



UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOFOTÔNICA
APLICADA ÀS CIÊNCIAS DA SAÚDE**

SILVIA REGINA GARCIA OLIVAN

**“DIAGNÓSTICO DE LESÕES DE CÁRIE OCLUSAIS INICIAIS EM
MOLARES DECÍDUOS POR PADRÃO DE ESPALHAMENTO DE
LUZ COERENTE *SPECKLE*”**

São Paulo

2015



SILVIA REGINA GARCIA OLIVAN

**“DIAGNÓSTICO DE LESÕES DE CÁRIE OCLUSAIS INICIAIS EM
MOLARES DECÍDUOS POR PADRÃO DE ESPALHAMENTO DE
LUZ COERENTE *SPECKLE*”**

Defesa de dissertação de Mestrado apresentada
ao Programa de Pós-Graduação em Biofotônica
Aplicada às Ciências Da Saúde da Universidade
Nove de Julho, como requisito para obtenção do
Título de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Sandra Kalil Bussadori

SÃO PAULO

2015



FICHA CATALOGRÁFICA

Olivan, Silvia Regina Garcia.

“Diagnóstico de lesões de cárie oclusais iniciais em molares decíduos por padrão de espalhamento de luz coerente speckle”./ Silvia Regina Garcia Olivan. 2015.

50 f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Nove de Julho - UNINOVE, São Paulo, 2015.

Orientador (a): Prof^a. Dr^a. Sandra Kalil Bussadori.

1. Lesão de cárie. 2. Speckle. 3. Diagnóstico. 4. Dente decíduo.
5. ICDAS

I. Bussadori, Sandra Kalil. II. Título

CDU 615.831

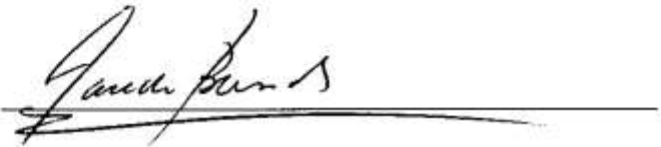
São Paulo, 16 de dezembro de 2015.

TERMO DE APROVAÇÃO

Aluno (a): SILVIA REGINA GARCIA OLIVAN

Título da Dissertação: "Diagnóstico de lesões de cárie oclusais iniciais em molares decíduos por padrão de espalhamento de luz coerente specule".

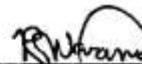
Presidente: PROFª. DRª. SANDRA KALIL BUSSADORI



Membro: PROFª. DRª. ANNA CAROLINA RATTO TEMPESTINI HORLIANA



Membro: PROF. DR. RICARDO SCARPARO NAVARRO



DEDICATÓRIA

Ao meu marido Serguem e à minha filha tão amada Letícia

AGRADECIMENTOS

Agradeço à **Universidade Nove de Julho** e ao **Departamento de Biofotônica Aplicada às Ciências da Saúde** pela oportunidade concedida para a realização do mestrado.

Sem eles não teria chegado nunca até aqui. Deram o meu primeiro caderno e o primeiro lápis. Meus pais, **Reinaldo e Yolanda Olivan**, obrigada pela vida que me deram e o apoio que me deram e ainda me dão até hoje. Sem vocês eu nada seria.

À minha filha tão querida e amada, **Letícia Olivan** que aguentou todo o meu stress e ajudou na finalização deste trabalho com toda a sua formatação.

Ao meu querido marido **Serguem Capilla** que aguentou minha ausência por vários finais de semana.

À minha querida orientadora **Profa. Dra. Sandra Kalil Bussadori** pela paciência, compreensão, orientação e amizade.

Ao **Prof. Dr. Alessandro Melo de Ana** por toda ajuda durante o trabalho e na obtenção dos resultados.

Aos meus queridos amigos **Carolina C. Bortoletto, Lara Jansiski Motta , Marcelo Mendes Pinto e Olga Altavista**, amigos desde sempre e para sempre. Aguentaram-me nos dias de maior stress e me deram o maior incentivo. Sempre dispostos a ajudar. Obrigada por tudo.

E não poderia deixar de agradecer à minha querida amiga **Kátia Do Vale**, amigas de profissão e de mestrado. Juntas, vivemos cada etapa deste mestrado.

Ao colega **João Vagner P Silva** que me ajudou na obtenção das imagens utilizadas neste trabalho.

RESUMO

A detecção de lesões incipientes de cárie oclusal é uma tarefa difícil que requer um rigoroso exame sendo comumente utilizadas a inspeção visual e radiográfica. A cárie dentária por induzir a perda mineral, altera as propriedades ópticas do tecido afetado, assim o estudo dessas propriedades poderá produzir métodos não invasivos e não destrutivos para o precoce diagnóstico de lesões de cárie. Sendo assim, o objetivo desse projeto foi correlacionar os resultados obtidos pelo exame visual através do ICDAS e pelo método por padrão de espalhamento de luz coerente *speckle* (padrões estatísticos de granulado óptico (*speckle*) gerado por tecidos dentários sadios e lesionados). Para tanto foram utilizados 30 dentes molares decíduos hígidos oriundos do Biobanco de Dentes Humanos da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo que tiveram lesão de cárie induzida pelo método de ciclagem de pH. As amostras foram avaliadas para realização do diagnóstico de cárie por dois métodos: ICDAS e padrão de espalhamento de luz coerente *speckle*, nos períodos após 5, 10 e 15 dias e os resultados analisados estatisticamente utilizando-se nível de significância de $\alpha=0,05$. Observou-se que existe diferença significativa entre a imagem do espalhamento *speckle* das áreas sadias e doentes dentro dos 3 grupos avaliados, mas não quando comparados os 3 grupos, mostrando-nos que é uma técnica inovadora, que necessita de mais estudos, mas que pode ser utilizada como método de diagnóstico para a detecção de lesões de cárie iniciais.

Palavras Chave: Lesão de cárie, dente decíduo, diagnóstico, ICDAS, *speckle*

ABSTRACT

The detection of incipient lesions of occlusal caries is a difficult task that requires a rigorous examination is commonly used visual and radiographic inspection. Tooth caries induce the mineral loss, alters the optical properties of the affected tissue, so the study of these properties can produce non-invasive and non-destructive methods for early diagnosis of caries lesions. Thus, the objective of this project is to correlate the results obtained by visual examination by ICDAS and the method by coherent light scattering speckle pattern (statistical patterns of optical granules (speckle) generated by sound and injured dental tissues) . Therefore, we used 30 healthy deciduous molar teeth coming from the Biobank Human Teeth, Faculty of Dentistry, University of São Paulo who had carious lesions induced by pH cycling method. The samples were evaluated for making the diagnosis of caries by two methods: ICDAS and speckle pattern of coherent light scattering in the periods after 5, 10 and 15 days and the results statistically analyzed using $\alpha = 0.05$ significance level .It was observed a significant difference between the image of the speckle scattering of healthy and injured areas within the 3 study groups, but not when comparing the three groups, showing us that it is an innovative technique that needs further study, but it can be used as a diagnostic method for the detection of early caries lesions.

Keywords: caries lesion, primary tooth, diagnosis, ICDAS, speckle

SUMÁRIO

FICHA CATALOGRÁFICA	3
TERMO DE APROVAÇÃO	Erro! Indicador não definido.
DEDICATÓRIA	4
AGRADECIMENTOS	6
RESUMO	7
ABSTRACT	8
LISTA DE FIGURAS	10
LISTA DE TABELAS E QUADROS	12
LISTA DE ABREVIATURAS	13
1. CONTEXTUALIZAÇÃO	14
1.1 Cárie	14
1.2 Métodos de diagnóstico de lesões de cárie	16
1.3 <i>Speckle</i>	23
1.4 Justificativa	25
2. OBJETIVO	27
2.1 Objetivo geral	27
2.2 Hipótese	27
3. MATERIAL E MÉTODOS	28
3.1 Determinação do tamanho amostral	28
3.2- Fluxograma do estudo	30
3.3- Dentes	31
3.4- Metodologia para obtenção e análise do padrão estatístico do granulado óptico	33
3.4 ICDAS	36
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
4.1 Artigo submetido à revista Plos One: Diagnosis of early occlusal caries in primary teeth by default scattering coherent light <i>Speckle</i>	37
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	41
6. REFERÊNCIAS	42
ANEXO 1: Carta do BIOANCO de Dentes Humanos da FOU SP	49
ANEXO 2: Artigo submetido à revista Plos One	50

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Dinâmica da lesão de cárie. Fonte: Carolina C. Bortoletto	15
FIGURA 2: Imagem de lesão de mancha branca. Fonte: Sandra K. Bussadori	16
FIGURA 3: Exame radiográfico demonstrando presença de lesão de cárie. Fonte: autor	17
FIGURA 4: A incidência de luz coerente sobre uma superfície pode provocar 4 fenômenos físicos: absorção, reflexão, espalhamento e transmissão. Fonte: KOSHOJI, 2014	18
FIGURA 5: A reflexão de luz coerente em superfícies lisas que ocorre é denominada de a) reflexão especular, enquanto que, a reflexão em superfícies rugosas é denominada de b) reflexão difusa. Fonte: SILVA, 2007.	19
FIGURA 6: Speckle – Interferência luminosa gerando granulados ópticos claros e escuros . Fonte: KOSHOJI, 2014	23
FIGURA 7: Na interferência construtiva, como os feixes de luz estão em fase eles se somam, gerando o efeito claro, enquanto que na interferência destrutiva, os feixes de luz estão completamente defasados, por esse motivo eles se anulam gerando o efeito escuro. Fonte: KOSHOJI, 2014	23
FIGURA 8: Poder do teste. Fonte: autor	28
FIGURA 9: Processo de indução de cárie por ciclagem de pH. Fonte: autor	29
FIGURA 10: (a) fonte de iluminação coerente (laser HeNe), (b) lente para expansão do feixe, (c) espécime iluminado, (d) câmera digital para obtenção de <i>speckle</i> subjetivo. Fonte: KOSHOJI et al., 2015	31
FIGURA 11: Foto do arranjo experimental utilizado neste projeto. Fonte: autor	32
FIGURA 12: A) Foto sem tratamento do padrão de espalhamento <i>speckle</i> , B) Foto da média da imagem tamanho 4x4, C) Foto da média com falsas cores para facilitar a visualização. Fonte: autor	33

FIGURA 13: Gráfico da diferença do *speckle* no tecido cariado e no tecido saudável dentro de cada grupo 5,10 e 15 dias. Fonte: autor 36

