TATIANE FERNANDES DE NOVAES

**Utilização de métodos baseados em fluorescência para avaliação da
atividade de lesões de cárie oclusais em molares decíduos**

São Paulo

2013

TATIANE FERNANDES DE NOVAES

**Utilização de métodos baseados em fluorescência para avaliação da
atividade de lesões de cárie oclusais em molares decíduos**

Versão Original

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, para obter o título de Doutor, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas.

Área de Concentração: Odontopediatria

Orientador: Prof. Dr. Fausto Medeiros Mendes

São Paulo

2013

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo-na-Publicação
Serviço de Documentação Odontológica
Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Novaes, Tatiane Fernandes de.

Utilização de métodos baseados em fluorescência para avaliação da atividade de lesões de cárie oclusais em molares decíduos / Tatiane Fernandes de Novaes ; orientador Fausto Medeiros Mendes. -- São Paulo, 2013.

81 p. : il.: tab., quadros ; 30 cm.

Tese (Doutorado) -- Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas.
Área de Concentração: Odontopediatria. -- Faculdade de Odontologia da
Universidade de São Paulo.

Versão original

1. Cárie dentária - Diagnóstico. 2. Fluorescência - Odontologia. 3. Placa bacteriana. 4. Odontopediatria. I. Mendes, Fausto Medeiros. II. Título.

Novaes TF. Utilização de métodos baseados em fluorescência para avaliação da atividade de lesões de cárie oclusais em molares decíduos. Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências Odontológicas.

Aprovado em: / /2013.

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a)._____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a)._____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a)._____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a)._____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a)._____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a)._____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Aos meus pais, **Januário e Elzi**, meus exemplos de vida, caráter, força e
coragem! Agradeço o amor e o apoio sempre incondicionais!
AMO MUITO VOCÊS!

Ao meu amor, **Júnior**
Obrigada por existir em minha vida de forma tão perfeita!
Sou muito mais feliz porque tenho você ao meu lado!
TE AMO MUITO!

À nossa mais linda e amada princesa, **Duda**
Presente Divino, a sua chegada tornou as nossas vidas muito mais felizes,
dando muito mais sentido à nossa existência!
AMAMOS VOCÊ MAIS QUE TUDO!

Aos meus irmãos **Hugo e Thiago** que sempre me incentivaram!
Vocês são um pedaço de mim, me enchem de orgulho e admiração!
AMO VOCÊS

Dedico este trabalho

AGRADECIMENTOS

Agradeço a **Deus** que, dia após dia, Guia meus passos, Ilumina meus caminhos, Suaviza minhas angústias! Planeja TUDO de forma muito perfeita na minha vida! Tenho CERTEZA da Tua Força em nossas vidas diariamente, quando costumo dizer que certamente o **NOVAES** brilha em letras garrafais e em negrito na enooooorme lista de sobrenomes que Zelas em Tuas Graças!

Agradeço aos **meus pais** por tudo que representam em minha vida. Vocês construíram uma família linda da qual tanto me orgulho! Vocês nos ensinaram tudo! Dedicaram uma vida inteira de amor e cuidados com o nosso lar, com o nosso pão de cada dia, com a nossa educação. Exemplos de fé, doação, caráter, coragem, força, verdade e amor. Obrigada pelo carinho e proteção sem limites e sem fronteiras, sentimentos todos ainda mais marcantes depois do nascimento da Duda, a quem dedicam tudo de melhor também. Cheguei até aqui por mim e por vocês a quem eu devo TUDO! Obrigada pelo amor, carinho, apoio e motivação sempre incondicionais.

Meu amor, **Júnior**, faltam palavras pra agradecer a dedicação, a confiança, a segurança, o carinho e o amor que me oferece! Obrigada pela paciência em me ouvir, pela compreensão de sempre, pelo apoio, cumplicidade, pela tão amável, feliz e perfeita convivência. Me orgulho muito da pessoa que você é, responsável e maravilhoso como marido, pai, amigo, filho, irmão, tio, genro (e sobrinho), cunhado (e primo), patrão, sócio... Tudo fica mais fácil porque tenho você ao meu lado. Obrigada, acima de tudo, pela nossa filha linda e por cuidar tão bem de nós duas! Vocês são a razão da minha vida! Tenho certeza que teremos longos anos de vida MUUUUITO FELIZES, JUNTOS PRA SEMPRE.

Minha tão doce e amada **Dudinha** (como ela mesma se denomina)! Você trouxe muita luz, muita graça, mais amor, mais e mais felicidade aos nossos dias! Meu qualis A com maior fator de impacto hehe. Hoje eu sei como é

INTENSO, como é MARAVILHOSO, como é FELIZ ser mãe, porque fui abençoada com o seu nascimento. Amor e felicidade que não cabem em palavras! É sentimento e mais sentimento, é emoção e mais emoção, são muitas lágrimas doces da mais feliz felicidade, do mais amado amor. Aconteça o que acontecer, eu sei que ao chegar em casa meus problemas acabam, sufocados pelo melhor e mais forte abraço e beijo seus. Dona do mais gracioso sorriso, do mais caloroso abraço, da mais gostosa travessura, do mais perfumado cheirinho e até do choro forte que ensurdece hehe mas que também é mudo, que existe pra nos ensinar a cuidar de você, a ser ainda melhor por você. Obrigada por ser tão perfeita, tão carinhosa, tão nossa! É muito fácil ser mãe de uma criança maravilhosa como você. A mamãe ama muuuuuuito você!

Aos meus irmãos e cunhadas, **Hugo, Thiago, Rose e Marcela**, agradeço o amor, carinho, incentivo, e compreensão. Obrigada pelos momentos felizes, de descontração inesquecíveis nas nossas visitas à Bahia ou nas vindas de vocês a São Paulo. Amo esses dias de terapia familiar que dão forças pra nossa caminhada. Muito obrigada por todo amor e cuidado que dedicam à nossa Duda, sempre radiantes, participativos e empolgados com as suas travessuras diárias. Queremos muito poder estar pertinho de vocês sempre mais e logo.

Ao **orientador** mais amigo, mais amado, mais humano, mais perfeito, mais zeloso, maravilhoso, admirável, um exemplo e pai de todos nós (e agora do nosso caçulinha JP também)! Na dissertação do mestrado eu agradei as broncas que me ajudaram a me tornar quem eu sou. Hoje, nem puxões de orelha você me dá mais! Até mesmo quando meu desempenho “não é o ideal hehe”, você confia em mim, sempre incondicionalmente e mais do que eu mesma! **Fausto**, não tenho como expressar tamanho respeito e admiração que sinto por você! Muito obrigada pela amizade, pelo apoio, pela confiança, pela proteção, pela motivação, pelas oportunidades de sempre. Eu devo tudo a você, que desde o início guiou meus passos com muita paciência, dedicação e sabedoria! Cheguei até aqui sob o conforto e incentivo da sua voz zelosa e cautelosa insistentemente dizendo: “Confie em mim!” Confiei, confio e vou

confiar sempre! Você nunca me decepcionou, sempre cuidou de mim e de tudo com muita genialidade, às vezes enxergando muito além do que eu via, acertando sempre. Na surpreendente chegada da Duda (JURO que não sabia que estava grávida na prova do doutorado!) você continuou confiando em mim, me apoiando, protegendo e nos dedicando muito amor e carinho nesse momento tão especial. Você foi o “guru” mágico da minha vida! Hoje eu ainda não sei como vão ser os meus dias sem vocês todos da pediatria ao meu lado, mas mais uma vez eu sei que tudo vai dar certo porque tenho tudo de mais feliz que a vida podia me oferecer e porque tenho você ao meu lado, como mestre e como amigo. Agradeço todos os dias a sua presença em minha vida. Sou sua fã e espero poder continuar trabalhando e aprendendo junto com você sempre.

Mari ... Na primeira viagem de férias do chefe você descobriu e confiou em nós (dupla dinâmica Tati e Tuca) gratuitamente. Não vamos esquecer nunca, somos eternamente gratas a você. E a partir de então, quanto mais eu a conhecia, mais eu a admirava. Você é um exemplo muito lindo e doce de amizade, competência, dedicação, força e sabedoria! E além de tudo, está sempre disposta a tudo por todo mundo. Sempre positiva, carinhosa, paciente, atenciosa, solidária e ainda sorridente. Digna de muuuitos elogios, admiro você imensamente. Obrigada pelo cuidado e amizade de todos os dias, sempre prestando atenção se estava tudo bem ou não tão bem, trazendo assim as palavras certas, o carinho e a atenção de quem está sempre disposta a ajudar. Uma delícia e um orgulho muito grande em ter você pertinho. Obrigada por tudo. E a Dudinha também ama a “tia Mari”.

São quase seis anos de vida muito feliz e agraciada na pediatria da FOU SP. Uma longa jornada onde conheci muuuuuitas pessoas especiais. É tanta gente que receio esquecer de alguém, mas todos, indiscriminadamente, **TODOS** tiveram lugarzinho especial nessa história, marcaram a minha vida de alguma maneira, contribuíram de alguma forma para que eu me tornasse quem eu sou hoje e para que eu conquistasse mais esse sonho, concluindo o doutorado. Também muuuuuito especiais (e cada um, além do que aqui estiver descrito,

sabe o quanto), mas pra não ficar cansativa e até pra economizar lágrimas que quase me levam a desidratação (RS!), vou ter que “economizar” nos adjetivos e agradecimentos, mas AMO TODOS DO FUNDO DO MEU CORAÇÃO!

A começar pelos **professores** MARAVILHOSOS da pediatria com os quais tenho muito orgulho em conviver, com quem sempre aprendi muito, sendo grandes exemplos para mim. A minha eterna gratidão e admiração a vocês professores: **Dani, Mari, Fausto, Márcia, Marcelo, Imparato, Ana Estela, Ana Lidia, Claudinha**. Aos que, no começo de tudo, me fizeram descobrir os encantos da pediatria, de quem eu sempre quis um autógrafo, porque na Bahia só conhecíamos e estudávamos os seus livros: querida **Profa. Salete e Prof. Guedes**, muito obrigada. Nunca vou esquecer as histórias de vida contadas na copa pelo Prof. Guedes e a convivência tão doce e prazerosa com a Profa. Salete.

Dani Raggio... a você, um agradecimento muuuuito especial e sincero. É um prazer enorme, uma alegria e um orgulho muito grande poder conviver com você. Sempre delicada, atenciosa, equilibrada, solícita, mãe, mulher, amiga, linda e competente. Você é uma pessoa incrível, admirável, encantadora! Sabe que mora no meu coração! Sou sua fã!

Imparato... Muito obrigada pelas oportunidades, pela confiança e amizade. Sempre aprendi muito com você e é um prazer, uma honra e um orgulho muito grandes poder fazer parte da sua equipe.

E como diz a minha querida **Alê**... “QUEM TEM AMIGOS TEM TUDO! E EU TENHO TUDO E MAIS ALGUMA COISA! Sou feliz, muito feliz, porque pude conhecer e conviver com pessoas muito especiais, fazendo o que eu gosto.

Tukinha, minha irmã, companheira e amiga desde o início. Você sabe o que nossa amizade e parceria representa pra mim. Vc foi a metade morena e de

muito bom humor da dupla Ta-Tu hehe. E assim seguimos sempre, num só passo, rumo a conquistas e sonhos que vem se multiplicando, num dia-a-dia muito harmônico e feliz. Obrigada pelo carinho e compreensão de sempre. Nossa parceria e irmandade é pra sempre. Amo você.

E junto comigo e **Tuquinha** (hoje 'Marianete' também) na ala feminina no time das '**Faustetes**', seguindo a cronologia dos acontecimentos... A primogênita **Mari, Fê Nahas, Paulinha, Babou, Dani Bittar, Chaia, Thatá, Renatinha** e a caçula **Laurinha**. Fomos muito felizes sob a guarda do nosso anjo protetor (FMM), e eu mais feliz ainda em ter compartilhado tudo isso com vocês. AMOOOOOOO VOCÊS! **Mari** e **Tukinha**, obrigada de novo e sempre! Queridas **Fê Nahas** e **Babou**, vocês são um espetáculo! Adoro vocês! **Paulinha** ... descobrimos muitas coisas juntas; te admiro muito e torço de coração pelo seu sucesso e felicidade! **Dani**, o seu bom humor e gargalhadas tornavam as nossas reuniões e afazeres muito divertidos; vc faz falta mas felizmente está sempre nos visitando. **Thatá** e **Chaia** queridas... o que dizer de vocês que me fazem chorar só de alegria e emoção, que me fazem rir nas horas de descontração, que me fazem muuuuuuito feliz e grata com a amizade e carinho de vocês. Muito obrigada por me deixarem fazer parte da vida de vocês! Vocês maravilhosas, AMO MUITO VOCÊS! **Renatinha** ... Obrigada pela doçura, carinho e atenção de sempre. Você é uma fofa! E **Laurinha** ... o que seria de mim sem você! Você é dona de um coração enorme, filha linda e amável, doce, mãe dedicada dos seus cãezinhos, organizada, prendada, inteligente! Muuuuuuuuito obrigada pela ajuda impecável e fundamental em todo nosso trabalho! Você já é um sucesso mas tenho certeza que vai muito mais longe! E na ala masculina, também sob a supervisão do nosso chefe, convivemos amigável e prazerosamente com o **Vitor, Felipe e Eduardo**. Obrigada.

Aos meus colegas de **turma do mestrado Lu, Jana, Ba, Paula, Jenny, Chris, Fabi, Isa, Cássio, Thiago e Felipe**. Começamos juntos nessa caminhada, onde aprendemos como estudantes de pós-graduação e como pessoas. Obrigada a todos vocês. Saudades dos que estão distantes. Com quem eu convivo mais de pertinho... **Lu** e **Jana** minhas queridas, vocês sabem o quanto

são especiais pra mim! AMO VOCÊS! Não tenho como agradecer o carinho, amizade e cuidado que vocês sempre ofereceram pra mim e pra nossa Duda também. Mamães lindas, dedicadas, maravilhosas! Sinto muita falta da nossa convivência diária, mas vocês estão sempre no meu coração. O que dizer da minha amada **Babou**! Você é uma das pessoas mais guerreiras e batalhadoras que conheci! Um grande exemplo de competência e profissionalismo para mim! E pessoalmente, foram grandes e felizes as inúmeras descobertas no período que convivemos mais pertinho. Você é uma amiga admirável, querida, atenciosa, companheira, justa e sincera! E ainda mãe, filha, esposa, linda! Te adoro Ba! E quero ver você sempre mais e mais feliz! **Jenny** querida, fico feliz que tenhamos ganhado tempo para nos redescobrir! Obrigada pela atenção, carinho e amizade! Você é a pessoa mais guerreira que eu conheço! Um grande exemplo de força e coragem pra mim! Torço muito pelo crescimento do sucesso que já é fruto do seu trabalho e pela sua felicidade. **Cássio**, além de um amigo querido, meu professor admirável da época de estágio prático e agora do curso de orto para odontopediatras. Você sabe que sou sua fã! Te admiro demais demais demais. Como pessoa, como professor, como odontopediatra, cirurgião, ortodontista, como profissional, como amigo, como filho, como tio, irmão... Sempre aprendi e continuo aprendendo muito com você.

Aos meus colegas da **turma oficial de doutorado Chris, Jana, Jenny, Tuca, Alê, Camilinha, Dani Bittar, Dani Hesse, Karlinha, Thaisinha, Nadia, Tathi Lenzi, Vanessinha, Tamarinha e Juan** que chegaram um pouco depois. Vocês todos são muito especiais. Fui muito feliz em fazer parte dessa turma. A Duda nasceu agraciada e apadrinhada por muuuuuuito carinho e mimos oferecidos por todos vocês. Eu nunca vou me esquecer disso. Eu estava longe da minha família durante toda gravidez mas tinha o amor e amizade de vocês. Obrigada do fundo do meu coração. **Alê** querida! Como fui feliz trabalhando com você dia a dia na nossa empreitada com o QLF! Você é uma pessoa de caráter e personalidade geniais! Equilibrada, companheira, guerreira, competente, incrível. Te admiro muuuuuuito! Obrigada por tudo! Só cheguei até aqui também com o seu apoio e dedicação. Te adoro Lê! **Dani Bittar, Dani Hesse, Karlinha, Tuca, Tâmara e Juan** representavam a ala sorriso da turma!

Sempre bem humorados, organizadores de adoráveis festinhas, cafés. Prazeroso o dia a dia com vocês. **Karlinha** querida, seu bom dia radiante será inesquecível, fez mais feliz os meus dias. Admiro sua força e coragem em superar as dificuldades! Torço muito por você! **Nadinha**, como lhe admiro! Além de bem humorada, FELIZ! Buscando seus ideais de vida e felicidade com uma simplicidade, alegria e energia que eu sempre admirei. E a cada conquista ou a cada elogio, a felicidade sincera e espontânea como de uma criança que acaba de ganhar o doce favorito! Uma delícia te admirar! **Tamarinha** amada... nos descobrimos mais recentemente na turma mista de alunos novíssimos, novos, semi-novos e usados hehe. Você é um doce de pessoa! Cuida sempre muito bem de todo mundo; lembra sempre de cuidar de mim também! Obrigada! E ainda uma amiga linda, competente, admirável. Te adoro. **Vanessinha**, admiro muito o seu lado verdadeiro, sua determinação e espontaneidade em levar a vida e os desafios. Acredite em você e eu estarei aqui na torcida. Obrigada pelo carinho e amizade de sempre. Na ala das *paquitas*, as sempre dedicadas e competentes, além de lindas e loiras **Tathi Lenzi**, **Camilinha**, **Dani Hesse** e **Tamara**. Obrigada pela amistosa e prazerosa convivência. **Thaisinha** querida, já falei de você mas nunca é demais repetir que te adoro, te admiro, amo você. Obrigada por tudo de novo.

Amiga linda, **Andrezza**, que foi minha aluna de estágio prático e da minha primeira aula na Fundecto, se tornou amiga querida, sempre atenciosa e sorridente. Seja uma boa sogra pra minha Duda hein (*risos*)! Amo você e sua família (meu genro Mig é um fofo lindo, amo)! Obrigada!

