

LORENA GONÇALVES VILELA

**INSPEÇÃO VISUAL, MICROTOMOGRÁFIA E CORTES HISTOLÓGICOS NO
DIAGNÓSTICO DE LESÕES DE CÁRIE - UM ESTUDO COMPARATIVO**

BRASÍLIA-DF

2014

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

LORENA GONÇALVES VILELA

**INSPEÇÃO VISUAL, MICROTOMOGRÁFIA E CORTES HISTOLÓGICOS NO
DIAGNÓSTICO DE LESÕES DE CÁRIE - UM ESTUDO COMPARATIVO**

Dissertação apresentada como requisito para a obtenção
do Título de Mestre em Ciências da Saúde pelo Programa
de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da
Universidade de Brasília.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Soraya Coelho Leal

**Brasília
2014**

Lorena Gonçalves Vilela

**INSPEÇÃO VISUAL, MICROTOMOGRÁFIA E CORTES HISTOLÓGICOS NO
DIAGNÓSTICO DE LESÕES DE CÁRIE - UM ESTUDO COMPARATIVO**

Dissertação apresentada como requisito para a obtenção
do Título de Mestre em Ciências da Saúde pelo Programa
de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da
Universidade de Brasília.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Soraya Coelho Leal - Presidente
Universidade de Brasília

Profa. Dra. Ana Paula Dias Ribeiro

Prof. Dr. Celso de Freitas Pedrosa Filho

Profa. Dra. Érica Negrini Lia

AGRADECIMENTOS

À Universidade de Brasília, ao Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde, a faculdade de Ciências da Saúde, ao Instituto de Biologia e ao Curso de Graduação em Odontologia, por tornarem possível a realização do curso de mestrado.

À orientadora, professora Soraya, que me acolheu, que exigiu de mim, me apoiou e acreditou que fosse possível chegar ao final do trabalho. Grande exemplo de amor àquilo que se propõe e aos seus princípios. Foi por ela que esse trabalho se realizou.

Ao professor Leandro Hilgert pelo exemplo de competência e exigência com o trabalho e com a Odontologia.

À pós-graduanda Ana Luiza de Souza, pelo apoio pessoal e profissional durante o trabalho.

Ao professor orientador, professor Jo Frencken, pela dedicação, entusiasmo pela pesquisa, pela Odontologia e principalmente pela vontade de fazer o bem ao Mundo.

Ao professor Sacha Braun Chaves que me recebeu no Instituto de Biologia da Universidade de Brasília, sendo parte essencial na pesquisa.

Aos estudantes e amigos do curso de pós-graduação que estiveram presentes durante a dura jornada .

Aos amigos do coração, que de alguma forma me ajudaram durante a caminhada: Alexandre Saul Palma, Maria Emilia Meireles, Patricia Costa

À minha família. Obrigada pelo suporte, amor, paciência.

A Deus, que nunca me abandonou.

RESUMO

Cortes histológicos são normalmente utilizados como padrão-ouro em estudos de validação de métodos de diagnóstico de cárie. Entretanto, alternativas como a utilização de um microtomógrafo computadorizado (Micro-CT) foram propostas, possibilitando a análise não-destrutiva de espécimes, com uma alta resolução das imagens e permitindo detectar lesões em estágios iniciais. **Objetivos:** (1) validar o Micro-CT na detecção de cárie proximal e oclusal em dentes permanentes utilizando o ICDAS II com as imagens dos cortes histológicos e do Micro-CT; (2) correlacionar a análise visual utilizando o sistema ICDAS II com o Micro-CT e a avaliação histológica e; (3) avaliar a performance do Micro-CT como padrão-ouro na detecção de cárie. **Metodologia:** 124 superfícies oclusais e proximais de dentes permanentes de 54 dentes permanentes foram avaliadas visualmente. Em seguida, os dentes foram hemiseccionados fotografados (análise histológica) e as hemiseções foram escaneadas e reconstruídas com um Micro-CT. Todas as avaliações foram realizadas por dois examinadores treinados e calibrados utilizando o sistema ICDAS II para a análise visual e os escores do sistema ICDAS II foram convertidos para escores em Downer. Os três métodos de detecção foram comparados quanto ao grau de concordância e coeficientes Kappa (k). Também foram calculadas a sensibilidade, especificidade, valores preditivo negativo e positivo e a acurácia, considerando dois pontos de corte: (1) inclusão de apenas lesões em dentina; (2) lesões de esmalte e dentina. **Resultados:** Valores mais altos de k e de concordância foram encontrados para as superfícies proximais em comparação as superfícies oclusais para todos os métodos. Das três comparações entre os métodos de detecção de cárie, a melhor performance foi encontrada quando histologia foi comparada ao Micro-CT. Sensibilidade para a análise visual no ponto de corte 1 foi a menor. Sensibilidade e especificidade obtidas utilizando o Micro-CT e histologia como padrão ouro foram comparáveis. Acurácia para ambos os pontos de corte foi consistentemente mais alta para as superfícies proximais tanto para o Micro-CT quanto para a histologia. **Conclusões:** O Micro-CT parece ser válido para a detecções de lesões de cárie em superfícies oclusais e proximais. A análise visual apresenta limitações na detecção da extensão de lesões de cárie, especialmente em

superfícies oclusais. O Micro-CT apresentou boa performance quando utilizado como padrão-ouro.