FIGURA 14: Gráfico do contraste do *speckle* no tecido cariado e no tecido saudável entre os grupos 5, 10 e 15 dias. Fonte: autor. 37

FIGURA 15: Foto da lesão de cárie detectada pelo *speckle* com score 0 no ICDAS, quando observada no microscópio óptico. Fonte: autor. 37

LISTA DE TABELAS E QUADROS

TABELA 1: Solução Desmineralizadora	30
TABELA 2: Solução Remineralizadora	30
TABELA 3: Análise do ICDAS	36
QUADRO 1: Exame visual para diagnóstico de lesão de cárie por meio do ICDAS	34

LISTA DE ABREVIATURAS

Fiber optic transillumination	FOTI
Internacional Caries Detection and Assessment System	ICDAS
Laser-induced fluorescence	LF
Nanômetro	nm
Optical coherence tomography	OCT
Quantitative light-induced fluorescence	QLF
Red, Green, Blue	RGB

1. CONTEXTUALIZAÇÃO

1.1 Cárie

O termo doença cárie pode ser utilizado para se referir tanto ao processo da doença cárie quanto à lesão de cárie, que é o resultado de um processo (KIDD, FEJERSKOV, 2004). O processo da doença cárie é iniciado no biofilme ou placa dentária (FEJERSKOV, MANJI, 1990) que se forma em qualquer superfície sólida exposta a quantidades adequadas de água e de nutrientes (WINPENNY, 1994). Esmalte, dentina e cemento são as superfícies sólidas bucais relevantes, as quais são revestidas por uma película em que células microbianas se aderem (KIDD, FEJERSKOV, 2004).

A cárie dental é uma doença infecciosa, multifatorial, que resulta da combinação de três principais fatores: hospedeiro, microbiota e substrato, e a menos que seja cuidadosamente controlada progredirá e se desenvolverá (FEJERSKOV, KIDD, 2005; MOREIRA et al, 2007).

Em condições fisiológicas de pH, a estrutura mineral dos dentes mantém-se em equilíbrio com as concentrações de cálcio (Ca^{++}) e fosfato inorgânico (Pi) salivares ou do fluido do biofilme dentário.

As bactérias da microbiota bucal aderem às superfícies dentárias e nelas se acumulam por que essas superfícies são as únicas que não se descamam. A presença do biofilme dental é necessária para o desenvolvimento da cárie, pois, os microrganismos do biofilme são os responsáveis pela fermentação de açúcares e provocam o desafio ácido que provocam a queda do pH bucal (CURY, TENUTA, 2015).

As bactérias no biofilme são sempre metabolicamente ativas, fazendo com que haja flutuações no pH (KIDD, FEJERSKOV, 2004). Essas flutuações podem causar uma perda de minerais do dente, quando há uma diminuição do pH (desmineralização) ou um ganho de mineral quando o pH aumenta (remineralização) (MANJI et al, 1991).

Quando há acúmulo de biofilme e consumo frequente de carboidratos fermentáveis, predominam os eventos de desmineralização da estrutura dentária, e as bactérias do biofilme metabolizam o substrato da dieta (sacarose e outros carboidratos) e produzem ácido na interface biofilme/dente, determinando perda mineral do esmalte adjacente. O resultado cumulativo desse processo de des-re pode ser uma perda líquida de mineral, que conduz à dissolução dos tecidos duros dentários e à formação de uma lesão de cárie (KIDD, FEJERSKOV, 2004) (Figura 1).

Ocorre a desmineralização da porção inorgânica (esmalte) e a degradação das substâncias orgânicas (dentina). É um processo intermitente que pode evoluir e resultar na completa destruição do tecido afetado quando a doença não é tratada (THYLSTRUP, 1990; THYLSTRUP, 1998). Passado uma semana não se observa, clinicamente, nenhuma alteração, mas, ultra estruturalmente, existem sinais de dissolução da camada mais externa do esmalte dental que pode ser vista como um aumento do espaço interprismático devido à dissolução parcial da periferia dos prismas de esmalte. Ao final de duas semanas as mudanças passam a ser visíveis clinicamente quando é realizada a secagem do esmalte, observando-se uma região de mancha branca, rugosa e opaca. Após três ou quatro semanas as lesões passam a ser visíveis antes da secagem (KIDD, FEJERSKOV, 2004).

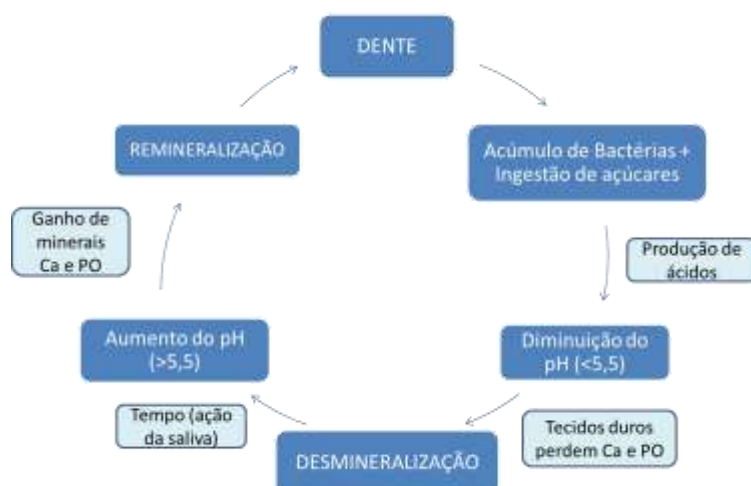


FIGURA 1- dinâmica da lesão de cárie. Fonte: Carolina C. Bortoletto

Fatores biológicos e comportamentais são frequentemente associados à cárie dentária. Hábitos de consumo de produtos cariogênicos, principalmente com

relação à sua frequência, parecem ser o fator comportamental mais comprovadamente aceito no desenvolvimento do processo carioso, principalmente relacionado ao ato de “beliscar” entre as principais refeições (THYLSTRUP, FEJERSKOV, 1995).

Estudos tem demonstrado que o grau de instrução elevado vem acompanhado de mais oportunidades de acesso à informação sobre saúde. Crianças que convivem com adultos nessa condição estão sujeitas à hábitos e condutas de saúde bucal mais saudáveis (SCHOU, ULTENBROEK, 1995; VERRIPS et al, 1993).

A baixa renda familiar pode ser considerada como fator de risco para cárie dentária (LOCKER, FORD, 1994).

1.2 Métodos de diagnóstico de lesões de cárie

O diagnóstico precoce de lesões iniciais é fundamental na prática clínica para melhorar o prognóstico do tratamento preventivo, preservando a estrutura do dente (BRAGA et al, 2009; EKSTRAND, 2004). A detecção de lesões incipientes de cárie oclusal é uma tarefa difícil que requer um rigoroso exame da superfície por causa da morfologia especial dos sulcos e fissuras, sendo comumente utilizadas a inspeção visual e radiográfica (BADER et al, 2002; BRAGA et al, 2010; RODRIGUES et al, 2008). A inspeção visual é, no entanto, subjetiva (NOVAES et al, 2012) e quase sempre sensível para lesões mais antigas, porque é mais eficiente no diagnóstico de lesões cavitadas do que nas não cavitadas e incipientes (SCHOAIB et al, 2009), além de ter reprodutibilidade baixa, pois, envolve a experiência clínica e o conhecimento científico do Cirurgião Dentista (SOUZA et al, 2013).

A inspeção visual, por depender do julgamento subjetivo do examinador quanto à presença ou ausência da doença, resulta na baixa sensibilidade e reprodutibilidade do método diagnóstico de lesões em dentes decíduos e permanentes (BADER et al, 2002), mas, é o único método capaz de definir o

status de atividade da doença devido à avaliação visual da rugosidade, brilho e localização das lesões (BRAGA et al, 2010) (Figura 2).



FIGURA 2. Exame visual de superfície oclusal. Fonte: Sandra Kalil Bussadori

Para melhorar a precisão e confiabilidade da inspeção visual, vários sistemas visuais detalhados têm sido propostos e validados (EKSTRAND et al, 1997). Um destes sistemas, o Internacional Caries Detection and Assessment System (ICDAS), foi desenvolvido para ser usado nas práticas clínicas e epidemiológicas (ISMAIL et al, 2007). O treinamento para a correta aplicação do ICDAS aumentou a sensibilidade da inspeção visual na detecção de lesões iniciais em superfícies oclusais e proximais (ISMAIL et al, 2007).

O que difere o ICDAS do método tradicional da Organização Mundial da Saúde (CPO-D e ceo-d) (WHO, 1997) é que este leva em conta na sua avaliação tanto as lesões cavitadas quanto as não cavitadas (ISMAIL et al, 2007; EKSTRAND et al, 2007; PITTS, 2004).

O exame radiográfico tem elevada especificidade e baixa sensibilidade para o diagnóstico de lesões não cavitadas, mas mostra as lesões em profundidade menor do que realmente são (SOUZA et al, 2013). O exame radiográfico para detectar uma lesão de cárie necessita cerca de 30-40% de perda mineral (WHITE, PHAROAH, 2004). A falta de especificidade e sensibilidade torna estes métodos falhos para a detecção de lesões de cáries iniciais (BADER et al, 2001).



FIGURA 3- exame radiográfico demonstrando presença de lesão de cárie. Fonte: autor

Um estudo mostrou que dentes com lesões de cárie detectadas durante a inspeção visual não demonstram nenhuma radiolucidez no exame radiográfico e que além disso, 15,6% dos dentes que exibiram radiolucidez não possuíam sinais de cárie dentária durante a inspeção visual (LINO et al, 2015).

Sempre que se faz um exame clínico, todas as informações coletadas pela inspeção visual são resultado da interação da luz com os tecidos do corpo humano (HECHT, 1987). A luz pode sofrer quatro fenômenos ópticos quando incide sobre um tecido biológico: absorção, reflexão, espalhamento e transmissão. A intensidade desses fenômenos depende da microestrutura do tecido, da rugosidade, dos componentes bioquímicos e do comprimento de onda da luz a ser utilizada (KOSHOJI, 2014)(figura 4).

