



Thèse

2018

Open Access

This version of the publication is provided by the author(s) and made available in accordance with the copyright holder(s).

**Augmentation des températures intra pulpaire et sous-surface durant
l'irradiation dentaire avec le laser diode 808nm : une étude in vitro**

Khouja, Firas

How to cite

KHOUJA, Firas. Augmentation des températures intra pulpaire et sous-surface durant l'irradiation dentaire avec le laser diode 808nm : une étude in vitro. Doctoral Thesis, 2018. doi: 10.13097/archive-ouverte/unige:114114

This publication URL: <https://archive-ouverte.unige.ch/unige:114114>

Publication DOI: [10.13097/archive-ouverte/unige:114114](https://doi.org/10.13097/archive-ouverte/unige:114114)

Augmentation des températures intra pulpaire et sous-surface durant l'irradiation dentaire avec le laser diode 808nm : une étude *in vitro*

KHOUJA, Firas

Abstract

Le laser diode semble utile dans le traitement de caries non cavitaires. Néanmoins, une augmentation de la densité d'énergie du laser peut mener à une charge thermique augmentée, potentiellement nocive aux tissus vitaux dentaires. Le but de cette étude *in-vitro* a été d'évaluer les températures au niveau de la pulpe et sous la surface dentaire durant l'irradiation de la surface proximale dentaire par laser diode 808 nm avec différents paramètres. Nous avons irradié 60 prémolaires, 3 fois chacune, tout en mesurant l'élévation de la température pulpaire pour 30 d'entre elles, puis, pour les 30 restantes, au niveau d'une cavité préalablement préparée de 1.5 mm de profondeur dans la couronne. Tous les résultats ont été analysés statistiquement. De plus, certaines dents irradiées ont été inspectées par microscopie afin d'exclure la présence de lésions secondaires à l'irradiation. La différence de température la plus importante était de 3.1°C au niveau de la pulpe, et 8.5°C sous la surface. Nous n'avons pas remarqué d'altération structurelle au niveau de la surface de l'émail lors de l'analyse micro-morphologique. Nous concluons par cette étude, que l'application de laser diode 808 nm sur la surface dentaire aux paramètres choisis est inoffensive.

Clinique Universitaire de Médecine Dentaire
Division de Cariologie et d'Endodontie

Thèse préparée sous la direction du Professeur Ivo KREJCI

**Augmentation des températures intra pulpaire et sous-surface durant
l'irradiation dentaire avec le laser diode 808nm : une étude *in vitro***

Thèse
présentée à la Faculté de Médecine
de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de Docteur en médecine dentaire
par

Firas Khouja

de

Genève
2018

Thèse n° 757

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS.....	4
PARTIE FRANCAISE	
1. RESUME.....	5
2. INTRODUCTION.....	8
3. DISCUSSION.....	11
PARTIE ANGLAISE	
1. INTRODUCTION.....	17
1.1 Non-invasive caries treatment.....	17
1.2 The Diode laser.....	18
1.3 Bactericidal effect of diode laser.....	19
1.4 Diode Laser and Intrapulpal Temperature.....	21
2. OBJECTIVE, MATERIAL AND METHODS	
2.1 Objective.....	22
2.2 Material and methods.....	23
2.2.1 Samples selection and preparation.....	23
2.2.2 Experiment set-up.....	24
2.2.3 Experiment procedure.....	26
2.2.4 Statistical analysis.....	28
2.2.5 Scanning Electron Microscopy.....	28
3. RESULTS	
3.1 Data collection and Statistical findings.....	29
3.2 Microscopic evaluation.....	30
4. DISCUSSION.....	31
5. CONCLUSION.....	36
6. REFERENCES.....	37
7. TABLES & FIGURES.....	40

Remerciements

J'exprime mes profonds remerciements à mon directeur de thèse, Monsieur le professeur Ivo Krejci, pour l'aide compétente qu'il m'a apportée, pour sa patience et son encouragement. Son œil critique m'a été très précieux pour structurer mon travail mais également pour améliorer la qualité des différentes sections

Je tiens à remercier aussi et ce, chaleureusement :

Le Docteur Marwa Abdelaziz pour ses précieux conseils lors de la rédaction de l'article ayant donné lieu à cette thèse.

Le Docteur Tissiana Bortolotto pour l'analyse statistique, pour sa disponibilité et sa promptitude.

J'aimerais aussi gratifier les efforts de Madame Nadège Négrin, qui a eu l'amabilité de répondre à mes questions et de fournir les explications nécessaires.

Qu'il me soit enfin permis de remercier toute ma famille pour son amour et son soutien constant.

Abir, Dyala et Bassem, je vous dédie cette thèse.

PARTIE FRANCAISE

1. RESUME

La recherche montre que le laser diode est bactéricide. Il se pourrait que cette connaissance soit, à l'avenir, utile dans la prise en charge préventive et thérapeutique des caries non cavitaires. Mais avant de pouvoir le démontrer, il est indispensable de prouver l'innocuité de l'utilisation du laser diode sur le tissu dentaire, sachant qu'une augmentation importante de la densité d'énergie du laser peut mener à une charge thermique augmentée potentiellement nocive aux tissus vitaux de la dent. Pour mener cette étude in-vitro, nous avons choisi 60 prémolaires uni-radiculaires, réparties en 2 groupes de 30. Afin de mesurer la température, nous avons inséré des thermocouples au niveau de la pulpe des dents du premier groupe (groupe pulpaire, PG) et au niveau d'une cavité préalablement préparée de 1.5 mm de profondeur dans la couronne pour les dents du deuxième groupe (groupe sous-superficiel, SG). Un laser diode 808 nm +/- 10 nm Class 4 GaIAs a été utilisé pour irradier chaque dent. Le processus, en cycle de 2x30 secondes, a été réalisé 3 fois sur chaque dent, respectant une semaine d'intervalle entre les répétitions.

Les trois séances d'irradiation a été réalisée avec les paramètres suivants :

1. Mode pulsé, fréquence 16000Hz, puissance 5.0 Watt, longueur d'onde 26 μ s, diamètre de fibre 300 μ m.
2. Mode pulsé, fréquence 16000Hz, puissance 5.0 Watt, longueur d'onde 26 μ s, , diamètre de fibre 600 μ m.
3. Mode onde continue, puissance 1.0 Watt, diamètre de fibre 600 μ m.

Pour récolter les mesures, les thermocouples ont été connectés à l'ordinateur par l'intermédiaire d'un enregistreur de données numériques. Des analyses statistiques ont été effectuées sur les données mesurées. De plus, dans chaque groupe (PG et SG), nous avons sélectionné, de manière aléatoire, une dent issue de chaque paramètre étudié afin de réaliser des analyses micro-morphologiques qui avaient pour but de vérifier l'absence de lésions secondaires à l'irradiation. Dans cette étude, toutes les dents ont montré une augmentation mesurable de température non seulement au niveau de la pulpe $\Delta P T^{\circ}C$ mais également sous la surface dentaire au niveau de la dentine $\Delta D T^{\circ}C$.

