

**UNIVERSIDADE NOVE DE JULHO**

**MESTRADO EM BIOFOTÔNICA APLICADA ÀS CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**JOÃO VAGNER PEREIRA DA SILVA**

**DIAGNÓSTICO DE LESÕES INCIPIENTES DE MANCHA  
BRANCA POR ANÁLISE DE IMAGENS DE LASER *SPECKLE***

**SÃO PAULO**

**2016**

**JOÃO VAGNER PEREIRA DA SILVA**

**DIAGNÓSTICO DE LESÕES INCIPIENTES DE MANCHA  
BRANCA POR ANÁLISE DE IMAGENS DE LASER *SPECKLE***

Defesa da 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.

Orientador: Prof. Dr. Alessandro M. de Ana

**SÃO PAULO**

**2016**

## FICHA CATALOGRÁFICA

Silva, João Vagner Pereira da

Diagnóstico de lesões incipientes de mancha branca por análise de imagens de laser *speckle* / João Vagner Pereira da Silva. 2016.  
37 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Nove de Julho – UNINOVE,  
São Paulo, 2016

Orientador : Prof. Dr. Alessandro M. de Ana

1. Laser, 2. *Speckle*, 3. Diagnóstico por imagem, 5. *Biospeckle*, 6.  
Carie dentaria

I. Ana, Alessandro M. de.                    II. Título.

CDU 615.831

Sao Paulo, 08 de dezembro de 2016.

TERMO DE APROVAÇÃO

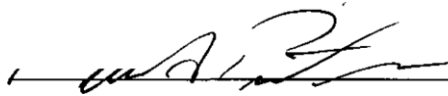
Aluno: JOAO VAGNER PEREIRA DA SILVA

Título da Dissertação: "Diagnóstico de lesão de manobra branca por análise de imagens de laser"

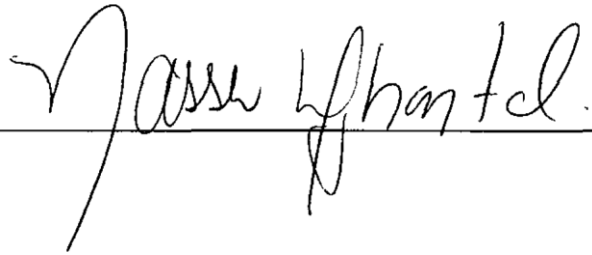
Presidente: PROF. DR. ALESSANDRO MELO DE AM



Membro: PROF. DR. RENATO ARAUJO PRATE



Membro: PROF. DR. NASSER ALIDAGHASTANLI



## **AGRADECIMENTOS**

A **Deus**, que se mostrou criador, que foi criativo e que me protegeu até a presente caminhada.

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

Agradeço ao meu orientador e ao corpo de docentes que me ensinaram muito a pensar em ciência.

Agradeço a minha família pelo apoio e paciência neste período.

Agradeço especialmente a minha irmã, ao meu amigo Sildemar e ao meu filho João Vinicius pelo grande empenho e ajuda nesta empreitada.

## DEDICATÓRIA

*Aos meus pais João e Lídia, in memoriam, pelo início  
de minha formação para a vida*

## EPÍGRAFE

*“O tempo não para ...”*

*(Cazuza)*

## RESUMO

A carie dentária é considerada uma doença infecciosa complexa e multifatorial, que determina a destruição localizada dos tecidos mineralizados, influenciada pelo fator tempo e é descrita como um processo dependente da interação entre microbiota específica associada aos carboidratos ingeridos e a uma superfície dentária suscetível.

O objetivo deste trabalho é desenvolver uma metodologia de identificação e quantificação da lesão ou micro lesão de cárie de forma não invasiva, com premissas de baixo custo e execução em tempo real, pela análise dos padrões de luz de retorno da incidência do laser sobre a lesão – laser *SPECKLE*.

Foram utilizadas 45 amostras de incisivos bovinos divididos em 3 grupos onde foram induzidas áreas lesionadas, cada amostra terá duas áreas distintas, metade saudável e metade com lesão induzida artificialmente.

As amostras foram iluminadas por luz laser e fotografadas por câmera digital onde foi possível observar a formação de granulados ópticos causados pela interferência entre os vários feixes de luz espalhados e a lesão foi evidenciada segmentando a imagem através de Teoria Estatística por softwares proprietário.

Palavras chaves: Laser, *Speckle*, Diagnóstico por imagem, Cárie dentária, *biospeckle*, ensaio não destrutivo.



## **ABSTRACT**

Dental caries is considered a complex, multifactorial disease that determines the localized destruction of mineralized tissues. It is also influenced by the time factor and is described as a process dependent on specific interactions between microorganisms, carbohydrates and a susceptible tooth surface

The aim of this study was to develop a methodology of identification and quantification dental decay noninvasively, with low-cost and real-time execution, by using laser speckle imaging analysis.

We used 45 samples of bovine incisors divided into 3 groups where we induced injured areas, each sample had two distinct areas, healthy half and half with artificially induced decay.

The samples were illuminated by light laser and photographed by digital camera it was possible to observe the formation of optical speckle caused by interference between the various scattered light beams. The injury was evidenced by segmenting the image through a proprietary software

Key words: Laser, Speckle, diagnostics, dental decay, Biospeckle, non destructive.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Esquema de um dente:1- Esmalte, 2- Dentina, 3-Polpa, 4-Gengiva, 5- Cimento, 6-Osso alveolar, 7-Vaso sanguíneo, 8-nervo. A-Coroa, B-Raiz (Fonte: <a href="https://pt.wikipedia.org/wiki/Dente">https://pt.wikipedia.org/wiki/Dente</a> )_____	1
Figura 2: Estreptococos Mutans (fonte: <a href="https://microbewiki.kenyon.edu.">https://microbewiki.kenyon.edu.</a> )_____	3
Figura 3: Manchas brancas secas (fonte: BUSATO at el , 2005)_____	4
Figura 4: Diagrama esquemático do diagnodent ® (kavo), fluorescência de uma área sadia (a) e desmineralizada (b). Fonte: <a href="http://www.d-p-s.uk.com/odiagno.htm">http://www.d-p-s.uk.com/odiagno.htm</a> _____	7
Figura 5: Aplicação (a) e processamento de dados (b) para determinação da presença da lesão cariiosa no tecido dentário. Fonte: karlssom (2010)_____	8
Figura 6: Diagrama de processamento e análise de imagem (Repositório PUC-RIO, ADAPTADO)_____	9
Figura 7:Matriz representativa de uma imagem digital_____	10
Figura 8: extração de dados da imagem digital_____	11
Figura 9: Espectro e comparativo das ondas eletromagnéticas e da luz visível. (fonte: <a href="https://pt.wikipedia.org/wiki/Espectro_eletromagnético">https://pt.wikipedia.org/wiki/Espectro_eletromagnético</a> - adaptada).___	12
Figura 10: 1. Colimação, 2. Coerência e 3. Monocromaticidade_____	13
Figura 11: Reflexão de luz em superfícies microscopicamente lisas (A) e superfícies microscopicamente rugosas (B)_____	14
Figura 12: Imagem granulada – SPECKLE - somente à camada Red_____	15
Figura 13: Diagrama de Interferência causada pela defasagem dos fótons refletidos pela superfície_____	15
Figura 14: Interferências construtivas (grãos claros) e Destrutivas (grãos escuros)_____	16
Figura 15: Imagem de Speckle sob vários tipos de superfícies rugosas._____	17
Figura 16: Amostras de dentes bovinos_____	21
Figura 17: A - polimento: B- microscópio digital USB,_____	22
Figura 18: Placa com amostras preparadas_____	22
Figura 19: Amostra preparada para ataque químico_____	23
Figura 20: Diagrama do processo de Obtenção da imagem_____	24
Figura 21: Análise estatística sobre a intensidade_____	25
Figura 22: Processo Speckle – análise – cores falsas_____	26

Figura 23:Análise estatístico de primeira ordem	26
Figura 24: A) amostra sadia e lesada, B) fotografia digital do speckle, C) imagem normalizada e trocada para cores falsas	27
Figura 25:Comparativo com indução de lesão em 24 horas	28
Figura 26: Comparativo com indução de lesão em 48 horas	29
Figura 27: Comparativo com indução de lesão em 72 horas	29
Figura 28: Normalização das medias das intensidades	30
Figura 29:Correlação entre os grupos	30
Figura 30: Diagrama do processo de detecção	32

## SUMÁRIO

<b>1. CONTEXTUALIZAÇÃO:</b>	<b>1</b>
1.1. Dentes	1
1.2. Carie Dental	2
1.2.1. Micro-organismo	3
1.2.2. Hospedeiro	3
1.2.3. Dieta	5
1.2.4. Formação da placa cariogênica	5
1.2.5. Diagnósticos atuais	5
1.3. Processamento de Imagem Digital	9
1.4. Laser e Speckle	12
1.4.1. Laser	12
1.4.2. Speckle	14
<b>2. JUSTIFICATIVA</b>	<b>18</b>
<b>3. HIPÓTESE</b>	<b>19</b>
<b>4. OBJETIVO</b>	<b>20</b>
4.1. Objetivo Geral	20
4.2. Objetivos Específicos	20
a) Correlacionar o padrão de espalhamento de luz coerente de uma imagem de dente com a presença de lesão inicial de cárie	20
b) Correlacionar o padrão de espalhamento de luz coerente de uma imagem de dente com severidade de uma lesão inicial de cárie	20
<b>5. METODOLOGIA:</b>	<b>21</b>
5.1. Amostras	21
5.2. Indução da lesão	22
5.3. Arranjo experimental	23
5.4. Análise da imagem de laser Speckle	25
5.5. Análise Estatística	27
<b>6. RESULTADOS</b>	<b>28</b>
<b>7. DISCUSSÕES</b>	<b>32</b>
<b>8. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>34</b>
<b>9. ANEXOS</b>	<b>35</b>
9.1. Tabelas de intensidades	35
<b>10. REFERÊNCIAS</b>	<b>37</b>

## 1. CONTEXTUALIZAÇÃO:

Neste capítulo serão apresentadas as principais fundamentações teóricas e estado da arte neste trabalho.

### 1.1. Dentes

Dente, do latim *dentis*, é o corpo duro que se encontra nas mandíbulas (maxilares) do ser humano e de muitos animais e que serve para mastigar os alimentos ou, no caso de certos animais, como defesa.

Os dentes encontram-se encravados nos ossos maxilares através de uma articulação conhecida como gonfose. Nesta articulação, é possível distinguir o cimento dentário e o osso alveolar, que estão unidos pelo ligamento periodontal.

São estruturas de tecido mineralizado, principalmente o esmalte e a dentina. No início temos uma dentição temporária (dentes de leite), que cai de maneira natural e é substituída pela dentição permanente.

O esmalte dentário é uma estrutura altamente mineralizada, constituída por cristais de hidroxiapatita (HA) carbonatada e algumas vezes fluoretada. A HA é um cristal formado basicamente por fosfato de cálcio e tem uma relação dinâmica com a saliva que é um fluido orgânico constituído por íons de cálcio e fosfato.