E à turma nova que inclui os semi-novos e usados (*RS*) ... **Ana Flávia** (querida de longas datas), **Thata** (amada), **Ju Kimura** (você é o docinho eu amo), **Renatinha** (fofa), **Alê** (minha amiga irmã), **Tamarinha** (a maezona da turma), **Dani Hesse**, **Ju Matos**, **Isa**, **Camila**, **Gustavo**, **Juan**, **Caleb**, **Rafa**, **Levy**, **Paty** e **Gabi**. Vocês também são muito especiais. Adoro também fazer um pouco parte dessa turma. Muito obrigada pelo carinho, cuidado, receptividade e atenção que sempre me ofereceram. É uma delícia a convivência com todos vocês.

Agradeço aos colegas de turmas passadas que deixaram pra gente exemplos de competência, dedicação e amizade. Entre eles, **Gabi, Monique e Ba**, muito obrigada pela adorável convivência, pela confiança, parceria e amizade na época de UNIARARAS. Saudades das terapias de 200 km de viagem hehe. Foi muito bom aprender com vocês que são grandes exemplos pra mim.

Aos meus queridos **Fá, Marise, Anne, Júlio e Antônio**. Vocês são incríveis. Muito obrigada pela atenção e afeto. Vou lembrar pra sempre dos bolos e das gargalhadas da Fá pelos corredores, do cafezinho e conselhos carinhosos do Júlio, do apoio e paciência da Marise, da doçura e dedicação da Anne, do apoio e competência do Antônio. Minha jornada teria sido muito mais difícil sem o cuidado e atenção de vocês. Vocês vão morar pra sempre no meu coração.

Aos demais funcionários do Departamento de Ortodontia e Odontopediatria que sempre me ajudaram.

Às queridas **Gê, Lili e Elaine**, secretárias do LELO que receberam a nós e aos nossos pacientes com muito carinho e paciência. Muito obrigada.

À Profa. **Patrícia Moreira Freitas** que concedeu autorização para que trabalhássemos com o QLF no LELO, além de toda atenção e prestatividade na solução das dúvidas e dilemas na utilização desse aparelho. Obrigada.

Aos **pacientes** da minha pesquisa que permitiram a concretização desse trabalho, sempre atenciosos e amáveis.

Aos **alunos** de graduação da época de UNIARARAS, estágio PAE na FOUSP e cursos da São Leopoldo Mandic (em especial à turma 751 da SLM Campinas) e Fundecto que fizeram parte do meu aprendizado.

Aos meus adorados e saudosos **professores de Odontopediatria da UEFS** e especialização. Vocês sempre foram um grande exemplo pra mim. Descobri e

me dediquei à Odontopediatria porque vocês apareceram no meu caminho. Obrigada por tudo.

Hay, Nanda, Mila, Iza, Kika e todos os outros colegas de turma do meu curso de **graduação**. Vocês serão sempre queridos. Amigas, admiro muito vocês e sinto muita falta de vocês pertinho de mim. Adoro vocês.

Queridos sobrinhos, **Kaká e Dito**, obrigada pelos fins de semana prazerosos (antes e depois da chegada da Duda) que sempre recarregaram as minhas energias para cada segunda-feira. A titia ama vocês.

Agradeço a toda minha família e todos os meus amigos que sempre torceram por mim. Em especial aos meus cunhados **Edinaldo, Juliana, Marta** pelo apoio e convivência felizes de sempre em todos os nossos momentos de alegria ou dissabores vividos aqui em SP, longe dos nossos demais familiares.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (**FAPESP**), pela concessão da bolsa para realização deste estudo (Processo Nº 2009/16082-0). Muito Obrigada.

Gostaria de agradecer também ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro à essa pesquisa decorrente do Edital Jovens Pesquisadores coordenado pelo Prof. Fausto Medeiros Mendes (processo 565061/2008-9).

A todos os funcionários do **SDO** pela estruturação, formatação, correção das referências e pela elaboração da Ficha Catalográfica.

Obrigada a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha vida e contribuíram para a realização desse trabalho.

O autor gostaria de declarar que não tem nenhum tipo de interesse comercial ou financeiro em nenhum produto ou empresa citados na pesquisa.

RESUMO

Novaes TF. Utilização de métodos baseados em fluorescência para avaliação da atividade de lesões de cárie oclusais em molares decíduos [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2013. Versão original.

O objetivo do presente estudo *in vivo* foi avaliar a associação de parâmetros obtidos por diferentes métodos baseados em fluorescência com a detecção da atividade de cárie em superfície oclusal de molares decíduos, incluindo a avaliação da fluorescência vermelha emitida pelo biofilme nesse processo diagnóstico. Para tanto, foram selecionadas 606 molares decíduos de 113 crianças entre 4 e 14 anos. As crianças foram avaliadas quanto à presença de biofilme, experiência de cárie e número de lesões ativas. A presença de biofilme fluorescente no vermelho foi também avaliada com um aparelho de quantificação da fluorescência induzida por luz (QLF do inglês, *Quantitative Light-induced Fluorescence*). Após profilaxia, também com o QLF, foram avaliados a fluorescência do dente no verde (ΔF e ΔQ) e no vermelho (ΔR), além da avaliação com o DIAGNOdent pen. Para determinação do primeiro padrão de referência, todos os dentes foram avaliados por 2 examinadores utilizando o sistema ICDAS associado à avaliação da atividade de cárie baseado nas características clínicas das lesões. Para a segunda etapa da pesquisa, foram selecionados 50 molares decíduos exfoliados ou extraídos logo após os exames. Esses dentes foram seccionados e validados histologicamente por 2 examinadores de acordo com a profundidade e atividade das lesões, esse último avaliado com auxílio de um corante indicador de pH. Análises de regressão linear de multinível foram realizadas para a comparação entre as medidas obtidas com os métodos baseados na fluorescência nos dentes classificados pelo exame visual como saudáveis ou com lesões ativas ou inativas. Para avaliação da associação dos parâmetros avaliados pelos métodos baseados na fluorescência e de outras variáveis explanatórias, foram realizadas análises de multinível de Poisson. Na segunda etapa, após determinação dos melhores pontos de corte, valores de sensibilidade, especificidade, acurácia e as áreas sob as curvas ROC (Az) de

cada método foram calculados em três limiares de detecção. Para avaliação do desempenho dos métodos em detectar a atividade de cárie, os parâmetros de *Diagnostic Odds Ratio* (DOR), acurácia e Az foram calculados. A reprodutibilidade das avaliações do padrão de referência obtiveram valores de kappa maiores que 0,86. Os valores de ΔF e ΔQ do QLF (fluorescência verde) foram significativamente maiores nas lesões inativas do que nas ativas, tanto em lesões não-cavitadas, como nas cavitadas. Com o DIAGNOdent pen, somente na avaliação de lesões cavitadas, as medidas em lesões ativas diferiram significativamente das lesões inativas. No geral, a presença de biofilme visível sobre a superfície oclusal dos molares decíduos e ΔR do dente (fluorescência vermelha obtida com o QLF) mostraram associação significativa com a atividade de cárie. O exame visual, o DIAGNOdent pen e os valores de ΔQ mostraram maior sensibilidade na detecção de lesões iniciais em esmalte. Para lesões em dentina o QLF mostrou menor especificidade do que o exame de inspeção visual. Os valores de DOR e Az mostraram similaridade entre os métodos para diferenciação de lesões ativas e inativas. Embora o QLF e DIAGNOdent pen mostrem bom desempenho na avaliação da atividade de cárie em molares decíduos, não mostram vantagens quando comparados à utilização da inspeção visual ou à simples avaliação da presença de biofilme visível.

Palavras-chave: Testes de atividade de cárie dentária. Placa dentária. Cárie dentária. Fluorescência. Diagnóstico.

ABSTRACT

Novaes TF. Use of Fluorescence-based methods to assess the caries activity on occlusal surfaces of primary molars [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2013. Versão original.

The aim of this in vivo study was to evaluate the association of parameters obtained with fluorescence-based methods and the assessment of caries lesions activity in occlusal surfaces of primary molars, including the evaluation of red fluorescence emitted by the biofilm in this diagnosis process. Occlusal surfaces of 606 primary molars from 113 children aged 4-14 years were selected. The presence of biofilm, caries experience and the number of active lesions were evaluated. The presence of red fluorescent biofilm was also assessed by QLF (Quantitative Light-induced Fluorescence). After dental cleaning procedure, the green (ΔF e ΔQ) and red (ΔR) fluorescence were evaluated with the QLF. The DIAGNOdent pen was also employed. For the first reference standard, all teeth were evaluated by 2 examiners using ICDAS associated with the caries activity assessment based on clinical characteristics of the lesions. For the second phase, 50 exfoliated or extracted primary molars were selected. Then, these teeth were sectioned and histologically validated by 2 examiners regarding depth and activity of the lesions; the latter using a pH detector dye. Multilevel linear regression analyses were carried out to compare the values of the fluorescence-based methods on the teeth classified by visual inspection as sound, with active or inactive lesions. Multilevel Poisson analysis evaluated the association of the parameters assessed by the fluorescence-based methods and explanatory variables. On the second phase, after obtaining the best cut-off points, the sensitivity, specificity, accuracy and area under ROC curve (A_z) were calculated at three thresholds. The performance of the methods in detecting caries activity was evaluated by Diagnostic Odds Ratio (DOR), accuracy and A_z values calculated. The reference methods presented good reproducibility, with kappa values higher than 0.86. The ΔF and ΔQ values obtained with QLF (green fluorescence) were higher in inactive than in active lesions, at cavitated and non-cavitated lesions. Using the DIAGNOdent pen in cavitated lesions, the evaluations of active and inactive lesions were significantly different. In general, the presence of visible biofilm on occlusal

surfaces of primary molars and the ΔR values of the teeth (red fluorescence obtained with the QLF) were significantly associated with caries activity. The visual inspection, DIAGNOdent pen and ΔQ values demonstrated higher sensitivities in detecting initial enamel lesions. Considering dentine lesions, the QLF presented lower specificity than the visual inspection. The DOR and Az values were similar for all methods in distinguishing active and inactive caries lesions. In conclusion, although the QLF and DIAGNOdent pen perform well in assessing the caries activity lesions in primary molars, they do not present any advantage when compared to the visual inspection or to the simple evaluation of the presence of visible biofilm.

Keywords: Dental caries activity tests. Dental plaque. Dental caries. Fluorescence. Diagnosis.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	20
2 REVISÃO DA LITERATURA	23
3 PROPOSIÇÃO	30
4 MATERIAL E MÉTODOS	31
5 RESULTADOS.....	44
6 DISCUSSÃO	58
7 CONCLUSÃO	67
REFERÊNCIAS.....	68
APÊNDICES	79
ANEXO.....	84

1 INTRODUÇÃO

O processo de diagnóstico da doença cárie se inicia na avaliação dos fatores etiológicos biológicos e socioeconômicos coletados na realização da anamnese. A detecção e caracterização das lesões de cárie quanto à sua profundidade e atividade complementam esse processo (Nyvad; Fejerskov, 1997; Nyvad, 2004; Braga et al., 2010d).

Inserida em um contexto atual e globalizado de controle da cárie dentária, a avaliação da atividade da doença tem se destacado nas pesquisas no campo da cariologia em todo o mundo. A atividade de cárie tem sido conceituada como a velocidade de progressão ou agressividade da doença (Braga et al., 2010d), sendo que a sua compreensão é essencial no aprimoramento da tomada de decisão de tratamento e favorecimento de um melhor prognóstico (Nyvad; Fejerskov, 1997).

Alguns indicadores de atividade da doença cárie podem ser avaliados clinicamente, sendo eles, a presença de biofilme bacteriano, ausência de acesso a fluoretos, frequência alta de ingestão de alimentos ricos em sacarose, experiência passada de cárie, presença de lesões ativas em outros dentes, entre outros (Douglass, 1998; Kanellis, 2000; Burt, 2005). A diferenciação visual entre lesões ativas e inativas também deve fazer parte da rotina profissional (Nyvad; Fejerskov, 1997). Por fim, a avaliação longitudinal da evolução ou regressão das lesões poderia representar um modo de predição da atividade de cárie, sendo esse um parâmetro de difícil acompanhamento através do exame visual ou radiográfico, convencionalmente utilizados na prática clínica (Angmar-Mansson et al., 1998; Angmar-Mansson; ten Bosch, 2001).

O exame de inspeção visual, apesar da sua subjetividade, parece ser o único método realmente capaz de avaliar as características de rugosidade, brilho e localização das lesões, indicativos do seu status de atividade (Braga et al., 2010d). Com isso, a utilização de índices que direcionem, pontuem ou ponderem tais características de progressão ou paralisação da doença tem sido proposta a fim de aperfeiçoar tal avaliação (Ekstrand et al., 1998; Nyvad et al., 1999; Ekstrand et al., 2007). De fato, o exame visual é até agora o único

método validado para a avaliação da atividade de cárie (Ekstrand et al., 1998; Nyvad et al., 2003; Ekstrand et al., 2007; Braga et al., 2010b).

Atualmente, o índice visual mais utilizado para classificar as lesões de cárie considerando os seus diversos estágios de severidade é o *International Caries Detection and Assessment System* – ICDAS (Pitts, 2004; Ismail et al., 2007). O índice vem mostrando satisfatórios valores de acurácia e confiabilidade, em dentes decíduos e permanentes (Ismail et al., 2007; Braga et al., 2009; Novaes et al., 2009; Braga et al., 2010b; Al-Khatrash et al., 2011; Diniz et al., 2011a; Honkala et al., 2011; Matos et al., 2011). O ICDAS define a presença ou não de cavidades, avalia a severidade e estima a profundidade das lesões. Além disso, com a avaliação do ICDAS combinada com a aparência da lesão, sua localização e a sensação tátil durante cuidadosa sondagem, é possível avaliar a atividade das lesões (Ekstrand et al., 2007; Braga et al., 2010b; Braga et al., 2010d; Gimenez et al., 2013a; Piovesan et al., 2013).

Apesar dos bons resultados obtidos pelo método visual, esse ainda é um método subjetivo. Assim, a utilização de métodos objetivos e quantitativos também tem sido estudada para aprimorar o diagnóstico da cárie dentária. Dentre essas novas tecnologias, os métodos baseados na captação da fluorescência emitida pelos tecidos dentários após a emissão de uma luz têm sido extensivamente estudados para essa finalidade.

Uma tecnologia baseada na captação da fluorescência é o DIAGNOdent 2095 (KaVo, Biberach, Alemanha), bem como sua versão mais recente e compacta, o DIAGNOdent pen. O método consiste de um laser de diodo que emite uma luz e capta a fluorescência emitida pelo dente. Quanto maior o número indicado pelos aparelhos, teoricamente mais severa é a lesão de cárie. Os principais responsáveis pelo aumento da fluorescência são os metabólitos bacterianos (Hibst et al., 2001). Portanto, frente à premissa de que as lesões ativas de cárie são mais infectadas que lesões inativas (Nyvad; Fejerskov, 1997), tem sido especulado que o método poderia ser útil na avaliação da atividade das lesões de cárie.

Outro método baseado na quantificação de fluorescência induzida pela luz, o QLF (Quantitative light-induced fluorescence, Inspektor Research Systems, Amsterdã, Holanda) tem sido estudado como instrumento para

quantificação e monitoração das lesões de cárie. O QLF é uma câmera de fluorescência que registra a fluorescência na faixa espectral vermelha (exógena ao dente) e verde (intrínseca ao dente). A primeira é emitida por produtos bacterianos possivelmente provenientes de bactérias anaeróbias obrigatórias (Konig et al., 1998; Mendes et al., 2004b; Buchalla, 2005; Lennon et al., 2006; Mendes et al., 2006; van der Veen et al., 2006). Já a medição da fluorescência intrínseca ao dente tem mostrado forte correlação com perda e ganho mineral de lesões cariosas de esmalte (Tranaeus et al., 2001; Heinrich-Weltzien et al., 2003; Meller et al., 2006; Lippert et al., 2011).

Outra possibilidade de utilização do QLF que poderia ser usada na avaliação da atividade de cárie seria a avaliação da fluorescência emitida pelo biofilme. Alguns autores afirmam que a autofluorescência do biofilme quantificada pelo QLF pode estar relacionada à presença de placa madura (Coulthwaite et al., 2006; Pretty, 2006; Van Der Veen et al., 2006; Coulthwaite et al., 2009; Raggio et al., 2010). Especula-se que esse biofilme poderia ser mais cariogênico (Heinrich-Weltzien et al., 2003; Coulthwaite et al., 2006), e isso poderia ser uma ferramenta útil na avaliação da atividade de cárie. Apenas um estudo *in situ* avaliou a influência da fluorescência vermelha emitida pelo biofilme no processo da doença cárie (Bittar et al., 2012b).

Considerando a importância da detecção da atividade de cárie e sendo a inspeção visual o principal método validado para tal avaliação (Ekstrand et al., 2007; Braga et al., 2010b), cabe salientar que o método é subjetivo. Assim, a utilização de um método objetivo complementar que pudesse auxiliar na diferenciação entre lesões ativas e inativas seria de grande valia. No entanto, essa possibilidade, ainda em aberto, levanta a necessidade e importância de estudos que busquem aprimorar a detecção da atividade de lesões de cárie, incluindo a avaliação de diversos parâmetros e dos reais resultados e benefícios encontrados com a utilização de métodos diagnósticos baseados em fluorescência.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DE CÁRIE

O diagnóstico precoce das lesões iniciais de cárie é de extrema importância para que a terapia mais conservadora seja eleita, facilitando o processo de remineralização e um melhor prognóstico no tratamento da doença (Nyvad; Fejerskov, 1997; Nyvad, 2004; Braga et al., 2010d).

A atividade de cárie pode ser conceituada como a velocidade de progressão da doença na cavidade bucal. Dessa forma, a simples constatação da doença presente não deve satisfazer os anseios do cirurgião dentista na decisão de tratamento. A avaliação da agressividade da doença é de fundamental importância para obtenção de um prognóstico adequado no tratamento da cárie dentária (Nyvad; Fejerskov, 1997). Isso é facilmente compreensível quando é levada em conta a natureza dinâmica do processo carioso (Fejerskov, 1997).

