIN, B.D.; LODI, C.; COLLINSON, C.; BALCHUM, O.J. Ozone and lipid peroxidation. **Arch Environ Health.**, v. 18, p.631-635, 1969.

GRAY, J. A.; Kinetics of the dissolution of human dental enamel in acid. **J Dent Res.** v.41, n.3, p.633-645, 1962.

GRIFFEE, M. B., PATTERSON, S. S., MILLER, C. H., KAFRAWY, A. H., NEWTON, C. W. The relationship of *Bacteroides melaninogenicus* to symptoms associated with pulpal necrosis. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol.**, v. 50, p.457-461, 1980.

GROOTVELD, M.; BAYSAN, A.; SIDDIQUI, N.; SIM, J.; SILWOOD, C.; LYNCH, E. History of clinical applications of ozone em **Ozone: The Revolution in Dentistry**. Chicago: Quintessence Publishing, p.57-65, 2004.

GUINEY, D. G.; HASEGAWA, P. Transfer of conjugal elements in oral black-pigmented Bacteroids (*Prevotella*) spp. Involves DNA rearrangements. **Journal of Bacteriology**, v. 174, n. 14, p. 4853-4855, 1992.

HAAPASALO, M. Black-pigmented Gram-negative anaerobes in endodontic infections. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v. 6, p.213-217, 1993.

HAFFAJEE, A.D.; SOCRANSKY, S.S. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. **Periodontol.**, v. 5, p.78-111, 2000.

HAFFAJEE, A.D.; SOCRANSKY, S.S.; FERES, M.; XIMENES-FYVIE, L.A. Plaque microbiology in health and disease. In: Newman HN, Wilson M (editors). **Dental plaque revisited-oral biofilms in health and disease**. Cardiff: BioLine, p. 255-282, 1999.

HAHN, C.L.; FALKLER, W.; MINAH, G. microbiological studies of carious dentine from human teeth with irreversible pulpitis. **Arch Oral Biol.**, v. 36, p.147-153, 1991.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. The antioxidants of human extracellular fluids. **Arch Biochem Biophys.**, v. 924, p.111-118, 1987.

HARALDSSON, G. Oral commensal *Prevotella* species and *Fusobacterium nucleatum*: Identification and potential pathogenic role. Anaerobe Reference Laboratory, National Public Health Institute (KTL), Helsinki, Finland and Faculty of Odontology, University of Iceland, Reykjavík, Iceland and Institute of Dentistry, University of Helsinki and Department of Oral and Maxillofacial Diseases, Helsinki University Central Hospital, Finland. **Academic Dissertation**, 2005. Disponível em <http://ethesis.helsinki.fi/julkaisut/laa/hamma/vk/haraldsson/oralcomm.pdf>. Acesso em: Ago 2006.

HENSCHEL, C. J. Heat impact of revolving instruments on vital dentin tubules. **J Dent Res.**, v. 22, p. 323-333, 1943.

HEY, D.I.; MORENO, E.C. Hydroxiapatite-interactive proteins. In: BOWEN, W.H.; TABAK, L.A. **Cariology for the nineties**. Rochester, NY, University of Rochester Press., p. 71-84. 1993.

HIBST, R.; GALL, R. Development of a diode laser-based fluorescence caries detector. **Caries Res.**, v. 32, p. 210-218, 1998.

HIBST, R.; PAULUS, R. A new approach on fluorescence spectroscopy for caries detection. **SPIE.**, v. 3593, p. 141-148, 1999a.

HIBST, R.; PAULUS, R. Caries Detection by red excited fluorescence: investigation on fluorophores. **Caries Res.**, v. 33, p.281-330, 1999b.

HIBST, R.; PAULUS, R.; LUSI, A. Detection of occlusal caries by laser fluorescence: basic and clinical investigations. **Med Laser Appl.**, v. 16, p.205-213, 2001.

HOLMES, J. Clinical reversal of root caries using ozone, double-blind, randomized, controlled 18-month trial. **Gerodontology**. v. 20, n.2, p. 106-114, 2003.

HOLMES, J.; LYNCH, E. Equipment available to deliver ozone in Dentistry. **Ozone: The Revolution in Dentistry**. Chicago: Quintessence Publishing Co, Edward Lynch, p.15-22, 2004.

HOSHINO, E. Predominant obligate anaerobes in human carious dentin. **J Dent Res.**, v. 64, p.1195-1198, 1985.

HOSOYA, Y.; MARSHALL JR, G. W. The nano-hardness and elastic modulus of carious and sound primary canine dentin. **Operative Dentistry.**, v. 29, n. 2, p. 142-149, 2004.

HYATT, T. P. Observable and nonobservable pits and fissure. **Dent Cosmos.**, v. 73, p.586-592, 1931.