Au niveau de la pulpe, l'augmentation moyenne de la température après 30 secondes était de 0.7 $^{\circ}C$, 1.6 $^{\circ}C$ et 0.9 $^{\circ}C$ pour les premier, deuxième,

respectivement troisième paramètres décrits ci-dessus. A 60 secondes, on retrouve naturellement des valeurs plus élevées, à savoir 1.2°C, 2.2°C et 1.3°C. Sous la surface dentaire, l'augmentation était logiquement plus importante encore, avec des valeurs de 1.4°C, 3.2°C, et 1.4°C à 30 secondes, pour monter à 1.7°C, 4.3°C, et 1.7°C après 60 secondes.

Au niveau pulpaire, l'augmentation la plus importante observée était de 3.1°C, inférieure aux 3.5°C considérés comme étant la limite supérieure ne causant pas de dommage pulpaire irréversible. Sous la surface, cette augmentation maximale observée était de 8.5°C. L'évaluation microscopique de la surface des portions irradiées et non irradiées des dents n'a pas montré de différence notable. L'hypothèse zéro prédisant une absence d'augmentation critique de la température causée par l'irradiation au laser diode 808 nm a été confirmée par cette étude in vitro. En plus de la nécessité d'investiguer l'efficacité du laser diode 808 nm sur la décontamination bactérienne des caries dentaires, les résultats obtenus dans cette étude ouvrent des perspectives à de nouvelles recherches sur des paramètres appropriés qui procurent l'augmentation optimale de température en respectant les limites de sécurité des structures dentaires et environnantes.

2. INTRODUCTION

La médecine dentaire préventive et restauratrice actuelle a pour objectif d'éliminer les caries en préservant au maximum les tissus durs de la dent ainsi que sa vitalité. Il s'agit dès lors de viser l'inactivation ou désinfection des lésions carieuses en évitant d'endommager la structure de la dent afin de permettre une reminéralisation éventuelle à la suite de l'élimination des bactéries.

Le laser dentaire se trouve être une nouvelle technologie qui pourrait potentiellement répondre à ces exigences. Cependant, tous les types de laser ne seraient pas applicables car certains seraient trop invasifs pour les tissus dentaires.

Raison pour laquelle le laser soft Diode a été retenu pour cette étude.

Il existe plusieurs longueurs d'onde pour ce type de laser, mais le plus courant est le laser à diodes de 808-980 nm. Cette lumière proche de l'infrarouge a la capacité de pénétrer à 1000 μ m dans les tissus durs des dents en ayant un effet bactéricide par destruction permanente de la membrane cellulaire de la bactérie.

Récemment, un nouveau laser diode 808nm a été mis sur le marché pour utilisation clinique. Cet appareil est compact, ergonomique, et est destiné, selon

le fabriquant, à la désinfection photo-activée par le biais d'une teinture absorbante spécifique.

Le laser est utilisé pour réaliser un transfert d'énergie entre le rayonnement et le tissu cible. L'augmentation de la densité du laser peut s'avérer utile lors du traitement de lésions ne pouvant être pénétrées par la teinture absorbante. Cependant cette augmentation mène automatiquement à une plus haute charge thermique qui pourrait être nocive aux tissus vitaux, particulièrement pour la pulpe dentaire.

L'effet peut également être affecté par le temps d'application du rayon sur les tissus, la longueur d'onde et son mode (continu ou pulsé).

L'objectif de cette étude in-vitro est d'entamer la recherche sur l'effet thermal du laser diode sur les tissus dentaires. A cette fin, nous avons évalué l'échauffement au niveau de la chambre pulpaire et de la dentine, durant l'irradiation du laser choisi sur des dents extraites. Un soin particulier a été porté sur l'application des conditions optimales se rapprochant au maximum de la réalité, grâce à la performance du matériel utilisé et à la bonne préparation des échantillons retenus.

L'appareil laser utilisé, proposant plusieurs préréglages et paramètres, nous a permis de comparer les effets relatifs aux différentes puissances appliquées. Nous avons également analysé la structure des dents irradiées au moyen d'un microscope électronique.

L'ensemble des valeurs obtenues a été mis en comparaison avec les valeurs critiques, ce qui a permis d'établir les statistiques nécessaires au rejet ou non rejet de l'hypothèse zéro de notre étude, hypothèse qui stipule que l'irradiation engendrée par le laser diode ne serait pas nocive pour les tissus dentaires.

4. DISCUSSION

L'utilisation du laser diode peut être appropriée pour l'inactivation des caries dentaires grâce d'une part à l'effet thermal antibactérien, et à sa capacité à atteindre la bactérie immigrée en profondeur dans la dentine, et d'autre part à sa potentielle aptitude à obturer les tubules dentaires.

Cependant, il est impératif de tenir compte que bien que l'émail et la dentine aient une conductivité basse, l'application d'une forte densité énergétique pour une longue durée sur la surface extérieure de la dent pourrait entraîner un dommage pulpaire.

[Hussey et al, 1995] ont rapporté que la pulpe peut être affectée par une hausse de température. [Zach et Cohen, 1965] ont, quant à eux, démontré que 15% des dents ayant été exposées à une hausse de température intra-pulpaire de 5.5°C étaient irrémédiablement endommagées. Aujourd'hui, il est considéré qu'une hausse de température de 3.5°C représente le seuil maximum à ne pas franchir afin d'éviter tout dommage pulpaire irréversible.

Par ailleurs, l'énergie laser absorbée par la dentine génère une chaleur dans cette même dentine, ce qui peut, lors d'une application excessive, engendrer des

changements structurels ainsi que des dommages au niveau du tissu dur de la dent [Schuchard, 1975], [Sato, 1983].

Dans notre étude in vitro, bien que tous les échantillons aient indiqué une hausse de température notable, aussi bien dans la chambre pulpaire que dans la dentine, la hausse maximum observée n'a été que de 3.1°C dans la pulpe, et de 8.5°C dans la dentine. Dès lors, il n'y a aucun risque significatif pour les structures dentaires lorsqu'on irradie la dent avec le laser diode 808nm en mode 1W continu ou en mode 5W pulsé (réglages utilisés lors des tests).

Il est nécessaire de préciser qu'étant donné que la plupart des précédentes études sur les effets thermiques du laser ont, soit utilisé d'autres types de laser, ou bien examiné d'autres applications cliniques, et en considérant la grande diversité de systèmes laser existants avec nombre de propriétés différentes, il nous a paru inapproprié de comparer cette étude aux autres.

Durant cette étude, dans laquelle nous avons utilisé le laser diode en mode continu ou pulsé, tout en modifiant la puissance et le temps d'irradiation, nous avons constaté des différences statistiquement significatives de hausses de température. Le mode pulsé 5W/16000Hz a engendré les augmentations de températures les

plus importantes au niveau de la pulpe et de la dentine. Cela s'explique par la forte puissance électrique et la haute fréquence du mode pulsé adopté. De même, ces augmentations ont été enregistrées à la fin du second cycle d'irradiation (60 secondes). Ce qui précède s'accorde avec les résultats existants dans la littérature relative à l'interaction du laser dentaire avec les tissus durs dentaires [Coluzzi et Convissar, 2011].

L'augmentation du diamètre de rayonnement accroît également les températures mesurées au niveau de la pulpe et de la dentine. Nos résultats concordent avec les études de [Yu et al, 1993] qui ont évalué les effets de modification du diamètre du rayon, de son énergie et de sa puissance sur la hausse maximum de la température pulpaire. Il est nécessaire de préciser que [Parker, 2007a] a indiqué que l'utilisation d'un diamètre de rayonnement plus petit augmente le transfert thermique depuis la source vers les tissus cibles. Cette contradiction peut s'expliquer par l'utilisation du laser CO₂ par Parker, car en effet, le laser diode génère une interaction avec les tissus dentaires durs moins importante et un coefficient d'absorption plus faible de ces derniers.

