

O Efeito Antimicrobiano da Terapia Fotodinâmica Sobre a Dentina Cariada

Antimicrobial Effect of Photodynamic Therapy on Carious Dentin

Maria Helena Chaves de Vasconcelos Catão^{a*}; Rennaly de Freitas Lima^a; Carolina Medeiros de Almeida^b; Laryssa Vieira do Nascimento^b

^aUniversidade Estadual da Paraíba, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, PB, Brasil

^bUniversidade Estadual da Paraíba, Curso de Odontologia, PB, Brasil

*E-mail: mhelenact@zipmail.com.br

Recebido: 28 de março de 2014; Aceito: 16 de junho de 2014

Resumo

A terapia fotodinâmica baseia-se na aplicação tópica ou sistêmica de um corante não tóxico e fotossensível, seguida da irradiação com baixas doses de luz de comprimento de onda adequado. Antes utilizada apenas para fins antineoplásicos, passou a ser empregada com finalidade antimicrobiana sobre os patógenos da cavidade oral, o que a tornou uma alternativa de tratamento antimicrobiano, frente ao crescimento e acúmulo do biofilme oral, já que foi observada, por meio de experimentos, a inativação de micro-organismos presentes em placas subgingivais, através da fotoativação de fármacos fotossensibilizantes. Este trabalho reuniu informações a respeito da aplicação da terapia fotodinâmica na Odontologia, no que se refere ao seu efeito antimicrobiano sobre a dentina cariada. Apesar de pesquisas com resultados promissores, o efeito antimicrobiano desta modalidade terapêutica ainda apresenta limitações, devido à falta de padronização definida, sendo fundamental a realização de novos estudos, a fim de tornar a utilização da terapia fotodinâmica aplicável na clínica odontológica.

Palavras-chave: Fotoquimioterapia. Cárie Dentária. Lasers. Produtos com Ação Antimicrobiana.

Abstract

Photodynamic therapy is based on topical or systemic application of a nontoxic and photosensitive colorant followed by low doses of light irradiation of adequate wavelength. Traditionally used only for antineoplastic ends, it has been used as antimicrobial purpose on the oral cavity pathogens, as an alternative to antimicrobial treatment against the growth and accumulation of oral biofilm, since experiments have shown the inactivation of microorganisms of subgingival plaques by photoactivation of photosensitizing drugs. This study gathered information concerning the application of photodynamic therapy in Odontology, with regard to its antimicrobial effect over the carious dentin. Spite of researches with promising results, the antimicrobial effect of this treatment modality still has limitations due to lack of defined standardization, being essential to conduct further studies to make the use of photodynamic therapy applicable in clinical dentistry.

Keywords: Photochemotherapy. Dental Caries. Lasers. Products with Antimicrobial Action.

1 Introdução

O avanço da tecnologia tem estimulado o desenvolvimento de novos equipamentos úteis às áreas de diagnóstico e terapêutica¹. O *laser* é um tipo de radiação não ionizante que, quando em contato com os diferentes tecidos, gera efeitos térmicos, fotoquímicos e não-lineares², possuindo atividade diferenciada da luz emitida por fontes convencionais de luz³.

Em 1965, esta radiação foi adaptada à prática terapêutica e utilizada na Odontologia, pela primeira vez, por Ster e Sognaes⁴. Neste ramo, são várias as aplicações do raio *laser*. Pode ter finalidade no diagnóstico da cárie, na hipersensibilidade dentinária, em lesões da mucosa, doença periodontal, pericementite, herpes, entre outros, gerando efeitos como alívio da dor, reparação tecidual e redução dos processos inflamatórios¹.

Atualmente, os *lasers* de baixa potência vêm sendo utilizados juntamente com substâncias fotoativadoras, buscando a redução bacteriana de lesões cariosas de forma menos invasiva e mais rápida. Este tipo de aplicação terapêutica

é conhecida como terapia fotodinâmica ou como terapia de foto ativação, e pode ser utilizada para eliminar células alvo, através de espécies reativas de oxigênio produzidas pela luz na presença do oxigênio molecular, em um comprimento de onda apropriado⁵.

Na Odontologia, a terapia fotodinâmica tem sido utilizada no tratamento de lesões pré-malignas, na terapêutica periodontal e endodôntica e na prevenção da cárie⁶. Portanto, existe um grande interesse no efeito antimicrobiano desta terapia, uma vez que é possível eliminar grandes quantidades de micro-organismos³. Diante disto, o presente trabalho busca revisar a literatura a respeito da aplicação da terapia fotodinâmica na Odontologia, no que se refere ao seu efeito antimicrobiano sobre a dentina cariada.