IWAMI, Y.; SHIMIZU, A.; YAMAMOTO, H.; HAYASHI, M.; TAKESHIGE, F.; SHIGEYUKI, E. In vitro study of caries detection through sound dentin using a laser fluorescence device, DIAGNOdent. **Eur J Oral Sci.**, v. 111, p.07-11, 2003.

IWAMI, Y.; SHIMIZU, A.; NARIMATZU, M.; TAKESHIGE, F.; EBISU, S. Relationship between bacterial infection and evaluation using a laser fluorescence device, DIAGNOdent. **Eur J Oral Sci.**, v. 112, p.419-423, 2004.

IWAMI, Y.; SHIMIZU, A.; HAYASHI, M.; TAKESHIGE, F.; EBISU, S. Relationship between colors of carious dentin and laser fluorescence evaluations in caries diagnosis. **Dent Mater J.**, v.25, n.3, p.584-90, 2006.

KAWASAKI, K.; FEATHERSTONE, J.D.B. Effects of collagenase on root demineralization. **J Dent Res.**, v. 76, n. 1, p. 588-595, 1997.

KIDD, E. A. M.; NAYLOR, M.N.; WILSON, R.F.; The prevalence of clinically undetected and untreated molar occlusal dentin caries in adolescents on the Isle of Wight. **Car Res.**, v. 26, p.397-401, 1992.

KIDD, E. A.; JOYSTON-BECHAL, S.; BEIGHTON, D.; The use of a caries detector dye during cavity preparation: A microbiological assessment. **Br Dent J.**, v. 174, p. 245-248, 1993.

KIDD, E.A.; RICKETTS, D.N.; BEIGHTON, D. Criteria for caries removal at the enamel-dentine junction: a clinical microbiological study. **Br Dent J.**, v. 180, p.287-291, 1996.

KIDD, E. A. M.; FEJERSKOV, O. What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. **J Dent Res.**, spec issue C, p.C35-C38, 2004.

KING, N.; SHAW, L. Value of bitewing radiographs in detection of occlusal caries. **Community Dent Oral Epidemiol.**, v.7, n.4, p.218-221, 1979.

KLEIN, J.O. The burden of otitis media. **Vaccine.** v. 19, n.1, p.2-8, 2000.

KÖHLER, B.; BRATTHALL, D. Intrafamilial levels of *Streptococcus mutans* and some aspects of the bacterial transmission. **Scand J Dent Res.**, v. 86, p.35-42, 1978.

KÖNIG, K.; HIBST, R.; MEYER, H.; FLEMMING, G.; SCHNECKENBURGER, H. Laser-induced autofluorescence of carious regions of human teeth and caries-involved bacteria. **Dental Applications of lasers.** SPIE., v. 2080, p. 170-180, 1993.

KÖNÖNEN, E.; EEROLA, E.; FRANDBSEN, E. V. G.; JALAVA, J. Phylogenetic characterization and proposal of a new pigmented species to the genus *Prevotella*: *Prevotella pallens* sp. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 48, p.47–51, 1998.

KÖNÖNEN, E.; SAARELA, M.; KARJALAINEN, J.; JOUSIMIES-SOMER, H.; ALALUUSUA, S.; ASIKAINEN, S. Transmission of oral *Prevotella melaninogenica* between a mother and her young child. **Oral Microbiol Immunol.**, v.9, p.310-314, 1994.

KUBOKI, Y.; OHGUSHI, K.; FUSAYAMA, T. Collagen biochemistry of two layers of carious dentin. **J Dent Res.**, v. 56, n. 10, p. 1233-1237, 1977.

LANA, M.A.; RIBEIRO-SOBRINHO, A.; STEHLING, R.; GARCIA, G.; SILVA, B.; HAMDAN, J.; NICOTI, J.; CARVALHO, M.; FARIAS, D.M. Microorganisms isolated from root canals presenting necrotic pulp and their drug susceptibility *in vitro*. **Oral Microbiol Immunol.**, v. 16, p.100-105, 2001.

LARMAS, M.; MÄKINEN, K.K. The ability of various micro-organisms to produce histochemically determinable enzyme activity in human dentine. **Acta Odont Scand.**, v. 29, n.4, p.471-486, 1971.

LARMAS, M.; HÄYRYNEN, K.K.; LAJUNEN, L. Sodium, potassium, calcium, magnesium and phosphate contents of dentinal fluid and gingival crevicular fluid in health and disease. In: LEHNER T, CIMASONI G, (Ed.) **The borderland between caries and periodontal disease**. Geneva: Editions Médecine of Hygiène, p.105-110, 1986.

LARMAS, M. Odontoblast function seen as the response of dentinal tissue to dental caries. **Adv Dent Res.**, v. 15, p.68-71, 2001.