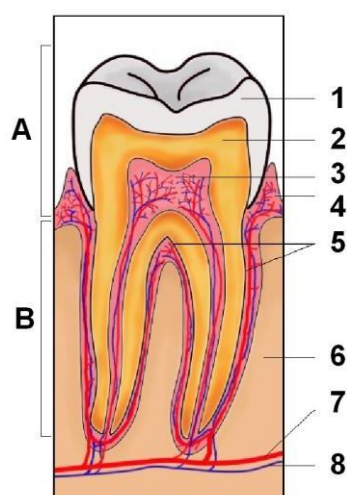


Figura 1: Esquema de um dente:1- Esmalte, 2- Dentina, 3-Polpa, 4-Gengiva, 5-Cimento, 6-Osso alveolar, 7-Vaso sanguíneo, 8-nervo. A-Coroa, B-Raiz (Fonte: <https://pt.wikipedia.org/wiki/Dente>)

## 1.2. Carie Dental

A cárie dentária é definida pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como “um processo patológico localizado, de origem externa, que se inicia depois da erupção dentária, determina um amolecimento do tecido duro do dente e evolui até à formação de uma cavidade”.

A carie dentaria é uma das doenças mais prevalentes, afetando quase 100% da população, causando uma grande preocupação em saúde bucal, a detecção precoce antes da necessidade de procedimentos invasivos de restauração contribui muito para o bem-estar geral da população. É considerada uma doença complexa, e multifatorial, que determina a destruição localizada dos tecidos mineralizados. Também é influenciada pelo fator tempo e é descrita como um processo dependente da interação entre microbiota específica, carboidratos e uma superfície dentaria suscetível. A progressão da doença é lenta, resultante de um desequilíbrio entre o mineral do dente e os substratos da placa presentes neste dente, causando uma perda mineral.

A cárie, normalmente, não é auto limitante, podendo causar a destruição total do elemento dentário se não for tratada, observando-se, assim, a importância do diagnóstico precoce dos sinais clínicos da doença [10].

Seu aparecimento tem sinais patognomônicos de atividade, mediada pela presença de placa bacteriana, que somente será considerada cariogênica ocorrendo durante um determinado período de tempo com interações de vários fatores em condições críticas [37].

Os fatores que podem interagir e determinar a presença de doença cárie são classificados em microrganismo, hospedeiro e substrato (fatores principais) ; e fatores secundários classificados como moduladores, a saliva e exposição ao flúor [1].

### 1.2.1. *Micro-organismo*

O desenvolvimento da doença cárie só ocorre a partir da interação dos fatores em condições críticas por um determinado período de tempo. Portanto, é necessário que ocorra uma seleção e dominância de microrganismos específicos e tolerantes a ácidos causando uma queda do pH da placa bacteriana formada ao esmalte, criando um potencial desmineralizador.

Os estreptococos do grupo *mutans* destacam-se como microrganismos cariogênicos e resistentes ao ácido lático conforme a Figura 2.

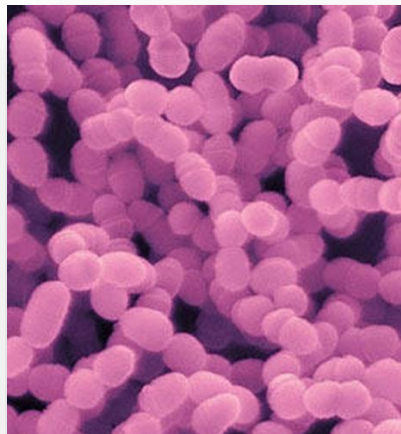


Figura 2: *Streptococos Mutans* (fonte: <https://microbewiki.kenyon.edu.>)

### 1.2.2. *Hospedeiro*

O esmalte dentário é uma estrutura altamente mineralizada, constituída por cristais de hidroxiapatita (HA) carbonatada e algumas vezes fluoretada. A HA é um cristal formado basicamente por fosfato de cálcio e tem uma relação dinâmica com a saliva (fluido orgânico constituído por íons de cálcio e fosfato). Enquanto o pH deste meio for superior a 5,5 a saliva está saturada em cálcio e fosfato e a tendência química, por difusão, faz com que o dente receba esses íons, a Mineralização.

Quando ocorre a ingestão de carboidratos existe a metabolização pelos microrganismos e a produção de ácido lático gerando uma queda do pH a níveis

críticos ( $\text{pH} < 5,5$ ) e dissolução dos cristais de HA. Nesta situação, a tendência físico-química passa a ser ao contrário, a perda de minerais do dente para o meio, a saliva, começando o processo de desmineralização.

Neste momento, o esmalte torna-se poroso e os espaços criados entre os cristais de hidroxiapatita são ocupados por água. Sabendo que o índice de refração dos cristais de Hidroxiapatita é 1.62, o da água é 1.33 em referência ao ar que é 1.0, verifica-se uma semelhança entre o índice de refração da água e da HA e clinicamente poderá passar despercebido esta ocorrência.

Com a secagem a água existente entre os cristais é removida e substituída por ar, que tem um índice de refração menor, a lesão assume um aspecto clinicamente esbranquiçado e opaco, determinante do 1º sinal clínico da lesão da doença cárie: a mancha branca opaca – ICDAS 1 - denominada também de lesão não cavitada ou incipiente, mostrado na Figura 3.

O Sistema Internacional de Avaliação e Detecção de Cáries (*ICDAS - International Caries Detection and Assessment System*) constitui um método de avaliação clínica da cárie variando de ICDAS 0 como tecido sadio, ICDAS 1 como Opacidade notável após secagem – “Mancha branca seca”, ICDAS 2 como opacidade notável na presença de umidade- “mancha branca úmida” e de ICDAS 3 a ICDAS 6 como cavitação do esmalte e dentina indicada pelo grau de intensidade [7].

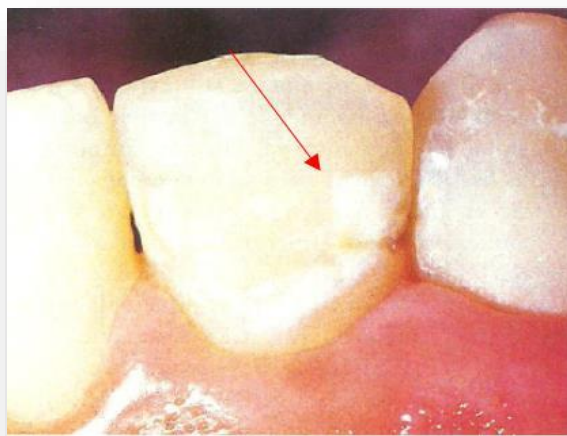


Figura 3: Manchas brancas secas (fonte: [10] BUSATO et al , 2005)



### **1.2.3. Dieta**

A dieta é definida como a escolha dos alimentos consumidos independente do seu valor nutricional [30]. Em relação à odontologia, ela tem influência local e direta sobre os dentes, reagindo com a superfície dentária e servindo de substrato para os microrganismos pela criação de uma película orgânica adesiva.

De acordo com APFEL (2002), os aspectos da dieta a tornam mais ou menos cariosas [3] : tipo de alimento, tipo de carboidrato, intensidade de aderência e adesividade sobre a superfície, presença de alimentos protetores e a frequência e quantidade ingerida.

Os nutrientes denominados carboidratos (açúcares) são responsáveis pelo fornecimento de energia e são os alimentos mais cariogênicos da dieta. Estão presentes nos cereais, milho, frutas, raízes e tubérculos, mel e açúcar. A quantidade de carboidrato em uma dieta deve ser de 75%, sendo que os açúcares simples não devem passar dos 10% [28].

### **1.2.4. Formação da placa cariogênica**

Sendo assim os dentes são revestidos por uma fina película orgânica (filme) composta por proteínas salivares que associadas aos microrganismos *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus oralis* e *Streptococcus mitis*, entre outros e aos canais de água entre os cristais é produzido um biofilme com liberação de ácido lático. Por consequência gera-se uma interdependência e um mecanismo de sucessão entre as espécies e depois de 24 horas neste ambiente tem-se uma maior quantidade de *Streptococcus mutans*, entre outros, que é um dos principais causadores da placa cariogênica.

### **1.2.5. Diagnósticos atuais**

A lesão de cárie gera uma perda mineral no tecido afetado, o que resulta em alterações na rugosidade e conseqüentemente nas propriedades ópticas.

A comunidade científica tem desenvolvido e aplicado diversas técnicas baseadas nas mudanças das propriedades do tecido dentário doente e saudável, objetivando a detecção precoce de lesões de cárie antes que exista a necessidade de procedimentos restauradores. *KARLSON* (2010) enumerou as várias técnicas ópticas para detecção de lesões cariosas [24], conforme pode ser observado na Tabela 1.

Técnica	Sigla	Disponível comercialmente
<b>Optical Coherence Tomography</b>	OCT	
<b>Polarized Raman Spectroscopy</b>	PRS	
<b>Polarization Sensitive Optical Coherence Tomography</b>	PS-OCT	
<b>Fiber Optic Transillumination</b>	FOTI and DiFOTI	X
<b>Quantitative Light-Induced Fluorescence</b>	QLF	X
<b>Laser-Induced Fluorescence</b>	LF	X
<b>Transillumination with Near-Infrared light</b>	TI-NIR	X
<b>Infrared fluorescence</b>	IR fluorescence	X
<b>Near-Infrared reflectance imaging</b>	NIR reflectance imaging	
<b>Terahertz Pulse Imaging</b>	TPI	
<b>Multiphoton imaging</b>		
<b>Time-Correlated Single-Photon Counting Fluorescence Lifetime Imaging</b>	TCSPC FLIM	

Tabela 1: Técnicas de visualização de lesões de caries fonte: (*KARLSON* - 2010)

– adaptada

Na técnica Laser Induced Fluorescence- LF - (fluorescência induzida por Laser), a superfície dentária é irradiada por um laser emitindo na região entre 488 nm e 650 nm, e a fluorescência resultante é medida. Superfícies desmineralizadas e com biofilme apresentam maior fluorescência, quando comparado aos tecidos sadios, possibilitando a detecção da lesão. Apesar de este processo permitir boa precisão no diagnóstico de lesões com perda mineral, o mesmo não foi eficiente para quantificá-la. É consenso na literatura que tal técnica, apesar de apresentar grande sensibilidade, pode resultar em falsos positivos na presença de manchas e cálculos [17].

Há um aparelho comercialmente disponível que utiliza tal técnica, porém estudos em estudos in vitro mostram que este não detecta desmineralizações artificiais, provocadas por ácidos de origem não bacteriana. A Figura 4 representa um diagrama esquemático de um equipamento comercial que utiliza tal técnica [27].

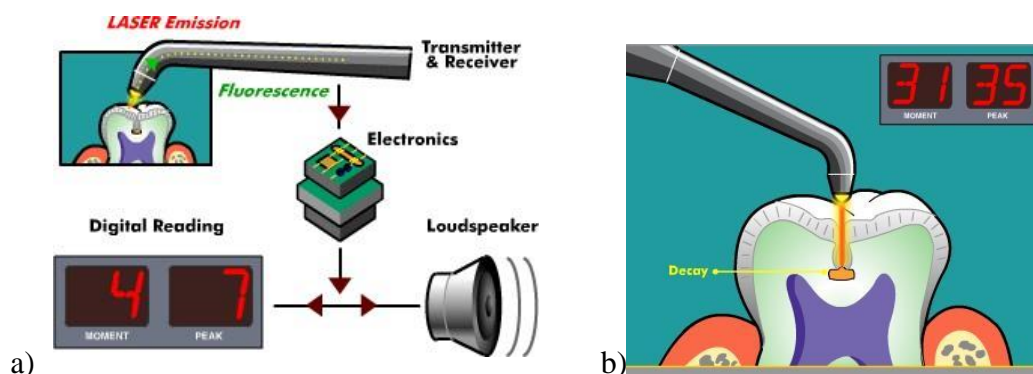


Figura 4: Diagrama esquemático do diagnodent ® (kavo), fluorescência de uma área sadia (a) e desmineralizada (b). Fonte: <http://www.d-p-s.uk.com/odiagno.htm>

No método Quantitative Light-Induced Fluorescence - QLF, a radiação com comprimento de onda entre 290 nm e 450 nm, incide sobre a superfície dentária gerando a autofluorescência dos tecidos envolvidos, que diminui com a desmineralização decorrente de um maior espalhamento da radiação incidente e da fluorescência emitida por tecidos lesionados. A imagem capturada é avaliada de modo a determinar regiões com diminuição na fluorescência, como pode ser observado na Figura 5. Apesar de ser uma técnica comercialmente, ainda não há uma metodologia para sua aplicação em dentina, ficando restrita a alterações superficiais no esmalte .