Palavras-chave: Detecção de cárie, Micro-CT, validação

ABSTRACT

Background: Histological sections are usually used as the gold standard in validation studies of caries lesion detection. However, an alternative like the microtomography (Micro-CT) has been proposed, which is a non-destructive method for the detection of early caries lesions using high resolution images. **Objectives:** (1) to validate the Micro-CT for detecting proximal and occlusal caries lesions in permanent teeth using histology as the gold standard; (2) to correlate the visual inspection method using the ICDAS II system with both Micro-CT and histology methods and; (3) to assess the Micro-CT performance as a gold standard for caries lesion detection. **Methodology:** 124 occlusal and proximal surfaces from permanent teeth were visually assessed after which these teeth were hemi-sectioned. Photographs of the sectioned sites were taken for histological analysis and the hemisections were scanned and rebuilt with the Micro-CT. All visual assessments were performed by two trained and calibrated examiners using the ICDAS II system while the assessments for Micro-CT and histology analysis were obtained using the Downer criteria. The three detection methods were compared and reported using weighted kappa (k) and level of agreement. Sensitivity, Specificity, negative and positive predictive values and accuracy were calculated for two cut-off points: (1) sound and enamel lesions versus dentine lesions; (2) sound versus enamel and dentine lesions. **Results:** Higher kappa coefficient values and higher level of agreement were found for proximal compared to occlusal surfaces for all three methods. Of the three comparisons between the detection methods, the best performance was found when histology was compared to Micro-CT. Sensitivity for visual inspection at cut-off point 1 scored lowest. Sensitivity and specificity obtained from using Micro-CT and histology as gold standard were comparable. Accuracy for both cut-off points was consistently higher for proximal surfaces for both Micro-CT and histology. **Conclusions:** The Micro-CT seems to be a valid method in detecting occlusal and proximal caries lesions. The visual inspection presented limitations on the detection of the lesion depth, specially for the occlusal surfaces. Micro-CT presented good performance when used as gold standard.

Keyword: Cariesdetection, Micro-CT, validation

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fotografias das faces proximais e oclusal de um terceiro molar e seus respectivos escores ICDAS II: mesial=0, oclusal= 2 e distal=0

Figura 2– Fotografias de um pré-molar evidenciando as superfícies proximais e oclusal e seus respectivos escores ICDAS II: mesial=3, oclusal=2, distal=0. Mesmo dente depois de hemiseccionado e avaliado por meio do critério Downer: mesial=2, oclusal=3, distal=0 .

Figura 3 - Imagem obtida por meio do Micro-CT na qual se pode evidenciar diferença na escala de cinza nas superfícies oclusal e distal

Figura 4 – Distal, oclusal e mesial de um pré-molar e seus respectivos escores ICDAS II: mesial= 0; oclusal= 0, distal= 2. Avaliação do corte histológico: mesial= 0, oclusal= 2 e distal= 2 em Downer. Avaliação da imagem do Micro-CT e seus respectivos escores Downer: mesial= 0, oclusal= 0, distal=1.

Figura 5- Distal, oclusal e mesial de um molar permanente e seus respectivos escores ICDAS II: mesial= 0; oclusal= 0, distal= 4. Avaliação do corte histológico, mesial= 0, oclusal= 1 e distal= 3 em Downer. Avaliação da imagem do Micro-CT e seus respectivos escores Downer: mesial= 0, oclusal= 0, distal= 3.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Descrição dos escores de cárie propostos pelo sistema ICDAS II

Tabela 2- Distribuição da amostra de acordo com o tipo de dente e superfície analisada

Tabela 3 - Critério para avaliação de cortes histológicos proposto por Downer (1975)

Tabela 4 – Correlação entre os escores ICDAS-II e Downer

Tabela 5 – Distribuição dos escores ICDAS II por superfície

Tabela 6 – Grau de concordância, e kappa Ponderado comparando-se os métodos de detecção de cárie

Tabela 7 – Valores de Significância para Kappa

Tabela 8 – Fórmulas para p cálculo da sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivos e negativos e acurácia

Tabela 9 – Sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo e acurácia comparando-se o método visual à análise histológica em lesões oclusais (Ocl.) e proximais (Prox.)

Tabela 10 - Sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo e acurácia comparando-se o Micro-CT à análise histológica em lesões oclusais (Ocl.) e proximais (Prox.)

Tabela 11 - Sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo e acurácia comparando-se o método visual à análise realizada no Micro-CT (como padrão ouro) em lesões oclusais (Ocl.) e proximais (Prox.)

Tabela 12- Sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo e acurácia comparando-se a análise histológica à análise realizada no Micro-CT (como padrão ouro) em lesões oclusais (Ocl.) e proximais (Prox.)

LISTA DE ABREVIATURAS

ONU - Organizações das Nações Unidas

OMS - Organização Mundial de Saúde

CPO – Índice de cárie que leva em consideração as superfícies cariadas, perdidas e obturadas

ICDAS - International Caries Detection and Assessment System

Micro-CT – Microtomografia computadorizada

Se- Sensibilidade

Sp-Especificidade

PPV-Valores Preditivos Positivos

NPV - Valores Preditivos Negativos

Ac -.Acurácia

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. OBJETIVOS.....	19
2.1. OBJETIVO GERAL	19
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
3. MATERIAL E MÉTODO.....	20
3.1. ASPECTOS ÉTICOS	20
3.2. AMOSTRA	20
3.3. TREINAMENTO DOS EXAMINADORES.....	22
3.4. EXAME VISUAL DAS SUPERFÍCIES DENTÁRIAS	22
3.5. HISTOLOGIA	23
3.6. MICROTOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA.....	24
3.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	25
4. RESULTADOS	27
5. DISCUSSÃO.....	32
6. CONCLUSÃO	39
7. BIBLIOGRAFIA.....	40
8. ANEXOS.....	46
8.1 ANEXO A: Documento de Aprovação pelo Comitê de Ética da Faculdade de Medicina– Universidade de Brasília	46

1. INTRODUÇÃO

A cárie dentária é uma das doenças não-transmissíveis e evitáveis com um dos maiores índices de prevalência em todo mundo.