2 Desenvolvimento

Este trabalho revisou os artigos mais relevantes a respeito do efeito antimicrobiano da terapia fotodinâmica sobre a dentina cariada, publicados no período de 2000 a 2014.

A busca bibliográfica foi realizada nos bancos de dados MedLine, PubMed, Lilacs, Scielo e BBO. As palavras-chave utilizadas para a pesquisa foram: “fotoquimioterapia”, “cárie dentária”, “*lasers*” e “produtos com ação antimicrobiana”.

2.1 Revisão da literatura

A redução dos micro-organismos da cavidade oral é essencial para que haja a prevenção de infecções locais e sistêmicas. Apesar de muitas substâncias terem se mostrado eficazes, algumas bactérias ainda apresentam certa resistência a determinados medicamentos. Portanto, o desenvolvimento de formas que levem estes micro-organismos à morte, de maneira a eliminar o tecido desmineralizado e preservar o tecido hígido, é um ponto que merece ser considerado⁷.

A terapia fotodinâmica baseia-se na aplicação tópica ou sistêmica de um corante não tóxico e fotossensível, seguida da irradiação com baixas doses de luz de comprimento de onda adequado⁸. Na presença de oxigênio, o fotossensibilizador ativado reage com moléculas na sua vizinhança, por transferência de elétrons ou hidrogênio, levando à produção de radicais livres (reação do tipo I), ou por transferência de energia ao oxigênio (reação do tipo II), levando à formação de oxigênio *singlete*, podendo levar à destruição da célula e do tecido doente⁸. O oxigênio *singlete* reage com a maioria dos componentes celulares suscetíveis à ação de O₂⁸. Isso gera danos à parede celular, mitocôndria e lisossomos, afetando a integridade celular, levando a destruição localizada do tecido vivo anormal, mediante sua necrose ou inviabilização, assim como a desativação de vírus, destruição de bactérias e fungos. Até o momento, não houve relatos de efeitos mutagênicos sobre as células saudáveis, corroborando o fato de que esta modalidade terapêutica é de aplicação segura⁹.

Qualquer molécula no interior da célula pode ser alvo da terapia fotodinâmica, já que a reatividade das espécies reativas de oxigênio com moléculas orgânicas é inespecífica, sendo maior a dificuldade das células em desenvolverem resistência celular⁸.

A melhor fonte de radiação tem sido descrita como sendo a que, por um baixo custo, forneça a maior quantidade de luz possível, no máximo de absorção do sensibilizador, sem efeitos térmicos significativos¹⁰.

Para Paulino *et al.*¹¹, qualquer fonte de luz que tenha características espectrais apropriadas pode ser utilizada em terapia fotodinâmica, como lâmpadas de tungstênio ou halogênio, *laser* ou LED, desde que seja centrada na região do espectro na qual a luz possa excitar o agente fotossensibilizante, para que haja transferência de energia e ocorra a reação fotodinâmica.

O *laser* de baixa intensidade tem sido bastante utilizado na Odontologia, devido a sua metodologia simples e baixo custo, auxiliando em outras terapias convencionais ou ser aplicado isoladamente, como alternativa em algumas patologias, podendo agir como anti-inflamatório, analgésico e reparador

tecidual³, estimulando a produção de dentina reparadora e a recuperação óssea na região periapical, diminuindo a sensibilidade dentinária e a dor, além de diminuir o sangramento e edema, nos casos de doença periodontal¹².

Outra opção de custo considerável, são os *lasers* de diodo, que conseguem cobrir quase todo o espectro visível e infravermelho próximo, ativando muitos dos agentes fotossensibilizantes do mercado, fornecendo luz pulsada com precisão sobre o tecido afetado, devido ao sistema de distribuição baseado em fibra óptica. O uso de LED (diodos emissores de luz) é uma alternativa, haja vista que possui baixo custo e alta afinidade com agentes fotossensibilizantes de segunda geração⁹.

A ativação do fotossensibilizador depende do corante utilizado, da sua concentração, do tempo de contato, da potência do laser e da espécie bacteriana envolvida. Dentre os agentes fotossensibilizantes mais utilizados, estão o azul de toluidina O, cristal violeta, ftalocianina dissulfonada de alumínio, hematoporfirinas, tionina, protoporfirina e azul de metileno¹³, sendo capazes de ativar reações fotoquímicas, devido a sua eficiente absorção de luz do espectro visível⁹.