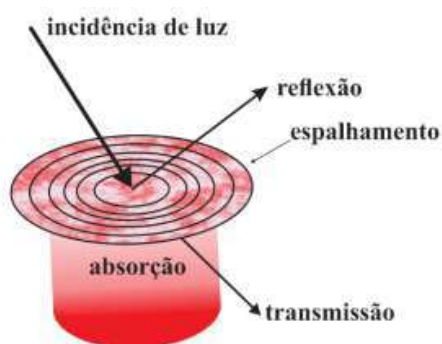


FIGURA 4: A incidência de luz coerente sobre uma superfície pode provocar quatro fenômenos físicos: absorção, reflexão, espalhamento e transmissão. Fonte: KOSHOJI, 2014

A interação da luz com o tecido seja pela absorção, espalhamento ou fluorescência relaciona-se diretamente à constituição do mesmo, portanto, o estudo das propriedades ópticas deste tecido pode resultar no desenvolvimento de novas técnicas e metodologias não invasivas e não destrutivas de diagnóstico

de lesões e fenômenos biológicos comuns a este tecido (BADER, SHUGARS, 2004). Tanto o esmalte quanto a dentina são fluorescentes, sendo a dentina o principal componente fluorescente dos dentes naturais devido ao seu maior conteúdo orgânico ser três vezes mais fluorescente que o esmalte (ROESNER, 2007).

Devido à indução de perda mineral que a cárie dentária pode causar, as propriedades ópticas do tecido afetado se alteram, assim o estudo dessas propriedades poderá produzir métodos não invasivos e não destrutivos para o precoce diagnóstico de lesões de cárie e outros fenômenos biológicos relacionados a esse biomaterial (KISHEN et al, 2008).

O esmalte dental é o tecido mais mineralizado do corpo humano consistindo em mais de 96% de matéria inorgânica, na forma de cristais de apatita e traços de matéria orgânica (NANCI, 2008). São milhares de cristalitos densamente compactados e com microscópicos espaços intercristalinos. No esmalte a luz se comporta de acordo com o índice de refração do componente principal que é a Hidroxiapatita, como resultado temos um material translúcido (HECHT, 1987).

Aumentando os espaços intercristalinos aumentamos a quantidade de água e ar contida neles e freia-se a luz em diferentes intensidades. O resultado é que a luz não consegue ultrapassar e vemos uma mancha opaca. Isso ocorre, por exemplo, quando há a presença de uma lesão cariosa ou fluorose (HECHT, 1987).

As opacidades produzidas nos tecidos dentais duros podem ou não ter brilho dependendo do grau de lisura da superfície. A luz que incide sobre uma superfície rugosa apresenta reflexão difusa, não produzindo brilho, já as superfícies lisas causam reflexão regular e produzem brilho. Quando há presença de uma lesão de cárie ativa, há produção de ácido láctico e dissolução da superfície do esmalte criando rugosidade que resulta em uma área opaca e sem brilho. Na lesão inativa não há placa espessa devido a uma força mecânica que atua sobre o esmalte deixando a superfície polida e o resultado é uma área opaca e com brilho (HECHT, 1987) (figura 5).

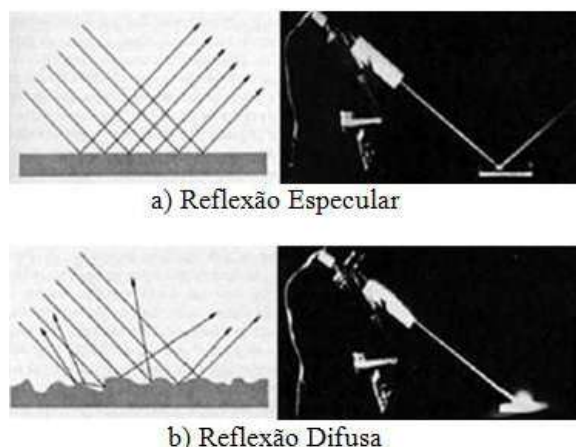


FIGURA 5: A reflexão de luz coerente em superfícies lisas ocorre é denominada de a) reflexão especular, enquanto que, a reflexão em superfícies rugosas é denominada de b) reflexão difusa. Fonte: SILVA, 2007

Devido às dificuldades em encontrar um perfeito método de detecção de cárie algumas novas tecnologias foram investigadas (NOVAES et al, 2012) e o uso de métodos objetivos que quantificam a fluorescência do tecido cariado vêm sendo testados (RODRIGUES et al, 2008).

Métodos de diagnóstico têm sido desenvolvidos para detectar as lesões de cárie iniciais com boa precisão (LUSSI et al, 1999), pois, a detecção e intervenção precoces da doença tornaram-se extremamente importantes no controle das cáries dentárias (BAELUM et al, 2006). Para as populações com uma baixa incidência de cárie, métodos com alta especificidade são preferíveis, a fim de reduzir o número de resultados falso-positivos e, assim, evitar o tratamento cirúrgico desnecessário (BRAGA et al, 2008). Por outro lado, um método de diagnóstico deve ser suficientemente sensível para detectar lesões de cárie não-cavidades tanto no esmalte quanto na dentina permitindo assim o uso de medidas preventivas e evitando o posterior tratamento invasivo (PITTS, STAM, 2004; NYVAD, 2004).

Para ajudar na decisão do plano de tratamento e na manutenção da saúde bucal do paciente, devemos empregar métodos baseados na indução e captação de fluorescência como auxiliares aos exames convencionais. Evidencia-se,

também, a importância da associação de métodos para a detecção de cárie precocemente e de modo eficiente (AZNAR et al, 2013).

Várias técnicas baseadas nas mudanças das propriedades ópticas do tecido dentário doente e saudável tem sido desenvolvidas, como por exemplo o QLF (quantitative light-induced fluorescence), o LF (laser-induced fluorescence), o OCT(optical coherence tomography) e o FOTI (fiber optic transillumination) (KARLSSON, 2010).

O QLF (Quantificação da Fluorescência induzida por luz) é fundamentado na propriedade intrínseca da estrutura dental que quando iluminada por luz ultravioleta apresenta fluorescência (MUJAT et al, 2003). Observa-se uma diferenciação entre o esmalte hígido e o desmineralizado, pois a fluorescência é menor nas áreas desmineralizadas, o que faz com que elas apareçam como manchas escuras na imagem (MUJAT et al, 2004). Esta técnica permite a detecção das lesões de cárie em estágio inicial (BUCHALLA, 2005).

A técnica de tomografia por coerência óptica (Optical Coherence Tomography ou OCT) baseia-se no espalhamento elástico de fótons pelo tecido utilizando uma fonte de luz com comprimento de onda entre 840 nm e 1310 nm (HALL et al., 2004). Esta técnica pode diagnosticar e inferir quantitativa e qualitativamente as alterações das propriedades ópticas do tecido ocasionados pelo efeito de ácidos. Temos o coeficiente de espalhamento da luz no tecido com lesão, medido pelo OCT maior em relação aos tecidos sadio, resultando em uma profundidade de penetração menor no tecido lesionado. Na odontologia, esta técnica ainda é restrita ao ambiente laboratorial, pois, não existe ainda um equipamento que permita o uso intra-oral (FREITAS, 2007; MORAES, 2012; WILDER-SMITH et al.,2009).

Os aparelhos de Transiluminação, às vezes utilizados durante o exame visual, são fáceis de serem aplicados, mas tem validade restrita às lesões mais avançadas em dentina estimando apenas a profundidade das mesmas (MIALHE et al, 2009). É um método que pode ser usado em todas as superfícies, sendo mais apropriado para superfícies proximais. É um método qualitativo que avalia a diferença existente nas propriedades da transmissão de luz entre o esmalte sadio e o doente da lesão de cárie (HINTZE et al, 1988; MACIEL, 2006). A transmissão

da luz é mais baixa no tecido descalcificado do que no sadio, sendo, portanto, a área da lesão visualizada como uma mancha escura (VARRKAMP, et al, 1997).

A técnica fluorescência induzida por laser (LF) é um método que tem mostrado resultados promissores na detecção de cárie, especialmente em relação a sua reprodutibilidade (BADER, SHUGARS, 2004). Alguns autores relatam que o LF tem bom desempenho na detecção de lesões iniciais de cárie de esmalte (LUSSI et al, 1999; BENGSTON et al, 2005; ALWAS-DANOWSKA et al, 2002). Já em outros estudos, o LF teve melhor desempenho na detecção de lesões de cárie em dentina ao invés de em esmalte (BADER, SHUGARS, 2004; LUSSI et al, 2001; MENDES et al, 2006). Nesta técnica irradia-se a superfície dentária com um laser emitindo na região entre 488nm e 650nm. Superfícies desmineralizadas apresentam maior fluorescência do que os tecidos saudáveis, possibilitando detectar a lesão. É um método de boa precisão no diagnóstico, mas não é eficiente para quantificar a perda mineral (RODRIGUES, 2005).

Existe o DIAGNOdent que é um aparelho que detecta as lesões de cárie pela diferença de fluorescência entre o esmalte hígido e o desmineralizado. Utiliza um sistema de laser com comprimento de onda de 655nm transmitida através de uma fibra óptica a um aparelho de mão a qual é convertida em uma escala numérica de 0 a 99, sendo o maior número relacionado à mais profunda lesão de cárie (BRAGA et al, 2010; WU et al, 2010).

O DIAGNOdent tem alta sensibilidade e reprodutibilidade na detecção de cárie se comparado com os métodos visual-tátil e radiográfico (MACIEL, 2006). Permite um exame não invasivo e quantitativo da substância dura dental conseguindo assim medir o tamanho da lesão. Mensura e quantifica a luz refletida por meio da fluorescência do laser (NOVAES et al, 2012) A fluorescência lida pelo dispositivo é, provavelmente, a partir dos metabólitos bacterianos, especialmente porfirinas (MENDES et al, 2004). Substâncias duras e desmineralizadas e bactérias fluorescem quando irradiadas pelo laser. As lesões são refletidas porque a luz incide e penetra no dente. Onde não há doença não há fluorescência (TOMMASI, 2013). Inicialmente, após calibração com um padrão de cerâmica, a fluorescência de um ponto sadio sobre a superfície lisa do dente é medida para

proporcionar um valor de base. Este valor é então subtraído eletronicamente a partir da fluorescência do local a ser medido (REYS et al, 2013).

As maiores limitações do DIAGNOdent são a grande quantidade de falso-positivos e a não obtenção correta da relação com o tamanho das lesões (TOMMASI, 2013). Seus resultados podem ser afetados pela desidratação da lesão, presença de placa dentária e manchas nos sulcos da superfície oclusal (NOVAES et al, 2012) e como a percepção da fluorescência basal pode variar de um indivíduo para outro, uma calibração individual (IC) deve ser realizada (REYS et al, 2013).