No ano de 2011, a Organização da Nações Unidas (ONU) reconheceu as doenças orais, entre elas a cárie dentária, como um dos mais importantes problemas de saúde mundial (1). Essa declaração foi feita durante uma Reunião da ONU sobre Doenças Não Transmissíveis. Um dos pontos mais importantes comentados foi a necessidade de se conscientizar, em nível internacional, a respeito da ascensão da doença, pois, a cárie dentária afeta 90% da população do mundo (1).

A doença cárie pode ser detectada em diferentes estágios de desenvolvimento, tanto em esmalte quanto em dentina, e sua progressão pode causar dor e perdas dentárias que influenciam direta e socialmente a vida de um indivíduo (2). Inicia-se pela desmineralização na superfície dentária devido a um desequilíbrio de pH, causado pela acidificação do meio bucal na presença de sacarose (dieta), biofilme (microorganismos específicos) e higiene oral deficiente, associados ao fator tempo (3,4). Com a manutenção da interação de tais fatores, a desmineralização pode progredir para a perda significativa de minerais e estruturas dentárias, resultando na cavitação do esmalte e da dentina e, em casos mais graves, em ulcerações, abscessos e infecções do osso alveolar e tecidos circundantes (5,6,7).

Nas últimas décadas, tem-se observado uma transição epidemiológica no padrão de distribuição e evolução da doença, comprovada pela diminuição na prevalência e incidência da cárie dentária em países desenvolvidos e em desenvolvimento (4, 8, 9). Porém, é nítido o fato de que o fator socioeconômico ainda é relevante ao se analisar tais estatísticas. Mais que uma doença dependente de microorganismos específicos, a cárie é uma doença social diretamente ligada a comportamentos e hábitos; ou seja, áreas socioeconomicamente vulneráveis, com difícil acesso a serviços odontológicos e/ou ações preventivas, ainda apresentam elevados índices da doença (9,10). O progresso de pesquisas sobre a etiologia da doença e suas consequências, associado ao desenvolvimento de um Estado mais proativo em relação ao bem-estar de seus cidadãos, levou à criação de políticas públicas voltadas para a saúde bucal (2). Entre estas políticas estão a fluoretação

das águas de abastecimento das cidades, adição de fluoretos em sal de cozinha e leite, além da popularização do uso de dentifrícios fluoretados, (8, 11). Essas e outras medidas influenciaram positivamente na diminuição dos níveis epidemiológicos mundiais da cárie; atentando-se que estas medidas continuam limitadas em sua abrangência, criando uma discrepância inter-regional (2, 9, 12).

As políticas voltadas às ações em saúde são norteadas por estudos e levantamentos epidemiológicos. Dados destes levantamentos informam as reais condições de saúde bucal de uma determinada população. A partir daí, é possível delinear estratégias de vigilância específicas e planejadas e/ou ainda, avaliar os serviços já existentes naquela região. Para tanto, os sistemas avaliadores usados devem ser confiáveis, de fácil aplicabilidade e reprodutibilidade.

Desta forma, a etapa de diagnóstico da cárie dentária é de extrema importância e, idealmente, deveria ser um processo de três passos: detecção da doença, seguido da avaliação da gravidade e atividade da mesma (3,13). Entretanto, tais passos podem representar um problema quando levantamentos epidemiológicos são realizados, em função do nível de detalhamento dos exames. Talvez, justamente por ser um método simples, um dos índices mais utilizados mundialmente para o levantamento de cárie continua sendo o índice recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) (14). Este índice foi criado na tentativa de facilitar a comparação de estudos epidemiológicos, levando em consideração a quantidade de dentes/superfícies cariados (C), perdidos (P) e obturados (O) de um indivíduo - CPO, e o ceo para dentes decíduos, onde “e” se refere aos dentes com extração indicada (14). Nota-se, nesse e em outros sistemas utilizados (13), uma forte tendência ao estudo dos casos de lesões evoluídas e pouca ênfase nos casos de lesões cariosas em estágios iniciais (3,14,15). Com isso, os valores reais da doença são subestimados, o que dificulta a implementação de programas direcionados a problemas específicos, e, principalmente, a criação de programas de prevenção.

O critério recomendado pela OMS tem a vantagem de ser de fácil aprendizagem e atingir bons parâmetros de reprodutibilidade entre os examinadores. Inicialmente proposto na década de 1930 (15), o sistema de avaliação sofreu apenas algumas modificações ao longo dos anos, apresentando ainda algumas limitações. Tal índice não inclui lesões de cárie iniciais em esmalte, tampouco lesões não

cavidades em dentina, considerando apenas as cavidades óbvias. Além disso, não registra as consequências de lesões de cárie não tratadas, como envolvimento pulpar, abscesso e fistula. Sendo assim, a magnitude exata de cada componente no total do índice é difícil de ser determinada (13,16).

A busca por instrumentos para a detecção de cárie dentária que incluam estas questões e padronizem metodologicamente os estudos motivou um grupo de pesquisadores a desenvolver um novo sistema denominado ICDAS - *International Caries Detection and Assessment System* (17), o qual, após algumas alterações, foi nomeado ICDAS II. Tal sistema foi desenvolvido, principalmente, para possibilitar a avaliação de lesões de cárie iniciais, bem como categorizar lesões de cárie em diferentes estágios de progressão (13, 17, 18).