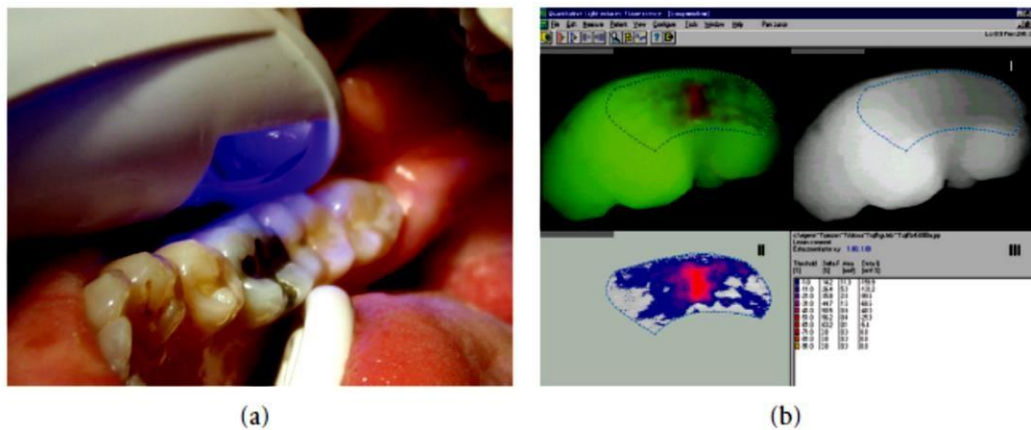


Figura 5: Aplicação (a) e processamento de dados (b) para determinação da presença da lesão cariosa no tecido dentário. Fonte: [ 24] KARLSSON -2010

Na transiluminação por infravermelho próximo (comprimento de onda entre 780 – 1550 nm), uma fonte de luz é utilizada para retro-iluminar o tecido dentário. Na região sadia a luz sofre um menor espalhamento apresentando uma maior profundidade de penetração. Na região lesionada sofre um maior espalhamento aparecendo como uma área escura na imagem do dente retroiluminado. As pigmentações do tecido dentário são oriundas de moléculas orgânicas e não são detectadas por esta metodologia pois tais manchas não absorvem os comprimentos de onda nesta região, evidenciando a identificação de regiões de desmineralização.

Apesar de várias técnicas estarem suficientemente desenvolvidas para serem empregadas nos consultórios dentários, segundo AMAECHI BT at el,2005 não existe até o presente nenhuma técnica comercialmente que atenda a todos os requisitos para o diagnóstico e o acompanhamento das lesões de tecido dentário e que permita um controle qualitativo e quantitativo das lesões adequado para uso intra-oral [2].

As limitações em relação aos tecidos em estudo, as dificuldades ao uso *in vivo* e adequação ao uso na cavidade oral são obstáculos que ainda precisam ser superados e melhorados.

A inspeção visual é o método mais comumente utilizado para diagnóstico da lesão de cárie (Padrão Ouro) , utilizada em diversos índices desenvolvidos para padronização desse diagnóstico como o ICDAS, ALA e

NYVAD. Porém trata-se de um exame subjetivo, e a utilização de métodos objetivos e quantitativos deve ser indicada para um melhor diagnóstico e monitoramento dessas lesões.

Atualmente e internacionalmente utilizamos somente os índices ICDAS-International Caries Detection and Assessment System, os índices ALA e NYVAD já estão em desuso.

### 1.3. Processamento de Imagem Digital

Vem crescendo muito nos últimos anos a área de Processamento de Imagens Digitais (PID) que pesquisa desde sua morfologia matemática, processamento, compressão e interpretação de imagens, aplicação de algoritmos de aprendizagem e máquinas de visão computacional, entre outros [18].

A sequência padrão deste estudo é dividida em três blocos básicos: Aquisição; Processamento Digital de Imagem (PDI) e Análise Digital de Imagem (ADI), conforme pode ser observado na Figura 6.

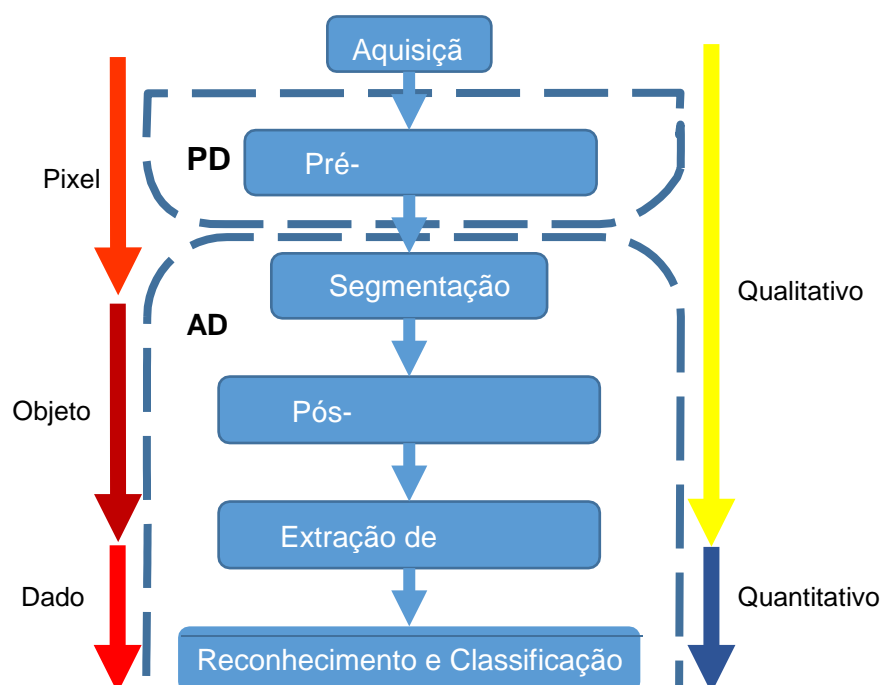


Figura 6: Diagrama de processamento e análise de imagem (Repositório PUC-RIO, ADAPTADO-  
<http://webserver2.tecgraf.puc-rio.br/~scuri/inf1378/>)

A etapa de aquisição engloba a formação da imagem e sua digitalização tendo como saída uma imagem digital.

O PDI (Processamento Digital de Imagem) consiste fundamentalmente na etapa de pré-processamento, também chamada de realce - Brilho, contraste, nitidez, crominância e outros.

A ADI (Análise Digital de Imagem) compreende as etapas seguintes: segmentação, pós-processamento, extração de atributos e reconhecimento e classificação. (Figura 6).

Uma imagem digital é definida como: Representação de uma imagem bidimensional usando números de modo a permitir seu armazenamento, transferência, impressão ou reprodução, ou seja, uma imagem digital pode ser entendida como uma matriz bidimensional, expressa pela função  $f(x,y)$ , onde  $x$  e  $y$  são coordenadas espaciais que fornecem a intensidade ou nível de cinza de cada ponto da imagem que é o menor elemento de uma imagem digital, denominado pixel [18 e 29]. Por convenção, a origem da imagem está localizada no canto superior esquerdo da imagem.

Segundo WOODS e GONZALEZ (20011), a matriz numérica é utilizada para processamentos e desenvolvimento de algoritmos [18]. Na forma de equação, a representação de uma matriz numérica  $M \times N$  é dado pela função abaixo mostrada na Figura 7.

$$f(x,y) = \begin{bmatrix} f(0,0) & f(0,1) & \dots & f(0,N-1) \\ f(1,0) & f(1,1) & \dots & f(1,N-1) \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ f(M-1,0) & f(M-1,1) & \dots & f(M-1,N-1) \end{bmatrix}$$

Figura 7:Matriz representativa de uma imagem digital

A Figura 8 demonstra a decodificação de uma imagem digital através de suas matrizes de intensidade coloridas em vermelho (*Red*), azul (*Blue*) e verde (*Green*) por pixels denominada matriz RGB.



Figura 8: extração de dados de valores de intensidade da imagem digital em tabelas (padrão RGB).

As imagens representadas no modelo RGB consistem de três componentes de imagens, uma para cada cor primária: [(R,G,B)]. As cores de um pixel podem ser representado por três valores, um para cada tabela, como um inteiro de 8 bits variando entre 0 e 255, sendo o valor 0 correspondente à Intensidade mínima e 255, à intensidade máxima.

## 1.4. Laser e Speckle

Neste capítulo serão apresentados os fundamentos de laser e consequente o *speckle* necessários para a compreensão deste trabalho.

### 1.4.1. Laser

Luz pode ser entendida como uma radiação eletromagnética que se situa entre a faixa do infravermelho – 800 nm e a faixa ultravioleta – 400 nm. Assim como toda e qualquer onda eletromagnética a luz tem como grandezas básicas a intensidade/brilho, comprimento de onda que define a cor e a polarização também denominado ângulo de vibração. Espectro descrito na Figura 9.

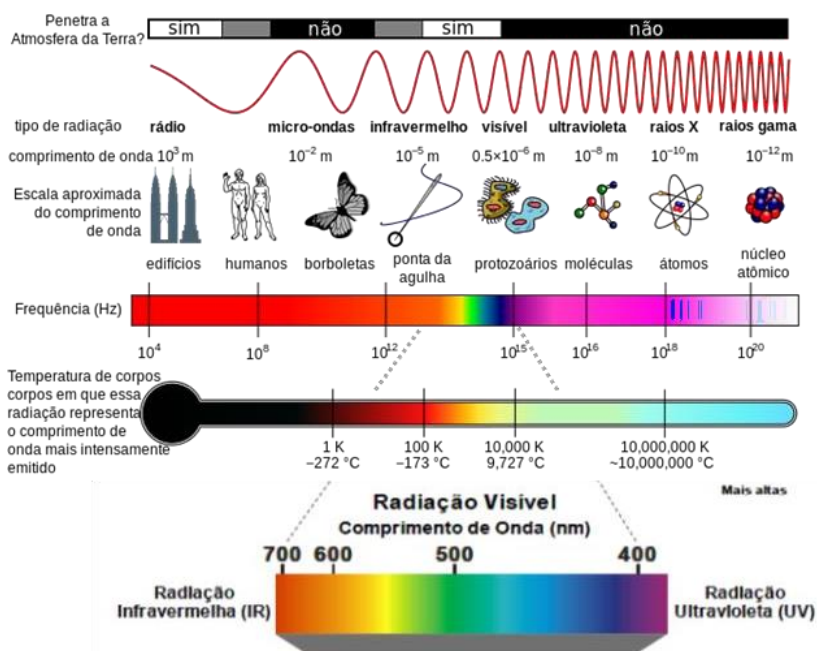


Figura 9: Espectro e comparativo das ondas eletromagnéticas e da luz visível.  
(fonte: [https://pt.wikipedia.org/wiki/Espectro\\_eletromagnético](https://pt.wikipedia.org/wiki/Espectro_eletromagnético) - adaptada).