- LARMAS, M. Dental caries seen from the pulpal side: a non-tradicional approach. **J Dent Res.**, v. 82, n. 4, p. 256-256, 2003.
- LENNON, A.M.; BUCHALLA, W.; BRUN, L.; ZIMMERMANN, O.; GROSS, U. The ability of selected oral microorganisms to emit red fluorescence. **Caries Research.**, v. 40, p.2-5, 2006.
- LEWIS, D. L.; ARENS, M.; APPLETON, S. S.; NAKASHIMA, K.; RYU, J.; BOE, R. K.; PATRICK, J. B.; WATANABE, D. T.; SUZUKI, M. Cross-contamination potential with dental equipment. **Lancet**, v. 21, n.340, p.1252-1254, 1992.
- LEWIS, D. L.; BOE R, K. Cross-infection risks associated with current procedures for using high-speed dental handpieces. **J Clin Microbiol.**, v. 30, n2, p.401-406, 1992.
- LITSKY, B. Y.; MASCIS, J. D.; LITSKY, W. Use of an antimicrobial mouthwash to minimize the bacterial aerosol contamination generated by the high-speed drill. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol.**, v. 29, n.1, p.25-30, 1970.
- LOESCHE, W. J. et al. Recovery of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguis* from a dental explorer after clinical examination of single teeth. **Arch Oral Biol.**, v. 18, n.4, p.571-575, 1973.
- LOESCHE, W.; SVANBERG, M. L.; PAPE, H. R. Intraoral transmission of *Streptococcus mutans* by a dental explorer. **J Dent Res.**, v. 58, n.8, p.1765-1770, 1979.
- LOESCHE, W.J. Ecology of the oral flora. In: NEWMAN, M.G.; NISENGARD, R. (Ed.) **Oral microbiology and immunology**. Philadelphia: W. B. Saunders , p. 351-366, 1988.
- LONGBOTTOM, C; PITTS, N.B; REICH, E; LUSSI, A. A comparison of visual and electrical methods with a new device for occlusal caries detection. **Caries Res.**, v. 32, n. 4, p.298, 1998.
- LOPES, C.M.N.; VONO, R. M. G.; PELÁ, C.A. Remoção da dentina cariada. **RGO.**, v. 35, n.2, p.138-148, 1987.
- LOVE, R.M.; JENKINSON, H.F. Invasion of dentinal tubules by oral bacteria. **Crit Rev Oral Med.**, v. 13, p.171-183, 2002.
- LUSSI, A. Validity of diagnostic and treatment decisions of fissure caries. **Caries Res.**, v. 25, p.296-303, 1991.
- LUSSI, A. Methoden zur Diagnose und Verlaufsdignose der Karies. **Deutsch Zahnäztl Z.**, v. 53, p. 175-182, 1998.
- LUSSI, A.; MEGERT, B.; LONGBOTTOM, C.; FRANCESCUT, P. Clinical performance of a laser fluorescence device for detection of occlusal caries lesions. **Eur J Oral Sci.**, v. 109, p14-19, 2001.

LUSSI, A.; HIBST, R.; PAULUS, R. DIAGNODENT: An optical method for caries detection. **J Dent Res.**, v. 83, n.Spec Iss C, p.80-83, 2004.

LYNCH, E. **Ozone: The Revolution in Dentistry**. Chicago: Quintessence, 2004.

MacDONALD, J.; SOCRANSKY, S.; GIBBONS, R. Aspects of pathogenesis of mixed anaerobic infections of mucous membranes. **J Dent Res.**, v. 42, p.529-544, 1963.

MAGLOIRE, H.; BOUVIER, M.; JAFFE, A. Odontoblast response under carious lesions. **Proc Finn Dent Soc.**, v. 88, Suppl I, p.257-274, 1992.

MANJI, F.; FEJERSKOV, O.; NAGELKERKE, N.J.D.; BAELUM, V. A random effects model for some epidemiological features of dental caries. **Community Dent Oral Epidemiol.**, v. 19, p. 324-328, 1991.

MARSH, P.D. Dental plaque as a microbial biofilm. **Caries Research.**, v. 38, p. 204-211, 2004.

MARSH, P.D. Role of the oral microflora in health. **Microb Ecol Health Dis.**, v. 12, p.130-137, 2000.

MARTHALER, T.M.; BRUNELLE, J.; DOWNER, M.C. The prevalence of dental caries in Europe 1990-1995. **Caries Res.**, v. 30, p.237-255, 1996.

MARTIN, E. F.; NADKARNI, M. A.; JACQUES, N. A.; HUNTER, N. Quantitative Microbiological Study of Human Carious Dentine by Culture and Real-Time PCR: Association of Anaerobes with Histopathological Changes in Chronic Pulpitis. **Journal of Clinical Microbiology.**, v. 40, n.5, p. 1698–1704, 2002.

MASSEY, W.; ROMBERG, N.; HUNTER, N.; HUME, W. The association of carious dentin microflora with tissue changes in human pulpitis. **Oral Microbiol immunol.**, v. 8, p. 30-35, 1993.