Um agente fotossensibilizante deve possuir pureza química; meia-vida curta; rápida eliminação do tecido normal; ativação por comprimentos de onda com boa penetração no tecido alvo; produção de grande quantidade de produtos tóxicos à célula¹⁴; baixa toxicidade na ausência de luz, para que a terapia seja restrita à área a ser tratada e não ocasione reações tóxicas; fórmula simples e estável; fácil manuseio; obtenção em escala industrial a baixo custo, boa reprodutibilidade e componentes de fácil análise total¹⁵.

Portanto, os pontos principais a serem observados no desenvolvimento de agentes fototerapêuticos são basicamente a toxicidade, a eficiência na geração de oxigênio *singlete*, a capacidade de penetração na membrana celular e a velocidade de eliminação pelo organismo⁹. Quando utilizados de forma isolada, luz e agentes fotossensibilizantes não possuem atividade, mas quando em interação, geram produtos tóxicos à célula¹⁶.

Diferentes efeitos podem ser obtidos a partir da reação entre fotossensibilizador, luz e substrato, mantendo-se a mesma dose, porém modificando-se a intensidade ou o tempo de exposição, além de depender da concentração utilizada e do tempo de pré-irradiação, que consiste no tempo de contato entre agente fotossensibilizante e micro-organismo, na ausência da luz. O sucesso da terapia fotodinâmica dependerá da seletividade do fotossensibilizante, da intensidade da radiação sobre a área a ser tratada, das propriedades ópticas do tecido, da qualidade de absorção da luz ativadora, da eficiência da excitação da molécula fotossensibilizadora e do seu poder de oxidação⁹.

Antes utilizada apenas para fins antineoplásicos, a terapia fotodinâmica passou a ser empregada com finalidade antimicrobiana sobre os patógenos da cavidade oral, o que a tornou uma alternativa de tratamento antimicrobiano frente

ao crescimento e acúmulo do biofilme oral^{8,17,18}. Estudos realizados *in vitro* têm comprovado a eficácia da terapia fotodinâmica na eliminação das bactérias relacionadas à carie dentária e à doença periodontal, o que tem recebido grande atenção da Odontologia¹⁹⁻²².

Zanin *et al.*²³ relataram que muitos estudos têm demonstrado a eficácia da terapia fotodinâmica em eliminar ou reduzir bactérias relacionadas ao desenvolvimento das lesões de cárie e doença periodontal em humanos, utilizando além da luz *laser*, fontes de luz halógena, LED, entre outros.

Longo e Azevedo¹⁰, estudaram a influência das alterações na concentração do fotossensibilizante azul de metileno e da potência da irradiação de laser vermelho sobre culturas bacterianas provenientes da dentina cariada humana, após a aplicação da terapia fotodinâmica mediada pelo azul de metileno. Os autores verificaram que a redução da carga bacteriana foi significativa quando o tratamento com azul de metileno, nas concentrações de 25 e 50 µg/mL, foi combinado com irradiação *laser* na fluência de 20,55 e 61,65 J/cm². Além disso, foi observado que o tratamento com as soluções de azul de metileno, quando testadas isoladamente, não apresentaram efeito citotóxico nas culturas bacterianas.

Estudando a ação bactericida do Azul de Toluidina na dentina cariada e em uma matriz de colágeno sobre cepas de *Streptococcus mutans* irradiadas com laser com 633 nm, Williams *et al.*²⁴ concluíram que o azul de metileno apenas possui efeito antibacteriano quando fotoativado, sendo capaz de eliminar as bactérias orais em um curto período de tempo.

Estudos *in vitro* sobre o efeito antimicrobiano da terapia fotodinâmica sobre suspensões bacterianas de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus casei*, utilizando *laser* diodo de 660 nm, com densidade de energia de 28,8 J/cm², associado ao corante azul de toluidina na concentração de 100 µg/ml, mostraram que este tipo de tratamento é efetivo na redução de bactérias cariogênicas²⁴.

Wilson *et al.*²⁵ estudaram a redução de placa bacteriana através da aplicação de *lasers* de HeNe (Hélio e Neônio) e GaAsAl, associados a diferentes fotossensibilizantes, e evidenciaram a queda no número de *Streptococcus* e *Actinomyces*. Komerik *et al.*²¹ utilizaram azul de toluidina associado ao *laser* diodo e demonstraram a atividade antimicrobiana da terapia fotodinâmica sobre as bactérias orais, com ausência de danos nas regiões de mucosa afetadas.