Les mesures ont été effectuées alors que les dents étaient immergées dans un bain d'eau à 37°C afin d'assurer l'hydratation complète de la structure dentaire durant l'action du laser. Cette opération avait également pour objectif d'imiter l'effet de refroidissement due à la circulation sanguine dans les ligaments parodontaux. Cependant, nous avons évité tout contact entre l'eau et le bout du thermocouple en remplissant le canal radiculaire avec une pâte conductrice et en obturant l'apex avec un composite. Cette procédure que nous avons mise en place correspond à la recommandation de [Ramsköld et al, 1997] qui a affirmé, dans son étude, que la tentative d'imitation de la situation in Vivo pouvait être approchée par une circulation excessive d'eau de bain.

Par soucis de tester le scénario le moins favorable, les dents que nous avons utilisées sont toutes des prémolaires. [Yu et al, 1993] ont en effet indiqué dans leur étude sur différents types de laser, qu'une section émail/dentine plus fine aura un changement de température pulpaire plus élevé. C'est pourquoi il est raisonnable de s'attendre à des ΔPT et ΔDT inférieurs dans les molaires.

C'est également dans cette optique que nous avons veillé à ne retenir que les dents extraites, en vue de traitements orthodontiques des patients âgés entre 17 et 24 ans

(sans carie ou restauration antérieures) présentant généralement une conductivité plus importante que chez les dents plus âgées. Ce principe s'entend avec l'étude de [Ketterl, 1983] selon laquelle la dentine, avec l'âge, se caractérise par la réduction du diamètre de ses canaux, et l'augmentation de sa calcification. Ces caractéristiques conduisent, toujours selon Ketterl, à la diminution de la sensibilité et de la conductivité.

Il est néanmoins important de préciser que le dispositif mis en place nécessiterait une adaptation ultérieure du système d'application, et cela en visant une maniabilité plus efficace. Nous avons effectivement fait face à d'évidentes difficultés à appliquer précisément le laser et à scanner la surface de la dent en utilisant la pièce à main ainsi que la fibre chirurgicale.

Pour réaliser les mesures de température, nous avons utilisé un micro-thermocouple type K (0.7 mm) dont l'extrémité a été mise en contact direct avec les surfaces dentaire à tester. Ce thermocouple se compose d'un couple de métaux différents formant une jonction électrique à son extrémité. Le voltage produit par la chaleur au niveau de cette extrémité est alors interprété afin de mesurer la température, **Fig. 3.**

Au-delà de la nécessité d'examiner l'efficacité du laser diode 808nm pour la décontamination bactérienne des caries dentaires, les résultats que nous avons obtenus ouvrent des perspectives à de nouvelles études visant à définir les paramètres provoquant une hausse de température effective et suffisante, mais dans les limites non nocives pour les structures dentaires et les tissus environnants.

PARTIE ANGLAISE

1: INTRODUCTION

1.1 Non-invasive caries treatment

In recent years, non-invasive caries treatments have gotten more attention from the scientific community. This seems to be a result of the drawbacks and limitations of traditional caries treatment, the advancements in technology and knowledge, and finally, a lower prevalence of manifest caries lesions.

Minimal intervention dentistry is a prevailing concept in operative dentistry, which addresses that the amount of enamel and dentin should be maximally conserved through the inactivation/disinfection of carious dental tissue and the stimulation of remineralisation¹³.

Today, a spectre of non-invasive caries treatments is available. Many are new, but some have been available and tested for quite some time. Among the non-invasive caries treatments, there is a large difference in time consumption, costs, proven clinical effect, operator sensitivity, equipment requirements and the acceptance of the different non-invasive treatments.

1.2 The Diode Laser

A new technology which might be introduced into the concept of non-invasive caries treatment is the application of intense near infra-red (IR) light as provided by near IR diode laser to disinfect/sterilize caries in the depth of the dental tissue without precedent cavity preparation, based on the property of near IR light to deeply penetrate into dental tissue^{8,14,21}. Diode laser is manufactured from semiconductor crystals using some combination of aluminium or indium, gallium, and arsenic. The available wavelengths for dental use range from about 800 nm for the active medium containing aluminium to 980 nm for the active medium composed of indium.

Diode lasers were used in dentistry since 1995. Mostly with a wavelength of 810 nm. Later the wavelength 980 nm follows and recently a wavelength of 940 nm is in progress. In comparison to other lasers the diode laser is more economical, the machine construction is simpler, its laser light is generated directly from electrical energy, its service periods are rare (maintenance only in intervals of 10000 hours) and the efficiency is high. The laser beam is guided through a quartz- fibre of fine diameters which facilitate the application in problematic zones in the oral cavity.

1.3 Bactericidal effect of diode laser

As diode laser light can penetrate up to 1000µm into dentin, this property provides a distinct advantage since bacteria can penetrate over 1000µm into the dentin tubules otherwise unreachable by any other non-invasive inactivation technology⁶. Radiation by near IR laser has a bactericidal effect by causing permanent destruction of the bacterial cell membrane¹¹. This damage might be enough to stop the growth of the bacterial cells and can be accomplished with small doses of thermal energy^{6,11}.

The use of 808 and 980 nm diode lasers has become widespread in clinical dental practice.

Diode lasers are established in endodontic treatment because of the good bactericidal effect^{6,12}.

The results of the research of Gutknecht et al., 2004, show that the 980-nm diode laser can eliminate bacteria which immigrate deeply in the dentine and therefore it has the capacity to increase the success rate of endodontic treatments⁷.

Gokhale SR et al. show in their study that the diode laser was clearly effective as an adjunct to mechanical debridement in periodontal flap surgery⁵.

Recently, an 808 nm diode laser has been marketed for clinical use. This device is extremely compact, cordless, small and very easy to handle. The manufacturer indicates this laser in periodontal pockets for photoactivated disinfection in conjunction with the indocyanin infrared dye (Periogreen®, Elexxion, AG, Germany) by claiming a photothermal effect due to a selective absorption of heat by the infrared dye. However, a photothermal effect leading to bacteria killing, even if less specific, may also be realized by the irradiation with the diode laser without an absorbing dye, just by increasing the energy density of the laser. Such a mechanism would be particularly useful in the treatment of non-cavitated carious lesions, which cannot be penetrated by a light-absorbing dye.

1.4 Diode Laser and Intrapulpal Temperature

Increased energy density of the laser automatically leads to higher thermal load, which might be harmful to the vital tissue, particularly to the dental pulp. In 1965, Zach and Cohen established the original threshold for irreversible damage to the pulp in their classical study which examined the effects of externally applied heat on the pulps of anterior and posterior teeth in rhesus monkeys²⁴. In the study, teeth were exposed to an external heat source until increases in temperature of 4°F, 10°F, 20°F, and 30°F were recorded. The teeth were then histologically examined at varying time intervals for signs of thermal trauma and irreparable pulpal necrosis. Fifteen percent of teeth with temperature increases of 10°F developed irreversible pulpitis, compared to 60% of teeth heated to 20°F, and almost no teeth that were heated below 10°F. Based on these results, a threshold of 10°F (5.5°C) was set as the maximum temperature that the pulp can be heated to predictably minimize the chance of irreversible pulpal necrosis²⁴. Even if the exact temperature is still a matter of controversy, an increase in temperature above 42.5°C may induce irreversible changes in the pulpal tissue according to several authors².