O exame da atividade de cárie dentária pode ser realizado considerando vários tipos de avaliação. Inicialmente, a avaliação dos fatores etiológicos da doença deve nortear o cirurgião dentista na estimativa da atividade de cárie de cada paciente. Muitos fatores etiológicos de cunho biológico têm sido descritos como fundamentais no desenvolvimento da cárie dentária (Fejerskov 1997). Alguns desses fatores são a presença de biofilme dentário, ausência de acesso a fluoretos, frequência alta de ingestão de alimentos ricos em sacarose, experiência passada de cárie, presença de lesões ativas em outros dentes, entre outros (Douglass, 1998; Kanellis, 2000; Burt, 2005). Todos esses fatores podem ser avaliados na prática clínica. Fatores de ordem socioeconômica também têm sido relacionados ao desenvolvimento da doença, sendo que indivíduos socialmente mais desfavorecidos apresentam maior predisposição à doença (Burt, 2005).

Além da avaliação dos fatores etiológicos, uma alternativa para avaliação da atividade de cárie é o exame visual das lesões em uma única sessão, baseado em características clínicas que indiquem se as lesões estão

ativas ou paralisadas. As lesões ativas apresentam aspecto opaco e rugoso, enquanto lesões inativas apresentam aspecto brilhante e superfície lisa (Nyvad; Fejerskov, 1997; Braga et al., 2010d). Para facilitar essa avaliação, alguns autores propuseram índices baseados na inspeção visual para estimar a profundidade e a atividade dessas das lesões (Ekstrand et al., 1998; Nyvad et al., 1999; Ekstrand et al., 2007).

Um dos índices utilizados para esse fim, que contempla tanto a severidade como a atividade das lesões é o critério de Nyvad (Nyvad et al., 1999). Atualmente, um índice muito utilizado para avaliar a severidade das lesões é o ICDAS (Ismail et al., 2007). Apesar do ICDAS não contemplar primariamente a avaliação da atividade de cárie, ele é associado a critérios adicionais para avaliação da atividade das lesões (Ekstrand et al., 2007; Braga et al., 2010b; Braga et al., 2010d; Piovesan et al., 2013).

Pode-se dizer ainda que a avaliação longitudinal da evolução ou regressão das lesões poderia ser uma forma de estimar sua atividade (Angmar-Mansson et al., 1998; Meller et al., 2012). No entanto, se fossem utilizados métodos convencionais de diagnóstico, como a inspeção visual tradicional ou o exame radiográfico, mudanças decorrentes à evolução ou paralisação das lesões só seriam detectáveis quando alterações significativas já tivessem ocorrido (Angmar-Mansson; ten Bosch, 2001), o que seria eticamente inaceitável. Estima-se que perdas variando de 330 a 500 μm em profundidade são passíveis de detecção através dos exames clínico e radiográfico (Stookey, 2005).

Desse modo, a utilização de métodos objetivos e quantitativos tem sido estudada para melhorar o desempenho no diagnóstico da cárie dentária, no que diz respeito à sua detecção e determinação de sua profundidade. Além disso, esses métodos quantitativos permitiriam avaliações longitudinais de perda e ganho mineral, facilitando o processo de avaliação da atividade de cárie (Tranaeus et al., 2005). Alguns desses métodos serão discutidos a seguir.

2.2 MÉTODOS DIAGNÓSTICOS BASEADOS EM FLUORESCÊNCIA

A fluorescência ocorre a partir da interação de ondas eletromagnéticas com determinadas moléculas, que, num primeiro momento são excitadas e, ao retornarem ao seu estado de origem, fluorescem, ou seja, liberam luz num comprimento de onda superior, a qual pode ou não estar dentro do espectro visível da luz.

2.2.1 Fluorescência a laser

Com base no princípio de que a fluorescência proveniente do tecido cariado difere da fluorescência proveniente do tecido hígido (Hibst; Gall, 1998), um aparelho para diagnóstico de cárie (DIAGNOdent, Kavo, Biberach, Alemanha) foi desenvolvido a partir da emissão de laser do tipo diodo (AsGaIP) com comprimento de onda de 655nm.

O DIAGNOdent trabalha com medidas em unidades arbitrárias, sendo necessária uma calibração inicial em um padrão cerâmico específico para padronizar suas leituras e eliminar possíveis interferências do ambiente (Hibst et al., 2001). Além disso, suas medições podem ser alteradas dependendo do grau de coloração do dente, sendo importante que seja feita uma segunda calibração (calibração individual) em uma superfície lisa hígida do dente a ser avaliado, para que o valor da fluorescência natural de cada unidade dentária possa ser subtraído das futuras leituras (Hibst et al., 2001; Braun et al., 2005).

As pontas do DIAGNOdent foram criadas para a detecção de lesões cáries apenas em superfície lisa e oclusal (Hibst et al., 2001). Para avaliação também das superfícies proximais, uma versão mais compacta do aparelho foi criada, sendo denominada DIAGNOdent pen (Lussi et al., 2006; Lussi; Hellwig, 2006). Apesar do design completamente diferente, esse segundo modelo também trabalha com uma luz proveniente de um laser de diodo, tendo princípio de funcionamento semelhante ao do aparelho antigo.

Na literatura, encontra-se certa unanimidade no que diz respeito à reprodutibilidade do método que tem apresentado concordância intra e interexaminador de boa a excelente (Lussi et al., 1999; Shi et al., 2000; Attrill; Ashley, 2001; El-Housseiny; Jamjoum, 2001; Lussi et al., 2001; Sheehy et al., 2001; Alwas-Danowska et al., 2002; Baseren; Gokalp, 2003; Francescut; Lussi, 2003; Rocha et al., 2003; Anttonen et al., 2004; Astvaldsdottir et al., 2004; De Benedetto et al., 2011; Novaes et al., 2012a). O grau de experiência do examinador pode influenciar na reprodutibilidade e performance dos aparelhos, ainda que de maneira reduzida em comparação aos métodos convencionais para diagnóstico de cárie (El-Housseiny; Jamjoum, 2001; Fung et al., 2004; Bengtson et al., 2005).

Com relação ao desempenho da fluorescência a laser na detecção de lesões de cárie, os resultados são controversos. Alguns autores encontraram alta sensibilidade (Lussi et al., 1999; El-Housseiny; Jamjoum, 2001; Lussi et al., 2001; Alwas-Danowska et al., 2002; Heinrich-Weltzien et al., 2002; Ouellet et al., 2002; Anttonen et al., 2003; Baseren; Gokalp, 2003), ao passo que outros verificaram alta especificidade (Shi et al., 2000; Attrill; Ashley, 2001; Pereira et al., 2001; Costa et al., 2002; Cortes et al., 2003; Rocha et al., 2003; Braga et al., 2007). Em geral, a maioria dos trabalhos em dentes permanentes mostra que o método tende a ter maior sensibilidade que especificidade e, em dentes decíduos, especificidade semelhante ou discretamente maior que a sensibilidade (Bader; Shugars, 2004; Novaes et al., 2009; Novaes et al., 2010; Matos et al., 2011; Mendes et al., 2012; Novaes et al., 2012a). Uma revisão sistemática publicada recentemente afirma que os métodos baseados em fluorescência, tendem a ter uma precisão semelhante para todos os tipos de dentes, superfícies ou modelos de aparelhos disponíveis no mercado, existindo uma tendência de melhor desempenho na detecção de lesões mais avançadas. Os autores evidenciam também a existência de heterogeneidade e vieses de publicação entre os estudos encontrados na literatura (Gimenez et al., 2013b).

Diversos fatores ligados à aplicação dos aparelhos podem interferir na avaliação da sua performance, estando eles relacionados à definição dos pontos de corte (Braga et al., 2007), ao procedimento de secagem (Lussi et al., 1999; Mendes et al., 2004a; De Benedetto et al., 2011; Bittar et al., 2012a), armazenamento das amostras (Shi et al., 2000; Baseren; Gokalp, 2003;

Francescut et al., 2006), procedimentos de biossegurança (Cabral et al., 2006; Rocha-Cabral et al., 2008; Matos et al., 2013), entre outros.

A grande maioria dos estudos apontados até aqui se referem ao desempenho do método quanto à detecção de lesões de cárie. Entretanto, partindo do pressuposto de que lesões ativas de cárie são mais infectadas que lesões inativas (Nyvad; Fejerskov, 1997), o DIAGNOdent pen poderia ser um bom adjunto ao exame visual na avaliação da atividade das lesões de cárie. O presente trabalho foi proposto frente à falta de evidências em relação à utilização da fluorescência a laser na avaliação da atividade de cárie em dentes decíduos (Braga et al., 2010a).

2.2.2 Quantitative-Light-Induced-Fluorescence (QLF)

Outro método baseado na quantificação de fluorescência induzida pela luz tem sido estudado como instrumento para quantificação e monitoração das lesões de cárie, sendo conhecido pelo nome de QLF (Heinrich-Weltzien et al., 2003). Esse aparelho registra a fluorescência emitida pelos tecidos dentários, além da fluorescência emitida por produtos bacterianos presentes no biofilme dentário. O sistema usa uma lâmpada de xenônio que emite luz violeta-azul com comprimento de onda de 405nm com a captura de imagens que são analisadas através de um software que mede o grau de perda de fluorescência entre o esmalte sadio e desmineralizado (van der Veen et al., 2006).

O QLF tem sido usado em estudos *in vitro* e *in situ*, além de poucos clínicos (Tranaeus et al., 2001; Pretty et al., 2002a; Heinrich-Weltzien et al., 2003; Higham et al., 2005; Tranaeus et al., 2005; Meller et al., 2006; Pretty, 2006; Ferreira Zandona et al., 2010; Wu et al., 2010; Lippert et al., 2011). Dentre as suas indicações estão a detecção precoce de lesões de cárie, monitoramento da progressão de lesões iniciais em pacientes com alto risco, avaliação da qualidade de selantes, restaurações e a eficácia na remoção de biofilme após a higienização, avaliando assim a motivação do paciente (Heinrich-Weltzien et al., 2003; Tranaeus et al., 2005; Pretty, 2006; de Josselin de Jong et al., 2009).

O método apresenta duas ferramentas de avaliação. A medição da fluorescência na faixa do verde quantifica os valores de ΔF medidos em % e relacionados ao volume da lesão, área da lesão medida em mm^2 e valores de ΔQ que avalia a relação dessas duas medidas, relacionando-se com a profundidade das lesões. A medição da fluorescência na faixa espectral vermelha também estima a área delimitada para captura da fluorescência e os valores de ΔR que quantificam a perda de fluorescência observada ou emitida a partir da presença de metabólitos bacterianos (Heinrich-Weltzien et al., 2003; de Josselin de Jong et al., 2009).

A fluorescência na faixa do verde tem sido descrita como a fluorescência intrínseca do tecido mineral dentário, e se propõe a avaliar principalmente alterações minerais decorrentes do processo de cárie. O método tem demonstrado uma forte correlação com a perda e ganho mineral de lesões cariosas de esmalte, decorrentes dos processos de desmineralização e remineralização (Ando et al., 1997; Ando et al., 2001; Angmar-Mansson; Ten Bosch, 2001; Heinrich-Weltzien et al., 2003; de Josselin de Jong et al., 2009).

As avaliações feitas com o QLF podem sofrer interferência da iluminação ambiente (Pretty et al., 2002b), desidratação ou secagem das superfícies (Pretty et al., 2004) e o posicionamento do dispositivo no ato de captura das imagens (Ando et al., 2004).

A outra ferramenta, que mede a fluorescência na faixa espectral do vermelho, é um pouco diferente da anterior, tendo sido pouco estudada (de Josselin de Jong et al., 2009). A fluorescência vermelha é emitida provavelmente por porfirinas bacterianas e possivelmente polissacarídeos extrínsecos e intrínsecos (de Josselin de Jong et al., 2009). Muitas das bactérias que emitem essa fluorescência são relacionadas à maturidade do biofilme dentário, que apresenta principalmente bactérias anaeróbias (Coulthwaite et al., 2006; Coulthwaite et al., 2009; de Josselin de Jong et al., 2009). A arquitetura do biofilme é provavelmente mais responsável pela fluorescência vermelha do que características específicas de bactérias isoladas (Coulthwaite et al., 2006; van der Veen et al., 2006; Thomas et al., 2008; de Josselin de Jong et al., 2009). Diante disso, especula-se que esse biofilme dentário fluorescente em vermelho com a utilização do QLF poderia ser mais

cariogênico (Heinrich-Weltzien et al., 2003; Coulthwaite et al., 2006), sendo uma ferramenta útil para a avaliação da atividade de cárie das lesões.

No entanto, nenhum estudo avaliou clinicamente a performance do QLF na avaliação da atividade de cárie, o que justifica a realização desse trabalho.

3 PROPOSIÇÃO

Frente ao pressuposto de que a fluorescência vermelha emitida pelo biofilme bacteriano poderia estar relacionada à sua maior cariogenicidade, o objetivo do presente estudo *in vivo* foi avaliar a associação da presença de biofilme fluorescente no vermelho sobre sítios oclusais, bem como outros parâmetros obtidos por diferentes métodos baseados em fluorescência (QLF e DIAGNOdent pen) com a detecção da atividade de lesões de cárie em superfícies oclusais de molares decíduos, utilizando como padrões de referência a validação concorrente com inspeção visual e a validação de critério histológica.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho teve aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo sob o protocolo 203/2008 (Anexo A). Um estudo *in vivo* foi delineado em duas etapas, utilizando primeiramente a validação visual por dois examinadores. Além disso, uma subamostra de dentes exfoliados ou extraídos após a realização dos exames foi validada histologicamente. Assim, crianças que preenchiam os critérios de inclusão foram consultadas verbalmente e seus responsáveis receberam orientações sobre os objetivos e metodologia do estudo, seguindo com assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice A). Os molares extraídos ou exfoliados coletados para desenvolvimento da segunda etapa do trabalho foram doados pelos pacientes conforme termo de doação anexado (Apêndice B).

4.1 TREINAMENTO DOS EXAMINADORES

O índice visual utilizado no estudo foi o ICDAS (Ismail et al., 2007), associado à avaliação de características clínicas relacionadas à atividade das lesões de cárie descrita no manual elaborado pelo comitê do ICDAS e utilizado em algumas publicações (Gimenez et al., 2013a; Piovesan et al., 2013), como descrito no quadro 4.1.

Para desenvolvimento de estudos prévios (Novaes et al., 2012a; Gimenez et al., 2013a), dois examinadores (TFN e RM) foram inicialmente calibrados para utilização do índice através de fotos clínicas, além da avaliação de dentes decíduos extraídos e exame clínico de cinco crianças, com discussão dos resultados até o consenso entre as avaliações.

Escore	Descrição do ICDAS	Características das lesões ativas	Características das lesões inativas
0	Nenhuma evidência de alterações na translucidez do esmalte após secagem prolongada (> de 5 segundos)		
1	Nenhuma evidência de mudança quando o dente é visto úmido, mas depois de secagem prolongada com jato de ar (> 5 segundos), uma alteração cariiosa opaca é visível. No caso de lesões escuras, quando a lesão é restrita ao fundo das fissuras	Esmalte com opacidade esbranquiçada ou amarelada, com perda de brilho, que parece rugoso ao se passar a sonda suavemente sobre a superfície. Lesão localizada em área de estagnação de biofilme	Esmalte esbranquiçado, amarronzado ou enegrecido, com aspecto brilhante, duro e liso ao se passar a sonda suavemente sobre a superfície. Para superfícies lisas, estas lesões estão tipicamente localizadas distantes da margem gengival
2	Opacidade provocada por cárie vista em dente úmido ou descoloração escurecida que ultrapassa os limites da fissura		
3	Quebra de continuidade localizada em esmalte: perda distinta da integridade superficial do esmalte, mas sem expor dentina		
4	Sombreamento escurecido proveniente da dentina	Provavelmente ativa	
5	Cavidade com dentina visível envolvendo menos da metade da superfície	Cavidade com tecido amolecido ao se passar a sonda suavemente sobre a dentina	Cavidade com tecido endurecido ao se passar a sonda; além de aspecto brilhante (sem opacidades)
6	Cavidade extensa com dentina visível em mais de metade da superfície		

Quadro 4.1 – Características relacionadas à atividade das lesões associadas aos escores do ICDAS

Posteriormente, para avaliação periódica da calibração, em dois momentos diferentes durante a realização do trabalho, cinco crianças não participantes do estudo foram avaliadas pelos mesmos examinadores, com discussão sobre os resultados até estabelecimento do consenso.

Um dos examinadores também foi treinado para a utilização dos métodos baseados em fluorescência (QLF e DIAGNOdent pen), conforme orientações dos fabricantes, bem como para a avaliação clínica dos demais parâmetros (avaliação da experiência de cárie e índices de placa).

4.2 SELEÇÃO DA AMOSTRA

Foram selecionadas 125 crianças entre 4 e 14 anos, em fase de dentição decídua ou mista, cujos molares decíduos estavam totalmente erupcionados, e que apresentavam ao menos um molar decíduo seguindo os critérios de inclusão das superfícies a serem avaliadas nesse estudo (critérios descritos abaixo). Os participantes foram selecionados aleatoriamente a partir de uma ficha preenchida durante uma atividade de triagem realizada pela disciplina de Odontopediatria da FOUSP e que continha dados relacionados à idade, nome e telefone da criança e responsável, sem acesso ou detalhamento da sua condição de saúde oral. Dessas 125 crianças inicialmente convidadas, 113 concluíram todas as etapas de avaliação clínica (taxa de resposta positiva de 90,4%). Os participantes tinham de 4 a 14 anos (média de idade $\pm$ desvio padrão = 7,16 $\pm$ 2,02 anos), sendo 62 do sexo masculino (45,2%) e 51 do sexo feminino (54,8%). As perdas relatadas foram decorrentes do não comparecimento nas consultas semanais de avaliação.

Foram definidos como critérios para inclusão dos dentes: ausência de restaurações, selantes, cavidades evidentes de cárie ou outros tipos de defeitos de formação. Assim, das 113 crianças que cumpriram todas as etapas do estudo, 606 superfícies oclusais de molares decíduos foram examinadas, tendo sido selecionado apenas um sítio por superfície. Em cada face oclusal, independente de sua anatomia, o sítio mais acometido por uma lesão de cárie ou o mais suspeito foi avaliado, sendo que, na sua ausência (superfície clinicamente hígida), a superfície foi examinada em toda sua extensão.

4.3 EXAME CLÍNICO INICIAL DE CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA

Em uma primeira consulta, as crianças selecionadas foram submetidas a um exame clínico inicial para caracterização da amostra e preenchimento de ficha clínica, realizados por um único examinador (TFN). Nessa etapa, foram definidas as superfícies oclusais a ser avaliada, além da realização de

identificação do paciente (nome, data de nascimento, sexo, endereço, telefone, responsável) e avaliação da experiência de cárie registrada através do critério preconizado pela Organização Mundial de Saúde com cálculo dos índices ceo-s e CPO-S. Também foi contabilizado o número de lesões ativas e inativas segundo escores do índice de Nyvad (Nyvad et al., 1999), detalhado no quadro 4.2.