Em pesquisas realizadas *in vivo* sobre cáries profundas de molares permanentes, tratadas com azul de metileno 0,01% e irradiadas com *laser* diodo em baixa intensidade (660 nm), por 90 segundos, verificou-se que houve redução estatisticamente significativa tanto para *S. mutans* (78.07%), como para *Lactobacillus spp.* (78.0%) e para o total de bactérias viáveis (76.03%). Portanto, a terapia fotodinâmica é eficaz na redução das bactérias presentes na dentina de cáries profundas, garantindo a preservação das estruturas dentais hípidas²⁶.

Avaliando a capacidade da terapia fotodinâmica, com laser de baixa intensidade (662 nm) e LED (630 nm), utilizando o Radaclorin e o Azul de Toluidina como fotossensibilizantes, Hakimiha *et al.*²⁷ observaram grande redução no número de colônias de *S. mutans*. Além disso, quando irradiadas isoladamente ou apenas com o agente fotossensível, não houve redução significativa de colônias.

Williams *et al.*²⁴ e Araújo *et al.*²⁸ observaram que o agente fotossensibilizante possui a capacidade de penetração na dentina desmineralizada e no colágeno, levando à redução microbiana na lesão de carie em dentina. A aplicação ativa do fotossensibilizante azul de toluidina na dentina infectada, por 30 segundos, acarretou penetração de 300 µm e, após 60 segundos, 400 µm, com tempo de pré-irradiação de 3 minutos.

Wood *et al.*²² utilizaram lâmpada de filamento de tungstênio, associada a diferentes corantes, na terapia fotodinâmica sobre *S. mutans*, enquanto Paulino *et al.*¹¹ utilizaram aparelho fotoiniciador, com comprimento de onda de 400 a 500 nm, associados ao corante Rosa Bengal, sobre suspensões bacterianas de *S. mutans* e fibroblastos, mostrando a eficácia do efeito antimicrobiano sobre o *S. mutans*, sem alteração dos fibroblastos.

Qin *et al.*²⁹ observaram, através de experimentos, a inativação de micro-organismos presentes em placas subgingivais, através da terapia fotodinâmica, porém ressaltaram a necessidade de se estabelecer doses específicas para cada espécie de micro-organismo, para que o efeito antimicrobiano seja realmente obtido.

2.2 Discussão

A tendência da Odontologia é a incorporação de métodos menos invasivos, com o objetivo de diminuir a dor e desconforto durante e após as intervenções odontológicas. Por isso, acredita-se que a laserterapia seja uma excelente opção de tratamento, já que é considerada um tipo de procedimento terapêutico seguro, com indicações e contraindicações bem determinadas, devido à experiências clínicas positivas, investigações científicas das alterações teciduais que ela promove e, acima de tudo, o melhor entendimento do seu mecanismo de ação³⁰.

Apesar da remoção mecânica convencional e da disponibilidade de agentes químicos de controle do biofilme e de antibióticos, o desenvolvimento de resistência bacteriana tem questionado a eficácia de tais terapias. Neste sentido, a terapia fotodinâmica tem se tornado uma possível alternativa de tratamento antimicrobiano, sobre as doenças relacionadas à placa dentária, como a cárie⁷.

Algumas das vantagens da terapia fotodinâmica são a possibilidade de repetição sem indução de resistência ao fármaco, já que não há efeito tóxico cumulativo; uso juntamente com outras modalidades terapêuticas; destruição tecidual específica; ausência de danos às estruturas normais e dupla seletividade, ou seja, o agente fotossensibilizante e a luz podem ser direcionados especificamente para a região da lesão³¹.

Mais de 90% da literatura a respeito da laserterapia tem relatado resultados positivos. Porém, existe a possibilidade de ocorrerem efeitos desfavoráveis, decorrentes da aplicação de baixas ou altas doses, diagnóstico equivocados, realizações de sessões insuficientes e falta de padronização nos procedimentos de aplicação³. A influência do *laser* sobre os tecidos pode produzir inibição, proliferação ou até mesmo ser indiferentes quanto ao crescimento microbiano. Estes resultados dependerão de fatores como o comprimento de onda, a dose e a potência utilizada das propriedades ópticas dos tecidos e, ainda, das características fisiológicas das células durante a irradiação³².