2. OBJECTIVE, MATERIAL AND METHODS

2.1. Objective

The aim of this study was to analyse the potential thermal effect of 808nm diode laser on the dental dentine and pulp. We studied the gathered data to discover if there are any harmful consequences of the laser irradiation on the dental pulp or on the tooth hard tissues. Additionally, it was essential to determine the highest power density setting of the 808-nm laser diode laser, which would keep the temperature threshold below the critical limit.

The goal of this in vitro study was to determine the highest power density settings of the 808-nm diode laser, which would keep the temperature threshold in the pulpal chamber below the critical 42.5 °C. As a reference, the temperature at the tooth surface was measured with a second thermocouple. The null hypothesis was that there would be no critical temperature increase caused by the laser radiation.

2.2. Material and methods

2.2.1. Samples selection and preparation

The samples of the study were selected from our institute bank of extracted teeth. Sixty single-root premolars teeth, free of restorations or caries, were collected and stored at 4°C under 100% relative humidity. The chosen premolars had been previously extracted prior to orthodontic treatment for patients aged between 17 and 24. We randomly divided the collected samples into two groups of 30 teeth each.

In the first group, the pulpal chamber group (PG), the root end was cut with the aid of a grinding and polishing machine (Labopol-2, Struers A/S, Denmark) leaving a defined root length of 10 mm from the cementoenamel junction. Access to the pulpal chamber was prepared through the root canal. The root canal was enlarged with hand files (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Switzerland) and 0.70 Gates Glidden drill (Dentsply Maillefer, Switzerland) and both the root canal and the pulpal chamber were cleared of remnant pulpal tissues, cleaned completely and washed with normal saline. Thereafter a 0.6 mm wired mini-thermocouple was inserted through the root canal into the pulpal chamber.

In the subsurface groups (SG), a small coronal cavity was prepared by a 0.8 mm round diamond bur (Intensive SA, Grancia, Switzerland) in the mesial occlusal pit. The cavity was approximately 1.5 mm in depth so that the tip of the second wired mini-thermocouple could be fitted and contact the dentine at the subsurface.

2.2.2 Experiment set-up

As shown in **Fig.1** all teeth were mounted on an acrylic platform. The platform was specially formed (2mm×7mm×17mm) to fit on top of the chamber of a water bath (Grant Optima™ T100, Cambridge Ltd., United Kingdom).

The purpose of this procedure was to provide a steady base for the dental crown to be irradiated and to keep the root of the tooth immersed into 37°C water bath during the irradiation to simulate in vivo conductivity and diffusivity of heat.

A For temperature measurements we used a beaded wire mini-thermocouple type K (Greenlee Textron Inc, USA). This insulated lead wire could rate up to 482 C° with an attached miniature male connector could rate up to 200C°. To measure the temperature in the pulp, the micro-sized thermocouple was positioned in a way that its bare tip (0.3mmx1.5mm) was in direct contact with the surface of the inner pulpal wall. To ensure good conduction of heat the pulp chamber was injected and

filled with a powerful thermal conductive paste (Coolermaster^R). This paste provides an excellent thermal conductivity of 0.8 watts/meter- ° expanding the heat-path area from the surface of the pulp to the temperature measurement thermocouple.

To achieve maximum isolation of the pulp chamber, the opening where the wire entered the root canal was sealed with light-cured resin composite (Gradia Direct, GC, Tokyo, Japan) stabilising at the same time the thermocouple in its position in direct contact.

For temperature measurements at the dentine, in the subsurface group (SG), the small coronal cavity prepared on the occlusal surface of the tooth was filled with the thermal conductor paste and the tip of the mini-thermocouple was inserted into the cavity so that it contacted the dentine directly under the tooth surface to be irradiated. The wire was stabilised with light-cured resin composite (Gradia Direct).

2.2.3 Experiment procedure

The experiment was performed over many sessions. At every session and 60 min before performing the irradiation and spontaneous temperature measurements, the samples were retrieved from the 4°C solution and immersed into five litre water bath (Grant Optima™ T100) which was kept at a constant temperature of 37.0°C. An 808 nm +/- 10 nm Class 4 GaAIAs diode Laser (Claros Pico, Elexxion AG, Radolfzell, Germany) was used for the study. Laser irradiation and temperature measurements were performed on each sample three times with the following parameters:

1. Mode pulsé, fréquence 16000Hz, puissance 5.0 Watt, longueur d'onde 26µs, diamètre de fibre 300µm.
2. Mode pulsé, fréquence 16000Hz, puissance 5.0 Watt, longueur d'onde 26µs, , diamètre de fibre 600µm.
3. Mode onde continue, puissance 1.0 Watt, diamètre de fibre 600µm.

The laser fibre applicator tip was connected to the machine handpiece to deliver the laser energy by scanning a surface zone of approximately 9mm² for two cycles of 30 s with a pause interval of five seconds.

The applicator was held at an angle of approximately 60° to the tooth surface, and there was slight contact between the enamel surface and the tip. The applicator was moved at a speed of approximately 1.5 mm/s. The experimental set-up is presented in **Fig.2**.

The thermocouples were connected to a digital data-logger (Voltcraft K202, Conrad Electronic GmbH, Pratteln, Switzerland). Temperature changes during irradiation were recorded every 5 s for a recording period starting 5 seconds before laser irradiation and up to about 10 s after the end of irradiation. The collected data, which was available in both tabular and graphic form, was monitored and transferred to a computer. By the end of the experiment, each tooth, either from the PG or SG, had been irradiated three times with three different parameters. we recorded the temperature twice at each session of irradiation (at 30 seconds and at 60 seconds).

2.2.4. Statistical analysis

The results of testing were entered a spreadsheet (MS Excel 2010, Microsoft Corp., City State, USA).

Statistical analysis of the data was done with specific software (SPSS V21 for Mac, IBM, USA). To determine the effect of the independent variable (Laser Parameters) on the dependent variable (Temperature Rise) at the pulp chamber and at the subsurface, a 1-way ANOVA and Duncan post-hoc test was run to compare the 6 groups. Then, for the laser parameter that induced the highest heating, differences in temperature rise between pulpal chamber and subsurface were evaluated with an independent t-test. We set the level of confidence to 95%.

2.2.5. Scanning Electron Microscopy

For digital microscope analysis of the treated tooth surface (Keyence VHX-S500E, Osaka, Japan), two representative specimens from each group were examined; Photomicrographs ($\times 1000$) of representative areas of the specimens were obtained.

3. Results

3.1. Data collection and Statistical findings

Temperature rise, expressed as delta of degrees Celsius, ($\Delta PT^{\circ}C$) for the pulpal chamber and ($\Delta DT^{\circ}C$) for the dentine. After treating each sample with three different parameters in recording the temperature twice, in 30 and 60 seconds, we obtained six series of measurements to be studied and analysed. **Tab.1, Figs. 4&5.**

In the pulpal chamber, one-way ANOVA showed significant differences between the six series of measurements ($p=0.000$). Duncan post-hoc test revealed that the highest, significantly different temperature rise ($\Delta PT= 2.2 \pm 0.4$) was observed when using the following parameters 5W, 16.000Hz, 600 μ m for 60s. The lowest temperature rises ($\Delta PT= 0.9 \pm 0.2$) were observed with 1W, CW, 600 μ m, for 30s and ($\Delta PT=0.7 \pm 0.4$) with 5W, pulsed, 16,000Hz, 300 μ m for 30s. No significant differences were observed between these two groups.