LASER acrônimo de Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation, significa ampliação da luz por meio da emissão estimulada de radiações.



O laser é formado por um feixe de luz coerente (em mesma fase), colimado propagação paralela e monocromático (somente um comprimento de onda muito bem definido) diferentemente de outras emissões de luz incoerentes onde os fótons se propagam de forma aleatória e em todas as direções representadas pela Figura 10.

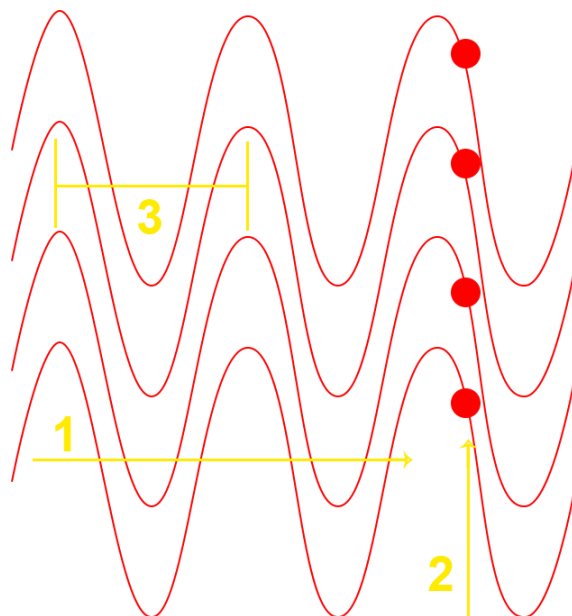


Figura 10: 1. Colimação – ondas paralelas em mesma direção, 2. Coerência – ondas em mesma fase e 3. Monocromaticidade – ondas em mesma frequência

Das características do laser a mais importante para nosso trabalho é a fase, ou seja, os fótons caminhando com a mesma frente de onda (figura 10-2).

### 1.4.2. Speckle

O princípio de Huygens-Fresnel afirma que quando um raio de luz (as ondas) atinge uma superfície cada ponto desta atua como um emissor de pequenas ondas secundárias, esta reflexão pode ser especular (Figura 11 A) ou reflexão difusa (Figura 11 B).

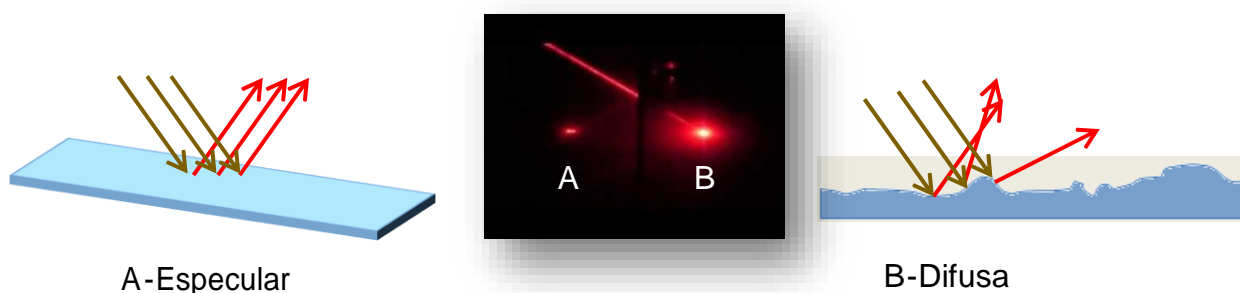


Figura 11: Reflexão de luz em superfícies microscopicamente lisas (A) e superfícies microscopicamente rugosas (B)

Decorrente da propriedade de luz coerente temos que a imagem do espalhamento de fótons de um laser em um determinado objeto (conhecido com laser speckle image – LSI - ou simplesmente speckle) possui um padrão de “granulado óptico” único e impossível de ser mimetizado por uma fonte de luz não coerente, a qual tem emissão de ondas aleatórias.

Este fenômeno ocorre pela refração de diferentes distâncias do caminho ótico do feixe sobre a superfície iluminado no objeto, descrita pela Figura 12.

Pela monocromaticidade do laser em 650 nm temos, neste caso, somente a camada Red no padrão RGB.

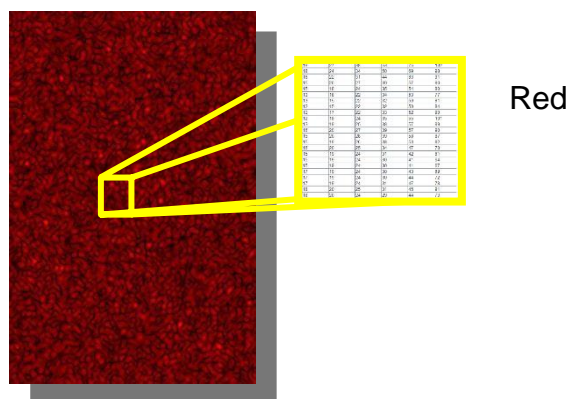


Figura 12: Imagem granulada pela iluminação laser em 650nm – SPECKLE.

Os padrões das interferências formados pela imagem *speckle* ocorre pela diferença de fase dos feixes de luz retro espalhadas, interferências, tornando os granulados da imagem claros ou escuros. (Figura 13 e Figura 14). Este granulado óptico resultante é a principal característica do *speckle*, apesar de formas aleatórias temos informações da superfície [19 e 20].

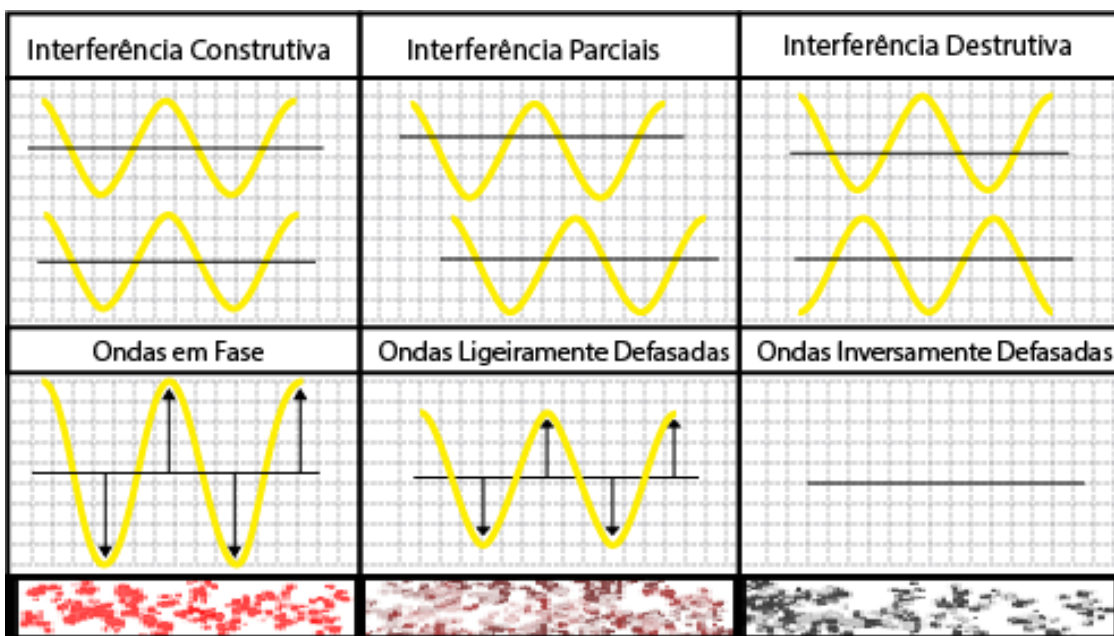


Figura 13: Diagrama de Interferência causada pela defasagem dos fótons refletidos pela superfície

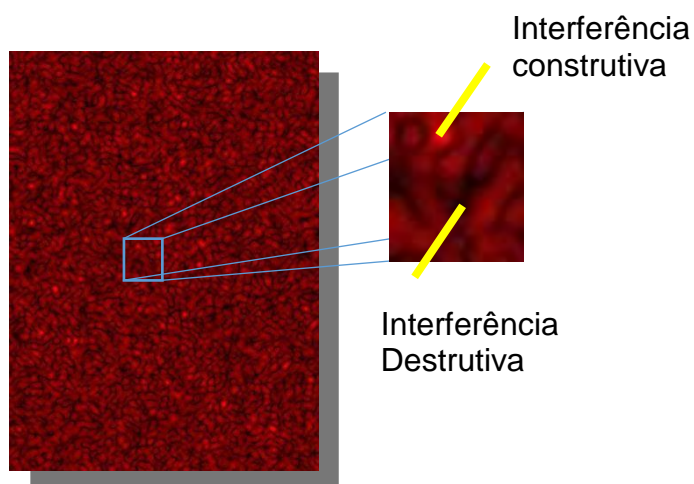


Figura 14: Interferências construtivas (grãos claros) e Destrutivas (grãos escuros)

Tal padrão obtido pela refração das ondas coerentes nos diferentes caminhos ópticos é sensível às propriedades superficiais do objeto iluminado, como: rugosidade; textura e bordas do que o padrão originado por uma iluminação com fonte de luz não coerente com ondas aleatórias. Em outras palavras, o padrão de espalhamento da luz coerente por um objeto é sensível às menores alterações na superfície e até mesmo a sub-superfície do objeto.

Apesar de possuir um caráter aleatório, pode-se extrair informações desse granulado no contexto da Teoria Estatística [19, 6].

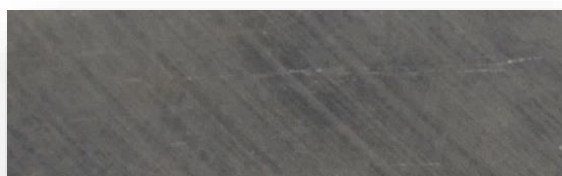
A Figura 15 representa Laser Speckle Image (LSI's) de materiais diversos



Plastico



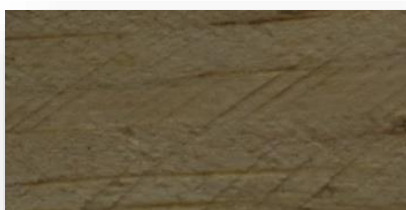
LSI de Plastico



Metal



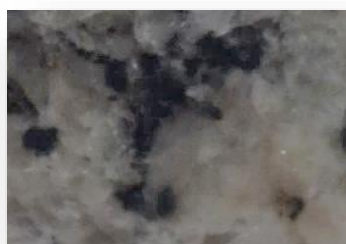
LSI de Metal



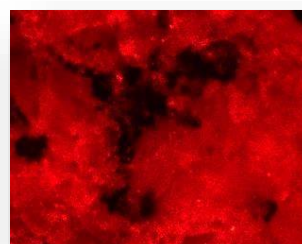
Madeira



LSI de Madeira



Granito



LSI de Granito

Figura 15: Imagem de *Speckle* sob vários tipos de superfícies rugosas.

1. Plástico, 2. Metal, 3. Madeira e 4. Granito (*do autor*)

## **2. JUSTIFICATIVA**

A carie dentária é uma das doenças que afeta quase 100% da população, a detecção precoce contribui muito para o bem-estar geral da população e sem necessidade de procedimentos invasivos de restauração.