ESCORE	CATEGORIA	CRITÉRIOS
0	Hígido	Esmalte com translucidez e textura normais
1	Lesão de cárie ativa (superfície intacta)	Superfície do esmalte esbranquiçada ou amarelada com perda de brilho e aspecto rugoso ao se passar levemente a ponta do explorador. Geralmente coberta por placa bacteriana e perda de substância não detectável. Quando em fossas e fissuras, a lesão se estende pelas paredes da fissura e a morfologia desta está inalterada.
2	Lesão de cárie ativa (com perda de continuidade superficial)	Crítérios iguais aos do escore 1, porém com defeito superficial localizado (microcavidade) apenas em esmalte. Não é detectada, através do explorador, a presença de tecido amolecido
3	Lesão de cárie ativa (com cavitação)	Cavidade em esmalte/dentina facilmente visível. Superfície amolecida. Pode ou não haver comprometimento pulpar.
4	Lesão de cárie inativa (superfície intacta)	Superfície do esmalte com coloração esbranquiçada, amarronzada ou enegrecida. Superfície com aspecto brilhante e consistência endurecida e lisa. Perda de substância não pode ser clinicamente detectada. Quando em fossas e fissuras, a lesão se estende pelas paredes da fissura e a morfologia desta está inalterada e não pode haver aparência de esmalte socavado.
5	Lesão de cárie inativa (com perda de continuidade superficial)	Crítérios iguais aos do escore 4, porém com defeito superficial localizado (microcavidade) apenas em esmalte. Não é detectada, através do explorador, a presença de tecido amolecido, nem é observado esmalte socavado.
6	Lesão de cárie inativa (com cavitação)	Cavidade em esmalte/dentina facilmente visível. Superfície endurecida e com aspecto brilhante. Sem comprometimento pulpar.

Quadro 4.2 – Avaliação da atividade de cárie segundo Nyvad (Nyvad et al., 1999).

Ainda na consulta inicial, foram feitos:

- Escolha e marcação dos sítios a serem avaliados em desenhos de reprodução da anatomia oclusal dos molares decíduos;

- Avaliação da presença de biofilme visível sobre os sítios oclusais pertencentes à amostra (Ekstrand et al., 1998):

0: ausência de biofilme visível;

1: biofilme visível, mas difícil de identificar – melhor verificado após secagem;

2: biofilme visível e facilmente identificável – mesmo sem secagem.

Para avaliação de todos os parâmetros acima, utilizou-se espelho clínico e sonda periodontal OMS. A secagem com ar da seringa tríplice por 3 a 5 segundos foi empregada quando necessária.

Na consulta inicial, foi feita também a avaliação da placa fluorescente no vermelho utilizando o aparelho QLF, onde foram delimitadas áreas coincidentes e circundantes aos sítios selecionados para avaliação visual de referência, sendo avaliados os valores da área coberta por biofilme dentário fluorescente em vermelho (medida em mm²) e os valores de ΔR (% de fluorescência capturada segundo relação: % de fluorescência capturada pela área delimitada para medição). Maiores detalhes de captura e análise das imagens do QLF serão descritas na próxima sessão.

Após essa primeira etapa, procedeu-se à aplicação de um evidenciador de dois tons (Replak, Dentsply, Rio de Janeiro, Brasil), conforme as instruções do fabricante. Esse evidenciador é capaz de diferenciar o biofilme maduro corado em azul ou roxo do biofilme recém-formado, que é corado em vermelho ou rosa (Block et al., 1972; Gallagher et al., 1977; Braga et al., 2010c). Após a evidenciação, foram realizadas as seguintes etapas:

- Avaliação do índice de placa geral do paciente, por meio do índice de higiene oral simplificado (IHO-S) (Greene; Vermillion, 1964; Rodrigues et al., 1990). Para sua aplicação, foram avaliadas seis superfícies dentárias livres (16V ou 55V; 11V ou 51V; 26V ou 65V; 36L ou 75L; 31V ou 71V; 46L ou 85L) em relação à quantidade de biofilme corado, independente da coloração por ele apresentada:

0: ausência de biofilme;

1: terço cervical da superfície corado;

2: terço cervical e médio da superfície corados;

3: mais de dois terços da superfície corados.

- Avaliação da presença de placa corada sobre os sítios oclusais pertencentes à amostra, empregando-se escores previamente publicados (Ekstrand et al., 1998):

0: ausência de placa corada;

1: placa recém-formada corada em vermelho ou rosa;

2: placa madura corada em azul ou roxo.

4.4 UTILIZAÇÃO DO QLF

Na segunda sessão de atendimento, foi realizada a limpeza dos dentes incluídos na amostra com profilaxia profissional feita com escovas de Robson com pontas preparadas para oclusal, sem utilização de pastas profiláticas ou pedra-pomes para que não houvesse interferência no padrão de fluorescência a ser capturado (Diniz et al., 2011b). Em seguida, conforme as orientações de posicionamento dos dispositivos e fontes de luz do aparelho, o excesso de umidade sobre cada molar decíduo foi retirado com auxílio de roletes de algodão e foram capturadas imagens individuais das superfícies oclusais previamente selecionadas, agora sem a presença de biofilme sobre elas. Em caso de dificuldades na captura de alguma imagem, as superfícies eram reidratadas com jato de água da seringa tríplice e uma nova tentativa foi realizada. Todas as imagens foram então digitalizadas e avaliadas por um software (Inspektor™ Pro, Inspector Research Systems, Amsterdã, Holanda) que disponibiliza duas ferramentas de análise independentes – (1) avaliação da fluorescência vermelha que quantifica a fluorescência extrínseca ao dente, proveniente da presença de microrganismos do biofilme ou lesão de cárie, e (2) avaliação da fluorescência verde, que quantifica a fluorescência intrínseca do dente, relacionada ao conteúdo mineral.

A obtenção e análise das imagens obtidas com o QLF foram feitas por um único examinador (TFN). Assim, através do referido software foram novamente delimitadas áreas coincidentes e circundantes aos sítios selecionados para que fossem medidos novos valores ΔR (descritos anteriormente na análise da presença de biofilme feita na consulta inicial),

agora sem a presença de biofilme. Adicionalmente, a ferramenta de análise da fluorescência verde foi aplicada para medição da perda de fluorescência observada (valores de ΔF , medidos em diferença percentual - %) e ΔQ (percentual de perda de fluorescência pela área da lesão de cárie - $\%.mm^2$).

O sistema de captura de imagens do QLF utiliza um mecanismo de reposicionamento de duas ou mais imagens do mesmo dente obtidas em diferentes momentos (ferramenta denominada *FIT*). Assim, sempre que possível, as imagens da primeira e segunda consulta foram capturadas em posições coordenadas para que fossem demarcadas e analisadas áreas similares, coincidentes na primeira e segunda captura. Em caso de dificuldade na obtenção de imagens sobrepostas, durante o momento de análise, essas foram também reposicionadas pela ferramenta *FIT* até alcançarem sobreposição de uma à outra.

4.5 UTILIZAÇÃO DO DIAGNODENT PEN

Também na segunda sessão, foram realizados os exames com o DIAGNOdent pen. Segundo as recomendações do fabricante, utilizando a ponta indicada para superfícies oclusais (ponta 2), o aparelho foi inicialmente calibrado em um padrão cerâmico e em seguida, a cada superfície oclusal a ser avaliada, foi feita uma segunda calibração, agora em uma região sadia da face vestibular ou lingual do dente em análise. Assim, após breve secagem da superfície oclusal de cada molar decíduo com seringa tríplice (3 segundos), com movimentos de varredura, foram feitas duas medições por sítio selecionado, sendo adotado o valor médio obtido entre essas para a análise estatística dos resultados.

4.6 EXAME VISUAL DE REFERÊNCIA PARA VALIDAÇÃO DOS MÉTODOS

Nessa primeira etapa da pesquisa utilizando toda a amostra, o exame visual das superfícies foi definido como padrão de referência para validação dos métodos de detecção de lesões e respectivos padrões de atividade.

Assim, na terceira sessão de atendimento, os dois examinadores anteriormente calibrados (TFN e RM) realizaram o exame visual das superfícies oclusais previamente limpas com profilaxia feita com pedra pomes e água, sob a luz de um refletor, úmidos e após secagem de cinco segundos com seringa tríplice, e auxílio de uma sonda tipo OMS (*ballpoint*). Os examinadores então classificaram os sítios que compuseram a amostra segundo critérios propostos pelo índice ICDAS associado à caracterização visual da atividade (como descrito acima na seção 4.1).

Os exames visuais foram feitos independentemente pelos dois examinadores, sem que um tivesse conhecimento do exame feito pelo outro, para que não houvesse indução de resultados e para que fosse calculada a reprodutibilidade interexaminador. Tais avaliações foram então confrontadas e em casos de discordância, um novo exame em conjunto foi feito para tomada de um consenso sobre o status de profundidade e atividade da lesão de cárie.

Por fim, depois de concluídas todas as avaliações (primeira consulta – exame inicial de caracterização da amostra; segunda consulta – aplicação dos aparelhos de fluorescência; terceira consulta – exame visual de referência segundo ICDAS e classificação da atividade), numa quarta sessão de atendimento, cerca de 10% da amostra foi reavaliada por um dos examinadores para cálculo da reprodutibilidade intraexaminador da inspeção visual utilizada como padrão de referência para a primeira etapa do estudo.

4.7 VALIDAÇÃO DA SUBAMOSTRA DE DENTES EXFOLIADOS OU EXTRAÍDOS

Da amostra inicial composta para efetivação do projeto anteriormente descrito, foram selecionados 50 molares decíduos que, durante o estudo, exfoliaram ou foram indicados para extração por motivos ortodônticos (retenção prolongada). Esses dentes foram doados por 24 pacientes de 8 a 14 anos (média de idade = $10,0 \pm 1,3$ anos), coletados e armazenados a -20°C pelo período máximo de um mês até a validação histológica (Francescut et al., 2006; Murakami et al., 2006).

Os responsáveis pelos pacientes consentiram previamente em participar desse projeto, além de concordarem com a doação dos dentes para fins de pesquisa conforme mencionado anteriormente.

Os molares decíduos coletados foram fixados com cera pegajosa em placas individuais de resina acrílica que foram confeccionadas para facilitar a identificação das unidades e a obtenção das seções feitas em cortadeira metalográfica ISOMET 1000 (Buehler, Illinois, EUA). O corte dos dentes foi feito no sentido vestibulo-lingual sobre as regiões dos sítios previamente demarcados, o que resultou em duas seções avaliadas individualmente por dois examinadores (TFN e LRAP), em lupa estereoscópica Leica M80 (Leica Mikrosystem Vertrieb, Wetzlar, Alemanha) com auxílio da câmera de vídeo digital Leica DFC 295 (Leica Mikrosysteme Vertrieb, Wetzlar, Alemanha) e do programa de processamento e análise de imagens Leica Qwin Plus (Leica Mikrosystem Vertrieb, Wetzlar, Alemanha). Foi utilizada luz refletida e aumentos de 16 a 40 X. Em caso de discordância entre os examinadores, uma nova avaliação foi feita em conjunto para tomada do consenso.

Primeiramente, as seções foram avaliadas com relação à profundidade. As lesões foram classificadas de acordo com a maior profundidade entre as duas seções da seguinte forma: D0 = ausência de lesão; D1 = lesão inicial em esmalte; D2 = lesão avançada em esmalte; D3 = lesão na metade externa da dentina e D4 = lesão na metade interna da dentina.

Concluída essa avaliação inicial, foi realizada a validação da atividade da lesão. Para isso, uma solução aquosa de vermelho de metila a 0,1% foi

aplicada sobre as duas seções com auxílio de um conta-gotas. Após um minuto do contato do corante com as superfícies, o excesso foi removido com auxílio de papel absorvente. O vermelho de metila foi utilizado para validação da atividade das lesões com base na sua propriedade de alteração de cor em função do pH do meio. Assim, a coloração avermelhada era observada em caso de pH menor que 5,5, enquanto que a coloração amarela era observada em casos de pH maior que 5,5 (Ekstrand et al., 1998; Braga et al., 2010b).

A caracterização do status de atividade das lesões também foi feita pelos mesmos examinadores de forma similar à avaliação de profundidade. As lesões que se apresentaram, na maior parte da sua extensão, coradas em vermelho foram classificadas como ativas, enquanto que as lesões com coloração do corante predominantemente em amarelo foram classificadas como inativas (Macgregor, 1962; Ekstrand et al., 1998). Nesse caso, também prevaleceu o status de maior gravidade (considerada gravidade a presença de atividade com coloração avermelhada) quando divergentes os resultados observados para as duas diferentes seções. Em caso de discordância entre os examinadores, uma nova avaliação foi feita em conjunto para tomada do consenso.

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

Inicialmente, os valores de todas as variáveis foram submetidos ao teste de Anderson-Darling para avaliação da normalidade e ao teste de Levene para avaliação da homocedasticidade. Algumas variáveis relacionadas aos métodos baseados na fluorescência não apresentaram distribuição normal.

A reprodutibilidade entre os exames visuais feitos pelos dois examinadores na determinação do primeiro padrão de referência (etapa de validação visual) foi calculada para os valores de ICDAS obtidos (escores de 0 a 6), bem como para a classificação de atividade dos dentes (hígidos, lesões inativas e lesões ativas). Para avaliação da reprodutibilidade interexaminador foi utilizado o teste de Kappa não-ponderado e ponderado. Com isso, valores de Kappa e os respectivos intervalos de confiança a 95% (95% IC) foram

calculados. As mesmas análises foram realizadas para calcular a reprodutibilidade intraexaminador em parte da amostra.

Considerando a amostra obtida nessa primeira parte do estudo, foram realizadas comparações entre as medidas obtidas com os métodos baseados na fluorescência nos dentes classificados pelo exame visual como sadios, com lesões sem cavidades (escores 1 e 2 do ICDAS) ativas e inativas, e com lesões com cavidade (escore 3, 4 ou 5 do ICDAS), ativas ou inativas. Os desfechos considerados foram a fluorescência vermelha do biofilme sobre o dente (ΔR), fluorescência vermelha e verde do dente (ΔR , ΔF e ΔQ), todos obtidas com o QLF. Também foram comparados os valores mensurados pelo DIAGNOdent pen. Para as comparações, como algumas crianças possuíam mais de um dente incluído no estudo, foi realizada análise de regressão linear de multinível, considerando a criança como o fator do nível 2 e os dentes como o fator do nível 1.

Para lidar com a distribuição não-normal dos dados, todas as análises para o cálculo dos estimadores foram realizadas utilizando uma abordagem de *bootstrap* pelo método não-paramétrico com 1000 replicações.

Outras análises foram realizadas considerando como desfecho a atividade das lesões de cárie obtidas pelo consenso entre os examinadores. Duas séries de avaliação foram então realizadas considerando duas diferentes abordagens. Na primeira, os dentes sadios e as lesões classificadas como inativas foram agrupadas e comparadas às lesões ativas. Na segunda série de análises, foram consideradas apenas as lesões inativas versus as ativas. Nesse caso, os dentes sadios foram excluídos da análise.

Para avaliação da associação dos parâmetros avaliados pelos métodos baseados na fluorescência e de outras variáveis explanatórias com esses desfechos relacionados à atividade de cárie das lesões (desfechos dicotômicos), foram realizadas análises de multinível de Poisson. Primeiramente, análises univariadas foram realizadas e os valores de razão de prevalência (RP) e respectivos 95% IC foram calculados. Nas análises múltiplas, as variáveis que obtiveram um valor de $p < 0,20$ foram testadas. Foi construído um modelo mantendo apenas variáveis que atingiram um valor de $p < 0,05$ no modelo final. Outro modelo múltiplo foi construído mantendo todas as

variáveis que haviam atingido $p < 0,20$ na análise univariada. Para todas as análises de multinível, foram utilizados apenas modelos de interceptos fixos.

Na segunda etapa do estudo, com a subamostra de 50 dentes que foram extraídos ou exfoliaram durante o estudo, também foi calculada a reprodutibilidade interexaminador para avaliação dos critérios histológicos, tanto para a profundidade (D0 a D4), como para atividade (sadios + lesões inativas versus lesões ativas) das lesões. Com isso, testes de kappa não ponderado e ponderado foram calculados e os respectivos valores de kappa e 95% IC foram apresentados.

Foram calculados parâmetros relacionados ao desempenho dos métodos visual e baseados na fluorescência – DIAGNOdent pen, fluorescência vermelha do biofilme sobre o dente (ΔR), fluorescência vermelha e verde do dente (ΔR , ΔF e ΔQ), obtidos com o QLF – na detecção de lesões de cárie validadas pelo exame histológico. Foi realizada análise *Receiver Operating Characteristics* (ROC) para determinar o melhor ponto de corte (considerando a melhor acurácia), e as áreas sob as curvas ROC de cada método foram calculadas. Com os melhores pontos de corte, foram então calculados os valores de sensibilidade, especificidade e acurácia (porcentagem global de resultados corretos). Todas essas análises foram realizadas em três diferentes limiares de detecção: D1 = lesões iniciais em esmalte, onde D0 = sadio e D1 a D4 = cariado; D2 = lesões avançadas em esmalte onde D0 e D1 = sadio, D2 a D4 = cariado; D3 = lesões em dentina onde D0 a D2 = sadio, D3 e D4 = cariado. Os valores de curva ROC foram comparados entre os métodos usando uma abordagem não paramétrica, e os valores de sensibilidade, especificidade e acurácia foram comparados entre si utilizando o teste de McNemar.

Para avaliação do desempenho dos métodos em detectar a atividade das lesões de cárie presentes nos dentes extraídos (validados histologicamente com o corante vermelho de metila), os parâmetros de *Diagnostic Odds Ratio* (DOR) e área sob a curva ROC foram inicialmente calculados, considerando a chance do método em detectar a presença da atividade de cárie. A partir de então, com a análise ROC, os melhores pontos de corte foram obtidos e os valores de todos os métodos foram dicotomizados para que fosse calculado novamente os valores de DOR e a acurácia dos

métodos em diferenciar lesões inativas e ativas. Para avaliação do DOR, foi usada análise de regressão logística de multinível.