At the dentine, one-way ANOVA also showed significant differences between the six groups of heat measurements ($p=0,000$). The highest temperature rise ($\Delta DT=4.3 \pm 0.3$) was measured when using the 5W, 16.000Hz, pulsed, 600 μ m, for 60s.

Significantly lower $\Delta DT^{\circ}C$ was observed when using the following parameters:

1W, CW, 600 μ m, 30s (Δ ST 1.4 ± 0.4);

5W, pulsed, 16,000Hz, 300 μ m, 30s (1.4 ± 0.3);

5W, pulsed, 16,000Hz, 300 μ m, 60s (1.7 ± 0.3); and

1W, CW, 600 μ m, 60s (1.7 ± 0.5).

No significant difference could be observed between the last four groups.

The differences in temperature rise between subsurface (4.34 ± 0.3) and pulpal chamber (2.2 ± 0.4), for the laser parameter that induced the highest heating in both measuring spots (5W, 16.000Hz, 600 μ m, 60s) evidenced the important thermal insulation potential of dentin due to low thermal conductivity, cutting the Δ T $^{\circ}$ C by half.

3.2. Microscopic evaluation

Digital microscopy evaluation of the micromorphology of the treated vs untreated surface did not present any noticeable changes, **Fig.6**

4. Discussion

Diode laser could have its place within the clinical methods of dental caries inactivation (DCI) by benefiting from its antibacterial thermal effect, its capacity for eliminating bacteria that have immigrated deep into the dentin^{6,7}, and its possible ability of occluding the dentinal tubules¹⁶. Although enamel and dentin have low thermal conductivity^{18, 23}, the application of high-power diode laser for considerably long duration on the outer surface of the tooth could result in pulp damage.

[Hussey et al., 1995]⁸ have reported that the pulp might be endangered by temperature rise. While [Zach and Cohen, 1965]²⁵ showed that 15% of teeth undergoing an Intrapulpal temperature rise of 5.5°C were irreversibly damaged. Nowadays, an increase in temperature of 3.5°C is deemed to be the maximum ceiling to not produce irreversible pulpal damage¹¹.

Similarly, the laser energy absorbed by the dentin generates heat within the dentin, which might, if it is excessive, result in structural changes and damage to the dental hard tissue^{20,21}.

In this *In vitro* study, all samples experienced a measurable temperature increase within either the pulp chamber or at the subsurface. The maximum temperature rises observed were 3.1°C in the pulp, and 8.5°C at the subsurface. Thus, there is no significant risk on the dental structures when the teeth were irradiated with an 808-nm diode laser in 1W continuous mode or 5W pulsed mode.

In laser dentistry, most previous studies on the thermal effects of laser either utilised other types of laser or observed other clinical applications^{1, 4, 10}.

Thus, and considering the great diversity of the existent laser systems each with different properties, as well as the variety of parameters that can be adopted, it becomes complex to extrapolate our study to others'.

In the present study, statistically significant differences in temperature rise were founded between the measurements of the 1W/ CW mode and those of the 5W/pulsed mode as the latest presented higher ΔPT and ΔDT . This is explained by greater wattage and high frequency (16000Hz) of the adopted pulsed mode. Similarly, the maximum ΔPT and ΔDT were reported in the second cycle of irradiation. These results are in accordance with what reported in the literature related to the interaction of dental laser with the dental hard tissue³.

Similarly, there were increases in ΔPT and ΔDT with the increase of beam size. These results agree with the studies of [Yu et al, 1993]²⁴ who evaluated the effects of beam size, energy density, and wattage on the maximum pulpal temperature elevation. However, [Parker, 2007]¹⁷ reported that the result of using a smaller beam spot size increases the thermal transfer from the laser to the target tissue. This contradiction could be explained by the low absorption coefficient and less interaction between dental hard tissue and near-IR laser in comparison to the studies of Parker who evaluated the interaction between Co2 laser and oral soft tissue.

Measurements were performed while the teeth roots were immersed into 37°C water bath. This procedure ensured complete hydration of the tooth structure during lasing. It was also an attempt to mimic the cooling effect of the blood circulation in the periodontal ligament and adjacent jawbone.

Contact was avoided between the water and the bare tip of the thermocouple by filling the root canal with a conductor paste and sealing the apical aperture with composite. This corresponds with the consideration of Ramsköld et al.¹⁹ who stated in his study that the thermal bath is less similar to the pulpal in vivo

situation due to the freely circulating water and large volume of cooling liquid available in the water bath.

Single-rooted premolars were chosen for this experimental design. The premolars teeth utilised in the study had been extracted for orthodontic treatment from young patients (17-24 years old). They are all single rooted and free of caries and restorations. In this class of teeth, we expected stronger conductivity and higher temperature increase than which would be recorded in older teeth. This fact corresponds with the study of [Ketterl, 1983]²⁶ who reported that the dentine is characterized by continuous narrowing of the lumen of the dentinal tubule, increasing calcification, reduction in the amount of peritubular fluid and reduced sensitivity and heat conduction. The volume of the pulp declines owing to the deposition of secondary dentine with age²⁶.

[Yu et al, 1993]²⁴ reported in their study on different type of laser that a thinner enamel/dentin section will have a higher pulpal temperature change. It can be concluded that ΔPT and ΔST should be lower in multiple rooted teeth and higher in Incisors and deciduous teeth. Therefore, decision was made to irradiate the

proximal side of the samples as it presents the least thickness and hence is susceptible to greater rise in temperature.

To simulate a real application to the proximal surface of the tooth, we applied the fibre tip with an angle of 60° . However, difficulty was observed to achieve regular continuous scanning the tooth surface using hand control delivery system and the surgical fibre tip. This problem would necessitate further development of the fibre tips, which should be more adaptable for handling and scanning the tooth surface.

For temperature measurement we relied on the strong performance of the micro-sized (0.7mm) thermocouple type K. By preparing and widening the root canal to the exact diameter of the thermocouple, we achieved a high contact between the bare tip and the measured surface. The thermocouple consists of two dissimilar electrical conductors forming electrical junctions, **Fig.3**. At differing temperatures, the thermocouple produces a temperature-dependent voltage which could be interpreted to measure the temperature.

Beside the necessity to investigate the effectiveness of 808-diode laser on dental caries bacterial decontamination, the results obtained in the present study open perspectives to new investigations considering the parameters that provide

sufficient temperature increase within the safety limits of tooth structures and surrounding tissue.

5. Conclusion

Within the limits of the present in vitro investigation, it can be concluded that all laser parameters tested for the irradiation of outer surface of teeth with the 808nm diode laser used in this study produced a temperature increase in the pulpal chamber, which was below the critical threshold for the vitality of the pulpal tissue. Subsurface temperatures were about 50% higher, but still acceptable and no micromorphological enamel changes such as melting, crack formation, or burning were detected by SEM observations on the enamel surface.

Thus, the null hypothesis expecting no critical temperature increase caused by the laser radiation was confirmed by this in vitro study.