MATTOS-GRANER, R.O.; LI, Y.; CAUFIELD, P.W.; DUNCAN, M.; SMITH, D.J. Genotypic diversity of mutans streptococci in Brazilian nursery children suggests horizontal transmission. **J Clin Microbiol.**, v. 39, p. 2313-2316, 2001.

McCOMB, D. Caries detector dyes – How accurate and useful are they? **Journal of the Canadian Dental Journal**, v. 66 , n. 4, p. 195-198, 2000.

McFARLAND, L.V. Normal flora: Diversity and functions. **Microb Ecol Health Dis.**, v.12, p.193-207, 2000.

MENDES, F.M.; PINHEIRO, S.L.; BENGTON, A.L. Effect of alteration on organic material of the occlusal caries on DIAGNodent readings. **Braz. Oral Res.**, v. 18, n.2, 2004.

MENZEL, D. B.; SLAUGHTER, R.J.; BRYANT, A.M. JAUREQUI, H.O. Prevention of ozonide-induced Heinz bodies in human erythrocytes by Vitamin E. **Arch Environ Health**, v. 30, p.234-236. 1975.

MESTRINER, S.F.; PARDINI, L.C.; MESTRINER, W. J. Impact of the bitewing radiography exam inclusion on the prevalence of dental caries in 12-year old students in the city of Franca, São Paulo, Brazil **J Appl Oral Sci**, v. 14, n.3, p.167-171, 2006.

MOHAMMED, C. I.; MONSERRATE, V. Preoperative oral rinsing as a means of reducing air contamination during use of air turbine handpieces. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v. 29, n.2, p.291-294, 1970.

MONDELLI, J.; STEAGALL, L.; ISHIKIRIAMA, A.; NAVARRO, M.F.L.; SOARES, F.B.S. Fracture strength of human teeth with cavity preparations. **Journal of Prosthetic Dentistry**, v. 43, n. 4, p. 419-422, 1980.

MOORE, R.; BRODSGAARD, I.; MAO, T. K.; KWAN, H. W.; SHIAU, Y.Y.; KNUDSEN R. Fear of injections and reported negative dentist behavior among Caucasian American and Taiwanese adults from dental school clinics. **Community Dent Oral Epidemiol**, v. 24, p.292-295, 1996.

MUNSON, M.A; BANERJEE, A; WATSON, T,F; WADE W.G, Molecular analysis of the microflora associated with dental caries. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, p.3023-3029, 2004

MYERS, G. E.; The airbrasive technique: a report. **Br Dent J**, v. 97, p. 291-295. 1954.

NADKARNI, M.A., CALDON, C.E., CHHOUR, K., FISHER, I. P., MARTIN, F. E., JACQUES, N.,A., HUNTER, N. Carious dentine provides a habitat for a complex array of novel Prevotella-Like bacteria. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, p. 5238-5244, 2004.

NALLA, R.K.; PORTER, A.E.; DARARIO, C.; MINOR, A.M.; RADMILOVIC, V.; STACH E.A.; TOMSIA, A.P.; RITCHIE, R.O.; Ultrastructural examination of dentin using focused ion-beam cross-sectioning and transmission electron microscopy. **Micron**, v. 36, p. 672-680, 2005. Disponível em: <<http://www.lbl.gov/Ritchie/Library/PDF/Micron-dentin.pdf>>. Acesso em: Ago. 2006.

NYVAD, B.; FEJERSKOV, O. An ultrastructural study of bacterial invasion and tissue breakdown in human experimental root caries. **J Dent Res**, v. 69, p. 1118-1125, 1990.

OGAWA K., YAMASHITA Y., ICHIJO T., FUSAYAMA T., The ultra-structure and hardness of the transparent layer of human carious dentin. **Journal of Dental Research**, v. 62, p. 7-10, 1983.

OHGUSHI, K. Collagen Fibers in the Two Layers of Carious Dentin. Histochemical Study, **J Jpn Stomatol Soc**, v. 40, p.65-74, 1973.

OHGUSHI, K.; FUSAYAMA, T. Electron Microscopic structure of the two layers of carious dentine. **J Dent Res.**, v. 54, p. 1019-1023, 1975.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Levantamento epidemiológico básico de saúde bucal**. 3. ed. Traduzido por C. Wagner; N. Lamas; T. Chianca. São Paulo: Santos,. p.34-35, 1991.

PARAMAESVARAN, M.; NGUYEN, K.; CALDON, E.; McDONALD, J. A.; NAJDI, S.; GONZAGA, G.; LANGLEY, D. B.; CARLO, A.; CROSSLEY, M.J.; HUNTER, N.; COLLYER, C. A. Porphyrin-Mediated Cell Surface Heme Capture from Hemoglobin by *Porphyromonas gingivalis*. **J Bacteriol.**, v. 185, n.8, p.2528–2537, 2003.