O software utilizado para as análises de multinível foi o MLWIN 2.10 (Centre for Multilevel Modelling, University of Bristol, Bristol, Reino Unido), enquanto que para as demais análises foi utilizado o MedCalc 12.1.3.0 (MedCalc software bvba, Mariakerke, Bélgica). Para todos os testes, o nível de significância considerado foi de 5%.

5 RESULTADOS

A tabela 5.1 mostra o número e frequência das variáveis coletadas no exame inicial de caracterização da amostra, estando elas associadas à presença de superfícies oclusais hígdas, com lesões ativas e inativas avaliadas segundo o ICDAS. Variáveis relacionadas ao dente (tipo de dente, localização em maxila ou mandíbula, presença de biofilme visível e evidenciado sobre a superfície oclusal de molares decíduos) e à criança (sexo, idade, índice de placa global e experiência de cárie) foram apresentadas nessa tabela.

Tabela 5.1 – Distribuição das variáveis de caracterização da amostra associadas à presença de superfícies oclusais hígidas, com lesões inativas ou ativas avaliadas segundo o ICDAS. Número de dentes (%) para variáveis qualitativas; média (desvio padrão – DP) para variáveis quantitativas

	Hígida	Inativa	Ativa
Variáveis relacionadas ao dente (n = 606)			
Tipo de dente			
1º molar decíduo	117 (39,5)	57 (19,3)	122 (41,2)
2º molar decíduo	35 (11,3)	103 (33,2)	172 (55,5)
Arco			
Superior	84 (25,7)	79 (24,2)	164 (50,1)
Inferior	68 (24,4)	81 (29,0)	130 (46,6)
Biofilme visível ****			
Ausente	133 (26,7)	146 (29,3)	219 (44,0)
Presente	13 (17,5)	9 (12,2)	52 (70,3)
Biofilme evidenciado ****			
Ausente	27 (38,6)	18 (25,7)	25 (35,7)
Recente	97 (24,1)	117 (29,1)	188 (46,8)
Maduro	22 (22,0)	20 (20,0)	58 (58,0)
Variáveis relacionadas à criança (n = 606 dentes em 113 crianças)			
Sexo			
Feminino	90 (26,2)	104 (30,3)	149 (43,5)
Masculino	62 (23,6)	56 (21,3)	145 (55,1)
Idade			
Média (DP)	6,6 (1,4)	7,2 (2,0)	6,6 (1,6)
Índice de placa global *			
Média (DP)	1,9 (0,5)	1,9 (0,6)	1,9 (0,5)
Experiência de cárie **			
ceo-s + CPO-S			
Média (DP)	1,7 (2,6)	3,0 (3,5)	2,7 (3,3)
Nº de lesões ativas ***			
Média (DP)	5,9 (2,9)	7,0 (3,4)	7,7 (4,0)
* Avaliado através do índice de higiene oral simplificado (Greene, Vermillion, 1964; Rodrigues et al. 1990).			
** Experiência de cárie medida pelo ceo-s+CPO-S.			
*** Número de lesões ativas segundo (Nyvad, Machiulskiene et al. 1999).			
**** Algumas variáveis não apresentam 606 dentes no total porque possuem alguns dados ausentes.			

Inicialmente, utilizando toda a amostra, o exame visual das superfícies feito por dois examinadores calibrados foi definido como padrão de referência para validação dos métodos baseados em fluorescência.

A reprodutibilidade entre os dois examinadores no exame visual dos dentes apresentou alto grau de concordância calculado pelos índices kappa (k ; 95% IC) e kappa ponderado (kp ; 95% IC) tanto na avaliação da severidade das lesões ($k = 0,86$; 95% IC = 0,83 a 0,95 e $kp = 0,95$; 95% IC = 0,93 a 0,97), como na avaliação da atividade de cárie ($k = 0,89$; 95% IC = 0,85 a 0,92 e $kp = 0,90$; 95% IC = 0,87 a 0,94). Os valores de concordância intraexaminador foram igualmente elevados (severidade: $k = 0,85$; 95% IC = 0,74 a 0,96 e $kp = 0,92$; 95% IC = 0,87 a 0,98; atividade: $k = 0,85$; 95% IC = 0,73 a 0,98 e $kp = 0,87$; 95% IC = 0,75 a 0,98).

Assim, a inspeção visual da face oclusal dos molares decíduos revelou que entre as 606 superfícies examinadas, 152 (25,1%) estavam hígidas, 160 (26,4%) apresentavam lesões inativas e 294 (48,5%) apresentavam lesões ativas. Entre essas, a maioria das lesões avançadas em esmalte (escore 2 do ICDAS) e lesões cavitadas (ICDAS ≥ 3) foram classificadas como ativas (Tabela 5.2).

Tabela 5.2 – Distribuição do exame visual feito com os escores do ICDAS (0-6) conforme a detecção de superfícies hígidas, com lesões ativas e inativas (número absoluto e frequência - %)

Atividade da lesão	Escore do ICDAS						Total
	0	1	2	3	4	5	
Hígida	152 (100,0)	-	-	-	-	-	152 (25,1)
Inativa	-	115 (42,1)	21 (26,6)	23 (34,3)	0 (0,0)	1 (7,1)	160 (26,4)
Ativa	-	158 (57,9)	58 (73,4)	44 (65,7)	21 (100,0)	13 (92,9)	294 (48,5)
Total	152 (25,1)	273 (45,0)	79 (13,0)	67 (11,1)	21 (3,5)	14 (2,3)	606 (100,0)

Considerando a relação das medidas obtidas a partir da utilização dos métodos baseados em fluorescência e a avaliação visual como referência, sem considerar a atividade das lesões, todos os parâmetros avaliados com o QLF ou DIAGNOdent pen mostraram que as medições nas lesões não-cavidades foram significativamente maiores do que as dos dentes hígidos, e que as lesões cavidades apresentaram medições maiores do que as lesões não-cavidades e do que os dentes hígidos. Quando a atividade foi levada em consideração, os valores do QLF relacionados à fluorescência intrínseca ao dente (fluorescência verde) diferiram significativamente quando comparadas as lesões ativas e inativas, considerando a presença e a ausência de cavitação, sendo maiores os valores de medição das lesões inativas do que das ativas. Com relação ao DIAGNOdent pen, somente na avaliação de lesões cavidades, as medidas em lesões ativas foram significativamente maiores do que as lesões inativas (Tabela 5.3).

Tabela 5.3 – Relação entre as medições dos métodos baseados em fluorescência (DIAGNOdent pen e QLF) e a avaliação visual para detecção da atividade de cárie, considerando a integridade da superfície (lesões cavitadas e não cavitadas)

	Sadio Média (DP)	Inativa Média (DP)	Ativa Média (DP)
Fluorescência vermelha do biofilme dentário (ΔR %)			
Sadio	17,15 (11,68) a		
Não-cavitadas		22,56 (12,06) b	22,40 (12,42) b
Cavitadas		38,00 (10,43) c	39,82 (12,35) c
Global	17,15 (11,68)	24,93 (13,05)	27,14 (14,61)
Fluorescência vermelha do dente (ΔR %) *			
Sadio	14,03 (11,71) a		
Não-cavitadas		21,97 (11,75) b	21,69 (12,17) b
Cavitadas		34,95 (12,17) c	38,33 (11,07) c
Global	14,03 (11,71)	23,92 (12,66)	26,10 (13,97)
Fluorescência verde do dente (ΔF %) *			
Sadio	6,53 (1,57) a		
Não-cavitadas		11,60 (5,69) b	8,51 (3,03) c
Cavitadas		24,13 (7,63) d	19,97 (7,64) e
Global	6,53 (1,57)	13,48 (7,49)	11,55 (6,91)
Valores de ΔQ (% de fluorescência pela área em mm²) *			
Sadio	1,89 (3,98) a		
Não-cavitadas		13,21 (18,55) a	8,04 (17,29) a
Cavitadas		87,10 (115,71) b	74,80 (113,09) b
Global	1,89 (3,98)	24,30 (54,12)	25,75 (66,72)
DIAGNOdent pen *			
Sadio	3,76 (9,07) a		
Não-cavitadas		15,73 (16,78) b	11,35 (14,23) b
Cavitadas		39,40 (31,67) c	56,95 (29,60) d
Global	3,76 (9,07)	19,27 (21,36)	23,45 (28,03)

DP = desvio padrão

* Valores relacionados ao dente medidos após a realização de profilaxia.

Letras diferentes expressam diferença estatisticamente significativa entre os valores descritos ($p < 0,05$).

A primeira série de análises univariadas, que considerou como desfecho as lesões ativas, tendo como referência os dentes sadios e lesões inativas agrupadas, mostrou associação significativa positiva com o número de lesões ativas em todos os dentes, embora essa associação tenha sido próxima ao limite de significância ($p = 0,05$). Indivíduos do sexo masculino também mostraram prevalência de lesões ativas aproximadamente 30% maior do que as meninas. Com relação às variáveis relacionadas ao dente, o segundo molar decíduo mostrou-se positivamente associado às lesões ativas comparado ao primeiro molar decíduo, assim como a presença de biofilme visível sobre a superfície oclusal dos molares decíduos. Com relação aos métodos baseados na fluorescência, observou-se que as medidas do DIAGNOdent pen, bem como as ferramentas de avaliação da fluorescência vermelha do QLF (fluorescência vermelha da placa e do dente, após a profilaxia) apresentaram associação com a presença de lesões ativas (Tabela 5.4).

No modelo múltiplo, apenas a presença de biofilme visível sobre a superfície oclusal dos molares decíduos e a fluorescência vermelha do dente mostraram associação significativa com a presença de atividade de cárie, como observado no modelo 1. No modelo 2, pode-se observar que outras variáveis, quando incluídas no modelo, removem a significância desses fatores (Tabela 5.5).

Tabela 5.4 – Associação de variáveis relacionadas aos dentes e aos indivíduos, e de parâmetros obtidos com métodos baseados na quantificação da fluorescência com o desfecho relacionado à atividade das lesões de cárie, considerando dentes saudáveis e lesões inativas como referência

	Razão de Prevalência	Intervalo de confiança a 95%	<i>p</i>
Variáveis relacionadas à criança (n = 606 dentes em 113 crianças)			
Sexo (ref.: feminino)			0,049
Masculino	1,27	1,00 a 1,61	
Idade (variável contínua)	0,95	0,88 a 1,02	0,177
ceo-s + CPO-S (variável contínua)	1,01	0,98 a 1,05	0,478
Índice de placa global (variável contínua)	0,97	0,77 a 1,22	0,781
Nº de lesões ativas (variável contínua)	1,05	1,01 a 1,08	0,005
Variáveis relacionadas ao dente (n = 606)			
Tipo de dente (ref.: 1º molar)			0,012
2º molar	1,35	1,07 a 1,70	
Arco (ref.: Superior)			0,544
Inferior	0,93	0,74 a 1,17	
Biofilme oclusal visível (ref.: ausente)			0,003
Presente	1,59	1,17 a 2,16	
Biofilme evidenciado (ref.: ausente)			0,134
Recente	1,31	0,86 a 2,01	
Maduro	1,61	1,00 a 2,60	
Parâmetros do QLF			
Fluorescência Vermelha do biofilme (ΔR %)	1,02	1,01 a 1,02	< 0,001
Fluorescência Vermelha do dente (ΔR %)	1,02	1,01 a 1,03	< 0,001
Fluorescência Verde do dente			
ΔF (%)	1,02	1,00 a 1,03	0,060
ΔQ (%.mm ²)	1,00	1,00 a 1,00	0,054
DIAGNOdent pen	1,01	1,00 a 1,01	< 0,001

Tabela 5.5 – Modelo múltiplo construído utilizando regressão de Poisson de multinível para avaliar a associação entre as variáveis independentes e as lesões ativas de cárie (dentes sadios e lesões inativas agrupadas como referência). Modelo 1 foi construído apenas com variáveis que mantiveram um valor de p menor que 5% após ajuste. O modelo 2 foi construído com todas as variáveis com valor de $p < 0,20$ na análise univariada

	Modelo 1		Modelo 2	
	RP (95% IC)	p	RP (95% IC)	p
Fluorescência vermelha do dente (ΔR %)	1,02 (1,01 a 1,02)	< 0,001	1,01 (0,99 a 1,02)	0,177
Biofilme oclusal visível (ref.: ausente)				0,052
Presente	1,43 (1,05 a 1,95)	0,023	1,37 (1,00 a 1,89)	
DIAGNOdent pen	-		1,00 (1,00 a 1,01)	0,150
Sexo (ref.: feminino)				0,053
Masculino	-		1,27 (1,00 a 1,62)	
Nº de lesões ativas (variável contínua)	-		1,02 (0,99 a 1,05)	0,183
Fluorescência vermelha do biofilme (ΔR %)	-		1,00 (0,99 a 1,01)	0,754
RP = Razão de prevalência 95% IC = Intervalo de confiança a 95%				

Na segunda série de análises, o desfecho foi constituído de lesões ativas, tendo somente as lesões inativas como referência. Nesse caso, os dentes sadios foram excluídos da análise. Na análise univariada, apenas a presença de biofilme visível sobre a superfície oclusal dos molares decíduos mostrou associação significativa com o desfecho avaliado (RP = 1,42; 95%IC = 1,05 a 1,92; $p = 0,023$) (Tabela 5.6), sendo mantida essa associação na construção dos modelos múltiplos, como observado no modelo 1. O modelo 2 mostrou novamente uma perda de significância dessa variável após inclusão de outras variáveis (Tabela 5.7).

Tabela 5.6 – Associação de variáveis relacionadas aos dentes e aos indivíduos, e de parâmetros relacionados aos métodos baseados na quantificação da fluorescência com o desfecho lesões ativas de cárie tendo as lesões inativas como referência

	Razão de Prevalência	Intervalo de confiança a 95%	p
Variáveis relacionadas à criança (n = 454 dentes em 111 crianças)			
Sexo (ref.: feminino)			0,081
Masculino	1,23	0,98 a 1,54	
Idade (variável contínua)	0,93	0,87 a 1,00	0,059
ceo-s + CPO-S (variável contínua)	0,99	0,95 a 1,03	0,521
Índice de placa global (variável contínua)	0,95	0,77 a 1,18	0,657
Nº de lesões ativas (variável contínua)	1,02	0,99 a 1,05	0,278
Variáveis relacionadas ao dente (n = 454)			
Tipo de dente (ref.: 1º molar)			0,468
2º molar	0,92	0,73 a 1,16	
Arco (ref.: Superior)			0,438
Inferior	0,91	0,73 a 1,15	
Biofilme oclusal visível (ref.: ausente)			0,023
Presente	1,42	1,05 a 1,92	
Biofilme evidenciado (ref.: ausente)			0,407
Recente	1,06	0,70 a 1,61	
Maduro	1,28	0,80 a 2,04	
Parâmetros do QLF			
Fluorescência Vermelha do biofilme (ΔR %)	1,00	1,00 a 1,01	0,346
Fluorescência Vermelha do dente (ΔR %)	1,00	1,00 a 1,01	0,328
Fluorescência Verde do dente			
ΔF (%)	0,99	0,97 a 1,00	0,105
ΔQ (%.mm ²)	1,00	1,00 a 1,00	0,887
DIAGNOdent pen	1,00	1,00 a 1,01	0,331

Tabela 5.7 – Modelo múltiplo construído utilizando regressão de Poisson de multinível para avaliar a associação entre as variáveis independentes e as lesões ativas de cárie (lesões inativas como referência). Modelo 1 foi construído apenas com a variável com valor de p menor que 5% após ajuste. O modelo 2 foi construído com todas as variáveis com valor de $p < 0,20$ na análise univariada

	Modelo 1		Modelo 2	
	RP (95% IC)	p	RP (95% IC)	P
Biofilme oclusal visível (ref.: ausente)		0,023		0,010
Presente	1,42 (1,05 a 1,92)		1,49 (1,10 a 2,02)	
Sexo (ref.: feminino)				0,113
Masculino			1,22 (0,95 a 1,55)	
Idade (variável contínua)			0,94 (0,87 a 1,01)	0,098
Fluorescência verde do dente				0,342
ΔF (%)			0,99 (0,97 a 1,01)	
RP = Razão de prevalência 95% IC = Intervalo de confiança a 95%				

Na segunda etapa do trabalho, o padrão de referência para a avaliação da profundidade e atividade das lesões foi o exame histológico após corte dos dentes que foram extraídos ou exfoliados.

Assim, entre as 50 superfícies oclusais, a avaliação em lupa estereomicroscópica revelou similaridade no número de lesões ativas e inativas. A maioria das lesões em dentina foi classificada como ativa na avaliação histológica (Tabela 5.8).

Tabela 5.8 – Distribuição das lesões presentes nos dentes extraídos avaliadas histologicamente classificados segundo profundidade da lesão (D1 a D4) e status de atividade (lesão ativa ou inativa)

Status da lesão	Profundidade da lesão					Total
	D0	D1	D2	D3	D4	
Inativas	4 (100,0)	7 (58,3)	13 (54,2)	1 (12,5)	-	25 (50,0)
Ativas	-	5 (41,7)	11 (45,8)	7 (87,5)	2 (100,0)	25 (50,0)
Total	4 (8,0)	12 (24,0)	24 (48,0)	8 (16,0)	2 (4,0)	50 (100,0)

Dados apresentados em número absoluto e frequência.

Na avaliação de performance dos métodos na detecção de lesões de cárie com relação à profundidade das lesões, de modo geral, os métodos baseados em fluorescência e o exame de inspeção visual mostraram valores semelhantes de acurácia e área sob a curva ROC, tanto para a detecção de lesões em esmalte iniciais e avançadas (limiares D1 e D2, respectivamente), como para a detecção de lesões em dentina considerando o limiar D3 (Tabela 5.9).

Para as lesões iniciais de esmalte (D1), o exame visual, o DIAGNOdent pen e a avaliação da fluorescência intrínseca do dente dada pelo QLF (valores de ΔQ) mostraram maiores valores de sensibilidade, que foram significativamente maiores aos valores de ΔF . Não houve diferença nos valores de especificidade, mas quanto à acurácia, o exame visual foi superior a alguns métodos, como a fluorescência vermelha do dente e verde quando mensurada pela ΔF (Tabela 5.9).