O ICDAS II é um sistema avaliação dentária de dois dígitos, no qual o primeiro dígito se refere à presença e à condição de selantes, restaurações e coroas protéticas. O segundo diz respeito à classificação da gravidade das lesões cariosas, podendo ser atribuídos sete diferentes códigos, três deles relacionados à presença de cárie em esmalte (tabela 1). O sistema foi desenvolvido para utilização na prática clínica, atividades de pesquisa, educacionais e epidemiológicas (16,18).

Tabela 1- Descrição dos escores de cárie propostos pelo sistema ICDAS II

Escore	Descrição
0	Nenhuma ou sutil alteração na translucidez do esmalte após secagem por 5 segundos
1	Opacidade notável após secagem por 5 segundos e/ou pigmentação retida em fundo de fóssulas e fissuras
2	Opacidade notável na presença de umidade e/ou pigmentação extrapola fundo de fóssulas e fissuras
3	Cavitação localizada apenas em esmalte
4	Sombreamento em dentina subjacente ao esmalte. Pode ou não haver microcavitação, desde que não haja dentina aparentemente exposta
5	Cavitação em esmalte com exposição de dentina (até 1/2 da superfície da face analisada)
6	Cavitação em esmalte com exposição de dentina (mais 1/2 da superfície da face analisada)

Os resultados dos estudos realizados utilizando-se o ICDAS II mostram que o sistema é uma ferramenta confiável e eficaz em diferentes situações (19,20). Tem sido usado com sucesso em estudos *in vitro*, bem como estudos clínicos, em diferentes dentições (dentes decíduos e permanentes) e em diferentes grupos etários (crianças, adolescentes, adultos jovens, adultos).

Em função de todas as vantagens apresentadas pelo sistema ICDAS II, ele tem sido o critério de escolha de detecção de cárie em muitos estudos *in vitro* e *ex vivo* sobre diagnóstico de cárie e/ou terapias de controle da doença (21, 22, 23). Nestes tipos de estudos, dentes extraídos são avaliados visualmente e posteriormente, analisados histologicamente com o objetivo de se verificar a correlação entre a avaliação clínica e histológica.

Tradicionalmente, a inspeção microscópica óptica (análise histológica) é considerada o padrão-ouro para a validação de estudos de diagnóstico de cárie. Tem sido bastante utilizada, mas apesar disso, apresenta alguns inconvenientes. O principal deles está relacionado a problemas causados pela necessidade de secção das amostras. No caso em que se deseja avaliar a profundidade da lesão cariosa, as secções resultantes disponíveis para exame podem não incluir a área mais profunda da lesão ou podem ser perdidas durante o processo de preparação das lâminas. Além disso, análises histológicas não permitem a monitoração da progressão das lesões de cárie, já que a amostra é perdida após a secção. Adicionalmente, existe a possibilidade de ocorrer falhas mecânicas e por parte do operador durante o processo de obtenção dos cortes (23, 24). Com o objetivo de reduzir possíveis erros advindos da necessidade de se fazer muitos cortes para a obtenção das lâminas histológicas, observou-se a possibilidade da utilização da análise de fotografias digitais ampliadas em alta resolução de tecidos duros como alternativa à avaliação feita em lupa estereoscópica (18). A fotografia já vem sendo utilizada para diagnosticar e avaliar placa bacteriana, gengivite e prevalência de defeitos de desenvolvimento no esmalte (18). A reprodutibilidade da avaliação da profundidade de lesões cariosas ao se visualizar cortes histológicos diretamente ou por meio de um monitor de computador já foi testada e os resultados foram semelhantes, independentemente do método utilizado (25). Estes achados apresentam benefícios potenciais para estudos multicêntricos, uma vez que examinadores de diferentes regiões podem avaliar o mesmo corte, sem que para isso seja necessário estar com a amostra em mãos (18, 23).

A tendência tecnológica das pesquisas e do mercado é aprimorar seus equipamentos para que estes auxiliem de forma precisa as pesquisas e análises médicas, permitindo a visualização das estruturas orgânicas e inorgânicas em altas resoluções, e estudos dos processos que ocorrem no interior dos tecidos duros humanos, sem que para isso seja necessário destruir a amostra. No caso da cariologia, a manutenção da integridade do dente analisado, possibilita acompanhar a evolução do processo carioso, bem como refazer as análises quantas vezes forem necessárias.

Neste sentido, uma nova tecnologia tem apresentado condições favoráveis de se tornar um instrumento nos estudos de diagnóstico da cárie: a Microtomografia. O microtomógrafo computadorizado (Micro-CT) tem por objetivo criar um banco de dados em 3-D que represente a radiopacidade de cada ponto de uma amostra por meio da realização de várias imagens de raio X, girando estes pontos entre si e reconstruindo-os de forma volumétrica (26). O uso do Micro-CT possui como principais vantagens o fato de ser um método não-invasivo e não-destrutivo, ao mesmo tempo que é capaz de gerar imagens de alta resolução.

Este recurso vem sendo utilizado ao longo de aproximadamente duas décadas, principalmente nas áreas de Radiologia e Endodontia, na medição da densidade mineral de esmalte e dentina, na medição do osso cortical, medição do volume de dentina escavada durante a preparação da cavidade, avaliação da infiltração marginal ao redor de restaurações e selantes, detecção de alterações minerais em lesões cariosas artificiais e na medição da profundidade da cárie em dentina (27, 28). O sistema é otimizado para a quantificação da concentração mineral, e é particularmente útil para estudos *in vitro* dos processos de desmineralização e remineralização dentária (29).