Dentre os fotossensibilizantes utilizados no tratamento de infecções orais, os derivados das fenotiazinas, o azul de metileno e o azul de toluidina foram os mais estudados. Porém, ainda existem dificuldades de comparação entre as pesquisas, devido à grande variância de padrões de dosimetria e concentração do fotossensibilizador e da irradiação aplicada¹⁰.

Estudos já provaram que a associação de um corante ao *laser* de baixa potência pode eliminar ou reduzir a proliferação de bactérias cariogênicas presentes na dentina de lesões profundas, contribuindo para a aplicação da terapia fotodinâmica no tratamento da cárie, já que esta terapia possui, como grande vantagem, maior preservação da estrutura dental³¹.

Apesar das pesquisas sobre a terapia fotodinâmica no tratamento da cárie e de outras patologias orais ainda serem recentes, há fortes indícios de que este tipo de terapia se encaixa na filosofia de tratamento hoje indicada, eliminando os micro-organismos dentro da lesão cariada, preservando a estrutura dental hígida e oferecendo ao organismo condições adequadas de recuperação³³. Uma vez que as bactérias presentes na cárie dental podem ser menos sensíveis à terapia fotodinâmica, devido à limitada penetração do agente fotossensibilizante, ou devido à dificuldade da luz se propagar através da estrutura dentinária, é fundamental que os resultados encontrados *in vitro* sejam confirmados, com o objetivo de tornar esta terapia uma alternativa ao tratamento convencional da cárie²³.

3 Conclusão

Os estudos sobre o efeito antimicrobiano da terapia fotodinâmica têm contribuído, de forma expressiva, com evidências que conduzem ao desenvolvimento desta modalidade terapêutica no tratamento de lesões de cárie, uma vez que que permite menor invasividade, diminuindo os riscos de comprometimento pulpar de curto em longo prazo.

Apesar dos inúmeros estudos e resultados promissores, o efeito antimicrobiano desta modalidade terapêutica sobre as bactérias causadoras da cárie dentária ainda apresenta limitações, devido à falta de padronização definida. Portanto, este estudo conclui que ainda há a necessidade da realização de novas pesquisas, a fim de tornar a utilização da terapia fotodinâmica aplicável na clínica odontológica.

Referências

1. Lopes AL. Laser in dentistry: reality and myths. *Braz Dent J* 2004;15:64.
2. Brugnera Junior A, Pinheiro ALB. Laser na odontologia moderna. São Paulo: Pancast; 2002.
3. Henriques ACG, Maia AMA, Cimões R, Castro JFL. A laserterapia na odontologia: propriedades, indicações e aspectos atuais. *Odontol Clín Cientif* 2008;7(3):197-200.
4. Mavrogiannis M, Thomason JM, Seymour RA. Lasers in periodontology. *Dent Update* 2004;31(9):535-8.
5. Garcez AS, Souza FR, Nunez SC, Kather JM, Ribeiro MS. Terapia fotodinâmica em odontologia - laser de baixa potência para redução microbiana. *Rev Assoc Paul Cir Dent* 2003;57(3):223-6.
6. Maisch T. Anti-microbial photodynamic therapy: useful in the future? *Lasers Med Sci* 2007;7(2):83-91.
7. Vahabi S, Fekrazad R, Ayremlou S, Taheri S, Zangeneh, N. The Effect of antimicrobial photodynamic therapy with radachlorin and toluidine blue on *Streptococcus mutans*: an in Vitro study. *JDT* 2011;8(2):48-54.
8. Perussi JR. Inativação fotodinâmica de microrganismos. *Quim Nova* 2007;30(4):988-94.
9. Machado AEH. Terapia fotodinâmica: princípios, potencial de aplicação e perspectivas. *Quim Nova* 2000;23(2):237-43.
10. Longo, JPF, Azevedo, RB. Efeito da terapia fotodinâmica mediada pelo azul de metileno sobre bactérias cariogênicas. *Rev Clín Pesq Odontol* 2010;6(3):249-57.
11. Paulino TP, Ribeiro KF, Thedei JRG, Tedesco AC, Ciancaglini P. Use of hand held photopolymerizer to photoinactivate *Streptococcus mutans*. *Arch Oral Bio* 2005;50:353-9.
12. Genovese WJ. Laser de baixa intensidade: aplicação em odontologia. São Paulo: Lovisa; 2000.
13. Almeida JM, Garcia VG, Theodoro LH, Bosco AF, Nagata MJH, Macarini VC. Terapia fotodinâmica: uma opção na terapia periodontal. *Arq Odontol* 2006;42(3):161-256.
14. Issa MCA, Manela-Azulay M. Terapia fotodinâmica: revisão da literatura e documentação iconográfica. *An Bras Dermatol* 2010;85(4):501-11.
15. Simplício FI, Maionchi F, Hioka N. Terapias fotodinâmicas: aspectos farmacológicos, aplicações e avanços recentes no desenvolvimento de medicamentos. *Quim Nova* 2002;25(5):801-7.
16. Konopla K, Goslinski T. Photodynamic therapy in dentistry. *J Dent Res* 2007;86:694-707.
17. Takasaki AA, Aoki A, Mizutani K, Schwarz F, Sculean A, Wang CY, *et al.* Application of antimicrobial photodynamic therapy in periodontal and peri-implant diseases. *Periodontology* 2000;51:109-40.
18. Soukos NS, Goodson JM. Photodynamic therapy in the control of oral biofilms. *Periodontology* 2011;55:143-66.
19. Zanin ICJ, Gonçalves RB, Brugnera JRA, Hope CK, Pratten J. Susceptibility of *Streptococcus mutans* biofilms to photodynamic therapy: an in vitro study. *J Antimicrob Chemother* 2005;56:324-30.
20. Zanin IC, Lobo MM, Rodrigues LK, Pimenta LA, Höfling JF, Gonçalves RB. Photosensitization of in vitro biofilms by toluidine blue O combined with a light-emitting diode. *Eur J Oral Sci* 2006;114:64-9.
21. Komerich N, Nakanishi H, MacRobert AJ, Henderson B, Speight P, Wilson M. In vivo killing of *Porphyromonas gingivalis* by toluidine blue mediated photosensitization in an animal model. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47:932-40.