Já para as lesões avançadas em esmalte (limiar D2), ao contrário, o exame visual apresentou piores valores de sensibilidade quando o ponto de corte de lesões maiores do que escore 1 do ICDAS foi considerado. Por outro lado, a especificidade desse método foi um pouco maior do que alguns outros métodos baseados na fluorescência. Apesar dessas diferenças, os valores de acurácia e área sob a curva ROC foram estatisticamente similares entre todos os métodos (Tabela 5.9).

Já no limiar de lesões em dentina (D3), apesar da similaridade encontrada entre os valores de sensibilidade, o QLF, quando utilizada a ferramenta de análise da fluorescência verde considerando o ΔQ , mostrou menor especificidade do que o exame de inspeção visual (Tabela 5.9). Numa análise global, os métodos baseados na avaliação da fluorescência apresentaram performance similar ou pior do que o exame visual.

Tabela 5.9 – Performance dos métodos de detecção de lesões de cárie na detecção de lesões oclusais em diferentes limiares de acordo com a profundidade

Métodos	Ponto de corte	Sensibilidade	Especificidade	Acurácia	Az
Lesões iniciais em esmalte (D1)					
Visual	> 0	0,870 ^a	0,500 ^a	0,840 ^a	0,766 ^a
DIAGNOdent pen	> 4	0,848 ^a	0,500 ^a	0,820 ^{a, b}	0,649 ^a
QLF					
Fluorescência vermelha do dente (ΔR)	> 21,9	0,717 ^{a, b}	0,750 ^a	0,720 ^{b, d}	0,668 ^a
Fluorescência verde do dente (ΔF)	> 9,3	0,565 ^b	0,750 ^a	0,580 ^{c, d}	0,590 ^a
Fluorescência verde do dente (ΔQ)	> 2,1	0,826 ^a	0,500 ^a	0,800 ^{a, b}	0,571 ^a
Lesões avançadas em esmalte (D2)					
Visual	> 1	0,353 ^a	0,813 ^a	0,500 ^a	0,670 ^a
DIAGNOdent pen	> 8	0,735 ^{b, c}	0,500 ^{a, b}	0,660 ^a	0,714 ^a
QLF					
Fluorescência vermelha do dente (ΔR)	> 26,4	0,588 ^b	0,688 ^{a, b}	0,620 ^a	0,629 ^a
Fluorescência verde do dente (ΔF)	> 10,3	0,559 ^b	0,750 ^a	0,620 ^a	0,673 ^a
Fluorescência verde do dente (ΔQ)	> 2,1	0,882 ^c	0,250 ^b	0,680 ^a	0,600 ^a
Lesões em dentina (D3)					
Visual	> 2	0,600 ^a	0,950 ^a	0,880 ^a	0,871 ^a
DIAGNOdent pen	> 30	0,600 ^a	0,825 ^{a, b}	0,672 ^a	0,674 ^a
QLF					
Fluorescência vermelha do dente (ΔR)	> 31,3	0,900 ^a	0,825 ^{a, b}	0,840 ^a	0,870 ^a
Fluorescência verde do dente (ΔF)	> 16,7	0,700 ^a	0,875 ^{a, b}	0,840 ^a	0,780 ^a
Fluorescência verde do dente (ΔQ)	> 13,8	0,700 ^a	0,775 ^b	0,760 ^a	0,745 ^a

Az = Área sob a curva Receiver Operating Characteristics.

Letras diferentes expressam diferença estatisticamente significativa entre valores descritos na mesma coluna dentro do mesmo limiar de detecção ($p < 0,05$).

Na avaliação do desempenho dos métodos em avaliar a atividade das lesões de cárie, inicialmente foram calculados os valores de DOR e área sob a curva ROC apenas para os métodos baseados em fluorescência, utilizando os valores contínuos. Apenas o DIAGNOdent pen e a fluorescência vermelha do dente obtida com o QLF apresentaram valores de DOR significativamente maiores do que 1. Os valores de área sob a curva ROC não foram superiores a 0,75 para nenhum dos métodos. Após dicotomização das medidas, os valores de DOR se apresentaram significativamente maiores do que 1 para todos os métodos. A acurácia, no entanto, não foi superior a 0,800 para nenhum dos métodos, incluindo a inspeção visual. Não houve diferença estatisticamente significativa entre nenhum dos métodos avaliados (Tabela 5.10).

Tabela 5.10 – Diagnostic Odds Ratio (DOR) e área sob a curva ROC (Az) dos diferentes métodos baseados na avaliação da fluorescência na detecção da atividade de cárie e valores de DOR e acurácia dos diferentes métodos após dicotomização seguindo os melhores pontos de corte de cada método para distinguir lesões inativas de lesões ativas

Métodos	Análise com valores contínuos			Análise após dicotomização	
	DOR	Az	Ponto de corte	DOR	Acurácia
Inspeção visual	*	*	*	8,78 (2,12 a 36,45)	0,740
DIAGNOdent pen	1,04 (1,01 a 1,08)	0,746	> 8,5	12,74 (2,46 a 66,12)	0,740
QLF					
Fluorescência vermelha da placa (ΔR)	1,03 (0,98 a 1,07)	0,671	> 27,2	5,43 (1,49 a 19,80)	0,700
Fluorescência vermelha do dente (ΔR)	1,08 (1,02 a 1,14)	0,766	> 24,8	7,79 (2,06 a 29,43)	0,740
Fluorescência verde do dente (ΔF)	1,08 (0,98 a 1,19)	0,706	> 9,28	6,43 (1,72 a 24,05)	0,720
Fluorescência verde do dente (ΔQ)	1,01 (0,99 a 1,03)	0,750	> 3,53	11,23 (2,33 a 54,10)	0,740

ROC = *Receiver Operating Characteristics*

* valores não calculados para o exame visual pois é um método qualitativo.

Não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre os métodos em nenhum dos parâmetros avaliados.

6 DISCUSSÃO

Somada à investigação dos fatores etiológicos e do risco de desenvolver a doença, a avaliação da atividade de cárie tem sido apontada como fator decisivo na tomada da melhor decisão de tratamento (Nyvad, 2004; Braga et al., 2010d). Assim, cientes de que os métodos diagnósticos convencionalmente utilizados (exame visual e radiográfico) fazem um julgamento subjetivo das lesões de cárie, seja quanto à sua profundidade ou status de atividade, o uso da tecnologia tem sido aplicado no desenvolvimento de novas ferramentas para serem incorporadas na estratégia diagnóstica da cárie dentária. Nesse assunto, ganham destaque os aparelhos diagnósticos baseados em fluorescência que precisam ser melhor investigados para a compreensão dos seus reais benefícios e utilidade no diagnóstico da cárie dentária. Desse modo, o presente estudo realizou a avaliação da associação de diversos parâmetros clínicos e medições feitas com uso do QLF e DIAGNOdent pen com a detecção da atividade de cárie em superfície oclusal de molares decíduos.

Os participantes da presente pesquisa foram selecionados aleatoriamente a partir dos seus prontuários, sem qualquer predileção ou acesso às suas condições de saúde oral, reunindo crianças que procuraram tratamento odontológico (preventivo ou curativo), semelhantemente à população que procura atendimento nas clínicas e consultórios (Novaes et al., 2009). A ampla faixa etária abordada foi definida em busca de dentes decíduos com lesões em diferentes estágios de progressão da doença. Os pacientes mais velhos foram incluídos também com o propósito de doação dos dentes em período de exfoliação para a segunda etapa do estudo. A escolha e marcação na ficha clínica de um único sítio a ser avaliado por superfície oclusal foi feita para evitar que diferentes sítios fossem examinados pelos diferentes examinadores ou nas diferentes fases do processo.

A maioria das lesões avançadas em esmalte ou cavidades foi classificada como ativa, corroborando com a ideia de que lesões iniciais podem ser mais facilmente controladas do que lesões mais avançadas que progridem com maior velocidade (Kidd, 1999; Ekstrand et al., 2001; Kidd; Fejerskov, 2004).

A escolha do melhor método de validação para a avaliação da atividade de cárie em estudos clínicos ainda hoje é um desafio, dada inexistência de uma metodologia perfeita e aplicável a todos os tipos de estudo, populações e amostras (Hintze et al., 1998; Braga et al., 2010b). Assim, optou-se inicialmente pela validação concorrente, que utiliza como exame de referência a avaliação feita por um método consagrado ou previamente validado (Downer, 1975). Na primeira etapa do trabalho, o exame visual feito segundo o sistema ICDAS foi adotado como padrão de referência, tendo sido apontado como um método efetivo na avaliação da atividade de cárie (Ekstrand et al., 2007; Braga et al., 2010b).

Entretanto, alguns autores têm argumentado que métodos de referência subjetivos não são confiáveis devido à baixa reprodutibilidade alcançada a partir do exame de inspeção visual (Araujo et al., 1996; Hintze et al., 1998). No presente estudo, a análise de reprodutibilidade demonstrou altos valores de concordância entre os examinadores tanto na detecção quanto na avaliação da atividade das lesões de cárie, dando confiabilidade ao meio de validação escolhido. Além disso, a validade externa do estudo é favorecida pela escolha de um método de referência funcional, simples e barato (Seddon, 1989; Mialhe et al., 2003), tendo sido comprovada a aceitação e aplicabilidade do ICDAS na clínica odontopediátrica (Novaes et al., 2010; Novaes et al., 2012b).

Considerando a relação das medidas obtidas a partir da utilização dos métodos baseados em fluorescência e o exame de inspeção visual como referência, quando não considerada a atividade das lesões, todos os parâmetros avaliados com o QLF ou DIAGNOdent pen mostraram maiores valores de medição na avaliação das lesões cavitadas do que nas não cavitadas. De fato, essa diferenciação pode auxiliar na escolha da melhor opção de tratamento, uma vez que, em lesões não cavitadas o controle de biofilme e progressão das lesões é facilitado pela ausência de descontinuidade na superfície (Pitts, 1993; Kidd, 1999; Ekstrand et al., 2001; Kidd; Fejerskov, 2004), favorecendo a adoção de terapêutica não invasiva e menos onerosa. Com base no princípio de que a fluorescência proveniente do tecido cariado difere da fluorescência proveniente do tecido hígido e que essa fluorescência tende a aumentar com o aumento de conteúdo bacteriano (Hibst et al., 2001), que é maior na presença de cavitação, tais resultados se justificam.

Por outro lado, quando considerada a avaliação da atividade de cárie, apenas a quantificação da fluorescência intrínseca do dente (valores de ΔF do QLF) e a utilização do DIAGNOdent pen em lesões cavitadas foram capazes de diferenciar lesões ativas e inativas. O potencial do QLF em detectar perdas minerais com a ferramenta de avaliação da fluorescência no verde tem sido comprovada em diversos estudos (van der Veen; de Josselin de Jong, 2000; Angmar-Mansson; Ten Bosch, 2001; Heinrich-Weltzien et al., 2003; Alammari et al., 2013), mas a sua utilização para avaliação da atividade de cárie em molares decíduos ainda não foi diretamente estudada. No que se refere ao uso da fluorescência a laser, corroborando os presentes resultados, a sua capacidade em diferenciar lesões cavitadas ativas e inativas foi previamente demonstrada (Braga et al., 2010a). Isso se deve ao maior nível de infecção e consequente acúmulo de metabólitos nessas lesões.

Entre os parâmetros clínicos relacionados como indicadores de atividade da doença cárie, a presença de biofilme dentário tem sido associada com a atividade de lesões de cárie (Burt, 2005; Coulthwaite et al., 2006; Braga et al., 2010c; Raggio et al., 2010). No presente estudo, a associação positiva da presença de biofilme visível sobre o sítio oclusal avaliado a presença de lesão ativa foi encontrada. De fato, o biofilme é um importante fator na etiologia da cárie dentária (Nyvad; Fejerskov, 1997). A presença de uma lesão de cárie também pode favorecer o maior acúmulo de biofilme. Assim, a presença de placa sobre a lesão (Nyvad et al., 1999) ou a simples classificação de uma região como um local de estagnação de placa (Ekstrand et al., 2007) têm sido utilizados na classificação da atividade das lesões. No entanto, esses índices de biofilme dão apenas uma ideia da quantidade presente. A utilização de métodos objetivos quantitativos de avaliação do biofilme poderia ser uma ferramenta útil para auxiliar o clínico na avaliação da atividade de lesões.

Dessa forma, a avaliação da fluorescência vermelha do biofilme poderia exercer esse papel. Alguns trabalhos têm demonstrado que a fluorescência capturada a partir da avaliação do biofilme pode indicar a presença de bactérias anaeróbias obrigatórias ou acúmulo de placa madura (Coulthwaite et al., 2006; Lennon et al., 2006; van der Veen et al., 2006). Um estudo prévio utilizou um evidenciador de cárie que diferencia biofilme jovem e maduro, e encontrou associação da presença de biofilme maduro e a presença de lesão

ativa de cárie (Braga et al., 2010c). Assim, levantou-se a hipótese de que a fluorescência vermelha emitida pelo biofilme bacteriano poderia estar relacionada a uma maior cariogenicidade, e conseqüentemente, maior risco para o desenvolvimento de lesões de cárie (Heinrich-Weltzien et al., 2003; Coulthwaite et al., 2006). Essa hipótese foi inicialmente avaliada num experimento *in situ*, onde foi constatado que a fluorescência vermelha está associada à maturidade do biofilme, mas que isso não necessariamente indicou maior potencial cariogênico (Bittar et al., 2012b). No entanto, a necessidade de outros estudos foi uma das motivações para o desenvolvimento do objetivo apresentado no presente estudo clínico.

A ferramenta de avaliação da fluorescência vermelha com o QLF tem sido pouco estudada (Coulthwaite et al., 2006; Pretty, 2006; Coulthwaite et al., 2009; de Josselin de Jong et al., 2009). De fato, a fluorescência na faixa espectral vermelha tem sido relatada a partir da presença de metabólitos (provavelmente as porfirinas) produzidos por microrganismos específicos associados à cárie dentária e doença periodontal (Konig et al., 1998; Buchalla, 2005; Mendes et al., 2006; de Josselin de Jong et al., 2009). Alguns autores relatam que a fluorescência também pode ser proveniente de polissacarídeos extrínsecos e intrínsecos de algumas bactérias presentes no biofilme dentário (de Josselin de Jong et al., 2009). Adicionalmente, a maturidade do biofilme foi relacionada a uma maior atividade cariogênica, uma vez que a maioria das bactérias fluorescentes em vermelho tem sido encontrada em placa mais antiga e espessa (Coulthwaite et al., 2006).

Os primeiros trabalhos que investigaram a fluorescência emitida por microrganismos foram desenvolvidos em laboratório, onde se observou que bactérias anaeróbias associadas à doença periodontal emitiam fluorescência no vermelho (Coulthwaite et al., 2006; Lennon et al., 2006). Com relação às bactérias cariogênicas, diversas espécies de estreptococos não exibiram essa fluorescência no vermelho (Coulthwaite et al., 2006; Lennon et al., 2006; de Josselin de Jong et al., 2009). No que se refere aos lactobacilos, existem autores que demonstram sua fluorescência na faixa espectral vermelha (Lennon et al., 2006; van der Veen et al., 2006), enquanto outros discordam dessa afirmação (Konig et al., 1998).

Determinadas espécies bacterianas, quando semeadas em proximidade com outras, parecem emitir diferentes padrões de fluorescência (van der Veen et al., 2006; Thomas et al., 2008). Dessa forma, a fluorescência vermelha da placa bacteriana pode estar mais relacionada a características intrínsecas do biofilme e à sua arquitetura, do que a características de espécies isoladas presentes nesse biofilme (van der Veen et al., 2006; Thomas et al., 2008; de Josselin de Jong et al., 2009).

No presente estudo, quando o desfecho considerado foi a detecção de lesões ativas e como referência a presença de lesões inativas somadas às superfícies sadias, a utilização da fluorescência vermelha do biofilme mostrou associação positiva com a atividade das lesões. No modelo múltiplo, entretanto, essa relação perdeu a significância. A única variável relacionada ao uso do QLF que se manteve significativa foi a fluorescência vermelha do dente após a profilaxia. Uma possível explicação para esses resultados talvez seja o fato de os dentes incluídos no estudo estarem já erupcionados e em oclusão funcional. Dentes em oclusão funcional apresentam menor acúmulo de biofilme. Dessa forma, a espessura de biofilme sobre os sítios poderia ser pequena, e por isso, a medição da fluorescência no vermelho feita com o QLF, mesmo sem a profilaxia prévia, seria mais provavelmente proveniente do próprio dente do que do biofilme.

Diante dos resultados obtidos previamente no experimento *in situ*, bem como os resultados aqui apresentados, parece que a avaliação da fluorescência vermelha emitida pelo biofilme não é útil em auxiliar o clínico na predição da cariogenicidade do biofilme. No entanto, um estudo adicional de coorte está sendo desenvolvido pela nossa equipe a fim de avaliar se a presença do biofilme fluorescente no vermelho em primeiros molares permanentes em erupção pode ser um fator de risco para o desenvolvimento de lesões de cárie. Tais medidas serão analisadas em conjunto com o consumo de sacarose dos pacientes. Assim, espera-se encerrar essa linha de pesquisa.

Outra possibilidade explorada na presente pesquisa foi a utilização das medições com os métodos baseados na fluorescência após a profilaxia dos dentes, ou seja, as medições nos dentes livres de biofilme.

Com relação ao DIAGNOdent pen, a significância encontrada nas análises univariadas foram perdidas no modelo múltiplo. Partindo do pressuposto de que as lesões de cárie ativas são mais infectadas do que as inativas (Nyvad; Fejerskov, 1997), a diferença inicialmente confirmada faria sentido. Estudos prévios, feitos com a primeira versão do aparelho, encontraram diferenças significantes na detecção de lesões ativas e inativas (Pinelli et al., 2002; Anttonen et al., 2004; Braga et al., 2010a). Entretanto, o uso da fluorescência a laser na avaliação de lesões pigmentadas tem mostrado valores superestimados (Cortes et al., 2003; Francescuti; Lussi, 2003). Isso poderia representar uma limitação do método na avaliação da atividade das lesões, pois muitas lesões inativas na superfície oclusal são pigmentadas (Nyvad; Fejerskov, 1997). No entanto, foi observado valores significativamente maiores na avaliação de lesões cavitadas ativas comparadas às lesões cavitadas inativas. Isso havia sido observado também com a primeira versão do aparelho (Braga et al., 2010a).