Enquanto o exame visual é baseado em aspectos subjetivos, os métodos de diagnóstico auxiliares evidenciarão o sinal físico derivado da interação entre a luz e a estrutura dentária.

Dado o estado da arte acima aludido bem como as limitações das atuais técnicas disponíveis e visando atender aos objetivos relacionados abaixo, este trabalho apresenta resultados visando a detecção da lesão de cárie em estágios iniciais associado à quantificação do grau de perda mineral, garantindo uma correta intervenção e também o monitoramento dessa lesão, além de ser objetiva, não invasiva, não destrutiva, de baixo custo e em tempo real.

### **3. HIPÓTESE**

A incidência de luz coerente sobre uma determinada superfície óptica rugosa gera uma imagem de granulado óptico (padrão de speckle). Como a cárie do dente altera a estrutura do esmalte resultando em diferentes rugosidades, tem-se a hipótese de que ao iluminar o esmalte dental com uma fonte de luz coerente, o espalhamento da luz oriundo da superfície sadia e da superfície lesionada apresentará diferenças de padrões, permitindo qualificar a lesão e quantificar sua progressão.

## **4. OBJETIVO**

### **4.1. Objetivo Geral**

O objetivo deste trabalho é desenvolver uma metodologia de identificação e quantificação da lesão ou micro lesão de forma não invasiva, com premissas de baixo custo e execução em tempo real, através de análises dos padrões de interferência da luz de retorno da incidência do laser sobre a lesão – o *SPECKLE*

### **4.2. Objetivos Específicos**

- a) Correlacionar o padrão de espalhamento de luz coerente de uma imagem de dente com a presença de lesão inicial de cárie
- b) Correlacionar o padrão de espalhamento de luz coerente de uma imagem de dente com severidade de uma lesão inicial de cárie



## 5. METODOLOGIA:

### 5.1. Amostras

Para este trabalho utilizaremos 45 amostras de dentes incisivos bovinos divididos randomicamente em 3 grupos onde iremos induzir quimicamente uma lesão semelhante aos estágios iniciais de uma cárie comumente denominadas de mancha branca (úmida ou seca) em diferentes estágios (ICDAS 1 e 2). Será mantido uma região de esmalte dentário sadio (ICDAS 0) para comparação das lesões induzidas respectivamente com ataques da solução por 24, 48 e 72 horas. A Figura 16 demonstra as amostras finais.



Figura 16: Amostras de dentes bovinos

Para cada amostra, foi obtido um fragmento da superfície vestibular de dente incisivo bovino de 4 x 6 mm (no mínimo) incluídos em tubo de PVC com resina acrílica, deixando exposto o esmalte dental de maneira plana e paralela (Figura 17 A). Cada amostra foi polida utilizando lixas d'água com diferentes granulometrias de 600 a 2000 lixadas em lixadeira de cinta, lixadeira orbital e nas granulações menores em procedimento manual. Após a planificação foram polidas manualmente com líquido de desbaste (Líquido para polir 3M - nº 3), todo o processo foi conferido e validado por microscopia digital USB (figura 17 B).

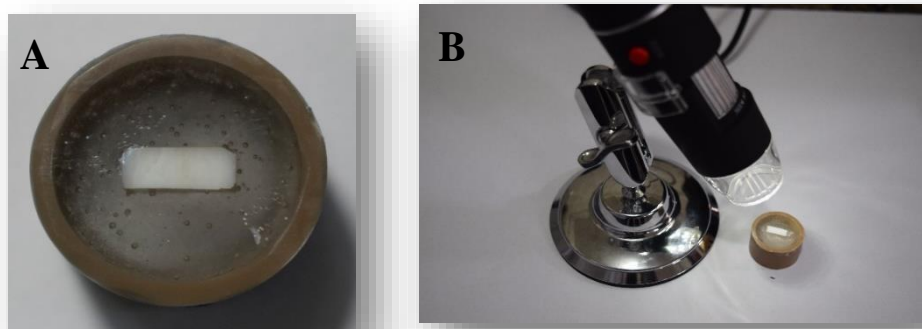


Figura 17: A - polimento: B- microscópio digital USB (50 a 500 X).

Nas amostras de dentes bovinos foram criadas duas regiões: uma região controle (região sadia – ICDAS 0) que permanecerá inalterada e uma outra região onde será induzida artificialmente a mancha branca similar à uma lesão inicial de cárie (Mancha branca seca ou úmida – ICDAS 1, 2, respectivamente) realizada por imersão em solução ácida (PH 5.0) rica em hidroxapatita (Figura 18)

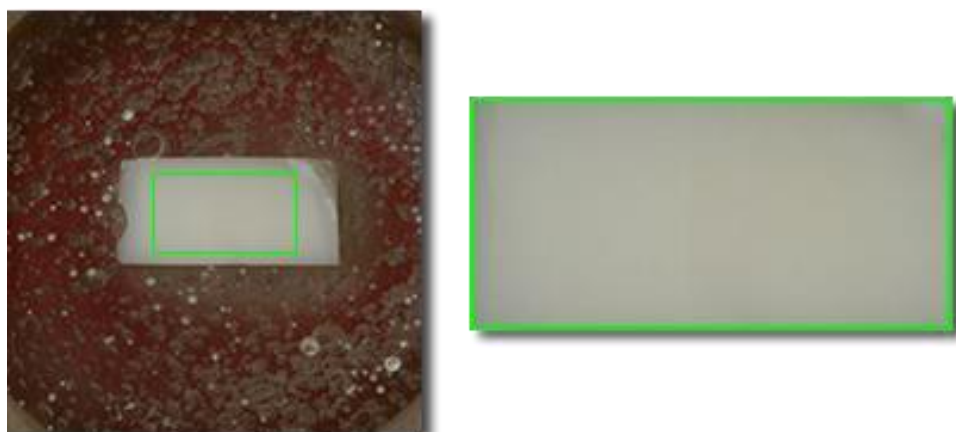


Figura 18: Placa com amostras preparadas

## 5.2. Indução da lesão

Para a indução da lesão similar à carie foi utilizada a metodologia proposta por ARAUJO GSA. e SFALCIN RA, (et al -2013) [4].

Induzimos uma lesão similar à cárie (mancha branca) realizando um ataque ácido rico em hidroxapatita em metade da amostra, a outra metade é protegida por uma fita adesiva mantendo a superfície em estado original (ICDAS 0) para obtenção dos resultados comparativos com a região onde ficará lesionada. (Figura 19)

Colocamos os 3 grupos de amostras separados e imersos em 50 ml de uma solução desmineralizante (pH 5,0) contendo 0,05 M de solução tampão de acetato e hidroxiapatita a 50% saturada de pó de esmalte durante 24, 48 e 72 h a 37 °C respectivamente.

Para preparar a solução, agitou-se pó de esmalte (partículas de 74 a 105  $\mu\text{m}$ ) em solução tampão de acetato de sódio 0,05 com pH 5,0, durante 96 h a 37 °C (0,50 g / l). A solução foi utilizada numa relação de 2,0 ml /  $\text{mm}^2$  de área exposta do esmalte.

Após o processo de indução da lesão retiramos a fita e lavamos as amostras com água Milli-Q.

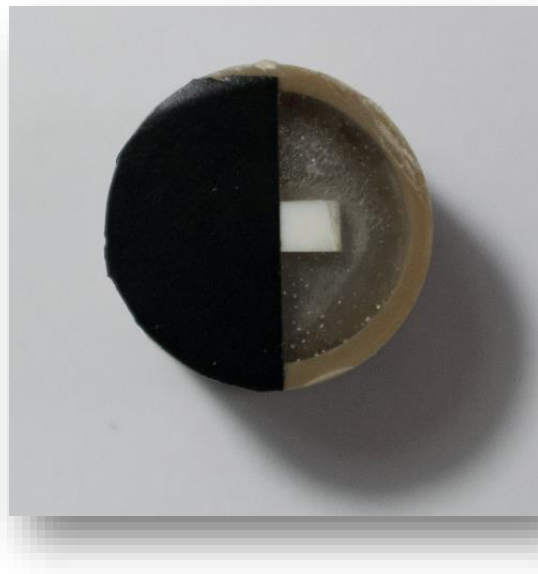


Figura 19: Amostra preparada para ataque químico

### 5.3. Arranjo experimental

Para obter a imagem de laser *speckle*, cada amostra foi iluminada com um diodo laser vermelho com comprimento de onda de 650 nm e potência de 300mW.

Na montagem do experimento colocamos o laser a uma distância de aproximadamente 12 cm da amostra e foi posicionada uma lente para expandir a área de iluminação obtendo uma visível iluminação uniforme de toda a região de

interesse na amostra ( $\varnothing 10\text{mm}$ ). Ambas as regiões do esmalte dental (sadia e lesionada) foram iluminadas simultaneamente.

A imagem iluminada por laser foi capturada por câmera digital CMOS colorida com captação das imagens em RGB modo RAW (Canon EOS Rebel T3i) com uma distância de aproximadamente 9 cm da amostra. As câmeras foram configuradas com velocidade do obturador 1/4000, abertura da lente em F5.6 e sensibilidade fotográfica ISO100 obtendo o melhor contraste possível

Na câmera foi acoplada uma lente macro 100 Canon. O diagrama esquemático do arranjo experimental pode ser observado na Figura 20.

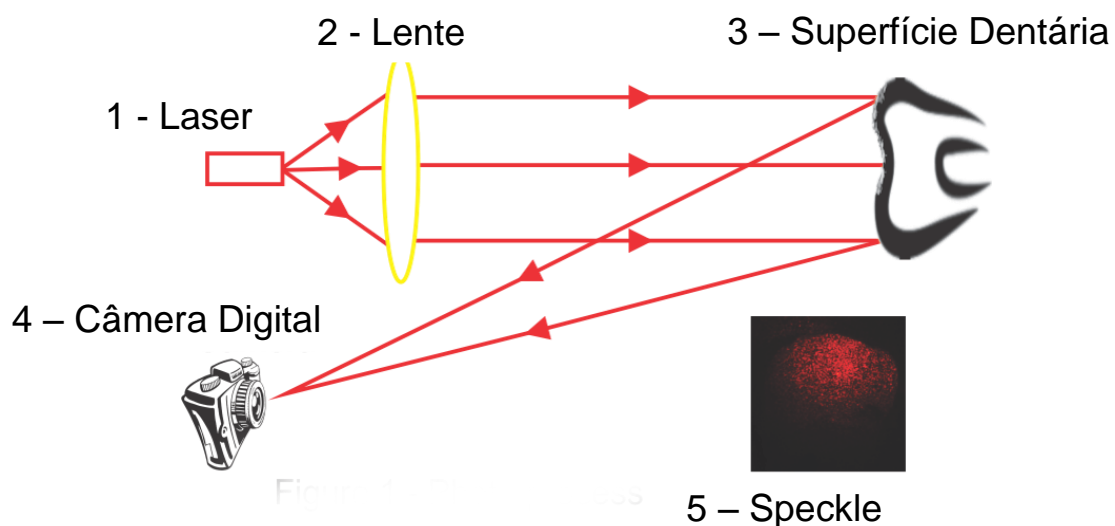


Figura 20: Diagrama do processo de Obtenção da imagem ( 1 – Diodo Laser, 2 – Lente Biconvexa, 3 – Superfície do esmalte dentário, 4 – Câmera Digital, 5 – *Laser Image Speckle ( LSI )* ).