PASHLEY, D.H.; TAY, F.R.; YIU, C.; HASHIMOTO, M; BRESCHI, L.; CARVALHO, R.M.; ITO, S.; Collagen degradation by host derived enzymes during aging. **J Dent Res.**, v. 83, n. 3, p.216-221, 2004.

PASTER, B.J.; BOCHES, S.K.; GALVIN, J.L.; ERICSON, R.E.; LAU, C.N.; LAVANOS, V.A.; SAHASRABUDHE, A.; DEWHIRST, F.E. Bacterial diversity in human subgingival plaque. **J Bacteriol.**, v. 183, p.3770-3783, 2001.

PASTER, B.J.; DEWHIRST, F. E.; OLSEN, I.; FRASER, G.J. Phylogeny of Bacteroides, Prevotella, and Porphyromonas spp. and Related Bacteria. **J Bacteriol.**, v. 176, n.3, p.725–732, 1994.

PEARCE, E.I.F.; COOTE, G.E.; LARSEN, M.J. The distribution of fluoride in carious human enamel. **J Dent Res.**, v. 74, n.11, p. 1775-1782, 1995.

PEKKALA, E.; VÄLIKANGAS, L.; PUUKKA, M.; TDJADERHANE, E.; LARMAS, M. The effect of a high-sucrose diet on dentin and dental caries in hyperinsulinemic rats. **J Dent Res.**, v. 81, n.8, p.536-540, 2002.

PENNING, C.; VAN.; AMEROGEN, J.P.; SEEF, R.E.; TEN.; CATE, J.M. Validity of probing for fissure caries diagnosis. **Caries Research**, v. 26, n 6, p.445-449, 1992.

PEYTON, F. A.; HENRY, E. E. The effect of high speed burs, diamond instruments and air abrasive in cutting tooth tissue. **JADA.**, v. 49, p.426-435, 1954.

PINHEIRO, I.V.A.; MEDEIROS, M.C.S.; FERREIRA, M.A.F.; LIMA, K.C. Use of fluorescence (DIAGNOdent™) for in vivo diagnosis of occlusal caries: a systematic review. **J Appl Oral Sci.**, v. 12, n.3, p.177-81, 2004.

PITTS, N.B. Clinical diagnosis of dental caries: A European perspective. **Journal of Dental Education.**, v. 65, n.10, p.972-959, 2001.

PITTS, N.B.; LOND, F.D.S. Current methods and criteria for caries diagnosis in Europe. **J Dent Educ.**, v. 57, n.6, p.409-413, 1993.

REDMO.; EMANUELSSON, I.M.; WANG X.M. Demonstration of identical strains of mutans streptococci within Chinese families by genotyping. **Eur J Oral Sci.**, v. 106, p.788-794, 1998.

RICKETTS, D.; KIDD, E. A. M.; SMITH, B. G. N. et al. Clinical and radiographic diagnosis of occlusal caries; a study in vitro. **J Oral Rehab.**, v. 22, p.15-20, 1995a.

RICKETTS, D.; KIDD, E. A. M.; BEIGHTON, D. Operative and microbiological validation of visual, radiographic and electronic diagnosis of occlusal caries in non cavitated teeth judged to be in need of operative care. **Br Dent J.**, v. 179, p.214-220, 1995b.

RICKETTS, D.; KIDD, E.; WEERHJEIM, K.; SOET, H. Hidden caries: What is it? Does it exist? Does it matter? **International Dent Journal.** v. 47 p.259-265, 1997.

RISNES, S. Ectopic tooth enamel. An SEM study of the structure of enamel in enamel pearls. **Adv Dent Res.**, v. 3, p. 258-264, 1989.

ROEHM, J.N.; HADLEY, J.G.; MENZEL, D.B. Oxidation of unsaturated fatty acids by ozone and nitrogen dioxide: A common mechanism of action. **Arch Environ Health.** v. 23, p.142-148, 1971.

SAARELA, M.; TROIL-LINDÉN, B.; TORKKO, H.; STUKI, A.M.; ALALUUSUA, S.; JOUSIMIES-SOMER, H.; ASIKAINEN, S. Transmission of oral bacterial species between spouses. **Oral Microbiol Immunol.**, v. 8, p.349-354, 1993.

SAKOOLNAMARKA, R.; BURROW, M.F.; SWAIN, M.; TYAS, M.J. Microhardness and Ca:P ratio of carious and Carisolv™ treated caries-affected dentine using an ultra-micro-indentation system and energy dispersive analysis of x-rays – A pilot study, **Australian Dental Journal**, v. 50, n.4, p-246-250, 2005.

SAWLE, R. F.; ANDLAW, R. J. Has occlusal caries become more difficult to diagnose? **British Dental Journal**, v. 164, n.7, p.209-211, 1988.