Também foi encontrada associação positiva entre a avaliação da fluorescência vermelha do dente (imagem capturada sem a presença do biofilme) e a avaliação da atividade de cárie, tanto nas análises univariadas como no modelo múltiplo. No entanto, essa associação foi observada quando as superfícies hígidas agrupadas às lesões inativas na análise. Nesse caso, portanto, os valores mais altos das lesões ativas poderiam estar mais relacionados à presença de lesão de cárie do que à essa aparente diferenciação de lesões ativas e inativas especificamente. Essa possibilidade se confirma na segunda série de análises, quando as superfícies sadias foram excluídas e a avaliação da fluorescência vermelha do dente não mostrou associação significativa com a atividade de cárie. Assim, quando considerando como desfecho as lesões ativas e tendo as lesões inativas como referência, apenas a presença de biofilme visível sobre a superfície oclusal dos molares decíduos foi associada à presença de atividade de cárie.

No entanto, os resultados obtidos podem ser devido à versão do software associado ao QLF. Os fabricantes do QLF, mais recentemente, desenvolveram novas versões do software de avaliação das imagens capturadas pelo aparelho as quais denominaram “*One Plaque Store*” e “*Two Plaque Store*”. Tais ferramentas serviriam para a avaliação quantitativa em

escala de zero a cinco ou a área (em percentual) coberta por biofilme maduro (Waller et al., 2012). No entanto, nenhum trabalho foi publicado com essa nova versão.

Ainda que alguns autores apontem vantagens na utilização do QLF relacionadas à satisfação dos pacientes mediante sua aplicação (Heinrich-Weltzien et al., 2003), ele foi pouco testado clinicamente. Cabe salientar, que no desenvolvimento da presente metodologia de aplicação do QLF em dentes decíduos, foi encontrada muita dificuldade em obter imagens de qualidade, especialmente em crianças mais novas. Essa dificuldade em obter imagens nítidas também foi relatada para avaliação *in vivo* da superfície oclusal de dentes permanentes (Kuhnisch et al., 2007).

A angulação do feixe de luz do QLF deve incidir o mais perpendicularmente à superfície a ser avaliada, podendo haver redução dos valores da fluorescência verde capturados quando essa condição não é obedecida (Ando et al., 2004). Superfícies livres apresentam morfologia mais plana que pode favorecer a obtenção de imagens mais fidedignas (Ando et al., 2004). No presente estudo, a morfologia de fossas e fissuras da anatomia oclusal dificultou ainda mais essa padronização das imagens.

Estudos que avaliem a performance do QLF para detecção de lesões de cárie e classificação da atividade de cárie em dentes decíduos ainda não foram desenvolvidos. Assim, seguiu-se com a segunda etapa do nosso trabalho onde a validação histológica auxiliada pela aplicação da solução de vermelho de metila foi empregada como padrão de referência para avaliação da atividade de cárie.

Considerando a detecção das lesões, de modo geral, o QLF e o DIAGNOdent pen mostraram performance similar ao exame de inspeção visual em quase todas as análises e limiares de detecção. Entretanto, na detecção de lesões avançadas em esmalte encontramos menores valores de sensibilidade para o exame visual que, por outro lado, mostrou maior especificidade. De fato, a menor espessura de esmalte em dentes decíduos, pode dificultar a divisão das lesões em esmalte em superficiais e profundas. Isso, no entanto, não compromete a utilização do ICDAS uma vez que a indicação terapêutica é a mesma para qualquer lesão inicial (Ekstrand et al., 2001; Braga et al., 2009; Diniz et al., 2011a). Além disso, caracterizada a doença cárie como doença de

progressão lenta (Nyvad, 2004), o recomendável é que se subestime a lesão mediante qualquer dúvida no seu diagnóstico.

Na detecção de lesões em dentina, apesar da similaridade observada nos valores de sensibilidade e acurácia dos métodos, quanto avaliada a fluorescência intrínseca do dente (valores de ΔQ), o QLF mostrou especificidade menor do que o exame de inspeção visual. Para lesões em dentina, essa redução da especificidade é especialmente indesejável, pois resulta na ocorrência de um maior número de diagnósticos falso-positivos e consequentes intervenções desnecessárias (Baelum et al., 2012; Mendes et al., 2012).

Partindo do pressuposto de que as lesões ativas teriam pH mais acidulado do que as inativas (Ekstrand et al., 1998; Braga et al., 2010b), optou-se pela validação de critério na avaliação da atividade das lesões de cárie utilizando um método colorimétrico de avaliação do pH das lesões. Outros estudos se baseiam na avaliação do pH da lesão para validar a atividade de cárie (Ekstrand et al., 1998; Murakami et al., 2006; Braga et al., 2010b).

O vermelho de metila altera sua coloração quando atingida uma determinada faixa de pH que engloba os valores de 4,4 a 6,0 (Macgregor, 1962). Adicionalmente, demonstraram que o pH das lesões ativas pode variar de 5,3 a 6,3 e nas inativas de 6,1 a 6,9. Assim, com base nestes intervalos de pH que se cruzam em determinados valores, o corante utilizado não seria capaz de classificar adequadamente o status de atividade de todas as lesões. Ainda que isso represente uma limitação do nosso estudo, torna-se difícil investigar o quanto essa possibilidade pode ter interferido nas nossas conclusões, dada inexistência de metodologias apropriadas para validação de critério da atividade de lesões de cárie.

O DIAGNOdent pen e a fluorescência vermelha do dente obtida com o QLF apresentaram maior chance em detectar a atividade de cárie. Por outro lado, não houve diferença estatisticamente significativa entre nenhum dos métodos quanto à diferenciação de lesões ativas e inativas. Apenas dois trabalhos apontam a avaliação da fluorescência no verde com o QLF como uma variável preditora de atividade e progressão de lesões em superfícies livres de dentes decíduos (Meller et al., 2006; Meller et al., 2012).

Considerando os achados do presente estudo e a literatura avaliada, a

avaliação do biofilme sobre as superfícies oclusais por métodos simples, tais como a presença de biofilme visível ou de biofilme maduro evidenciado (Braga et al., 2010c) é um método que auxiliaria o clínico na avaliação da atividade das lesões de cárie. Os métodos baseados na fluorescência, apesar de apresentarem associação com as lesões ativas em alguns casos, não se mostraram superiores a essa simples avaliação do biofilme. Da mesma forma, quanto foi realizada a validação de critério histológica, os métodos baseados na fluorescência não foram superiores à simples inspeção visual utilizando o ICDAS, nem com relação à detecção, nem no que tange à avaliação da atividade.

Assim, mediante a inexistência de resultados robustos que demonstrem algum benefício na utilização dos métodos baseados em fluorescência, o exame clínico de rotina, incluindo a avaliação da presença de biofilme e a inspeção visual para avaliação das lesões de cárie, permanece a melhor opção para avaliação da profundidade (Baelum et al., 2012; Mendes et al., 2012) e atividade de cárie em molares decíduos. Por fim, cabe salientar que o QLF e DIAGNOdent pen são muito mais onerosos e, no caso do QLF, indisponível no mercado nacional, o que inviabiliza ainda mais a sua disseminação.

7 CONCLUSÃO

Embora alguns parâmetros de avaliação dos métodos baseados em fluorescência (DIAGNOdent pen e QLF) mostrem bom desempenho na detecção e na avaliação da atividade de cárie em molares decíduos, eles não mostram vantagens quando comparados à avaliação da presença de biofilme e à utilização da inspeção visual utilizando o ICDAS.

REFERÊNCIAS¹

- Al-Khatrash AA, Badran YM, Alomari QD. Factors affecting the detection and treatment of occlusal caries using the International Caries Detection and Assessment System. *Oper Dent*. 2011;36(6):597-607.
- Alammari MR, Smith PW, de Josselin de Jong E, Higham SM. Quantitative light-induced fluorescence (QLF): a tool for early occlusal dental caries detection and supporting decision making in vivo. *J Dent*. 2013;41(2):127-32.
- Alwas-Danowska HM, Plasschaert AJM, Suliborski S, Verdonshot EH. Reliability and validity issues of laser fluorescence measurements in occlusal caries diagnosis. *J Dent*. 2002;30(4):129-34.
- Ando M, Eckert GJ, Stookey GK, Zero DT. Effect of imaging geometry on evaluating natural white-spot lesions using quantitative light-induced fluorescence. *Caries Res*. 2004;38(1):39-44.
- Ando M, Hall AF, Eckert GJ, Schemehorn BR, Analoui M, Stookey GK. Relative ability of laser fluorescence techniques to quantitate early mineral loss in vitro. *Caries Res*. 1997;31(2):125-31.
- Ando M, van Der Veen MH, Schemehorn BR, Stookey GK. Comparative study to quantify demineralized enamel in deciduous and permanent teeth using laser- and light-induced fluorescence techniques. *Caries Res*. 2001;35(6):464-70.
- Angmar-Mansson B, ten Bosch JJ. Quantitative light-induced fluorescence (QLF): a method for assessment of incipient caries lesions. *Dentomaxillofac Radiol*. 2001;30(6):298-307.
- Angmar-Mansson BE, al-Khateeb S, Tranaeus S. Caries diagnosis. *J Dent Educ*. 1998;62(10):771-80.
- Anttonen V, Seppä L, Hausen H. Clinical study of the use of the laser fluorescence device DIAGNOdent for detection of occlusal caries in children. *Caries Res*. 2003;37(1):17-23.

¹ De acordo com Estilo Vancouver.

Anttonen V, Seppa L, Hausen H. A follow-up study of the use of DIAGNOdent for monitoring fissure caries in children. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2004;32(4):312-8.

Araujo FB, Araujo DR, Santos CK, Souza MA. Diagnosis of approximal caries in primary teeth: radiographic versus clinical examination using tooth separation. *Am J Dent.* 1996;9(2):54-6.

Astvaldsdottir A, Holbrook WP, Tranaeus S. Consistency of DIAGNOdent instruments for clinical assessment of fissure caries. *Acta Odontol Scand.* 2004;62(4):193-8.

Attrill DC, Ashley PF. Occlusal caries detection in primary teeth: a comparison of DIAGNOdent with conventional methods. *Br Dent J.* 2001;190(8):440-3.

Bader JD, Shugars DA. A systematic review of the performance of a laser fluorescence device for detecting caries. *J Am Dent Assoc.* 2004;135(10):1413-26.

Baelum V, Hintze H, Wenzel A, Danielsen B, Nyvad B. Implications of caries diagnostic strategies for clinical management decisions. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2012;40(3):257-66.

Baseren NM, Gokalp S. Validity of a laser fluorescence system (DIAGNOdent) for detection of occlusal caries in third molars: an in vitro study. *J Oral Rehabil.* 2003;30(12):1190-4.

Bengtson AL, Gomes AC, Mendes FM, Cichello LRD, Bengtson NG, Pinheiro SL. Influence of examiner's clinical experience in detecting occlusal caries lesions in primary teeth. *Pediatr Dent.* 2005;27(3):238-43.

Bittar DG, Gimenez T, Morais CC, De Benedetto MS, Braga MM, Mendes FM. Influence of moisture and plaque on the performance of a laser fluorescence device in detecting caries lesions in primary teeth. *Lasers Med Sci.* 2012a;27(6):1169-74.

Bittar DG, Pontes LRA, Calvo AFB, Freitas PM, Tabchoury CPM, Mendes FM. Association between red fluorescence emitted by bacterial plaque and caries activity: an in situ study [abstract 43]. *Caries Res.* 2012b;46(3):285.

Block PL, Lobene RR, Derdivanis JP. A two-tone dye test for dental plaque. *J Periodontol.* 1972;43(7):423-6.

Braga MM, de Benedetto MS, Imparato JC, Mendes FM. New methodology to assess activity status of occlusal caries in primary teeth using laser fluorescence device. *J Biomed Opt.* 2010a;15(4):047005.

Braga MM, Ekstrand KR, Martignon S, Imparato JC, Ricketts DN, Mendes FM. Clinical performance of two visual scoring systems in detecting and assessing activity status of occlusal caries in primary teeth. *Caries Res.* 2010b;44(3):300-8.

Braga MM, Martignon S, Ekstrand KR, Ricketts DN, Imparato JC, Mendes FM. Parameters associated with active caries lesions assessed by two different visual scoring systems on occlusal surfaces of primary molars - a multilevel approach. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2010c;38(6):549-58.

Braga MM, Mendes FM, Ekstrand KR. Detection activity assessment and diagnosis of dental caries lesions. *Dent Clin North Am.* 2010d;54(3):479-93.

Braga MM, Mendes FM, Imparato JC, Rodrigues CR. Effect of cut-off points on performance of laser fluorescence for detecting occlusal caries. *J Clin Pediatr Dent.* 2007;32(1):33-6.

Braga MM, Morais CC, Nakama RC, Leamari VM, Siqueira WL, Mendes FM. In vitro performance of methods of approximal caries detection in primary molars. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009;108(4):e35-41.

Braun A, Krause F, Jepsen S. The influence of the calibration mode of a laser fluorescence device on caries detection. *Caries Res.* 2005;39(2):144-9.

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

Burt BA. Concepts of risk in dental public health. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2005;33(4):240-7.

Cabral RM, Mendes FM, Nicolau J, Zezell DM. The influence of PVC seal wrap and probe tips autoclaving on the in vitro performance of laser fluorescence device in occlusal caries in primary teeth. *J Clin Pediatr Dent.* 2006;30(4):306-9.

Cortes DF, Ellwood RP, Ekstrand KR. An in vitro comparison of a combined FOTI/visual examination of occlusal caries with other caries diagnostic methods and the effect of stain on their diagnostic performance. *Caries Res.* 2003;37(1):8-16.

Costa AM, Yamaguti PM, De Paula LM, Bezerra ACB. In vitro study of laser diode 655 nm diagnosis of occlusal caries. *ASDC J Dent Child*. 2002;69(3):249-53.

Coulthwaite L, Pretty IA, Smith PW, Higham SM, Verran J. The microbiological origin of fluorescence observed in plaque on dentures during QLF analysis. *Caries Res*. 2006;40(2):112-6.

Coulthwaite L, Pretty IA, Smith PW, Higham SM, Verran J. QLF is not readily suitable for in vivo denture plaque assessment. *J Dent*. 2009;37(11):898-901.

De Benedetto MS, Morais CC, Novaes TF, de Almeida Rodrigues J, Braga MM, Mendes FM. Comparing the reliability of a new fluorescence camera with conventional laser fluorescence devices in detecting caries lesions in occlusal and smooth surfaces of primary teeth. *Lasers Med Sci*. 2011;26(2):157-62.

de Josselin de Jong ED, Higham SM, Smith PW, van Daelen CJ, van der Veen MH. Quantified light-induced fluorescence, review of a diagnostic tool in prevention of oral disease. *J Appl Phys*. 2009;105(10):102031.

Diniz MB, Lima LM, Eckert G, Zandona AG, Cordeiro RC, Pinto LS. In vitro evaluation of ICDAS and radiographic examination of occlusal surfaces and their association with treatment decisions. *Oper Dent*. 2011a;36(2):133-42.

Diniz MB, Sciasci P, Rodrigues JA, Lussi A, Cordeiro RC. Influence of different professional prophylactic methods on fluorescence measurements for detection of occlusal caries. *Caries Res*. 2011b;45(3):264-8.

Douglass CW. Risk assessment in dentistry. *J Dent Educ*. 1998;62(10):756-61.

Downer MC. Concurrent validity of an epidemiological diagnostic system for caries with the histological appearance of extracted teeth as validating criterion. *Caries Res*. 1975;9(3):231-46.

Ekstrand KR, Martignon S, Ricketts DJ, Qvist V. Detection and activity assessment of primary coronal caries lesions: a methodologic study. *Oper Dent*. 2007;32(3):225-35.

Ekstrand KR, Ricketts DN, Kidd EA. Occlusal caries: pathology, diagnosis and logical management. *Dent Update*. 2001;28(8):380-7.

Ekstrand KR, Ricketts DNJ, Kidd EAM, Qvist V, Schou S. Detection, diagnosing, monitoring and logical treatment of occlusal caries in relation to lesion activity and severity: an in vivo examination with histological validation. *Caries Res.* 1998;32(4):247-54.

El-Housseiny AA, Jamjoum H. Evaluation of visual, explorer, and a laser device for detection of early occlusal caries. *J Clin Pediatr Dent.* 2001;26(1):41-8.

Fejerskov O. Concepts of dental caries and their consequences for understanding the disease. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1997;25(1):5-12.

Ferreira Zandona A, Santiago E, Eckert G, Fontana M, Ando M, Zero DT. Use of ICDAS combined with quantitative light-induced fluorescence as a caries detection method. *Caries Res.* 2010;44(3):317-22.

Francescut P, Lussi A. Correlation between fissure discoloration, Diagnodent measurements, and caries depth: an in vitro study. *Pediatr Dent.* 2003;25(6):559-64.

Francescut P, Zimmerli B, Lussi A. Influence of different storage methods on laser fluorescence values: a two-year study. *Caries Res.* 2006;40(3):181-5.

Fung L, Smales R, Ngo H, Moun G. Diagnostic comparison of three groups of examiners using visual and laser fluorescence methods to detect occlusal caries in vitro. *Aust Dent J.* 2004;49(2):67-71.

Gallagher IH, Fussell SJ, Cutress TW. Mechanism of action of a two-tone plaque disclosing agent. *J Periodontol.* 1977;48(7):395-6.

Gimenez T, Bittar DG, Piovesan C, Guglielmi CAB, Fujimoto K, Matos R, et al. Influence of the Examiners' Experience on Clinical Performance of Visual Inspection in Detecting and Assessing the Activity Status of Caries Lesions. *Oper Dent.* 2013a. DOI: 10.2341/12-067-C.

Gimenez T, Braga MM, Raggio DP, Deery C, Ricketts DN, Mendes FM. Fluorescence-based methods for detecting caries lesions: systematic review, meta-analysis and sources of heterogeneity. *PLoS One.* 2013b;8(4):e60421.

Greene JC, Vermillion JR. The simplified oral hygiene index. *J Am Dent Assoc.* 1964;68(1):7-13.

Heinrich-Weltzien R, Kuhnisch J, van der Veen M, de Josselin de Jong E, Stosser L. Quantitative light-induced fluorescence (QLF)--a potential method for the dental practitioner. *Quintessence Int.* 2003;34(3):181-8.