#### 5.4. Análise da imagem de laser *Speckle*

Basicamente é uma análise da estatística de primeira ordem de um Laser Speckle Image (LSI) consiste em calcular a média de intensidade da imagem *speckle* com uma pequena janela deslizante, de 4x4 pixels, que percorre toda a imagem capturada. Esta métrica é registrada para cada pixel da janela deslizante. O valor dessa média é atribuído a um pixel em uma nova imagem, na mesma sequência do deslizamento da janela. Repetindo o processo para cada passo do deslizamento, compõe-se uma nova imagem [25]. (figura 21)

O valor é calculado por:

$$\langle I \rangle = \frac{\sum_{i=1}^n I}{n}$$

onde  $\langle I \rangle$  é a intensidade média,  $I$  é a intensidade do píxel e  $n$  é tamanho da janela deslizante.

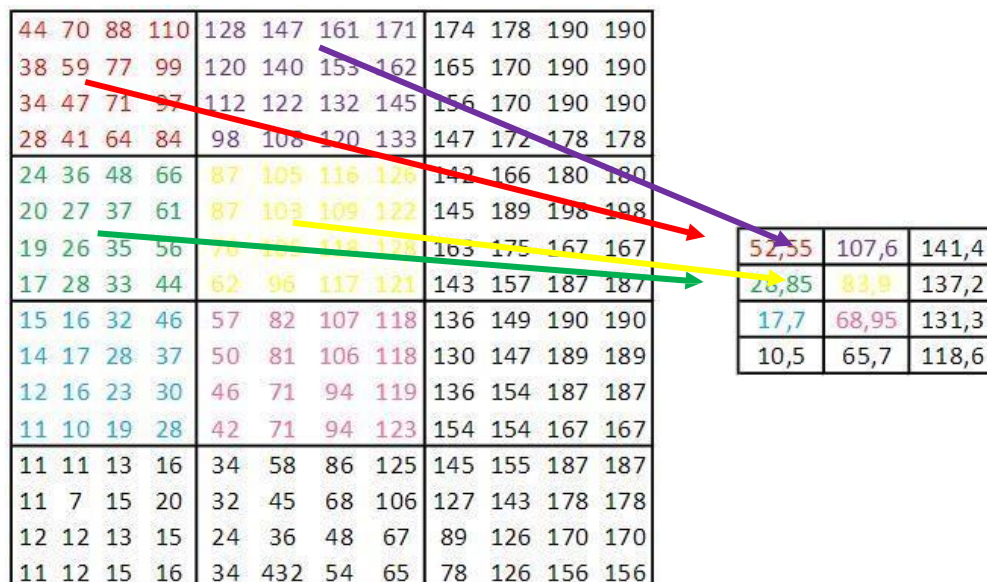


Figura 21: Análise estatística sobre a intensidade

A redução da resolução da imagem fica inversamente proporcional ao tamanho da janela deslizante [8 e 9].

Após a obtenção de um mapa de médias da LSI, foi aplicado um algoritmo de falsas cores à imagem de modo a evidenciar a lesão, conforme pode ser observado na Figura 22 e Figura 23

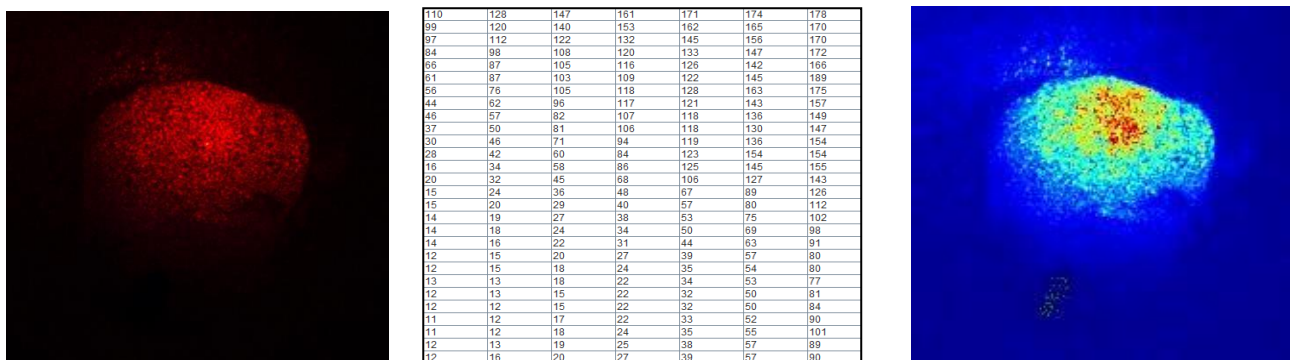


Figura 22: Processo *Speckle* – análise – cores falsas

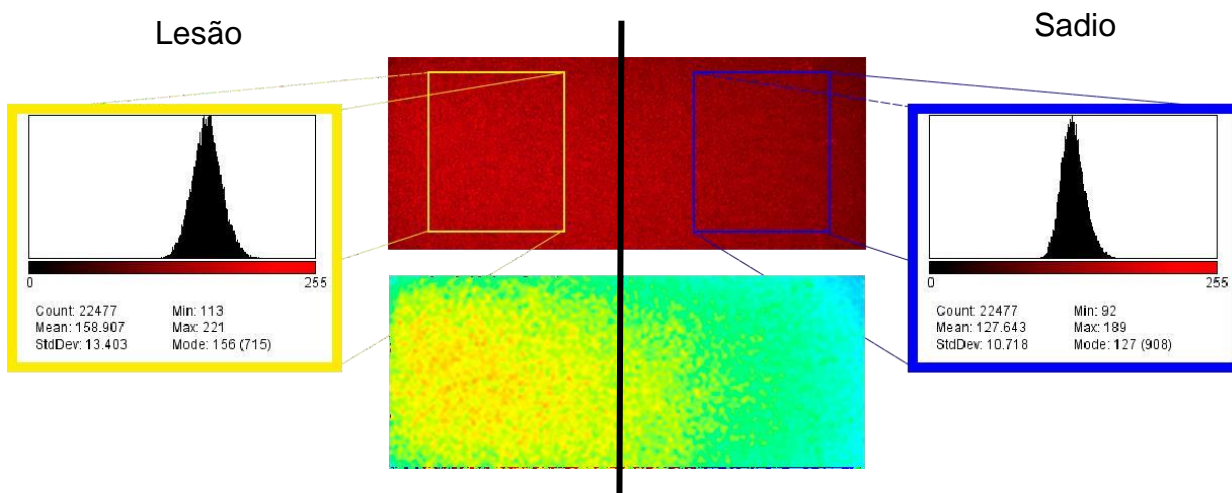


Figura 23: Análise estatística de primeira ordem  
(Fonte: software imageJ V2.0 [23])

O contraste relativo entre as regiões sadia e lesada foi calculado segundo a equação:

$$VR = 1 - \frac{C_{sadio}}{C_{lesão}}$$

Onde VR é o valor relativo, C<sub>sadio</sub> é a média de intensidade da região sadia e C<sub>lesão</sub> é a média de intensidade da região lesionada [26].

A vantagem de se utilizar dados relativos e não absolutos é que retiramos os erros ou desvios causados pelas diferentes fotometrias que podem ser utilizadas por diferentes equipamentos como, por exemplo: tempo de exposição, abertura, ângulo de incidência laser/ ângulo da fotografia entre outros.

As imagens digitais de laser *speckle* obtidas foram tratadas em processamento digital aplicando cálculos estatísticos por software proprietário escrito em SciLab 5.4 e JAVA 8.1, onde obtivemos evidências da região lesada em relação a região sadia. Ao final com a imagem normalizada trocamos por cores falsas obtendo assim a delimitação da lesão de carie (Figura 23 A, B e C).

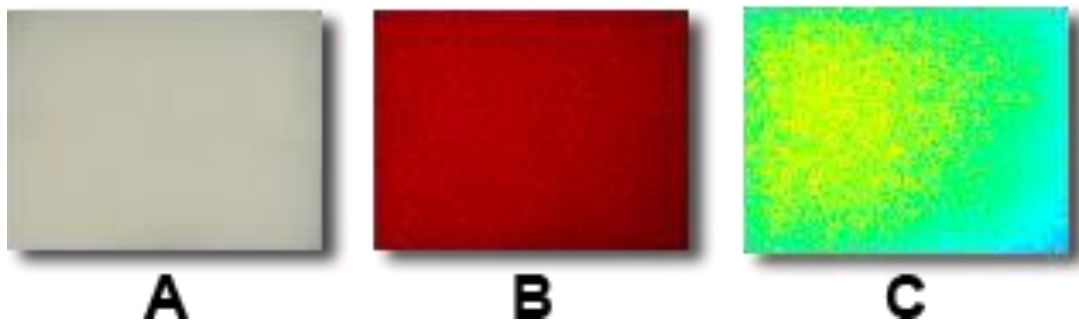


Figura 24: A) amostra sadia e lesada, B) fotografia digital do speckle, C) imagem normalizada e trocada para cores falsas

### 5.5. Análise Estatística

Neste trabalho os dados serão analisados quanto à sua normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk.

Como todos os dados apresentaram uma distribuição normal ou quase normal, a comparação entre grupos correlacionados foi realizada utilizando o teste t de Student pareado.

Para correlações foi utilizado o valor de  $R^2$  e coeficiente de correlação de Pearson. O nível de significância adotado foi  $\alpha = 0.05$

## 6. RESULTADOS

Os gráficos de linha abaixo representa por amostra a média dos valores de intensidade ( 0 a 255) das áreas lesionadas e sadias nos grupos de 24, 48 e 72 horas. Valores absolutos mostrados no anexo

A Figura 25 mostra os valores experimentais típicos de intensidade média de todas as amostras na região sadia (linha sólida laranja) e doente (linha sólida cinza) para o grupo de 24h.

Observamos que a amostra número 6 tem a região lesionada abaixo da linha média das amostras sadias, porém ela apresenta a mesma relação entre o valor da amostra lesionada x sadia.

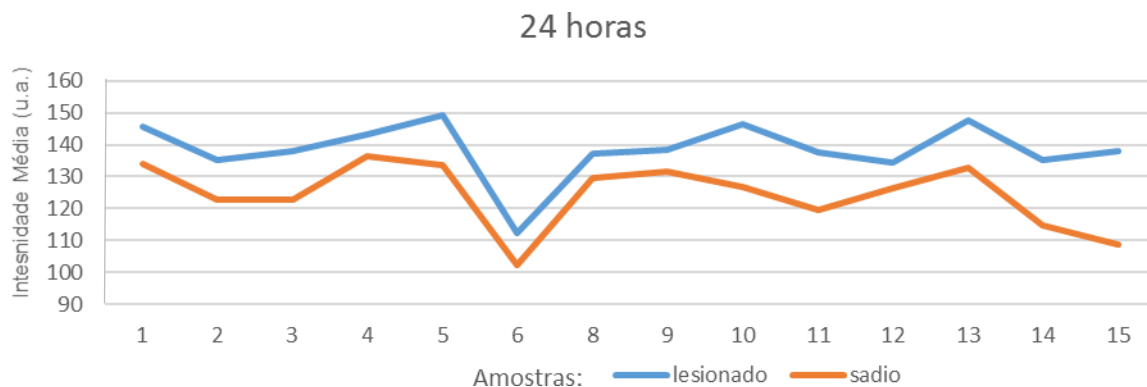


Figura 25:Comparativo com indução de lesão em 24 horas

A Figura 26 mostra os valores experimentais típicos de intensidade média de todas as amostras na região sadia (linha sólida laranja) e doente (linha sólida cinza) para o grupo de 48h.