Considerando-se o seu uso na prática clínica diária, é importante destacar que a calibração individual para cada dente, antes de cada leitura de LF, seria extremamente demorada (BRAGA et al, 2006; SHEEHY et al, 2001).

1.3 Speckle

Quando uma luz coerente incide sobre uma superfície rugosa provoca-se uma reflexão difusa, que gera um fenômeno óptico denominado *speckle*. (KOSHOJI, 2014) Uma superfície rugosa apresenta centros espalhadores distribuídos aleatoriamente, sendo assim quando uma luz coerente incide sobre essa superfície, esses feixes são espalhados com fases iniciais variando, também aleatoriamente, gerando padrões de interferências com granulados claros e escuros (figura 6), resultado da intensidade da luz retroespalhada de acordo com a rugosidade da superfície (SILVA, 2007).

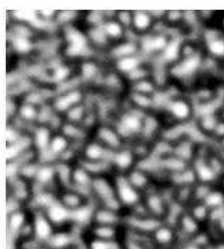


FIGURA 6-*Speckle*: interferência luminosa gerando granulados ópticos claros e escuros em superfície dental. Fonte: KOSHOJI NH et al, 2015

A interferência ocorre de acordo com a diferença de fases dos feixes de luz retroespalhadas. Observando o esquema de dois feixes de luz demonstrado na figura 7, ao analisar dois feixes de luz, diz-se que as ondas podem estar em

fase, ligeiramente defasadas ou completamente defasadas. Utilizando o princípio da superposição, ocorre o padrão de interferência construtiva quando as ondas estão em fase, gerando os grânulos claros e ocorre o padrão de interferência destrutiva quando as ondas estão completamente defasadas, gerando os grânulos escuros (TIPLER et al., 2012). Este granulado óptico é a principal característica da técnica conhecida como *speckle*, palavra esta que não possui uma tradução adequada para o português (GOODMAN, 1984; BERGKVIST, 1997).

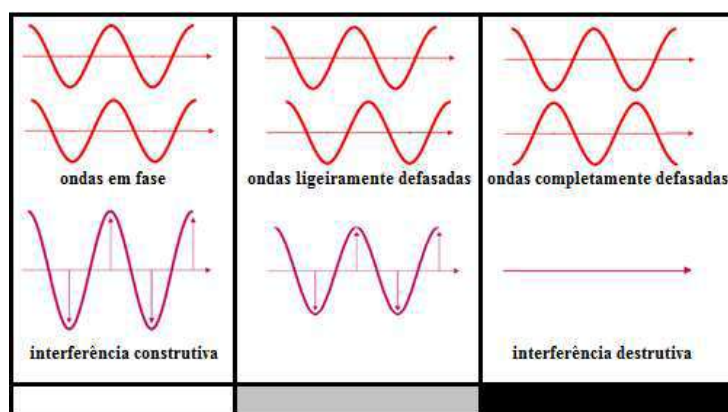


FIGURA 7: Na interferência construtiva, como os feixes de luz estão em fase eles se somam, gerando o efeito claro, enquanto que na interferência destrutiva, os feixes de luz estão completamente defasados, por esse motivo eles se anulam gerando o efeito escuro. Fonte: Koshoji, 2014

O *Speckle* é uma técnica de diagnóstico na qual as características da luz coerente dispersa são exploradas. Devido à capacidade do imageamento do padrão de espalhamento de luz coerente (*speckle*) o que permite a avaliação das características dinâmicas em tecidos usando um método não invasivo, de baixo custo, não-destrutivo e em tempo real, tem estimulado a comunidade acadêmica a concentrar os esforços no estudo deste método no domínio do tempo (análise *speckle* dinâmico).

Ao capturar a intensidade luminosa de cada ponto através de uma imagem digital, é possível quantificar esse padrão utilizando a Teoria Estatística (KOSHOJI, 2014).

O *speckle* pode ser classificado como dinâmico e estático. O *speckle* dinâmico é usado para análise de tecidos biológicos moles. Quando a superfície de um tecido biológico é vascularizado ocorre mudanças ao longo do tempo e, sendo assim, a investigação do granulado óptico obtido neste tecido ocorre no domínio temporal. É uma técnica utilizada para analisar vascularização de feridas,

viabilidade de sementes, saúde geral de plantas ou qualquer situação onde seja necessário analisar micromovimentações locais (SILVA, 2007). As técnicas que utilizam o *speckle* dinâmico no domínio temporal estão em um estágio muito mais avançado de desenvolvimento do que o *speckle* estático, este no domínio espacial. No esmalte dental, por ser um tecido duro sem rede vascularizada, o *speckle* se apresenta de forma estática, e pode dessa forma, classificar o padrão de espalhamento óptico no domínio espacial (NANCI, 2008).

Koshoji et al (2015) afirmaram que o laser é bastante sensível a alterações ultraestruturais, podendo detectar diferenças entre uma região sadia e lesionada do esmalte dental. Como tais alterações são proporcionais à severidade da lesão, além da detecção, a técnica proposta permite sua quantificação.

Em seu estudo Koshoji et al (2015) demonstraram pela primeira vez que se pode quantificar a progressão da erosão do tecido dental e isso com uma técnica não destrutiva e não invasiva utilizando a análise de padrão *speckle*. Aplicando-se uma estatística de primeira ordem nas imagens obtidas do retro espalhamento da luz coerente sobre a superfície do esmalte dental detectou-se a erosão com base em suas propriedades ópticas. Verificou-se assim uma correlação existente entre o padrão de espalhamento óptico e a desmineralização ocorrida nessa superfície.

1.4 Justificativa

O diagnóstico precoce de lesões iniciais é fundamental na prática clínica para melhorar o prognóstico do tratamento preventivo, economizando tempo, dinheiro, e a estrutura do dente. A detecção de lesões incipientes de cárie oclusal é uma tarefa difícil que requer um rigoroso exame da superfície por causa da morfologia especial dos sulcos e fissuras, sendo comumente utilizadas a inspeção visual e radiográfica. A inspeção visual é, no entanto, subjetiva sendo necessário a obtenção de um método objetivo que detecte as lesões iniciais de cárie com precisão.

Justifica-se, devido às limitações das técnicas usadas atualmente, testar um dispositivo e método para detecção de lesões cariosas por espalhamento de

luz que solucione as limitações das técnicas e use uma análise não invasiva, não destrutiva sem qualquer efeito colateral ao paciente.

2. OBJETIVO

2.1 Objetivo geral

O objetivo deste estudo foi correlacionar os escores para o diagnóstico de lesões de cárie iniciais em superfícies oclusais de dentes decíduos usando o método de inspeção visual ICDAS e o método por padrão de espalhamento de luz coerente *speckle* (padrões estatísticos de granulado óptico (*speckle*) gerado por tecidos dentários saudáveis e lesionados).

2.2 Hipótese

Quando uma luz coerente incide sobre uma superfície rugosa os feixes de luz são espalhados aleatoriamente gerando padrões de interferência com granulados claros e escuros.

Quando há presença de uma lesão de cárie ativa, há produção de ácido láctico e dissolução da superfície do esmalte criando rugosidade que resulta em uma área opaca e sem brilho. Temos a hipótese então de que ao iluminar a superfície dental com uma fonte de luz coerente, o espalhamento da luz oriundo da superfície sadia e da acometida por lesão apresentará diferentes padrões permitindo, portanto, qualificar a lesão e quantificar sua progressão.

H_0 : Não há uma correlação entre padrão de espalhamento de luz coerente oriundo do tecido dental e a presença lesões cariosas.

H_1 : Há uma correlação entre padrão de espalhamento de luz coerente oriundo do tecido dental e a presença lesões cariosas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Determinação do tamanho amostral:

Os resultados preliminares obtidos por Koshoji et al (2014) mostram que a diferença entre as intensidades médias dos sinais das imagens do padrão de espalhamento de luz nas regiões sadia e doente são tão grandes que com poucas amostras é possível detectar a região acometida pela lesão, conforme mostrado a seguir.

Seja $d = |\mu_{\text{sadio}} - \mu_{\text{doente}}|$ a diferença entre o sinal da região sadia e doente.

Utilizando os resultados apresentados por Koshoji et al (2014) assumindo-se um nível de significância $\alpha = 0.05$, temos:

$$d = |0.0676 - 0.0578| = 0.0098 \quad 1)$$

$$\hat{s} = 0.0100 \quad 2)$$

$$N = \frac{1.96^2 * \hat{s}^2}{d^2} = \frac{1.96^2 * 0.0100^2}{0.0098^2} = 4.00 \quad 3)$$

Onde N é o tamanho amostral de cada grupo.

Entretanto, quatro amostras por grupo não garante uma boa precisão estatística, portanto, foi estudado o poder do teste, conforme figura abaixo (figura 8).