SCHEID, R. C.; ROSEN, S.; BECK, F. M. Reduction of CFUs in high-speed handpiece water lines over time. **Clin Prev Dent.**, v. 12, n.2, p.9-12, 1990.

SHAH, H. N.; COLLINS, M.D. Proposal for reclassification of *Bacteroides asaccharolyticus*, *Bacteroides gingivalis*, and *Bacteroides endodontalis* in a new genus, *Porphyromonas*. **Int J Syst Bacteriol.**, v. 38, p. 128-131, 1988.

SHEETS, C. G.; PAQUETTE, J. M. Enhancing Precision Through Magnification. **Dentistry Today**, v. 17, n.1, 1998.

SIQUIERA JUNIOR, J.F. **Tratamento das infecções endodónticas.** São Paulo: Médsi, cap. 4, p.53-60, 1997.

SMALLEY, J.W; SILVER, J; MARSH, P. J., BIRSS, A. J. The periodontopathogen *Porphyromonas gingivalis* binds iron protoporphyrin IX in the μ -oxo dimeric form: an

oxidative buffer and possible pathogenic mechanism. **Biochem. J.**, v. 331, p.681-685, 1998.

SMITH, T. A.; HEATON, L. J. Fear of dental care. Are we making any progress? **JADA.**, v. 134, p.1101-1108, 2003.

SOET, J.J.; BOKHOUT, B.; BUIJS, J.F.; LOVEREN, C.; GRAAF, J.; PRAHL-ANDERSEN, B. Transmission of mutans streptococci between mothers and children with cleft lip and/or palate. **Cleft Palate Craniofac J.**, v. 35, p.460-464, 1998.

SOUKOS, N.S.; SOM, S.; ABERNETHY, A.D.; RUGGIERO, K.; DUNHAM, J.; LEE, C.; DOUKAS, A.G.; GOODSON, J.M. Phototargeting oral black-pigmented bacteria. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 49, n.4, p.1391-1396, 2005.

SOUZA, M.H.S. Adesivos dentinários, estágio atual e considerações clínicas para sua utilização. **Maxi Odonto: Dentística.** v. 1, p.1-18, 1995.

STOOKEY, G.K.; FERREIRA.; ZANDONÁ, A.G.; ANALOUI, M. Dental caries diagnosis. **Dent Clin North Am.**, v. 43, n.4, p. 655-677, 1999.

SUCHETT-KAYE. G.; DÉCORE, T. D.; BARSOTTI, O. Intra-familial distribution of *Fusobacterium nucleatum* strains in healthy families with optimal plaque control. **J Clin Periodontol.**, v. 26, p.401-404, 1999.

SULKALA, M.; LARMAS, M.; SORSA, T.; SALO, T.; TJÄDERHANE L. The Localization of Matrix Metalloproteinase-20 (MMP-20, Enamelysin) in Mature Human Teeth. **J Dent Res.**, v. 81, n.9, p.603-607, 2002.

SUNDQVIST, G.; ECKERBOM, M.; LARSSON, A.; SJÖGREN, U. Capacity of anaerobic bacteria from necrotic dental pulps to induce purulent infections. **Infection and Immunity.**, v. 25, n. 2, p.685-693, 1979.

SUNDQVIST, G.; JOHANSSON, E.; SJÖGREN, U. Prevalence of black-pigmented *Bacteroides* species in root canal infections. **J Endod.**, v. 15, p.13-19, 1989.

SUNDQVIST G. Taxonomy, ecology, and pathogenicity of the root canal flora. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol.**, v. 78, p.522-530, 1994.

SUNDSTRÖM, F.; FREDRIJKSSON, K.; MONTÁN, S.; HAFSTÖM-BJÖRKMAN.; STRÖM, J. Laser-induced fluorescence from sound and carious tooth substance: Spectroscopic studies. **Swed Dent J.**, v. 9, p.71-80, 1985.

TANDLAEGEBLADET F.H.E. Moore R, Birn H Phenomenon of dental fear. **Pub Med Abstract**, v. 94, n.2, p.34-41, 1990.

TJÄDERHANE, L.; LARJAVA, H.; SORSA, T.; UITTO V-J.; LARMAS, M.; SALO, T. The activation and function of host matrix metalloproteinases in dentin matrix breakdown in caries lesions. **J Dent Res.**, v. 77, p. 1622-1629, 1998.

TORICELLI, A. Drinking water purification. **Adv Chem Ser.**, v. 21, p. 453-465, 1959.

TYAS, M.J.; ANUSAVICE, K.J.; FRENCKEN, J.E.; MOUNT, G. J. Minimal intervention dentistry – a review - FDI Committed Project 1-97, **International Dental Journal**, v. 50, p.1-12, 2000.