O Micro-CT foi sugerido, há algum tempo, como um método promissor em estudos de validação na área de cariologia (24); entretanto, ele precisa ser testado e comparado a outros métodos já conhecidos e validados.

O primeiro estudo de validação com Micro-CT, na detecção de lesões de cárie proximais foi feito por Mitropoulos et al(2010) (30) e mostrou que, apesar de este ser capaz de detectar alterações na estrutura dentária de proximais de dentes permanentes, não pode ser considerado como uma alternativa à histologia, uma vez que ambos os métodos apresentaram valores baixos de concordância. Contrapondo a isso, Soviero et al,(2012) (30) analisou a validade do método Micro-CT para faces

proximais de dentes decíduos com ou sem lesões não cavitadas. Os resultados mostraram um alto desempenho diagnóstico do Micro-CT quando este foi comparado ao exame visual e à radiografia. Resultados semelhantes aos obtidos pelas análises histológicas permitiram concluir que o Micro-CT pode ser usado como padrão ouro em estudos de lesões cáries em faces proximais de molares decíduos (30).

Entretanto, em ambos os estudos (29,30) a metodologia empregada pode ter gerado algum fator de confundimento, uma vez que não é possível afirmar que a superfície avaliada por meio da análise histológica era exatamente a mesma utilizada na microtomografia. Isto porque o primeiro método gera uma imagem bidimensional, enquanto a imagem gerada pelo segundo é tridimensional. Desta forma, as comparações realizadas entre os dois métodos podem ter sido baseadas em análises de regiões diferentes de uma mesma superfície. Em função desta limitação, o presente estudo se propôs a analisar uma única imagem do Micro-CT, que correspondesse à imagem obtida para avaliação histológica, numa tentativa de se eliminar ou reduzir este tipo de viés.

Vale ressaltar que a qualidade de qualquer sistema de pontuação para detectar e classificar clinicamente lesões de cárie depende de uma validação anterior, considerando que validade é a habilidade de um teste indicar a presença da doença naqueles que a possuem, e indicar resultado negativo para indivíduos saudáveis (17,37). Neste sentido, o objetivo deste estudo foi comparar a eficácia do Micro-CT na detecção e avaliação da profundidade de lesões de cárie proximais e oclusais em dentes permanentes, utilizando a análise histológica como padrão ouro, a partir da análise visual realizada por meio do sistema ICDAS II.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

- Validar o Micro-CT na detecção de cárie proximal e oclusal em dentes permanentes, utilizando a análise histológica como padrão-ouro.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Correlacionar a análise visual, por meio do sistema ICDAS II, com a análise histológica.
- Correlacionar a análise visual, por meio do sistema ICDAS II, com a análise das imagens feitas no Micro-CT.
- Avaliar a performance do Micro-CT como padrão-ouro

3. MATERIAL E MÉTODO

3.1. ASPECTOS ÉTICOS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília, sob o protocolo de referência CEP-FM 001/2011 (Anexo 01).

3.2. AMOSTRA

Uma amostra de dentes extraídos por razões alheias ao estudo em um hospital público de Brasília-DF foram limpos com o auxílio de instrumentos manuais, escova dental e dentifrício, e armazenados em 3 a 5 mL de solução de Timol a 0,1%. Desta amostra foram excluídos dentes com grande destruição coronária, com defeitos de desenvolvimento, e restaurados com amálgama. Ao final foram selecionados 54 dentes permanentes sendo, 32 molares, 9 pré-molares, 3 caninos e 10 incisivos.

Os dentes foram, então, avaliados clinicamente por meio do sistema ICDAS II, por dois examinadores treinados e calibrados de forma independente. Para a avaliação histológica e microtomografia, foi necessário selecionar as superfícies que seriam incluídas no corte, considerando o maior escore clínico de cárie de acordo com o sistema ICDAS II, não sendo possível, em todos os casos, incluir todas as superfícies de um mesmo dente. Desta forma, foram avaliadas no total 124 superfícies (Tabela 2).

Tabela 2- Distribuição da amostra de acordo com o tipo de dente e superfície analisada

Dente	Número	Face (N)	
		Oclusal/Incisal	Proximal
Molares	32	23	57
Pré-molares	09	06	12
Caninos	03	0	06
Incisivos	10	05	20

Antes de os dentes serem hemisseccionados para a avaliação histológica e pelo Micro-CT, todas as superfícies selecionadas foram fotografadas com o auxílio de uma câmera Nikon D7000, lentes Sigma 105 mm sob a mesma iluminação (flash Sigma EM-140 DG) e no mesmo ambiente, por um profissional experiente do Departamento de Odontologia da Universidade de Brasília. Para as fotografias, cada dente foi cuidadosamente posicionado sobre uma porção de massa de modelar preta e o excesso de umidade das superfícies dentais foi removido com uma toalha de papel. As fotografias originais foram padronizadas para cor, tamanho e contraste através do software Adobe Photoshop® CS5 (Figura 1).



Figura 1 – A fotografia nesta etapa foi usada apenas como segurança para a avaliação visual.

3.3. Treinamento dos examinadores

Para diminuir o viés dentro do estudo, dois examinadores com experiência clínica e na condução de estudos epidemiológicos de cárie participaram desta investigação. Os examinadores fizeram treinamento teórico-prático de aproximadamente 4 horas, no qual receberam instruções sobre o sistema ICDAS II, que foi utilizado na avaliação visual e o critério Downer, (tabela 3) empregado para se determinar a profundidade da lesão de cárie nas análises histológicas e por meio do Micro-CT. Durante o treinamento foram analisadas visualmente fotografias, dentes extraídos e imagens de cortes histológicos, discutindo-se e buscando-se consenso para cada dente/imagem avaliada. As imagens e os dentes apresentados no treinamento não foram utilizados no estudo posteriormente.