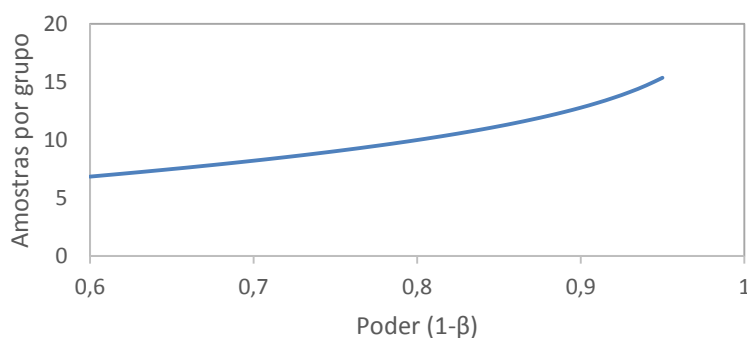
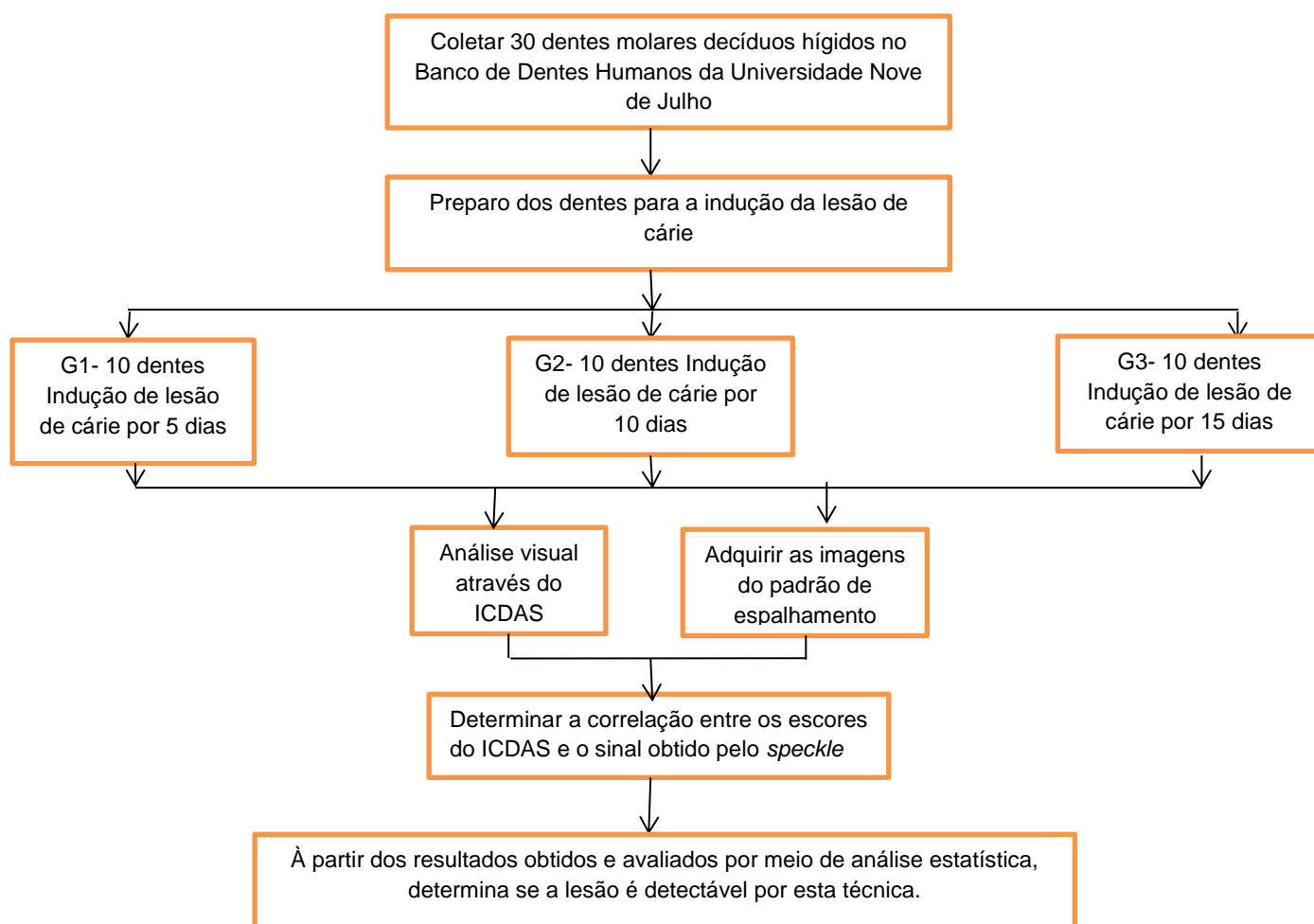


FIGURA 8 – Poder do teste.

Assumindo-se um efeito de tamanho grande, a figura 04 mostra que um conjunto de 10 amostras por grupo garante um poder $1-\beta = 0.8$

3.2- Fluxograma do estudo



3.3- Dentes

Foram utilizados 30 dentes molares decíduos hígidos oriundos do Biobanco de Dentes Humanos da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo (anexo 1).

Os dentes foram limpos com escova de Robinson e uma mistura de pedra pomes e água. A área da lesão de cárie delimitada com máscaras de etiquetas auto adesivas (Pimaco, RJ, Brasil). As amostras foram recobertas com duas camadas de esmalte ácido-resistente (esmalte de unhas) de cor forte. Depois foi feita a indução de cárie artificial por meio da ciclagem de pH com o uso de soluções desmineralizante e remineralizante baseando-se no método proposto por Argenta *et al.* (SERRA, 1992). As amostras foram submetidas à ciclagem de pH, sendo submersas por 3h em solução desmineralizante sendo seguido por 21h em solução remineralizante. As amostras foram mantidas em temperatura constante de 37°C durante todo o experimento, exceto no intervalo de troca das soluções. Nos intervalos as amostras foram lavadas com água destilada e secas com papel absorvente, sem pressioná-las (figura.9).

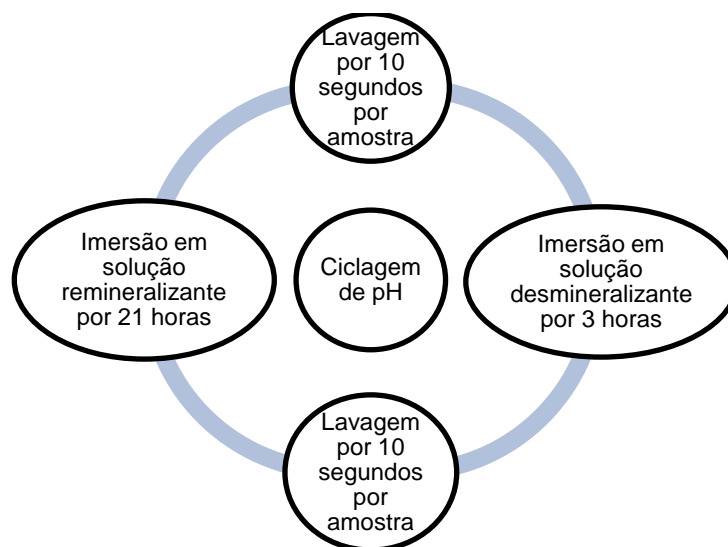


FIGURA 9- Processo de indução de cárie por ciclagem de pH. Fonte: autor

Os dentes foram divididos em 3 grupos, cada grupo com 10 dentes. Os ciclos foram repetidos durante 5 dias (grupo 1), 10 dias (grupo 2), e 15 dias (grupo 3).

As soluções foram preparadas no Departamento de Biomateriais e Biologia Oral da Faculdade de Odontologia-USP.

Tabela 1-Solução Desmineralizadora

	NA SOLUÇÃO	EM 1 LITRO
CÁLCIO	0,002	0,47
FOSFATO	0,002	0,36
FLÚOR(ppm)	0,03	0,014
ÁCIDO ACÉTICO	0,075	4,50
pH=4,3		

Tabela 2- Solução Remineralizadora

	NA SOLUÇÃO	EM 1 LITRO
CÁLCIO	0,0015	0,35
FOSFATO	0,0009	0,16
FLÚOR(ppm)	0,05	0,023
KCL	0,15	11,18
CACODILATO	0,02	3,20
pH=7,4		

As amostras foram avaliadas para realização do diagnóstico de cárie por dois métodos: ICDAS e método por padrão de espalhamento de luz coerente *speckle*, nos períodos após 5, 10 e 15 dias de ciclagem de pH. Após a coleta dos dados, os mesmos foram submetidos à análise estatística de variância (ANOVA) e o Teste T-para dados pareados. Para todos os testes adotou-se o nível de significância $\alpha=0,05$.

Em relação à análise dos scores do ICDAS obteve-se a Moda para cada grupo.

As imagens continham duas regiões, uma sadia e outra doente, o que resultou em diferentes fatores.

3.4- Metodologia para obtenção e análise do padrão estatístico do granulado óptico

Foi utilizada, devido à natureza altamente espalhadora do tecido dentário a técnica conhecida como *speckle* subjetivo na qual é feita uma imagem do padrão de espalhamento de uma fonte de luz coerente (laser HeNe ,100mW ,633nm) refletida pelo tecido dentário (distância de aproximadamente 70 cm entre o laser e a amostra), em um dispositivo de aquisição de imagens digital, conforme pode ser observado nas figuras 10 e 11.

A utilização do *speckle* na qualificação de lesões em tecidos dentários é uma técnica totalmente inovadora que necessita de uma descrição metodológica na literatura científica.

A maioria das publicações na área de *biospeckle*, focam no domínio temporal do padrão de espalhamento que permite obter informações sobre movimentação de partículas, células e fluidos em geral(por ex.: vascularização de tecidos biológicos).

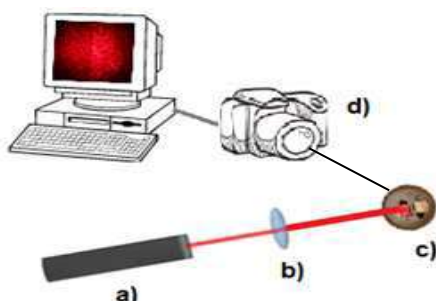


FIGURA 10- (a) fonte de iluminação coerente(laser HeNe), (b) lente para expansão do feixe, (c) espécime iluminado, (d) câmera digital para obtenção de speckle subjetivo. Fonte: Koshiji et al,2015.



FIGURA 11- Foto do arranjo experimental utilizado neste projeto. Fonte:autor

Como o esmalte dental não apresenta uma rede vascularizada o maior interesse é no domínio espacial do padrão de espalhamento óptico.

Apenas algumas poucas referências relacionadas a medidas de rugosidade e tensão em tecidos dentários utilizando a técnica *speckle* foram reportadas (UCHINO et al, 2004; O'DRISCOLLI et al, 1998).

Alguns resultados preliminares descritos na literatura mostram o grande potencial de sua aplicação (DEANA et al, 2013).

Para o Cirurgião Dentista bem treinado a cárie é visível a olho nú, porém, ao iluminar a região com um laser e utilizar a estatística adequada, o contraste entre a região sadia e a doente é amplificado podendo-se observar uma distinção entre o espalhamento da luz pela região lesionada e sadia do dente (DEANA et al, 2013).

As imagens digitais foram transferidas para um computador e tratadas numericamente por meio de um software desenvolvido por Deana. Em um sistema de computação, a imagem digital pode ser transformada em uma matriz numérica, de acordo com a intensidade encontrada em cada pixel, onde os dados coletados podem ser tratados e processados de forma quantitativa.

Segundo Goodman (1984), podemos descrever estatisticamente o fenômeno do *speckle*. Analisam-se e interpretam-se as imagens baseando-se em

informações obtidas por meio de estatísticas de primeira e segunda ordem das intensidades de brilho da imagem capturada. O modelo de Goodman foi desenvolvido na estatística de primeira ordem, onde descreve os granulados ópticos, por meio da média, variância e desvio padrão das intensidades.

A imagem digital pode ser definida como uma matriz bidimensional, expressa pela função $f(x,y)$, onde x e y sendo coordenadas espaciais fornecem a intensidade ou nível de cinza de cada ponto da imagem que é o menor elemento de uma imagem digital, o que denomina-se pixel (GONZALEZ et al., 2008; PEDRINI et al., 2008). Por convenção, a origem da imagem está localizada no canto superior esquerdo da imagem.