TRONSTAD, L.; SUNDE, P. T., The evolving new understanding of endodontic infections. **Endodontic Topics**, v. 6, p.57-77, 2003.

VAN DALEN, P.; VAN DEUTEKOM-MULDER, E.; GRAAF, J.; VAN STEENBERGER, The Pathogenicity of *Peptostreptococcus micros* morphotypes and *Prevotella* species in pure and mixed culture. **J Med Microbiol.**, v. 47, p.135-140, 1998.

VAN DORP, C. S. E. et al. The effect of dental probing on subsequent enamel demineralization. **ASDC J Dent Child**, v.55, n.5, p.3343-3347, 1988.

VAN HOUTE, J. Role of micro-organisms in caries etiology. **J Dent Res.**, v. 73, p.672-681, 1994.

VAN STRIJP, A.J.P.; KLONT, B; TEN KATE, J.M. Solubilization of dentin matrix collagen *in situ*. **J Dent Res.**, v.71, n.8, p.1498-1502, August, 1992.

VERDONSCHOT, E. H.; WENZEL, A.; TRUIN, G. J.; KÖNIG, K. G. Performance of electrical resistance measurements adjunct to visual inspection in the early diagnosis of occlusal caries. **J Dent.**, v. 1, n.6, p.332-337, 1993.

WALKER, B.N.; MAKINSON, O.F.; PETERS M.C. R. B. Enamel cracks. The role of enamel lamellae in caries, **Australian Dental Journal.**, v.43, n.2, p.110-116, 1998.

WEERHEIJM, K.L.; VAN AMEROGEN WE, EGGINIK C.O., The clinical diagnosis of occlusal caries: a problem. **J Dent Child.**, v.56, p.196-200, 1989.

WEERHEIJM, K.L.; GROEN, H.J.; BAST, A.J.J. et al. Clinically undetected occlusal dental caries: a radiographic comparison. **Caries Res.**, v.26, p.305-309, 1992a.

WEERHEIJM, K.L.; GRUYTHUYSEN, R. J.; VAN AMEROGEN, W.E. Prevalence of hidden caries **J Dent Child.**, v.59, n.6, p.408-412, 1992 b.

WEERHEIJM, K.L. Occlusal hidden caries. **Dental Update.**, v.24, p.182-184, 1997.

WEERHEIJM, K.L.; KREULEN, C.M.; de SOET, J. J.; GROEN, H. J. Bacterial counts in carious dentine under restorations: 2-year in vivo effects. **Caries Research.**, v. 33, p. 130-134, 1999.

WHITE, J.; EAKLE, W. S. Rationale and treatment approach in minimally invasive Dentistry. **J A D A.**, v.131, p.13S-19S, 2000.

YAMAYOSHI, T.; TATSUMI, N. Microbicidal effects of ozone solution on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Drugs Exp Clin Res.**, v. 19, n.2, p.59-64, 1993.

YIP, H. K.; SAMARANAYAKE L, P. Caries removal techniques and instrumentation: a review. **Clinical Oral Investigations**, v. 2, n.4, 1998. (ABSTRACT)

ANEXO A - Consentimento Livre e Esclarecido em Pesquisa Científica

Consentimento Livre e Esclarecido em Pesquisa Científica conforme a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde. Aprovado pelo Comitê de Ética da UNIVAP.

Eu,.....,R.G.n^o.....
 Residente à.....n^o.....
 Bairro....., na cidade de....., consinto em
 participar da pesquisa científica intitulada “ Desenvolvimento de técnica operatória
 minimamente invasiva utilizando ultra-baixa rotação associado ao diagnóstico de cárie
 por fluorescência induzida por laser e terapia de ozônio” a ser realizada por EDSON
 CARLOS NAGIB RG n^o 3281260 PR, com consultório à R.Ten Djalma Dutra n^o 576,
 Centro, São José dos Pinhais – PR , estou ciente e de acordo com os itens abaixo:

a)- A justificativa, os objetivos, e aos procedimentos a serem realizados na pesquisa;

Será realizado um preparo cavitário conservador no elemento dental baseado em técnica de fluorescência de laser para diagnóstico e remoção guiada do tecido decomposto e infectado do dente aliado a máxima preservação de tecido sadio remanescente. Esta técnica será empregada no(s) dente(s) a ser (em) removido(s) somente com fins ortodônticos ou cirúrgicos, assim, não haverá qualquer risco ao paciente relacionado à execução do procedimento, pois o dente já estará extraído.