Observamos também a ocorrência anterior na amostra número 8 tem a região lesionada abaixo da linha média das amostras sadias, porém ela apresenta a mesma relação entre o valor da amostra lesionada x sadia.



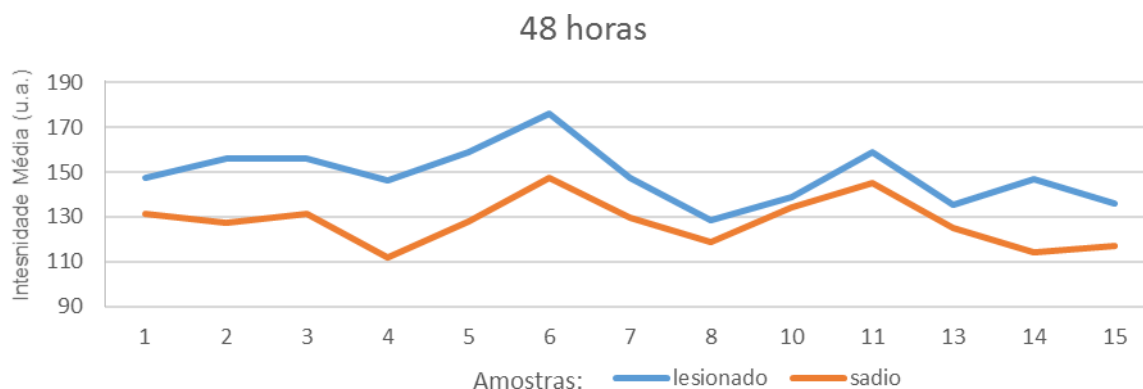


Figura 26: Comparativo com indução de lesão em 48 horas

A Figura 27 mostra os valores experimentais típicos de intensidade média de todas as amostras na região sadio (linha sólida laranja) e doente (linha sólida cinza) para o grupo de 72h

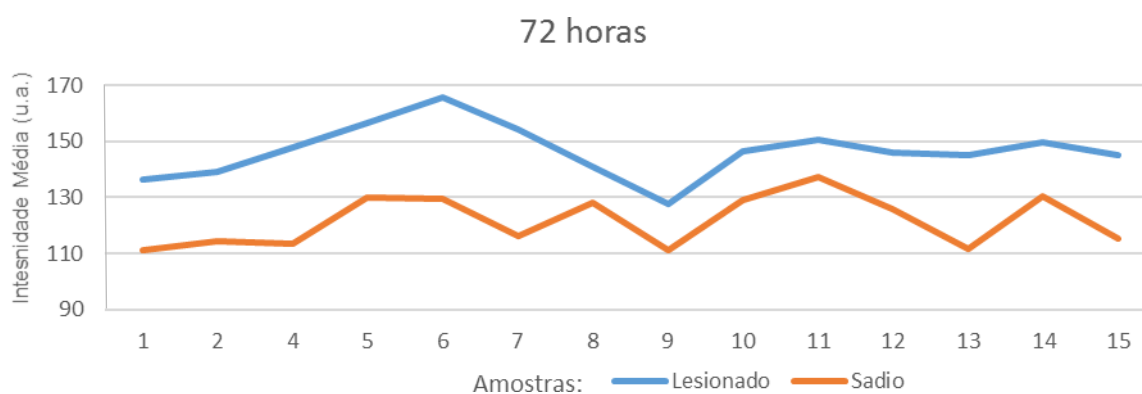


Figura 27: Comparativo com indução de lesão em 72 horas

A Figura 28 mostra um gráfico de médias de intensidade normalizada de todas as amostras em função do tempo de ataque ácido (grupos 24, 48 e 72 horas), os valores absolutos são mostrados nas tabelas em anexo, veja que o resultado é proporcional à severidade da lesão

Normalizar as medias é calcular a porcentagem dos valores médio do grupo de amostras sobre o valor máximo possível (media normalizada = media do grupo de amostras / 255).

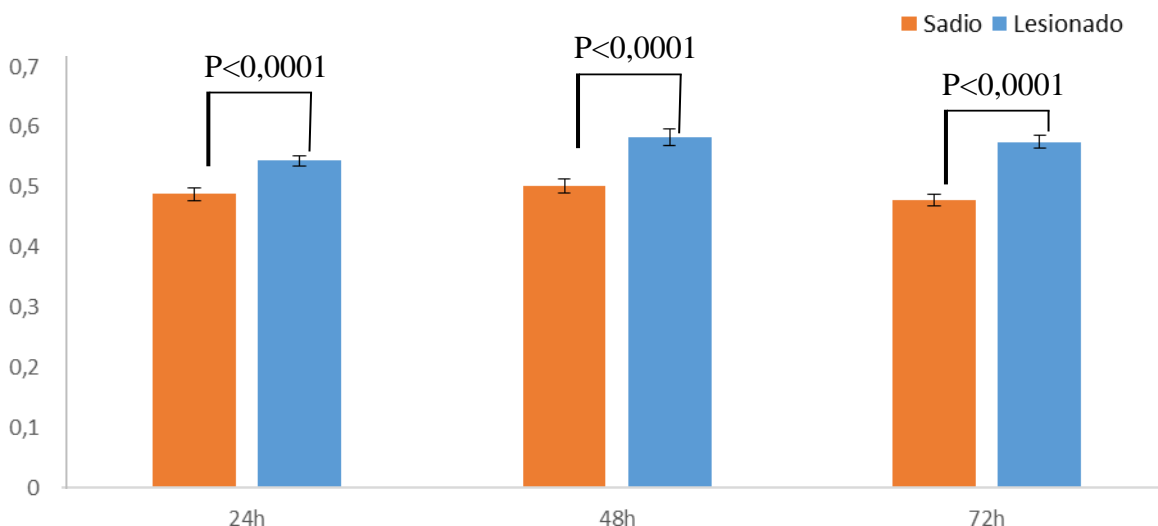


Figura 28: Normalização das médias das intensidades Sadias e Lesionadas

A Figura 28 mostra que todos os grupos experimentais diferem estatisticamente entre com a região sadia da mesma amostra ( $p < 0.0001$ - teste t pareado). As barras de erro representam o erro padrão.

A Figura 29 mostra um ajuste linear dos contrastes médio das amostras.

Contraste médio é a média total da relação entre (media amostra do lado sadio / media amostra do lado lesionado) – 1.

$$\bar{C} = \frac{\sum_{i=1}^n \left( \frac{S_i}{L_i} \right)}{n} - 1$$

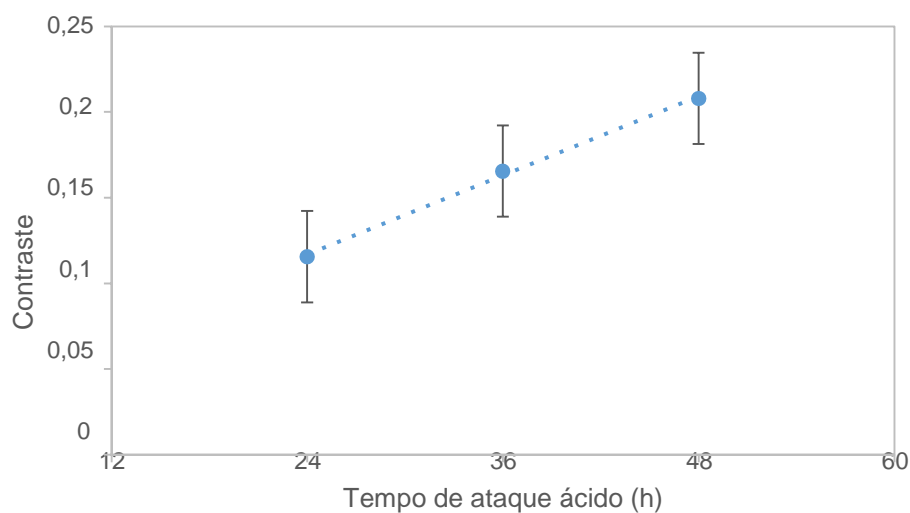


Figura 29:Correlação entre os grupos

A Figura 29 mostra que há uma correlação linear muito forte entre o contraste relativo e os tempos de ataque ácido.

Coeficiente de correção de Person:  $r = 0,9989$

$R^2 = 0,9978$

A linha de tendência foi obtida através do método dos mínimos quadrados e demonstra que para cada variação de 24 h de ataque ácido, há uma variação de aproximadamente 43 % no contraste relativo da imagem de laser *speckle*

## 7. DISCUSSÕES

Verificamos que em iluminação não coerente, a intensidade do contraste entre a região do esmalte lesionado em relação a região do esmalte sadio é ligeiramente mais elevada, ou seja, o contraste é fraco, portanto somente um dentista bem treinado e experiente estaria habilitado a detecta-lo.

Entretanto, na imagem obtida iluminada por laser este contraste é evidenciado, facilitando, portanto, a detecção da lesão, mesmo em seus estágios mais iniciais.

A Figura 30 demonstra as imagens e o processo de detecção.

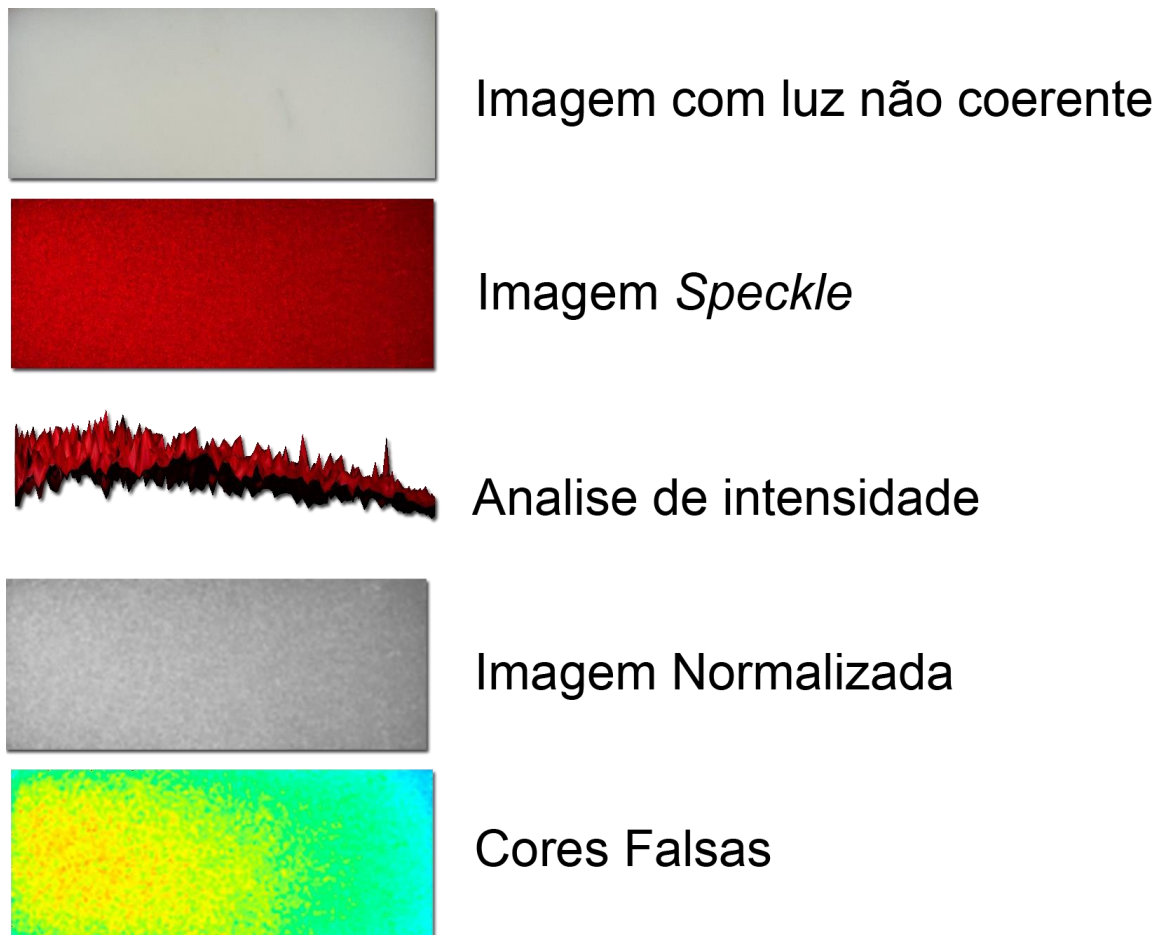


Figura 30: Diagrama comparativo do processo de detecção de caries.