Tabela 3 - Critério para avaliação de cortes histológicos proposto por Downer (1975)

Escore	Descrição
0	Ausência de desmineralização no esmalte ou de zona de opacidade
1	Desmineralização limitada a 50% da porção externa da camada de esmalte
2	Desmineralização envolvendo 50% da porção interna da camada de esmalte, até a junção amelo-dentinária
3	Desmineralização envolvendo 50% da porção externa da dentina
4	Desmineralização envolvendo 50% da porção interna da dentina

3.4. EXAME VISUAL DAS SUPERFÍCIES DENTÁRIAS

As superfícies dentárias incluídas na amostra foram examinadas independentemente pelos dois examinadores utilizando-se o sistema ICDAS II. Os dentes foram previamente numerados e os exames foram realizados em consultório odontológico, o que permitiu a secagem das superfícies a serem avaliadas, de acordo com o recomendado para aplicação do ICDAS II. Não houve limite de tempo para o exame e as superfícies poderiam ser reexaminadas, caso o examinador julgasse necessário. Os escores foram anotados em um formulário. Em caso de desacordo entre os examinadores, a superfície era reavaliada em conjunto, para se

obter um escore de consenso. Nesta etapa, foram avaliadas as superfícies proximais e oclusais dos dentes posteriores e as faces proximais dos dentes anteriores.

3.5. HISTOLOGIA

Inicialmente as raízes dos dentes foram removidas a uma distância de aproximadamente 2 mm em sentido apical da junção amelo-cementária. Após a análise visual, os dentes foram hemisseccionados no sentido mesio distal, utilizando uma máquina de corte Struers Secotom-15 (Ballerup, Dinamarca), com um disco de diamante (102mm x 0,5mm x 12,7mm). Após o corte, cada metade do dente foi fotografada com uma câmera Nikon D7000, lentes Sigma 105 mm e lentes close-up +10 (Polaroid, EUA), sob a mesma iluminação (flash Sigma EM-140 DG), no mesmo ambiente, pelo mesmo colaborador que realizou as fotografias dos elementos dentais antes do corte. As fotografias originais foram equalizadas para cor, tamanho e contraste através do software Adobe Photoshop® CS5 (Figura 2).



Figura 2– Fotografias de um pré-molar evidenciando as superfícies proximais e oclusal e seus respectivos escores ICDAS II: mesial=3, oclusal=2, distal=0. Mesmo dente depois de hemisseccionado e avaliado por meio do critério Downer: mesial=2, oclusal=3, distal=0 .

Os dois examinadores que avaliaram os dentes visualmente também realizaram a avaliação das imagens dos cortes histológicos independentemente, em uma tela LCD de 13 polegadas, utilizando os critérios de classificação propostos por Downer (Tabela 3) (31). Após a avaliação, os escores foram comparados e, caso houvesse discordância, os examinadores reavaliavam a imagem na busca de

consenso. Optou-se por seccionar os dentes em apenas 2 secções para que o mesmo dente fosse avaliado posteriormente pelo Micro-CT, pois este não consegue visualizar bem fatias muito finas.

3.6. MICROTOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA

As hemisecções dentais fotografadas para a avaliação histológica foram escaneadas com um aparelho de microtomografia computadorizada Skyscan 1076 (Kontich, Bélgica) utilizando 100kV, 100 μ A, 1,05 μ m pixel, com filtro de alumínio de 1mm, degrau de rotação de 0,3° e média de quadros de 4. O tempo médio de escaneamento foi de 92 minutos para cada dente.

A reconstrução das imagens foi realizada através do software NRecon (Kontich, Bélgica). As imagens foram corrigidas para *beamhardening* (80%), *smoothing* (2 níveis) e artefato de anel (8^a a 10^a posição). A escala de cinza foi limitada de 0,000198 à 0,059438 HU. Os parâmetros para o escaneamento e a reconstrução das imagens são similares aos previamente testados por Soviero *et al.* (2012) (31).

Após a reconstrução, as imagens foram posicionadas com ajuda do software de visualização DATAVIEWER 32bit-version, de forma que a face do corte dentário ficasse o mais paralela possível ao solo, para que a imagem analisada no Micro-CT reproduzisse a mesma imagem analisada anteriormente na avaliação histológica .

A avaliação das imagens do Micro-CT foi feita pelos mesmos examinadores que realizaram a análise visual e as imagens dos cortes histológicos, em uma tela de LCD de 13 polegadas, utilizando o critério de Downer (Tabela 3). A superfície a ser avaliada (proximal/oclusal) foi indicada aos examinadores. Uma diferença na densidade da escala de cinza ao longo do eixo axial ou sagital era indicativo de perda mineral (Figura 3). Os escores foram registrados em um arquivo Excel e as discordâncias foram solucionadas por meio de consenso entre os examinadores.