6. References

1. ALFREDO E. et al.
Temperature variation at the external root surface during 980-nm diode laser irradiation in the root canal.
Journal of Dentistry 2008, 36(7):529–534.
2. ATAI M, MOTEVASSELIAN F.
Temperature rise and degree of photopolymerization conversion of nano composites and conventional dental composites
Clinical Oral Investigation. 2009, 13(3):309-16
3. COLUZZI D.J. and CONVISSAR R.A.
Principles and practice of Laser dentistry.
St. Louis, Mo: Mosby Elsevier 2011, 12-26.
4. İŞMAN E. et al.
Temperature Changes of Pulp Chamber during In Vitro Laser Welding of orthodontic Attachments.
The Scientific World Journal 2014, ID 589461.
5. GOKHALE SR. et al.
A comparative evaluation of the efficacy of diode laser as an adjunct to mechanical debridement versus conventional mechanical debridement in periodontal flap surgery: a clinical and microbiological study.
Journal of Photomed Laser Surgery 2012, 30(10):598-603.
6. GUTKNECHT N. et al.
Temperature evolution of human teeth root surface after diode laser assisted endodontic treatment.
Journal of Lasers Med Science 2005, 20(2):99-103.
7. GUTKNECHT N. et al.
Bactericidal effect of a 980-nm diode laser in the root canal wall dentin of bovine teeth.
Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery 2004, 22(1):9–13.
8. HUSSEY D.L., BIAGIONI P.A. & LAMEY P.J.
Thermographic measurement of temperature change during resin composite polymerization in vivo.
Journal of Dentistry 1995, 23(5):267–271.

9. KLINKE T. et al.
Antibacterial effects of Nd:YAG laser irradiation within root canal dentin.
Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery 1997, 15(1):29–31.
10. KREISLER M. et al.
Intrapulpal temperature changes during root surface irradiation with an 809-nm GaAlAs laser.
Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics 2002, 93(6):730–735.
11. KRMEK S.J. et al.
The temperature changes in the pulp chamber during cavity preparation with the Er:YAG laser using a very short pulse.
Journal of Photomedicine and Laser Surgery 2009, 27(2):351–355.
12. MORITZ A. et al.
Treatment of periodontal pockets with a diode laser.
Journal of Lasers in Surgery and Medicine 1998, 22(5):302–311.
13. MORITZ A. et al.
In-vitro Irradiation of infected Root Canals with a Diode Laser: Results of microbiologic, Infrared Spectrometric and Stain Penetration Examination.
Quintessence International 1997 28(3): 205-209.
14. MOUNT G.J. and NGO H.
Minimal intervention: Early lesions.
Quintessence International Journal 2000, 31(8):535–546.
15. ODOR T.M. et al.
Laser light transmission in teeth: a study of the patterns in different species.
International Endodontic Journal 1999, 32(4):296–302.
16. PARIROKH M. et al.
Effect of 808nm diode laser irradiation on root canal walls after smear layer removal: A scanning electron microscope study.
Iranian Endodontic Journal 2007, 2(2):37–42.
17. PARKER S.
Laser-tissue interaction.
British Dental Journal 2007 a, 202(2):73-81.

18. PARKER S.
Surgical lasers and hard dental tissue.
British Dental Journal 2007 b, 202(8):445–454.
19. RAMSKÖLD L.O. et al.
Thermal effects and antibacterial properties of energy levels required to sterilize stained root canals with an Nd:YAG laser.
Journal of Endodontics 1997, 23(2):96–100.
20. SATO K.
Relation between acid dissolution and histological alteration of heated tooth enamel.
Journal of Caries Research 1983, 17(6):490–495.
21. SCHUCHARD A.
A histologic assessment of low-torque, ultrahigh-speed cutting technique.
Journal of Prosthetic Dentistry 1975, 34(6):644–651.
22. VAARKAMP J. et al.
Light propagation through teeth containing simulated caries lesions.
Physics in Medicine and Biology 1995, 40(8):1375–1387.
23. YAZICI A.R. et al.
Comparison of temperature changes in the pulp chamber induced by various light curing units, in vitro.
Journal of Operative dentistry 2006, 31(2):261–265.
24. YU D. et al.
Comparison of three lasers on dental pulp chamber temperature change.
Journal of clinical laser medicine & surgery 1993, 11(3):119–122.
25. ZACH L. and COHEN G.
Pulp response to externally applied heat.
Journal of Oral Medicine, Oral Pathology 1965, 19(4):515–530.
26. KETTERL W.
Age-induced changes in the teeth and their attachment apparatus.
International Dental Journal 1983, 33(3):262-71

FIGURE 1 : Teeth samples mounted on a platform and immersed in 37°C water bath



FIGURE 2 : Schematic illustration of the set of appliances used: An 808nm Diode laser machine (A), fiber application tip (B), sample of dentin group (C), sample of pulp group (D), K-type thermocouple inserted in a coronal cavity in dentin g. sample and within the pulp in pulp g. sample (E), digital data logger (F), computer (G).

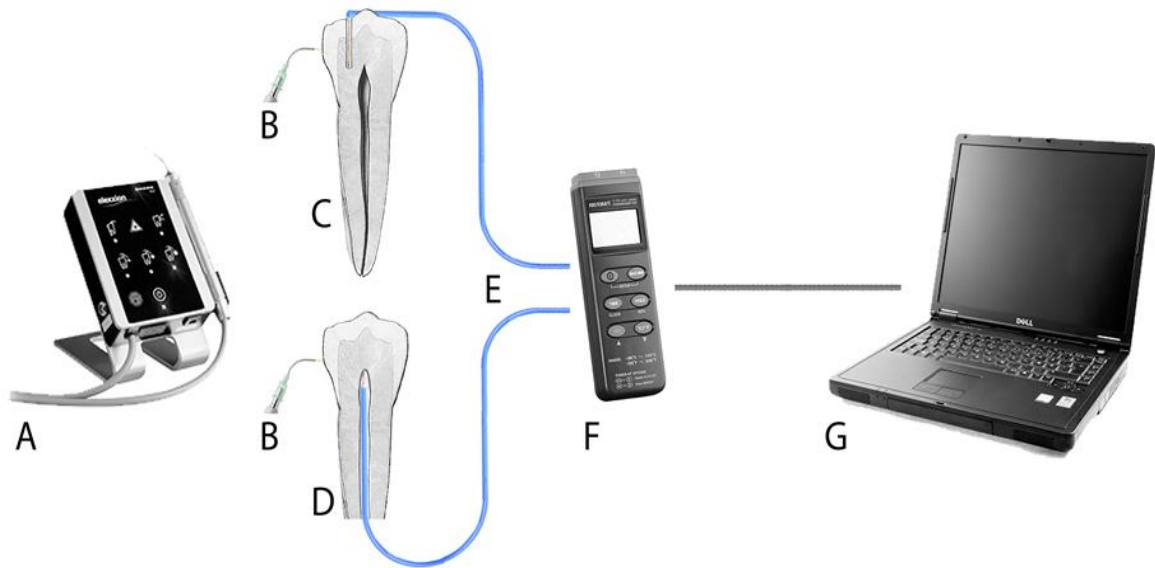


FIGURE 3: The thermocouple consists of two wire legs made from dissimilar metals which are fixed together at one end, creating a junction. When this junction experiences a change in temperature a voltage is created, this voltage can then be measured and referenced back to the temperature.