Segundo Woods e Gonzales (2008), a matriz numérica é utilizada para processamentos e desenvolvimento de algoritmos.

Cada imagem capturada pelo sistema de aquisição de imagens é armazenada no padrão RGB. No modelo RGB, as imagens representadas, consistem de três componentes de imagens, uma para cada cor primária: $[(R,G,B)]$. As cores de um *pixel* podem ser representadas como um inteiro de 8 bits variando entre 0 e 255, sendo o valor 0 correspondente à cor preta e 255, à cor branca.

Para fins de análise, extraiu-se do modelo RGB o primeiro valor inteiro da cor primária, ou seja, vermelho. Dessa forma associou-se a imagem *speckle* com a intensidade de brilho da imagem digital e transformou-se a imagem em uma matriz numérica.

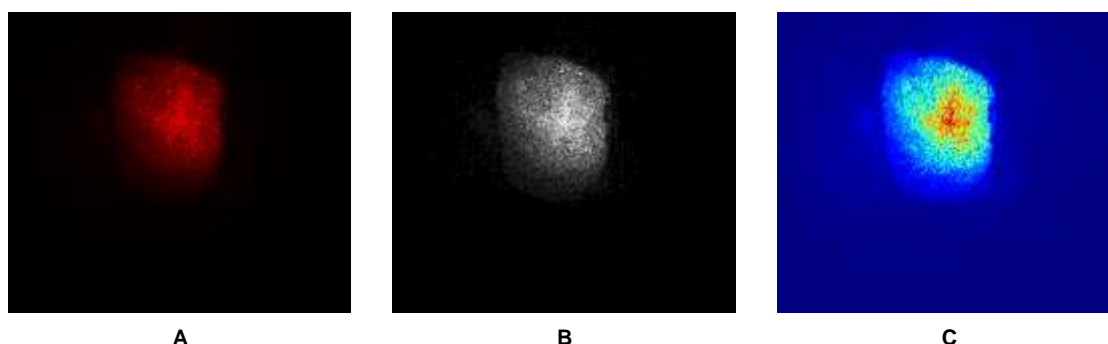


FIGURA12 – A) Foto sem tratamento do padrão de espalhamento *speckle*, B) Foto da média da imagem tamanho 4x4, C) Foto da média com falsas cores para facilitar a visualização. Fonte: autor

3.4 ICDAS

Dois examinadores realizaram as avaliações das lesões de cárie segundo o ICDAS. Estes examinadores foram previamente calibrados onde o treinamento foi realizado até que houvesse uma concordância com valor de Kappa maior que 0,75 entre os examinadores.

As amostras foram posicionadas a aproximadamente 30 cm dos olhos dos examinadores, examinadas após a secagem da superfície dental com jato de ar durante 5 segundos e, então classificadas segundo o ICDAS. Os examinadores contaram com o auxílio de refletor, espelho clínico bucal e sonda periodontal do tipo ball-point (OMS) (BRAGA et al, 2010).

Quadro 1- Exame Visual para Diagnóstico de lesão de cárie por meio do ICDAS

CÓDIGO	SINAIS CLÍNICOS
0	Nenhuma alteração na translucidez do esmalte após secagem de 5 segundos
1	Opacidade visível após secagem de 5 segundos
2	Opacidade visível mesmo na presença de umidade
3	Cavidade localizada em esmalte opaco ou pigmentado
4	Sombreamento da dentina subjacente
5	Cavidade em esmalte opaco ou pigmentado com exposição da dentina subjacente
6	Cavitação em esmalte opaco ou pigmentado com exposição da dentina subjacente, envolvendo mais da metade da superfície

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Artigo submetido à revista Plos One: *Diagnosis of early occlusal caries in primary teeth by default scattering coherent light Speckle*

Quando falamos sobre métodos para a detecção de lesões de cárie observamos a dificuldade que é a detecção de lesões precoces. Sabemos da importância do diagnóstico precoce para melhorarmos o prognóstico do tratamento preventivo para que ocorra a menor alteração e perda na estrutura dos dentes (BRAGA et al, 2009; EKSTRAND, 2004).

O exame visual e o exame radiográfico são os métodos para detecção de cárie mais usados (BADER et al 2002; RODRIGUES et al, 2008), sendo que o exame visual é mais sensível para o diagnóstico de lesões antigas e cavitadas do que nas lesões incipientes (SCHOAIB et al, 2009) e o exame radiográfico também possui baixa sensibilidade para o diagnóstico de lesões não cavitadas. Além disso, a inspeção visual depende do julgamento do examinador quanto à presença ou ausência da doença, tendo baixa sensibilidade e reprodutibilidade (BADER et al, 2002), mas é o único método que define o status da atividade da doença devido à avaliação da rugosidade, brilho e localização das lesões (BRAGA et al, 2010).

Lesões detectadas durante o exame visual muitas vezes não demonstram nenhuma radiolucidez no exame radiográfico (LINO et al, 2015), exame radiográfico esse que normalmente necessita de 30 a 40% de perda mineral para detectar uma lesão de cárie (WHITE, PHAROAH, 2004).

Visando melhorar a precisão e confiabilidade do exame visual desenvolveu-se o ICDAS (WHO, 1997) que leva em conta na sua avaliação tanto as lesões cavitadas quanto as não cavitadas.

A cárie dentária pode causar a indução de perda mineral o que faz com que as propriedades ópticas do tecido afetado se alterem, portanto o estudo dessas propriedades podem produzir métodos não invasivos e não destrutivos para o diagnóstico precoce de lesões de cárie (KISHEN et al, 2008).

Várias técnicas vêm sendo desenvolvidas baseadas nessas mudanças das propriedades ópticas do tecido dentário doente e saudável, por exemplo o QLF, LF, OCT e FOTI.

A técnica conhecida como *speckle* subjetivo demonstra que é possível adquirir informações na microestrutura do esmalte e que mínimas alterações podem ser detectadas assim como lesões de cárie não cavitadas (KOSHOJI et al, 2014).

Em relação aos scores do ICDAS obteve-se a moda.

Tabela 3. Análise do ICDAS

GRUPO	MODA
5 DIAS	1
10 DIAS	1
15 DIAS	2

Foi observado em nosso estudo que nos 3 grupos de dentes avaliados, existe diferença significativa entre a imagem do espalhamento *speckle* da região sadia quando comparada com a imagem do espalhamento *speckle* da região doente. No entanto, não houve diferença significativa entre os grupos 5, 10 e 15 dias (Figuras 13 e 14).

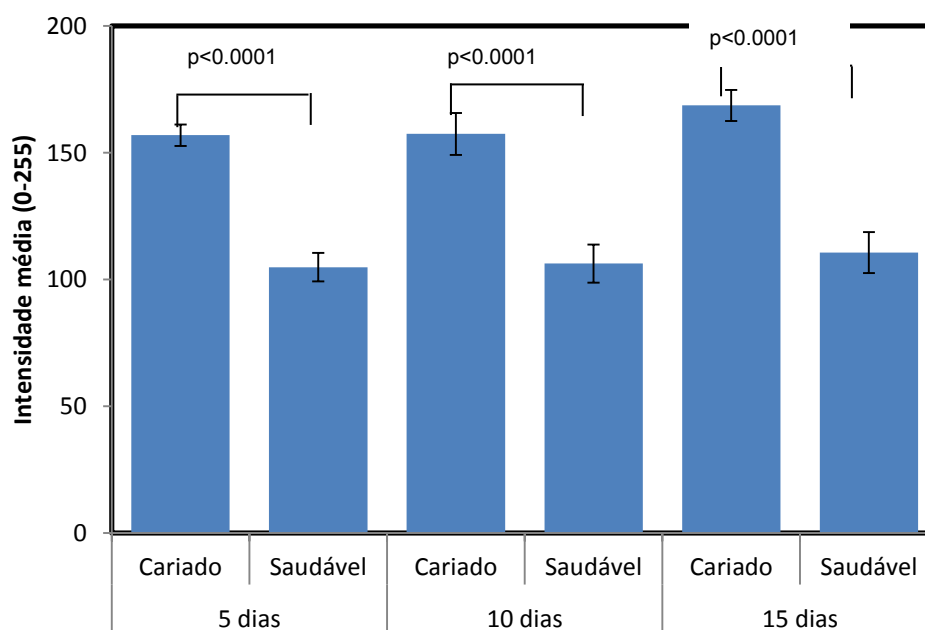


FIGURA 13: Diferença do *speckle* no tecido cariado e no tecido saudável nos diferentes intervalos de tempo.

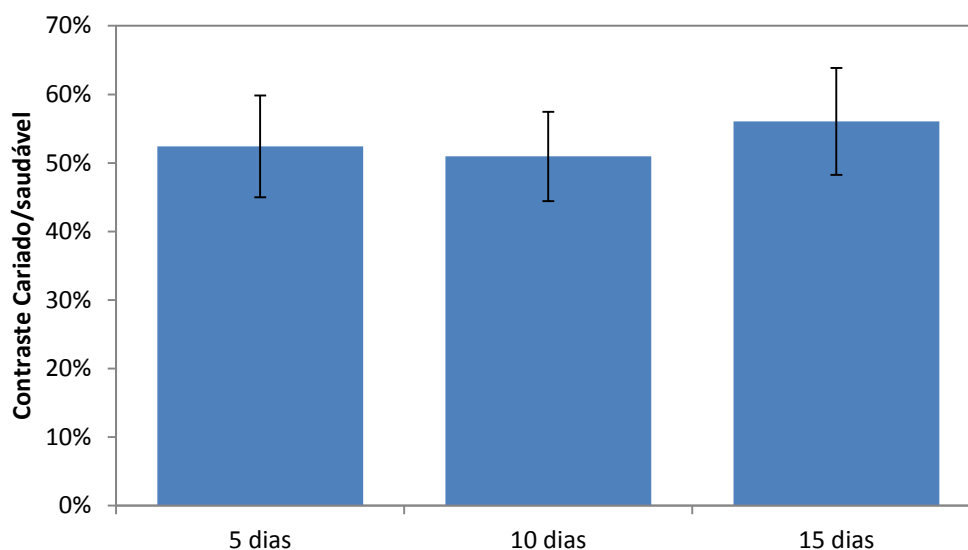


FIGURA 14: Gráfico do contraste entre o *speckle* no tecido cariado e no tecido sadio nos grupos 5, 10 e 15 dias. Fonte: autor

Quando correlacionamos os resultados obtidos pelo *speckle* subjetivo e os scores obtidos pelo ICDAS observamos que, mesmo em alguns casos, dentro do grupo de 5 dias, onde o score obtido pelo ICDAS foi igual a zero, o resultado do *speckle* foi positivo. Uma amostra que apresentou score igual à zero foi, então, avaliada através de microscópio de luz e observou-se a presença da lesão de mancha branca de cárie (figura 15). Uma análise mais aprofundada dessas amostras que apresentaram score igual a zero é necessária. Observamos também que nos casos onde o score obtido pelo ICDAS foi igual a 1 ou 2 o resultado do *speckle* também foi positivo o que demonstra a sensibilidade desta técnica.