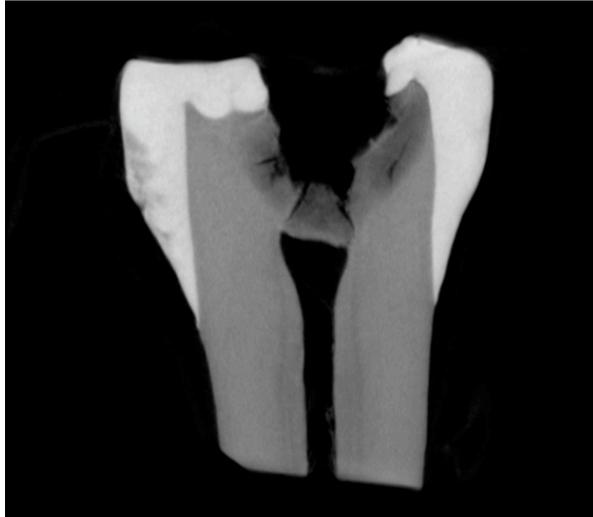


Figura 3 - Imagem obtida por meio do Micro-CT na qual se pode evidenciar diferença na escala de cinza nas superfícies oclusal e distal

3.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise foi realizada por um bioestatístico do Departamento de Odontologia Preventiva e Restauradora da *Radboud University Medical Center*, Nijmegen, Holanda. A concordância entre os métodos foi avaliada por meio do grau de concordância e pelo kappa ponderado. Para tanto, os escores referentes ao sistema ICDAS II foram convertidos para o critério Downer de acordo com a Tabela 4.

Tabela 4 – Correlação entre os escores ICDAS-II e Downer

ICDAS-II	Donwer
0	0
1	1
2	1
3	2
4	3
5	4
6	4

Para cada método, a sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e acurácia foram calculados considerando dois pontos de corte:

- 1) Lesões em dentina: São consideradas superfícies cariadas, apenas aquelas com lesões em nível de dentina (0 – 2 = sadio; 3 -4 = cariado).
- 2) Lesões em esmalte: As lesões iniciais em esmalte são incluídas como cárie/doença, além das lesões em dentina anteriormente incluídas (0 = sadio; 1- 4 = cariado).

4.RESULTADOS

No total foram analisadas 34 superfícies oclusais e 95 proximais, que foram clinicamente diagnosticadas pelo sistema ICDAS II desde hígdas (escore 0) até lesão em dentina envolvendo mais da 1/2 da superfície (escore 6). A distribuição dos escores ICDAS II está apresentada na tabela 5. Observa-se que foram incluídas 69 superfícies hígdas (ICDAS 0), 46 superfícies apresentando lesão em esmalte com diferentes níveis de gravidade (ICDAS 1, 2 e 3) e 14 superfícies com lesões já em dentina (ICDAS 4, 5 e 6).

Tabela 5 – Distribuição dos escores ICDAS II por superfície

Escore ICDAS II	Superfície			
	Oclusal		Proximal	
	N	%	N	%
0	9	26,47	60	63,16
1	2	5,88	0	0,00
2	14	41,18	15	15,79
3	3	8,82	12	12,63
4	3	8,82	3	3,16
5	2	5,88	5	5,26
6	1	2,95	0	0,00
Total	34	100	95	100

Os resultados para a concordância, entre os diferentes métodos - visual x histológico, visual x Micro-CT e histológico x Micro-CT podem ser observados na tabela 6, tanto para as faces oclusais quanto para as faces interproximais. Em relação à performance dos métodos, tanto os valores de kappa quanto o grau de concordância foram inferiores para as faces oclusais quando comparados aos das faces proximais.

Tabela 6 – Grau de concordância, e kappa Ponderado comparando-se os métodos de detecção de cárie

	Grau de Concordância		Kappa Ponderado	
	Oclusal	Proximal	Oclusal	Proximal
Visual x Histo	0,29	0,67	0,40	0,69
Visual x Micro-CT	0,38	0,74	0,49	0,74
Histo x Micro-CT	0,63	0,87	0,64	0,88

Tabela 7 – Valores de Significância para Kappa

Índice Kappa	Interpretação
0,00	Sem concordância
0,00-0,19	Concordância pobre
0,20-0,39	Concordância regular
0,40-0,59	Concordância moderada
0,60-0,79	Concordância Substancial
0,80-100	Concordância Quase Perfeita

As tabelas 9 e 10 mostram os valores de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e acurácia, comparando-se a análise visual e o Micro-CT tendo a histologia como padrão-ouro, respectivamente de acordo com as fórmulas apresentadas na tabela 7. Já os resultados das tabelas 11 e 12, foram obtidos a partir do Micro-CT como padrão-ouro. Em todas as situações, a análise foi feita considerando dois pontos de corte: lesões em esmalte e lesões em dentina.

Tabela 8 – Fórmulas para o cálculo da sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivos e negativos e acurácia

Sensibilidade	Especificidade	Valor Preditivo Positivo	Valor Preditivo Negativo	Acurácia
$\frac{\text{Verdadeiro Positivo}}{\text{Verdadeiro Positivo} + \text{Falso Negativo}}$	$\frac{\text{Verdadeiro Negativo}}{\text{Verdadeiro Negativo} + \text{Falso Positivo}}$	$\frac{\text{Verdadeiro Positivo}}{\text{Verdadeiro Positivo} + \text{Falso Positivo}}$	$\frac{\text{Verdadeiro Negativo}}{\text{Verdadeiro Negativo} + \text{Falso Negativo}}$	$\frac{\text{Verdadeiro Negativo} + \text{Verdadeiro Positivo}}{\text{Total}}$

Tabela 9– Sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo e acurácia comparando-se o método visual à análise histológica em lesões oclusais (Ocl.) e proximais (Prox.)