O objetivo deste trabalho é analisar:

- 1- As imagens em microscopia ótica dos tecidos envolvidos na técnica operatória proposta;
- 2- A verificação do comprometimento tecidual do esmalte e da dentina ao longo da série de tomadas fotográficas em microscopia para verificação da

invasividade da lesão de cárie e a sua remoção controlada devido à velocidade empregada ser extremamente reduzida (cerca de 120 a 300 rotações por minuto, equivalendo de 2 a 5 voltas da broca por segundo);

3- Observação da eficiência da detecção e do monitoramento gradual da lesão cariada através da medição da fluorescência induzida por laser das porfirinas bacterianas (metabólitos) com técnica rotatória minimamente invasiva e sem aerosol contaminado, verificando a remoção gradual do tecido amolecido já decomposto, pois o tecido sadio apresenta alta resistência à mecânica rotatória convencional, por isso a necessidade de altas velocidades no atendimento realizado pelo dentista (a turbina de uso odontológico apresenta velocidade de trabalho entre 120 a 300 mil rotações por minuto, equivalentes entre 1600 a 5000 voltas da broca por segundo, enquanto a baixa velocidade convencional indicada para procedimento em dentina apresenta 20 mil rotações por minuto, equivalentes a 330 voltas por segundo);

4- Devido à velocidade extremamente baixa empregada são gerados baixos níveis de ruído e desconforto, diminuindo consideravelmente a necessidade de anestesia na maioria das intervenções, além da verificação controlada e gradual do remanescente tecidual cariado através da fluorescência de laser, podendo representar um grande avanço na abordagem mecânica pelo profissional com o emprego dessa técnica in vivo no futuro, provando sua aplicabilidade clínica;

b)- Os desconfortos e riscos possíveis e os benefícios esperados;

Não há desconforto possível na técnica a ser empregada pois o dente já estará removido.

c)- Os métodos alternativos existentes;

Os métodos tradicionais são mais desconfortáveis e envolvem velocidades de trabalho mecânico rotatório mais altas, além do ruído desconfortável, há grande possibilidade de geração de dor devido ao alto atrito e temperaturas produzidos, além do aerosol contaminado pulverizado no ambiente de trabalho;

d)- A forma de acompanhamento e assistência, assim como seus responsáveis;

O cirurgião-dentista Edson Carlos Nagib será responsável por todos os procedimentos envolvidos na execução dos preparos das cavidades e também das extrações dos dentes com finalidade ortodôntica ou cirúrgica assegurando-lhe toda assistência necessária à garantia da sua saúde.

e)- A garantia de esclarecimento, antes e durante o curso da pesquisa, sobre a metodologia e técnica empregadas estarão à disposição a qualquer momento;

Esta pesquisa será composta por 50 dentes com indicação de extração com finalidade ortodôntica ou cirúrgica;

f)- A liberdade do sujeito se recusar a participar ou retirar seu consentimento, em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado;

Fica assegurado o seu direito de desistir do ingresso do dente doado à pesquisa em qualquer etapa sem prejuízo algum para a sua pessoa.

g)- A garantia do sigilo que assegure a privacidade dos sujeitos quanto aos dados confidenciais envolvidos na pesquisa;

Todos os dados, relatos e materiais desta pesquisa serão considerados confidenciais, garantindo a você toda a privacidade das informações. À inexistência de qualquer espécie de benefício, a não ser informativo, tanto por parte da Universidade quanto dos pesquisadores;

h)- As formas de ressarcimento das despesas decorrentes da participação na pesquisa;

Todas as despesas necessárias à execução deste trabalho, desde os equipamentos e sua manutenção, incluindo as extrações, serão patrocinadas pelo Dr. Edson Carlos Nagib, sem despesa alguma ao pesquisado e/ou ao seu responsável.

i)- Formas de indenização decorrentes de eventuais danos ao paciente:

Em caso de eventuais danos durante a realização dos procedimentos, fica assegurado ao paciente toda e qualquer indenização prevista por lei.

Através desse documento, consinto a utilização do(s) dente(s) removido(s) por extrema necessidade ortodôntica e/ou cirúrgica e permito sua utilização para estudos científicos e análises laboratoriais.

.....dede 2006.

.....

Assinatura do Responsável.

.....

Assinatura do pesquisado

ANEXO B – Aprovação da pesquisa pelo Comitê de ética

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UNIVAP**CERTIFICADO**

Certificamos que o Protocolo n.º H080/2006/CEP, sobre "*Desenvolvimento de técnica operatória minimamente invasiva utilizando ultra-baixa rotação associada ao diagnóstico de cárie por fluorescência induzida por laser e terapia de ozônio*", sob a responsabilidade do Prof. Edson Carlos Nagib, está de acordo com os Princípios Éticos, seguindo as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos, conforme Resolução n.º 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e foi **aprovado** por esta Comissão de Ética em Pesquisa.

Informamos que o pesquisador responsável por este Protocolo de Pesquisa deverá apresentar a este Comitê de Ética um relatório das atividades desenvolvidas no período de 12 meses a contar da data de sua aprovação.

São José dos Campos, 04 de julho de 2006



PROF. DR. LANDULFO SILVEIRA JUNIOR
Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa da Univap