Figura 15 – Foto da lesão de cárie detectada pelo *speckle* com score 0 no ICDAS, quando observada através do microscópio de luz.

Com esses resultados observamos que, assim como o exame visual, o *speckle* é capaz de diagnosticar lesões de cárie não cavitadas e incipientes, sendo que o exame visual quase sempre é mais eficiente para o diagnóstico de lesões mais antigas e cavitadas (Schoaib et al, 2009) como já foi relatado anteriormente.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Baseados nos resultados do presente estudo concluímos que a técnica que utiliza o padrão de espalhamento de luz coerente *speckle*, pode ser utilizada como método de diagnóstico para a detecção de lesões de cárie incipientes.

É, no entanto, uma técnica inovadora e recente que não apresenta ainda muitos estudos e resultados, portanto, mais estudos devem ser feitos.

6. REFERÊNCIAS

ALWAYS-DANOWSKA HM, PLASSCHAERT AJM, SILIBORSKI S, VERDONSCHOT EH. *Reliability and validity issues of laser fluorescence measurements in occlusal caries diagnosis*. J Dent. 2002;30:129-134.

ARGENTA RMO, TABCHOURY CPM, CURY JA. *A model pH-cycling model to evaluate fluoride effect on enamel demineralization*. Pesq Odonto Bras. 2003;17(3):241-6.

AZNAR LCA, NAPOLITANO BT, DINIZ MB. *Clinical Application of Fluorescence – Based Methods to detect Occlusal Caries Lesions*. Universidade Cruzeiro do Sul, Programa de Pós Graduação em Odontologia, SP, Brasil, 2013.

BADER JD, SHUGARS DA, BONITO AJ. J Dent. Educ 2001; 65:960-968.

BADER JD, SHUGARS DA, BONITO AJ. *A systematic review of the performance of methods for identifying carious lesions*. J Public Health Dent. 2002;62:201-213.

BADER JD, SHUGARS DA. *A systematic review of the performance of a laser fluorescence device for detecting caries*. J Am Dent Assoc. 2004;135:1413-1426.

BAELUM V, HEIDMANN J, NYVAD B. *Dental caries paradigms in diagnosis and diagnostic research*. Eur J Oral Sci. 2006;114:263-277.

BENGSTON AL, GOMES AC, MENDES FM, CICHELO LRD, BENGSTON NG, PINHEIRO SL. *Influence of examiner's clinical experience in detecting occlusal caries lesions in primary teeth*. Pediatr Dent. 2005;27: 238-243.

BERGKVIST, A. *Biospeckle-based study of the line profile of light scattered in strawberries*. 1997. 62 f. Dissertation (Master in Science) - Faculty of Technology at Lund University, La Plata, 1997.

BRAGA MM, MENDES FM, MARTINS CR, IMPARATO JC. *Effect of the calibration method of a laser fluorescence device for detecting occlusal caries in primary molars*. Pediatr Dent. 2006; 28:451-454.

BRAGA MM, NICOLAU J, RODRIGUES CRMD, IMPARATO JCP, MENDES FM. *Laser Fluorescence Device Does Not Perform Well in Detection of Early Caries Lesions in Primary Teeth: an in vitro Study*. Oral Health Prev Dent. 2008; 6:165-169.

BRAGA MM, OLIVEIRA LB, BONINI GA, BONECKER M, MENDES FM. *Feasibility of the international Caries Detection and Assessment System (ICDAS-II) in epidemiological surveys and comparability with standard World Health Organization criteria*. Caries Res. 2009;43: 245-249.

BRAGA MM, MENDES FM, EKSTRAND KR. *Detection activity assessment and diagnosis of dental caries lesions*. Dent Clin North Am. 2010;54: 479-493.

BRAGA,MM., EKSTRAND, KR., MARTIGNON, S., IMPARATO, JCP., RICKETTS, DNJ, MENDES, FM. *Clinical performance of two visual scoring systems in detecting and assessing activity status of occlusal caries in primary teeth*. Caries Res. 2010, 44, p. 300-308.

BUCHALLA, W. *Comparative fluorescence spectroscopy shows differences in noncavitated enamel lesions*. Caries Res. 2005; 39 (2): 150-6.

CURY,JA & TENUTA, LM. *Uso de fluoretos em Odontologia Restauradora – evidências*. In: Baratieri, LN e Sylvio Monteiro Jr. *Odontologia restauradora – Fundamentos e Possibilidades*. 2ª ed., São Paulo: Santos, 2015, p.53-71.

DEANA AM, JESUS SHC, KOSHOJI NH, BUSSADORI SK, OLIVEIRA MT. *Detection of early carious lesions using contrast enhancement with coherent light scattering (speckle imaging)*. Laser Physics. 2013;23: 075607.

EKSTRAND KR, RICKETTS DNJ, KIDD EAM. *Reproducibility and accuracy of three methods for assessment of demineralization depth of occlusal surface: an in vitro examination*. Caries Res. 1997; 31:224-231.

EKSTRAND KR. *Improving clinical visual detection – potential for caries clinical trials*. J Dent Res. 2004;83: C67-C71.

EKSTRAND KR, MARTIGNON S, RICKETTS DJ, QVIST V. *Detection and activity assessment of primary coronal caries lesions: a methodologic study*. Oper Dent. 2007;32:225-35.

FEJERSKOV O, MANJI F (1990). *Risk assessment in dental caries*. In: *Risk assessment in dentistry*. Bader JD, editor. Chapel Hill: University of North Carolina Dental Ecology, pp. 215-217

FEJERSKOV O, KIDD EAM. *Cariologia clínica e a dentística operatória no século XXI*. In: Fejerskov O, Kidd EAM, organizadores. *Cárie dentária: a doença e seu tratamento clínico*. São Paulo: Santos; 2005.

FREITAS AZ. *Caracterização de Tecidos Biológicos através de Tomografia por Coerência Óptica*. Tese (Doutorado) Ciências na Área de Tecnologia Nuclear- Materiais. São Paulo, SP. 2007.

GOODMAN, JW. *Statistical Properties of Laser Speckle Patterns*. In: Dainty, J.C. (ed). *Laser speckle and related phenomena*. Berlin: Springer-Verlag, 1984. P. 9-75.

GONZALEZ, RC; WOODS, RE. *Processamento digital de imagens*. Pearson. São Paulo. 2008.

HALL A, GIRKIN JM. *A Review of Potencial New Diagnostic Modalities for Caries Lesions*. J Dent Res. 2004. 83(Spec Iss C):c89-C94).

HECHT, J. *Optics: light for a new age*. New York: Charles Scribers's Sons, 1987. 170p

HINTZE, H., WENZEL, A., DANIELSEN B. et al. *Reliability of visual examination, fibre-optic transillumination, and bite-wing radiography, and reproducibility of direct visual examination following tooth separation for the identification of cavitated carious lesions in contacting approximal surfaces*. Caries Res. 1988; 32 (3): 204-9.

ISMAIL AI, SOH W, TELLEZ M et al. *The International Caries Detection and Assessment System (ICDAS): an integrated system for measuring dental caries*. Community Dent Oral Epidemiol. 2007;35:170-178.

KARLSSON L. *Caries detection methods based on changes in opyical properties between healthy and carious tissue*. Int J Dent. 2010:270729. E pub 2010 Mar 28

KIDD EA, FEJERSKOV O. *What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms*, J Dent Res. 2004; 83 Spec No C:C35-8.

KISHEN A, SHRESTHA A, RAFIQUE A. *Fiber opyic backscatter spectroscopy sensor to monitor enamel demineralization and remineralization in vitro*. J Conserv Dent. 2008 apr/jun;11(2):63-70

KOSHOJI, NELSON HIDEYOSHI. *Detecção de erosão dental utilizando análise de espalhamento de luz coerente – Speckle*. 2014. 88f; Dissertação (Mestrado) – Universidade Nove de Julho – UNINOVE, São Paulo, 2014.

KOSHOJI NH, BUSSADORI SK, BORTOLETTO CC, PRATES RA, OLIVEIRA MT, DEANA, AM. *Laser Speckle Imaging: A novel method for detecting dental erosion*. Plos One. 2015; 10:0118429.

LINO JR; RAMOS-JORGE J; COELHO VS, RAMOS-JORGE ML, MOYSÉS MR, RIBEIRO JCR. *Association and comparison between visual inspection and bitewing radiography for the detection of recurrent dental caries under restorations*. Int Dent J. 2015; 65: 178-181.

LOCKER D, FORD J. *Evaluation of an area-based measure as an indicator of inequalities in oral health*. Community Dent Oral Epidemiol. 1994;22:80-5.

LUSSI A, IMWINKELRIED S, PITTS NB, LONGBOTTOM C, REICH E. *Performance and reproducibility of a laser fluorescence system for detection of occlusal caries in vitro*. Caries Res. 1999; 33:261-266.

LUSSI A, MEGERT B, LONGBOTTOM C, REICH E, FRANCESCUT P. *Clinical performance of a laser fluorescence device for detection of occlusal caries lesions*. Eur J Oral Sci. 2001;109:14-19.

MACIEL, RC. *Detecção de lesões de cárie por fluorescência: correlação entre a histologia e os resultados obtidos com o DIAGNOdent e a espectroscopia*. 40f. 2006. Tese (doutorado). São Paulo, 2006.

MANJI F, FEJERSKOV O, NAGELKERKE NJD, BAEUM V (1991). *A random effects model for some epidemiological features of dental caries*. Community Dent Oral Epidemiol. 19:324-328.

MENDES FM, PINHEIRO SL, BENGSTON AL. *Effect of alteration in organic material of the occlusal caries on DIAGNOdent readings*. Braz Oral Res. 2004;18:141-144.