22. Wood S, Metcalf D, Devine D, Robinson C. Erythrosine is a potential photosensitizer for the photodynamic therapy of oral plaque biofilms. *J Antimicrob Chemother* 2006;57:680-4.
23. Zanin ICJ, Brugnera JR, Zanin FA, Gonçalves RB. Terapia fotodinâmica na odontologia (TFD). *RGO* 2003;51(3):179-82.
24. Williams JA, Pearson GJ, Colles MJ, Wilson M. The photo-activated antibacterial action of toluidine blue o in a collagen matrix and carious dentine. *Caries Res* 2004;38:530-6.
25. Wilson M. Bacterial biofilms and human disease. *Sci Prog* 2001;84(3):235-4.
26. Zanin ICJ, Steiner-Oliveira C, Brugnera JRA, Gonçalves R. Aplicação da terapia fotodinâmica na descontaminação bacteriana. *Rev Assoc Paul Cir Dent* 2002;56:7-11.
27. Hakimiha N, Khoei f, Bahador, A, Fekrazad R. The susceptibility of *Streptococcus mutans* to antibacterial photodynamic therapy: a comparison of two different photosensitizers and light sources. *J Appl Oral Sci* 2014; 22(2):80-4.
28. Araújo P, Teixeira KL, Lanza DL, Cortez ME, Poletto LT. In vitro lethal photosensitization of *S. mutans* using methylene blue and toluidine blue O as photosensitizers. *Acta Odontol Latinoam* 2009;22(2):93-7.
29. QinYL, Luan XL, Bi LJ, Sheng YQ, Zhou CN, Zhang ZG. Comparison of toluidine blue-mediated photodynamic therapy and conventional scaling treatment for periodontitis in rats. *J Periodont Res* 2008;43:162-7.
30. Zerbinati LPS, Pinto MAO, Santos RL, Lacerda RCS. Avaliação sobre o conhecimento do laser entre alunos e professores do curso de Odontologia da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, Salvador-BA. *Rev Bahiana Odonto* 2014;5(1):5-21.
31. Carneiro VSM, Catão MHCV. Aplicações da terapia fotodinâmica na odontologia. *Rev Fac Odontol Lins* 2012;22(1):25-32.
32. Werneck CE, Pinheiro ALB, Pacheco MTT, Soares CP, Castro JFL. Laser light is capable of inducing proliferation of carcinoma cells in culture: a spectroscopic *in vitro* study. *Photomed Laser Surg* 2005;23(3):300-3.
33. Mota LQ, Leite JMS, Targino AGR. Dentística minimamente invasiva através da remoção parcial de dentina cariada em cavidades profundas. *UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde* 2013;15(2):145-52.