Heinrich-Weltzien R, Weerheijm KL, Kuhnisch J, Oehme T, Stosser L. Clinical evaluation of visual, radiographic, and laser fluorescence methods for detection of occlusal caries. *ASDC J Dent Child.* 2002;69(2):127-32, 3.

Hibst R, Gall R. Development of a diode laser-based fluorescence caries detector [abstract 80]. *Caries Res.* 1998;32(4):294.

Hibst R, Paulus R, Lussi A. Detection of occlusal caries by laser fluorescence: Basic and Clinical investigations. *Med Laser Appl.* 2001;16:205-13.

Higham SM, Pretty IA, Edgar WM, Smith PW. The use of in situ models and QLF for the study of coronal caries. *J Dent.* 2005;33(3):235-41.

Hintze H, Wenzel A, Danielsen B, Nyvad B. 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.* 1998;32(3):204-9.

Honkala E, Runnel R, Honkala S, Olak J, Vahlberg T, Saag M, et al. Measuring Dental Caries in the Mixed Dentition by ICDAS. *Int J Dent.* 2011. DOI: 10.1155/2011/150424.

Ismail AI, Sohn W, Tellez M, Amaya A, Sen A, Hasson H, et al. The International Caries Detection and Assessment System (ICDAS): an integrated system for measuring dental caries. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2007;35(3):170-8.

Kanellis MJ. Caries risk assessment and prevention: strategies for Head Start, Early Head Start, and WIC. *J Public Health Dent.* 2000;60(3):210-17.

Kidd EA. Caries management. *Dent Clin North Am.* 1999;43(4):743-64.

Kidd EAM, Fejerskov O. What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. *J Dent Res.* 2004;83(1):35-8.

König K, Flemming G, Hibst R. Laser-induced autofluorescence spectroscopy of dental caries. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*. 1998;44(8):1293-300.

Kuhnisch J, Ifland S, Tranaeus S, Hickel R, Stosser L, Heinrich-Weltzien R. In vivo detection of non-cavitated caries lesions on occlusal surfaces by visual inspection and quantitative light-induced fluorescence. *Acta Odontol Scand*. 2007;65(3):183-8.

Lennon AM, Buchalla W, Brune L, Zimmermann O, Gross U, Attin T. The ability of selected oral microorganisms to emit red fluorescence. *Caries Res*. 2006;40(1):2-5.

Lippert F, Butler A, Lynch RJ. Enamel demineralization and remineralization under plaque fluid-like conditions: a quantitative light-induced fluorescence study. *Caries Res*. 2011;45(2):155-61.

Lussi A, Hack A, Hug I, Heckenberger H, Megert B, Stich H. Detection of approximal caries with a new laser fluorescence device. *Caries Res*. 2006;40(2):97-103.

Lussi A, Hellwig E. Performance of a new laser fluorescence device for the detection of occlusal caries in vitro. *J Dent*. 2006;34(7):467-71.

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(4):261-6.

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(1):14-9.

Macgregor AB. The Extent and Distribution of Acid in Carious Dentine. *Proc R Soc Med*. 1962;55(12):1063-6.

Matos R, Novaes TF, Braga MM, Siqueira WL, Duarte DA, Mendes FM. Clinical performance of two fluorescence-based methods in detecting occlusal caries lesions in primary teeth. *Caries Res*. 2011;45(3):294-302.

Matos R, Novaes TF, Reyes A, De Benedetto MS, Mendes FM, Braga MM. Influence of cross-infection control methods on performance of pen-type laser fluorescence in detecting occlusal caries lesions in primary teeth. *Lasers Med Sci*. 2013;28(1):185-92.

Meller C, Heyduck C, Tranaeus S, Splieth C. A new in vivo method for measuring caries activity using quantitative light-induced fluorescence. *Caries Res.* 2006;40(2):90-6.

Meller C, Santamaria RM, Connert T, Splieth C. Predicting caries by measuring its activity using quantitative light-induced fluorescence in vivo: a 2-year caries increment analysis. *Caries Res.* 2012;46(4):361-7.

Mendes FM, de Oliveira E, Faria DLA, Nicolau J. Ability of laser fluorescence device associated with fluorescent dyes in detecting and quantifying early smooth surface caries lesions. *J Biomed Opt.* 2006;11(2):24007.

Mendes FM, Hissadomi M, Imparato JCP. Effects of drying time and the presence of plaque on the in vitro performance of laser fluorescence in occlusal caries of primary teeth. *Caries Res.* 2004a;38(2):104-8.

Mendes FM, Novaes TF, Matos R, Bittar DG, Piovesan C, Gimenez T, et al. Radiographic and laser fluorescence methods have no benefits for detecting caries in primary teeth. *Caries Res.* 2012;46(6):536-43.

Mendes FM, Pinheiro SL, Bengtson AL. Effect of alteration in organic material of the occlusal caries on DIAGNOdent readings. *Braz Oral Res.* 2004b;18(2):141-4.

Mialhe FL, Pereira AC, Pardi V, de Castro Meneghim M. Comparison of three methods for detection of carious lesions in proximal surfaces versus direct visual examination after tooth separation. *J Clin Pediatr Dent.* 2003;28(1):59-62.

Murakami K, Kitasako Y, Burrow MF, Tagami J. In vitro pH analysis of active and arrested dentinal caries in extracted human teeth using a micro pH sensor. *Dent Mater J.* 2006;25(3):423-9.

Novaes TF, Matos R, Braga MM, Imparato JC, Raggio DP, Mendes FM. Performance of a pen-type laser fluorescence device and conventional methods in detecting approximal caries lesions in primary teeth--in vivo study. *Caries Res.* 2009;43(1):36-42.

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. *Int J Paediatr Dent.* 2012a;22(6):459-66.

Novaes TF, Matos R, Raggio DP, Braga MM, Mendes FM. Children's discomfort in assessments using different methods for approximal caries detection. *Braz Oral Res.* 2012b;26(2):93-9.

Novaes TF, Matos R, Raggio DP, Imparato JC, Braga MM, Mendes FM. Influence of the Discomfort Reported by Children on the Performance of Approximal Caries Detection Methods. *Caries Res.* 2010;44(5):465-71.

Nyvad B. Diagnosis versus detection of caries. *Caries Res.* 2004;38(3):192-8.

Nyvad B, Fejerskov O. Assessing the stage of caries lesion activity on the basis of clinical and microbiological examination. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1997;25(1):69-75.

Nyvad B, Machiulskiene V, Baelum V. Construct and predictive validity of clinical caries diagnostic criteria assessing lesion activity. *J Dent Res.* 2003;82(2):117-22.

Nyvad B, Machiulskiene V, Baelum V. Reliability of a new caries diagnostic system differentiating between active and inactive caries lesions. *Caries Res.* 1999;33(4):252-60.

Ouellet A, Hondrum SO, Pietz DM. Detection of occlusal carious lesions. *Gen Dent.* 2002;50(4):346-50.

Pereira AC, Verdonchot EH, Huysmans MCDNJM. Caries detection methods: can they aid decision making for invasive sealant treatment? *Caries Res.* 2001;35(2):83-9.

Pinelli C, Campos Serra M, de Castro Monteiro Loffredo L. Validity and reproducibility of a laser fluorescence system for detecting the activity of white-spot lesions on free smooth surfaces in vivo. *Caries Res.* 2002;36(1):19-24.

Piovesan C, Ardenghi TM, Guedes RS, Ekstrand KR, Braga MM, Mendes FM. Activity assessment has little impact on caries parameters reduction in epidemiological surveys with preschool children. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2013;41(3):204-11.

Pitts N. "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(3):193-8.

Pitts NB. Current methods and criteria for caries diagnosis in Europe. *J Dent Educ.* 1993;57(6):409-14.

Pretty IA. Caries detection and diagnosis: novel technologies. *J Dent.* 2006;34(10):727-39.

Pretty IA, Edgar WM, Higham SM. Detection of in vitro demineralization of primary teeth using quantitative light-induced fluorescence (QLF). *Int J Paediatr Dent.* 2002a;12(3):158-67.

Pretty IA, Edgar WM, Higham SM. The effect of ambient light on QLF analyses. *J Oral Rehabil.* 2002b;29(4):369-73.

Pretty IA, Edgar WM, Higham SM. The effect of dehydration on quantitative light-induced fluorescence analysis of early enamel demineralization. *J Oral Rehabil.* 2004;31(2):179-84.

Raggio DP, Braga MM, Rodrigues JA, Freitas PM, Imparato JC, Mendes FM. Reliability and discriminatory power of methods for dental plaque quantification. *J Appl Oral Sci.* 2010;18(2):186-93.

Rocha-Cabral RM, Mendes FM, Miura F, Ribeiro Ada C, Braga MM, Zezell DM. Autoclaving and battery capacity influence on laser fluorescence measurements. *Acta Odontol Scand.* 2008;66(2):122-7.

Rocha RO, Ardenghi TM, Oliveira LB, Rodrigues CRMD, Ciamponi AL. In vivo Effectiveness of Laser Fluorescence Compared to Visual Inspection and Radiography for the Detection of Occlusal Caries in Primary Teeth. *Caries Res.* 2003;37(6):437-41.

Rodrigues CRMD, Ando T, Guimaraes LO. Simplificação do índice da higiene bucal nas idades de 4 a 6 e de 7 a 10 anos (dentições decídua e mista). *Rev Odontol Univ Sao Paulo.* 1990;4(1):20-4.

Seddon RP. The detection of cavitation in carious approximal surfaces in vivo by tooth separation, impression and scanning electron microscopy. *J Dent.* 1989;17(3):117-20.

Sheehy EC, Brailsford SR, Kidd EAM, Beighton D, Zoiopoulos L. Comparison between visual examination and a laser fluorescence system for in vivo diagnosis of occlusal caries. *Caries Res.* 2001;35(6):421-6.

Shi XQ, Welander U, Angmar-Mansson B. Occlusal caries detection with KaVo DIAGNOdent and radiography: an in vitro comparison. *Caries Res.* 2000;34(2):151-8.

Stookey GK. Quantitative light fluorescence: a technology for early monitoring of the caries process. *Dent Clin North Am.* 2005;49(4):753-70.

Thomas RZ, van der Mei HC, van der Veen MH, de Soet JJ, Huysmans MC. Bacterial composition and red fluorescence of plaque in relation to primary and secondary caries next to composite: an in situ study. *Oral Microbiol Immunol.* 2008;23(1):7-13.

Tranaeus S, Al-Khateeb S, Bjorkman S, Twetman S, Angmar-Mansson B. Application of quantitative light-induced fluorescence to monitor incipient lesions in caries-active children. A comparative study of remineralisation by fluoride varnish and professional cleaning. *Eur J Oral Sci.* 2001;109(2):71-5.

Tranaeus S, Shi XQ, Angmar-Mansson B. Caries risk assessment: methods available to clinicians for caries detection. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2005;33(4):265-73.

van der Veen MH, de Josselin de Jong E. Application of quantitative light-induced fluorescence for assessing early caries lesions. *Monogr Oral Sci.* 2000;17:144-62.

van der Veen MH, Thomas RZ, Huysmans MC, de Soet JJ. Red autofluorescence of dental plaque bacteria. *Caries Res.* 2006;40(6):542-5.

Waller E, Van Daelen CJ, Van der Veen MH. Application of QLF™ for Diagnosis and Quality Assessment in Clinical Practice. Amsterdam, 2012. [citado 28 abr.2013]. Disponível em: <http://www.inspektor.nl>.

Wu J, Donly ZR, Donly KJ, Hackmyer S. Demineralization Depth Using QLF and a Novel Image Processing Software. *Int J Dent.* 2010;2010:958264.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

De acordo com o item IV do Informe Epidemiológico do SUS, Conselho Nacional de Saúde, Resolução 196/1996 “O respeito devido à dignidade humana exige que toda pesquisa se processe após consentimento livre e esclarecido dos sujeitos, indivíduos ou grupos que por si e/ou por seus representantes legais manifestem a sua anuência à participação na pesquisa”.

As informações contidas neste documento foram fornecidas pelos pesquisadores responsáveis pela pesquisa, a fim de convidar o responsável pelo menor voluntário da pesquisa a participar da pesquisa. Através desse documento, o responsável autoriza a participação do menor, com pleno conhecimento dos procedimentos a que seu filho(a) será submetido(a) e de que não é obrigatória sua participação, não havendo nenhuma perda caso se recuse a participar.

1. Título da Pesquisa: Utilização de métodos baseados em fluorescência para avaliação da atividade de lesões de cárie oclusais em molares decíduos.

2. Objetivo principal: Avaliar alguns métodos de diagnóstico de cárie em dentes decíduos (dentes de leite) quanto à detecção e atividade dessas lesões na superfície oclusal (parte deitada do dente). Considerando que a atividade e a detecção das lesões de cárie oclusais é decisiva para a escolha do tratamento a ser instituído, é importante o desenvolvimento de métodos capazes de diagnosticar e avaliar a atividade das lesões de cárie nessa região.

3. Procedimento: Em uma mesma consulta, será realizado o exame clínico (com espelho bucal e iluminação do refletor), seguido de evidenciação de placa e motivação do paciente. Numa segunda consulta serão realizados exames com aparelho baseados em fluorescência (Diagnodent pen e QLF). Numa terceira consulta será feito um novo exame clínico para classificação/pontuação das lesões com determinada escala (Ismail, Sohn et al. 2007). Os dentes que apresentarem lesões de cárie avançadas receberão os tratamentos

necessários. Esses procedimentos serão realizados em consultório odontológico.

4. Benefício: Os participantes da pesquisa, bem como seus responsáveis, participarão de atividades de educação em saúde bucal, na qual se tratará a respeito da cárie dentária e doença periodontal; emprego de corretas técnicas utilizadas para a prevenção da cárie dentária (dieta, higienização). Além disso, as crianças serão examinadas e, havendo necessidade de tratamento, serão encaminhadas para tal.

5. Desconforto/Risco/Prejuízos: Os exames oferecem desconfortos e riscos mínimos ao paciente. O exame clínico já iria fazer parte da documentação inicial do paciente, para que se pudesse, depois, fazer um plano de tratamento e só será antecipado pelos pesquisadores. A realização da pesquisa não acarretará em nenhum prejuízo ao seu tratamento odontológico da criança.

6. Informações adicionais: O voluntário tem a garantia de que receberá resposta a qualquer pergunta e esclarecimento de dúvidas sobre os procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa. Os pesquisadores assumem o compromisso de proporcionar informações atualizadas obtidas durante o estudo, ainda que essas possam afetar a vontade do voluntário em continuar participando do trabalho. A não identificação do voluntário na publicação do trabalho será totalmente respeitada.

7. Retirada do consentimento: O responsável pelo voluntário tem a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento, deixando de participar do estudo, sem que acarrete em prejuízos para o voluntário.

8. Consentimento pós-informação:

Eu _____, certifico que, tendo lido as informações prévias e tendo sido suficiente esclarecido pelos pesquisadores abaixo descritos, sobre todos os itens, estou plenamente de acordo com a realização da pesquisa, autorizando, inclusive que se execute os

procedimentos relacionados a esta pesquisa no menor
_____, por qual sou responsável.

São Paulo, _____ de _____ de 20__.

Nome participante: _____

Endereço: _____ Telefone: _____

Nome responsável: _____ RG: _____

ASSINATURA DO RESPONSÁVEL PELO PACIENTE

RESPONSÁVEL PELA PESQUISA: TATIANE NOVAES (9 81106657)

APÊNDICE B – Termo de doação de dente decíduo para fins de pesquisa

1. Procedimento: O dente será extraído porque é necessário, sendo feita avaliação pelo profissional que está atendendo a criança com consentimento do coordenador do projeto. A cirurgia não será feita em hipótese alguma pelo interesse da utilização do dente na pesquisa, sem que não haja indicação do procedimento. O dente será extraído e coletado pelo autor do estudo, sendo corretamente armazenado para ser utilizado em laboratório. Se o dente tiver “caído” sozinho, ele será apenas coletado e armazenado para o mesmo uso acima mencionado.
2. Desconfortos e riscos esperados: São esperados os desconfortos e riscos decorrentes da remoção de dentes decíduos. Salienta-se o fato de que o pesquisador não está interessado no procedimento cirúrgico em si, e que este já estava indicado e planejado. O objetivo é apenas a coleta do dente.
3. Benefícios para os doadores: O benefício será a retirada do dente que estava causando algum problema ao paciente, visto que sua remoção estava indicada e planejada. Esta indicação poderá ser por motivos ortodônticos, de retenção prolongada ou outros motivos que indiquem a cirurgia. Além disso, evita que o paciente leve o dente para casa, que, como um material contaminado, pode ser responsável por qualquer forma de contaminação cruzada.
4. Informações adicionais: Os dentes doados não serão identificados com o nome do doador, nem do responsável, em nenhuma parte do estudo. O aluno ou estagiário que realizou a cirurgia fica responsável pelo controle pós-operatório e continuação do tratamento do paciente.
5. Negação de consentimento: Os menores ou seus responsáveis podem recusar-se a doar o dente extraído para a utilização no estudo em questão, sem que isto acarrete em qualquer prejuízo ao tratamento e acompanhamento na clínica da faculdade.

Eu _____,
responsável pelo(a) menor _____,
certifico que após a leitura deste documento e de outras explicações dadas

pela cirurgiã dentista Tatiane Novaes sobre os itens acima, estou de acordo com a doação do dente de leite da referida criança que será extraído ou que esfoliou (caiu) para que ela possa utilizá-lo na sua pesquisa de tese de doutorado. Estou ciente que a pesquisa envolverá apenas análise do dente em relação à profundidade e atividade de lesões de cárie.

ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia
Comitê de Ética em Pesquisa

PARECER DE APROVAÇÃO

FR - 225953
203/2008

Com base em parecer de relator, o Comitê de Ética em Pesquisa APROVOU o protocolo de pesquisa **"Associação entre fluorescência vermelha emitida pelo biofilme dentário e atividade de cárie; estudo transversal"**, de responsabilidade do(a) Prof. Dr. Fausto Medeiros Mendes.

Tendo em vista a legislação vigente, devem ser encaminhados a este Comitê relatórios anuais referentes ao andamento da pesquisa e ao término cópia do trabalho em "cd". Qualquer emenda do projeto original deve ser apresentada a este CEP para apreciação, de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

São Paulo, 11 de dezembro de 2008.

Prof. Dr. João Gualberto de Cerqueira Luz
Coordenador do CEP-FOUSP