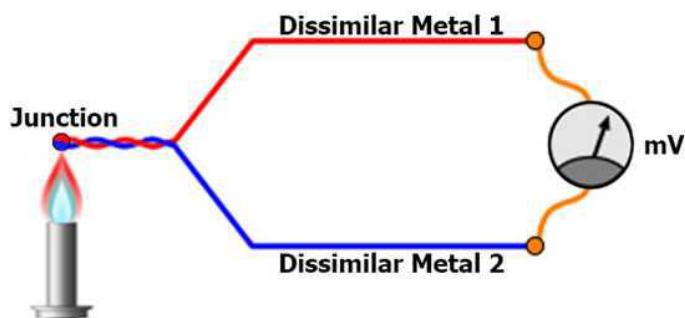


TABLE 1: Means and standard deviations of pulpal & dentin temperature rise (ΔPT & ΔDT), where three different laser setting were applied for two irradiation cycles of 30 seconds each.

Laser Mode	Beam \varnothing (μm)	Exposure Time(S)	ΔPT $^{\circ}\text{C}(\text{SD})$	ΔDT $^{\circ}\text{C}(\text{SD})$
PWM/5W	300	30	0,7(0.4)	1.4(0.3)
		60	1,2(0,4)	1.7(0.3)
	600	30	1,6(0,4)	3,2(1,3)
		60	2.2(0.4)	4.3(1,7)
CWM/1W	600	30	0.9(0.2)	1.4(0.4)
		60	1,3(0,3)	1.7(0.5)

FIGURE 4: The maximal recorded pulpal and dentinal temperature rise in two cycles of 30 seconds of irradiation in different setting (n=3)

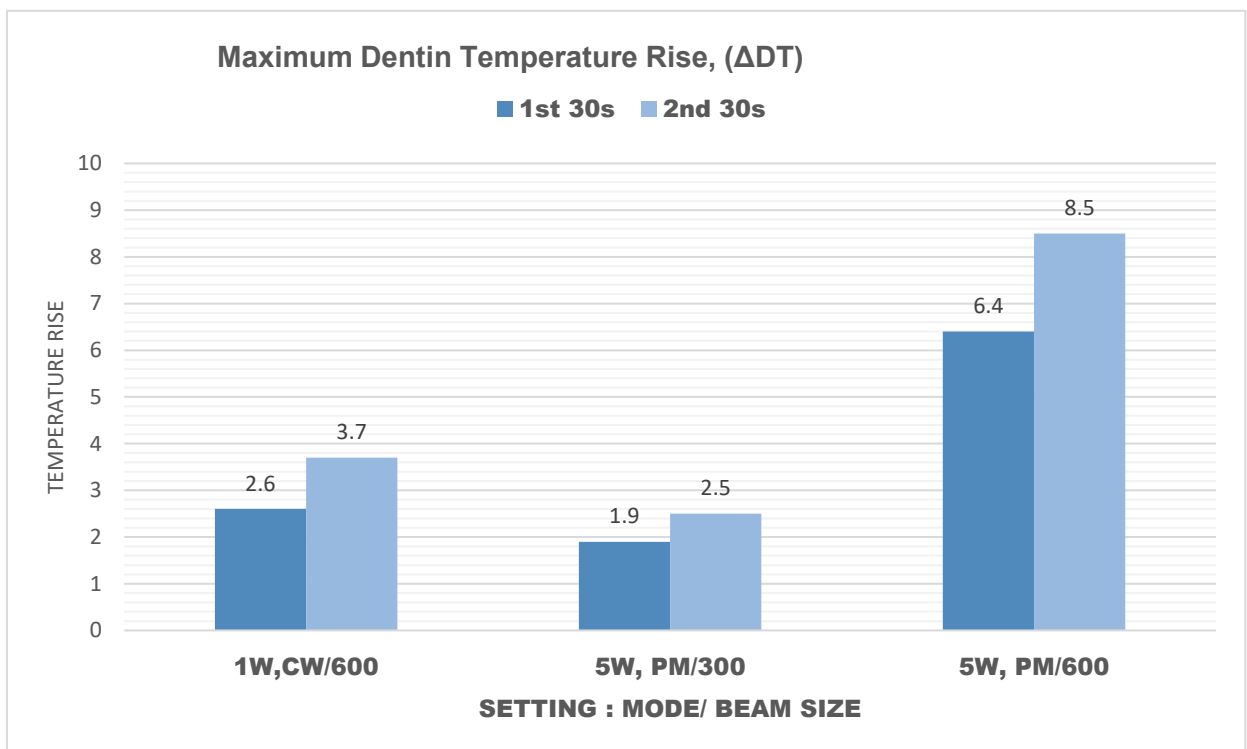
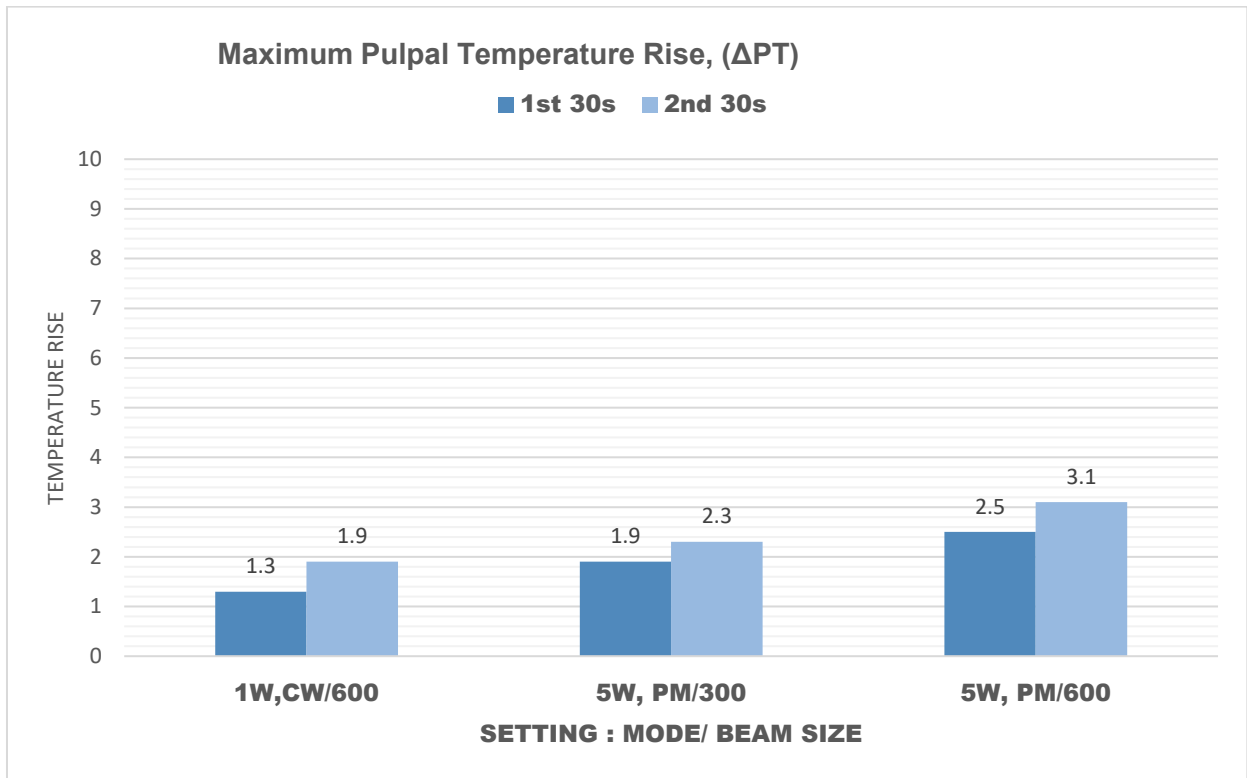


Figure 5 : Box plot of temperature rise (delta T; °C) in the pulpal chamber and in dentin during laser treatment with three different parameters, each for 2×30s. The highest temperature rise in both tissues was observed when using the laser parameters 5W, 16,000 Hz with a tip diameter of 600µm and during 60s. Groups with the same letter are not significantly different (p=0.05).