MENDES FM, GANZERLA E, NUNES AF, PUIG AVC, IMPARATO JCP. *Use of high-powered magnification to detect occlusal caries in primary teeth*. Am J Dent. 2006;19:19-22.

MIALHE FL, PEREIRA AL, MENEGHIM M de C, AMBROSANO GM, PARDIARDI V. *The relative diagnostic yields of clinical, FOTI and radiographic examinations for the detection of approximal caries in youngsters*. Indian J Dent Res. 2009;20: 136-40.

MORAES, MCD. *Análise in vitro da progressão de lesões de erosão em dentina após irradiação com laser de Nd:YAG e flúor através de Tomografia por*

Coerência Óptica (OCT). Dissertação. Mestrado Profissionalizante Laser em Odontologia, USP – IPEN 2012.

MOREIRA M, LAVORANTI OJ, VICENTE VA. *Avaliação epidemiológica e microbiológica da doença cárie em famílias de baixa renda*. Rev Assoc Paul Cir Dent. 2007; 61(6):480-4.

MUJAT, C., VAN DER VEEN, M.H., RUBEN J.L. et al. *Optical pathlength spectroscopy of incipient caries lesions in relation to quantitative light-induced fluorescence and lesion characteristics*. Appl Opt. 2003; 42 (16): 2979-86.

MUJAT, C., VAN DER VEEN, MH., RUBEN, JL. et al. *The influence of drying on quantitative laser fluorescence and optical pathlengths in incipient natural caries lesions*. Caries Res. 2004; 38 (5): 484-92.

NANCI, A. *TenCate – Histologia Oral*. Ed Elsevier. 7 ed. 432p, 2008

NOVAES TF, MATOS R, GIMENEZ T, BRAGA MM, DE BENEDETTO MS, MENDES FM. *Performance of fluorescence-based and conventional methods of occlusal caries detection in primary molars – an in vitro study*. International Journal of Paediatric Dentistry. 2012;22: 459-466.

NYVAD B. *Diagnosis versus detection of caries*. Caries Res. 2004;38:192-198.

O'DRISCOLL P, MITCHELL J, SHELTON J, KNOWLESS JC AND GULABIVALA K. *Laser speckle photography in measurement of tooth strain*. In: Int Endo J. 1998; 376-376.

PEDRINI H., SCHWARTZ W.R. *Análise de Imagens Digitais: Princípios, Algoritmos e Aplicações*. Thomson Learning. São Paulo. 2008.

PITTS NB. *"ICDAS" – an international system for caries detection and assessment being developed to facilitate caries epidemiology, research and appropriate clinical management*. Community Dent Health. 2004; 21:193-8.

PITTS NB, STAMM JW. *International Consensus Workshop on Caries Clinical Trials (ICW-CCT) – final consensus statements: agreeing where the evidence leads*. J Dent Res. 2004;83(Spec issue):C125-C128.

REYS A, FERREIRA GE, SANTOS J, MENDES FM, IMPARATO JCP, BRAGA MM. *Can the individual calibration be modified when laser fluorescence method is used for caries detection?* Int J Paediatr Dent. 2013;23:138-144.

RODRIGUES, JA. *Novas tecnologias para detecção de lesões de cárie oclusal*. Dissertação (Mestrado) faculdade de Odontologia da Universidade Paulista. Araraquara. SP. 2005.

RODRIGUES JA, HUG I, DINIZ MB, LUSSI A. *Performance of fluorescence methods, radiographic examination and ICDAS II on occlusal surfaces in vitro*. Caries Res. 2008; 42:297-304.

ROESNER, T. H. *Fluorescência na Odontologia Estética: importância nos dentes naturais e nos materiais restauradores*. 2007. 96 f. Trabalho de conclusão (Especialização em Dentística)- Curso de Especialização em Dentística, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

SCHOAIB L., DURY C, RICKETTS DN, NUGENT ZJ. *Validity and Reproducibility of ICDAS II in primary teeth*. Caries Res. 2009;43(6):442-8.

SCHOU L, ULTENBROEK D. *Social and behavioural indicators of caries experience in 5-year-old children*. Community Dent Oral Epidemiol 1995;23:276-81.

SHEEHY EC, BRAILSFORD SR, KIDD EAM, BEIGHTON D, ZOITOPOULOS L. *Comparison between visual examination and a laser fluorescence system for in vivo diagnosis of occlusal caries*. Caries Res. 2001;35:421-426.

SILVA, RE. *Estudo das propriedades do biospeckle e suas aplicações*. Dissertação. Instituto de Física da Universidade de São Paulo. 2007.

SOUZA JF, BOLDIERI T, DINIZ MB, RODRIGUES JA, LUSSI A, CORDEIRO RC. *Traditional and novel methods for occlusal caries detection: performance on primary teeth*. Lasers Med Sci. 2013. Jan;28(1): 287-95

THYLSTRUP, A. *Clinical evidence of the role of pre-eruptive fluoride in caries prevention*. J. Dent. Res. 1990; 69 (Spec Iss): 742-50.

THYLSTRUP, A. *When Is Caries, and What Should We Do About It?* Quintessence International. 1998; 29 (9).

THYLSTRUP A., FEJERSKOV O. *Cariologia clínica*. São Paulo: Santos, 1995.

TIPLER PA; MOSCA G. *Física para Engenheiros e Cientistas – Volume 2*. 6 ed. LTC, 2012.

TOMMASI, MH. *Diagnóstico em Patologia Bucal*. 4ª edição—Rio de Janeiro: Elsevier, 2013; pg77.

UCHINO M, FUJISAKI W, KURIHARA E, MATSUDA K AND KOSEKI T. *Characteristics of Laser Speckle Measurement of Tooth Roughness*. Key Eng. Materials. 2004; 261/263:1581-1586.

VAARKAMP J., TEM-BOSCH JJ, VERDONSCHOT, EH. et al. *Quantitative diagnosis of small approximal caries lesions utilizing wavelength-dependent fiber-optic transillumination*. J. Dent. Res. 1997; 76 (4): 875-82.

VERRIPS GH, KALSBECK H, ELJKMAN MAJ. *Ethnicity and maternal education as risk indicators for dental caries, and the role of dental behavior*. Community Dent Oral Epidemiol. 1993;21:201-14.

WHITE SC, PHAROAH MJ. *Oral Radiology: Principles and Interpretation*. Dental Caries. 2004:297-313

WHO. *Oral health surveys, basic methods*. 4th ed. Geneva: World Health Organization;1997.

WILDER-SMITH C, WILDER-SMITH P, KAWAKAMI-WONG H, VORONETS J, OSANN K, LUSSI A. *Quantification of dental erosions in patients with GERD using Optical Coherence Tomography before and after double-blind, randomized treatment with esomeprazole or placebo*. The American Journal of Gastroenterology. 2009. 104:2788-2795.

WIMPENNY JWT (1994). *The spatial organisation of biofilm*. In: *Bacterial biofilms and their control in medicine and industry*. Wimpenny J, Nichols W, Stickler D, Lappin-Scott H, editors. Bioline, pp 1-5.

WU J., DONLY ZR., DONLY KJ. et al. *Demineralization Depth Using QLF and a Novel Image Processing Software*. Int J Dent. 2010; 2010: 1-7

ANEXO 1: Carta do BIOANCO de Dentes Humanos da FOUSP

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Odontologia
Biobanco de Dentes Humanos



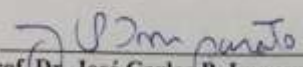
São Paulo, 09 de junho de 2015.

Ao Comitê de Ética em Pesquisa:

O Biobanco de Dentes Humanos (divisão Permanentes) declara que possui estocados de acordo com as regras vigentes do CNS e poderá fornecer 30 (TRINTA) dentes molares decíduos humanos necessários ao projeto de pesquisa intitulado “DIAGNÓSTICO DE LESÕES DE CÁRIE OCLUSAIS INICIAIS EM MOLARES DECÍDUOS POR PADRÃO DE ESPALHAMENTO DE LUZ COERENTE SPECKLE”.

Pesquisador(a) responsável: SILVIA REGINA GARCIA OLIVAN

Obs.: Os dentes só serão liberados após vossa aprovação.


Prof. Dr. José Carlos P. Imparato
Responsável pelo Biobanco FOUSP

ANEXO 2: Artigo submetido à revista Plos One

PLOS ONE
Diagnosis of Occlusal Caries Lesions In Deciduous Molars By Coherent Light Scattering Pattern Speckle
 —Manuscript Draft—

Manuscript Number:	PONE-D-15-84174
Article Type:	Research Article
Full Title:	Diagnosis of Occlusal Caries Lesions In Deciduous Molars By Coherent Light Scattering Pattern Speckle
Short Title:	Diagnosis of Caries Lesions By Coherent Light Scattering Pattern Speckle
Corresponding Author:	SILVIA REGINA GARCIA OLIVAN Universidade Nove de Julho SÃO PAULO, SÃO PAULO BRAZIL
Keywords:	caries lesion, primary tooth, diagnosis, ICCAS, speckle
Abstract:	The detection of incipient lesions of occlusal caries is a difficult task that requires a rigorous examination is commonly used visual and radiographic inspection. Tooth caries induce the mineral loss, alters the optical properties of the affected tissue, so the study of these properties can produce non-invasive and non-destructive methods for early diagnosis of caries lesions. Thus, the objective of this project is to correlate the results obtained by visual examination by ICCAS and the method by coherent light scattering speckle pattern (statistical patterns of optical granules (speckle) generated by sound and injured dental tissues) . Therefore, we used 30 healthy deciduous molar teeth collected from the Biobank Human Teeth, Faculty of Dentistry, University of São Paulo who had carious lesions induced by pH cycling method. The samples were evaluated for making the diagnosis of caries by two methods: ICCAS and speckle pattern of coherent light scattering in the periods after 5, 10 and 15 days and the results statistically analyzed using $\alpha = 0.05$ significance level .
Order of Authors:	SILVIA REGINA GARCIA OLIVAN Alexandro Melo Deane Carolina Carvalho Sotoletto João Wagner Pereira da Silva Marcos Mendes Pinto Kristianne Porto Santos Fernandes Raquel Agnelli Mesquita-Ferreira Sandra Kelli Busadori
Opposed Reviewers:	
Additional Information:	
Question	Response
Financial Disclosures	The author(s) received no specific funding for this work.
<p>Please describe all sources of funding that have supported your work. A complete funding statement should do the following:</p> <p>Include grant numbers and the URL(s) of any funder's website. Use the full name, not acronyms, of funding institutions, and use initials to identify authors who</p>	