A Figura 30 mostra que a análise das imagens de laser *speckle* utilizando metodologia adotada foi capaz de determinar a presença ou ausência da lesão.

O contraste relativo do grupo submetido a 24h de ataque foi de 11,5(15)%. Ao nível de significância  $\alpha = 0,05$ , há diferença estatisticamente significativa entre este grupo e a região sadia ( $p < 0,0001$ ), demonstrando que a análise dos mapas estatísticos da imagem de laser *speckle* do esmalte dental é sensível suficiente para detectar mudanças sutis da microestrutura dental provocadas pelo processo de indução da lesão.

Aumentando-se o tempo de ataque ácido, há uma evolução no contraste relativo para 16,5(23)% e 20,8(20)%, respectivamente, para 48 h e 72 h de ataque, demonstrando uma correlação entre o processo de indução (tempo de ataque) de lesão similar à carie incipiente (mancha branca) e a imagem de laser *speckle*. Este tempo de ataque é proporcional à severidade da lesão.

A Figura 29 mostra que a proporção entre a severidade da lesão e o contraste da imagem é linear ( $R^2 = 0.9978$ ), o que demonstra a habilidade do método proposto de não apenas detectar a lesão, mas fornecer informações quantitativas sobre a mesma.

É importante mencionar que as lesões induzidas para este trabalho foram muito incipientes. Dependendo do avaliador, tais lesões sequer atingem o nível 1 na escala de ICDAS, entretanto o método proposto foi sensível o suficiente para determinar as alterações nas amostras.

## 8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo procurou demonstrar, pela primeira vez, que utilizando a análise de padrão de espalhamento da luz coerente *speckle*, aumentou-se o contraste entre tecido dental sadio e tecido dental lesionado sendo possível detectar a mancha branca com base em suas propriedades ópticas, de forma não destrutiva e não invasiva.

Com a aplicação da estatística de primeira ordem nas imagens provenientes deste retro espalhamento da luz coerente aplicado sobre a superfície do esmalte dental, foi possível quantificar a progressão da lesão incipiente similar à carie (mancha branca), verificando, dessa forma, uma correlação linear existente entre o padrão de espalhamento óptico e a severidade da lesão nessa superfície.

## 9. ANEXOS

### 9.1. Tabelas de intensidades

Os valores absolutos das medias de intensidades dos lados lesionados e sadios são mostrados abaixo.

<b>24 horas</b>		
	Media de intensidade	
Amostras	Região lesionada	Região sadia
1	145,717	134,037
2	135,332	122,637
3	137,845	122,618
4	143,341	136,414
5	149,145	133,619
6	112,102	102,222
8	117,602	123,346
9	137,263	129,724
10	138,550	131,562
11	146,584	126,581
12	137,481	119,672
13	134,335	126,473
14	147,571	132,714
15	135,383	114,735

Tabela 2: valores de intensidade grupo 24 horas.

<b>48 horas</b>		
	Media de intensidade	
Amostras	Região lesionada	Região sadia
1	147,193	131,506
2	155,967	127,543
3	156,306	131,132
4	146,126	112,103
5	158,907	127,643
6	175,870	147,556
7	147,375	129,687
8	128,689	118,742
10	138,657	134,205
11	158,790	145,175
13	135,472	125,141
14	146,709	113,992
15	136,063	117,104

Tabela 3: valores de intensidade grupo 48 horas.

<b>72 horas</b>		
	Media de intensidade	
Amostras	Região lesionada	Região sadia
1	136,359	111,267
2	139,408	114,375
4	148,001	113,576
5	156,682	129,872
6	165,876	129,705
7	154,268	116,100
8	141,070	128,305
9	127,576	111,065
10	146,739	129,224
11	150,500	137,278
12	146,064	126,042
13	145,221	111,596
14	149,874	130,524
15	145,293	115,092

Tabela 4: valores de intensidade grupo 72 horas.



## 10. REFERÊNCIAS

- [1] ABOPREV. Promoção de saúde bucal ; ABOPREV; 1999. 475 p. ilus
- [2] AMAECHI BT, HIGHAM SM. Dental erosion: possible approaches to prevention and control. *Journal of Dentistry*. 2005; 33
- [3] APFEL, M. et al. Potencial anticarogênico dos queijos, *Revista Brasileira de odontologia*, V.59, n.3, p.200-202, maio/Junho 2002
- [4] ARAUJO, GSA. e SFALCIN RA, et al, Evaluation of polymerization characteristics and penetration into enamel caries lesions of nexperimental infiltrants, *journal of dentistry* 41 (2013 ) 1014 – 1019
- [5] BARRON RP, CARMICHAEL RP, MARCON MA, SANDOR GK. Dental erosion in gastroesophageal reflux disease. *J Can Dent Assoc*. 2003; 69:84-9.
- [6] BERGKVIS 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
- [7] BRAGA MM, MENDES FM, GIMENEZ T, EKSTRAND KR. PRO-Odonto Prevenção, Universidade de São Paulo, 2012;5(4):9-55
- [8] BRIERS, J. D., 'Laser speckle techniques in biology and medicine, *Proc. SPIE* 2083, 238–249 (1994).
- [9] BRIERS, JD Laser Doppler, *speckle* and related techniques for blood perfusion mapping and imaging. *Physiological Measurement*, Bristol, v. 22, n. 4, p. 35-66, Dec. 2001.
- [10] BUSSATO ALS; *Dentística – Filosofia, Conceito e Prática clínica*; Porto Alegre – Brasil; 2005
- [11] CREATH K. Phase-shifting *speckle* interferometry, *Appl. Opt.* 24 (18), 3053 (1985)
- [12] DAINTY JC, *Laser Speckle and Related Phenomena*, Springer, Berlin (1975)
- [13] DEANA AM, JESUS SHC, KOSHOJI NH, BUSADORI SK, OLIVEIRA MT. Detection of early carious lesions using contrast enhancement with coherent light scattering (*speckle* imaging). *Laser Physics*, 23, p.075607, 2013
- [14] DINIZ PSR; DA SILVA EAB; NETTO SL; *Processamento Digital de Sinais: Projeto e Análise de Sistemas*; Bookman (edição digital);2013
- [15] ERF RK, *Speckle Metrology* (Academic, Nova Iorque,1978).

- [16] FEJERSKOV O; KIDD E. Cárie dentária: a doença e seu tratamento clínico. 1. ed. São Paulo: Santos, 2005.
- [17] FILHO JCB, SOUZA RT, Revisão Odontológica Universidade Cidade de São Paulo, 2011; 23(3): 253-65
- [18] GONZALEZ RC; WOODS RE. Processamento Digital De Imagens, Pearson Education – Br; 3ª Ed.; 2011
- [19] 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.
- [20] GOODMAN JW, “Some fundamental properties of *speckle*”, J. Opt. Soc. Am. 66 (11), 1145 (1976)
- [21] GRIPPO JO, SIMRING M, SCHREINER S. Attrition, abrasion, corrosion and abfraction revisited: a new perspective on tooth surface lesions. J Am Dent Assoc. 2004; 135:1109-18; quiz 63-5.
- [22] HAUSEN H. Caries prediction: state of the art. Community Dent Oral Epidemiol., v. 25, n. 1, p. 87- 96, 1997.
- [23] ImageJ, elaborado por Wayne Rasband, National Institutes of Health, USA. Disponível em <http://rsb.info.nih.gov/ij>. Acesso em 06/2016.
- [24] KARLSSON L. Caries detection methods based on changes in optical properties between healthy and carious tissue. Int J Dent. 2010:270729. E pub 2010 Mar 28
- [25] KOSHOJI, N. H. ; BUSSADORI, S K ; BORTOLETO, C. C. ; PRATES, R. A. ; Oliveira, M. T. ; DEANA, A M . Laser Speckle Imaging: A Novel Method for Detecting Dental Erosion. Plos One , v. 10, p. e0118429, 2015.
- [26] KOSHOJI, N. H. ; BUSSADORI, S K ; BORTOLETO, C. C. ; OLIVEIRA, M.T. ; PRATES, R. A. ; DEANA, A M . Analysis of eroded bovine teeth through laser speckle imaging. Proceedings of SPIE, the International Society for Optical Engineering , v. 9306, p. 93060D, 2015.
- [27] KOZLOWSKI FC, KOZLOWSKI JR VA. Laser Fluorescent (DIAGNOdent) como diagnóstico da cárie dentária. Biol Healthy Scie. 2001. 7(1):47-51.
- [28] MOYNIHAN P1, PETERSEN PE. Diet, nutrition and the prevention of dental diseases. Public Health Nutr. 2004 Feb;7(1A):201-26.

- [29] PEDRINI H, SCHWARTZ WR. Análise de imagens digitais: princípios, algoritmos e aplicações - 2008 - Thomson Learning
- [30] PINTO, V. G. Saúde Bucal Coletiva. 4. ed. São Paulo: Santos, 2001.
- [31] RABAL HJ, BRAGA JR RA, TRIVI M, RABELO GF. Dynamic laser *Speckle* and applications. New York: CRC, 2008. v. 1, 282p.
- [32] RODRIGUES JA. Novas tecnologias para detecção de lesões de cárie oclusal. Dissertação (Mestrado) faculdade de Odontologia da Universidade Paulista. Araraquara. SP. 2005.
- [33] SALOMÃO PMA; Efeito de tipo de lesão cáriosa artificial em esmalte bovino sobre o potencial remineralizante da saliva, do dentífrico e do verniz fluoretado; Bauru; 2013
- [34] SILVA RE. Estudo das propriedades do *biospeckle* e suas aplicações. Dissertação. Instituto de Física da Universidade de São Paulo. 2007.
- [35] SCHLUTER N, HARA A, SHELLIS RP, GANSS C. Methods for the measurement and characterization of erosion in enamel and dentine. Caries Res. 2011; 45(Suppl 1):13-23
- [36] THYLSTRUP A, FEJERSKOV O. Cariologia clínica. São Paulo: Santos; 1995.
- [37] WEYNE, S. C. Cariologia. In: BARATIERI, L. N. et al. Dentística: Procedimentos Preventivos e Restauradores. São Paulo: Santos, 1989.