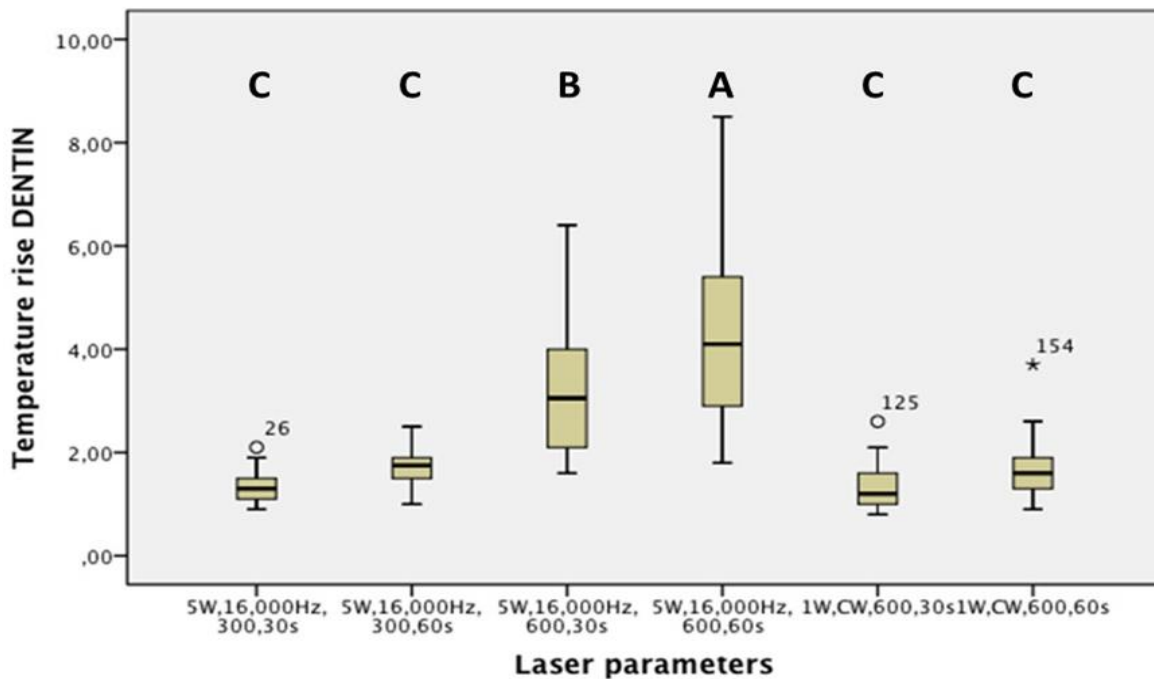
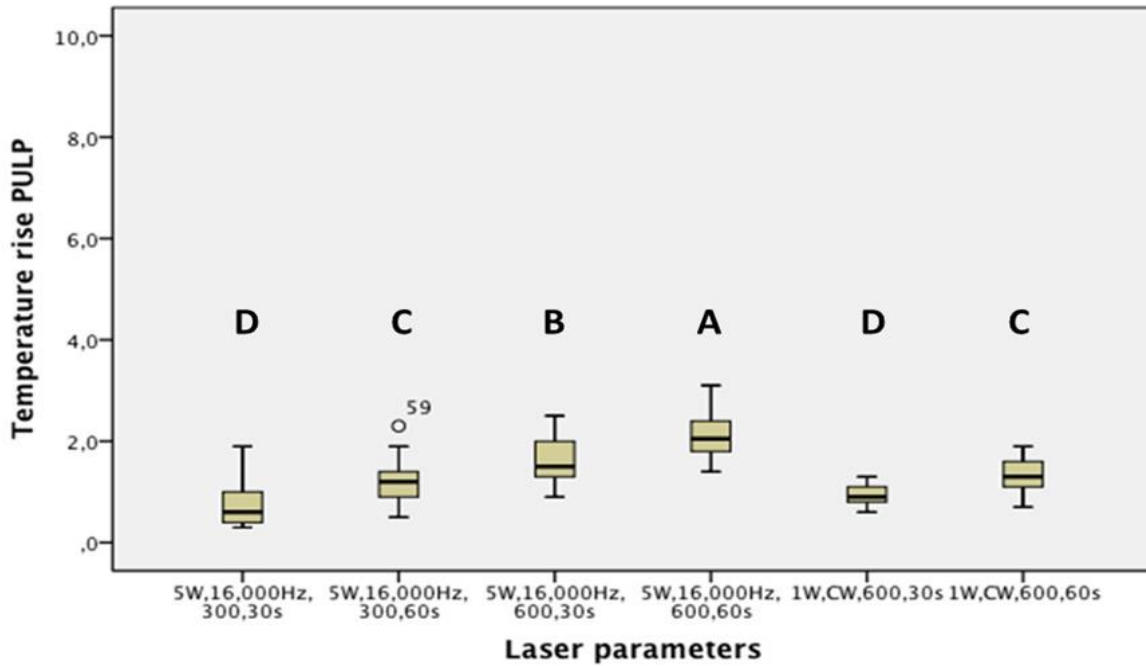
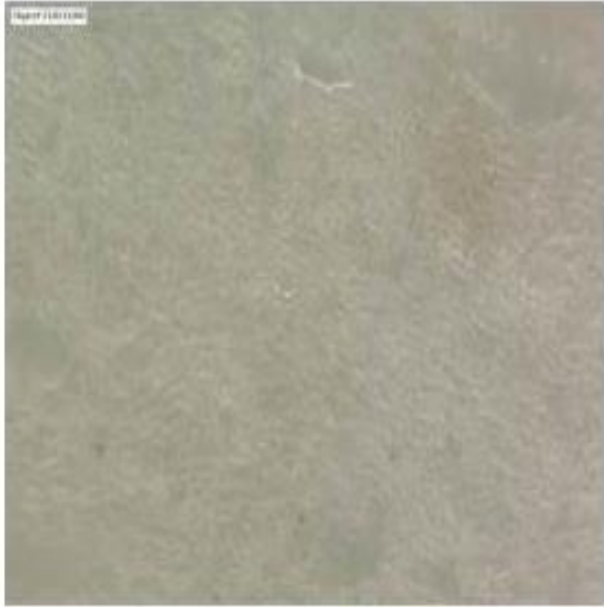


FIGURE 6: SEM micrographic analysis (1000X) of tooth irradiated surface A, and non-irradiated surface B



A



B