Visual x Histologia	Sensibilidade		Especificidade		Valor Preditivo Positivo		Valor Preditivo Negativo		Acurácia	
	Ocl.	Prox.	Ocl.	Prox.	Ocl.	Prox.	Ocl.	Prox.	Ocl.	Prox.
1)Dentina	0,60	0,50	1,00	1,00	1,00	1,00	0,86	0,91	0,92	0,88
2)Esmalte	0,76	0,87	0,50	0,88	0,92	0,76	0,22	0,93	0,73	0,87

Tabela 10 - Sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo e acurácia comparando-se o Micro-CT (como padrão ouro) à análise histológica em lesões oclusais (Ocl.) e proximais (Prox.)

Micro-CT X Histologia	Sensibilidade		Especificidade		Valor Preditivo Positivo		Valor Preditivo Negativo		Acurácia	
	Ocl.	Prox.	Ocl.	Prox.	Ocl.	Prox.	Ocl.	Prox.	Ocl.	Prox.
1)Dentina	1,00	0,87	0,91	1,00	1,00	0,97	0,83	1,00	0,94	0,98
2) Esmalte	0,96	0,90	0,80	0,94	0,33	0,93	0,96	0,87	0,74	0,93

Tabela 11 - Sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo e acurácia comparando-se o método visual à análise realizada no Micro-CT (como padrão ouro) em lesões oclusais (Ocl.) e proximais (Prox.)

Visual x Micro-CT	Sensibilidade		Especificidade		Valor Preditivo Positivo		Valor Preditivo Negativo		Acurácia	
	Ocl.	Prox.	Ocl.	Prox.	Ocl.	Prox.	Ocl.	Prox.	Ocl.	Prox.
1)Dentina	0,43	0,57	1,00	1,00	1,00	1,00	0,72	0,93	0,79	0,94
2)Esmalte	0,95	0,91	0,83	0,94	0,81	0,94	0,87	0,95	0,82	0,93

Tabela 12- Sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo e acurácia comparando-se a análise histológica à análise realizada no Micro-CT em lesões oclusais (Ocl.) e proximais (Prox.)

Histologia x Micro- CT	Sensibilidade		Especificidade		Valor Preditivo Positivo		Valor Preditivo Negativo		Acurácia	
	Ocl.	Prox.	Ocl.	Prox.	Ocl.	Prox.	Ocl.	Prox.	Ocl.	Prox.
1)Dentina	0,71	1,00	1,00	0,97	1,00	0,87	0,72	1,00	0,88	0,98
2)Esmalte	0,81	0,87	0,50	0,95	0,94	0,90	0,58	0,94	0,74	0,93

Discordâncias entre os diferentes métodos de detecção de cárie foram observadas, principalmente para as lesões visualmente avaliadas em esmalte. Alguns exemplos podem ser vistos nas figuras 4 e 5.



Figura 4 – Distal, oclusal e mesial de um pré-molar e seus respectivos escores ICDAS II: mesial= 0; oclusal= 0, distal= 2. Avaliação do corte histológico: mesial= 0, oclusal= 2 e distal= 2 em Downer. Avaliação da imagem do Micro-CT e seus respectivos escores Downer: mesial= 0, oclusal= 0, distal=1.



Figura 5- Distal, oclusal e mesial de um molar permanente e seus respectivos escores ICDAS II: distal= 4; oclusal= 0, mesial= 0. Avaliação do corte histológico, mesial= 0, oclusal= 1 e distal= 3 em Downer. Avaliação da imagem do Micro-CT e seus respectivos escores Downer: mesial= 0, oclusal= 0, distal= 3.

5. DISCUSSÃO

A prevalência de cárie dentária tem diminuído drasticamente nos últimos anos, apesar de ainda ser considerado um problema de saúde pública para determinados segmentos da população (32). Esta diminuição fez com que novos critérios de detecção de cárie fossem criados, de maneira que lesões ainda em estágios iniciais pudessem ser diagnosticadas. Dentre estes índices destaca-se o ICDAS II, que tem sido bastante utilizado em levantamentos epidemiológicos e ensaios clínicos (7,9,30). A vantagem deste sistema sobre o critério da OMS é que ele inclui a detecção de lesões em esmalte. Apesar de muitos considerarem tal fato como vantagem (2, 12), a inclusão de três diferentes escores para o registro de lesões em esmalte tem sido visto como uma limitação para seu uso em estudos epidemiológicos (9). Entretanto, é um sistema bastante útil quando o objetivo é testar diferentes terapias para o controle da progressão de lesões incipientes (11). Apesar desta vantagem, o monitoramento de lesões, principalmente, em estudos *in vitro* e *ex vivo*, requer a comprovação dos achados clínicos, neste caso por meio do sistema ICDAS II, com o padrão ouro para diagnóstico de cárie, que até o momento ainda é a avaliação histológica.

Embora o método por corte histológico ainda seja largamente utilizado em estudos de diagnóstico de cárie, demonstrando altos índices de sensibilidade e especificidade, ele apresenta algumas desvantagens, dentre as quais destacam-se: perda de material ao se preparar os espécimes (normalmente se perde de 120 a 250 μm por fatia) (33); fratura durante o corte; e a inutilização da amostra para trabalhos futuros. Consequentemente, tal amostra não pode ser avaliada longitudinalmente.

Diante desse paradigma, a microtomografia computadorizada tem sido sugerida como um método alternativo à histologia, apresentando como grande vantagem a não destruição da amostra (24). O Micro-CT é uma tecnologia nova, que possibilita a visualização da amostra em três dimensões sem a necessidade de secção do espécime. Tem como desvantagens o alto custo, o longo tempo despendido para os escaneamentos e reconstruções de imagens em alta resolução, a dificuldade em visualizar alguns materiais radiopacos como o amálgama, e na definição do limite exato entre esmalte e dentina cariados (34,35).

Como método de detecção de cárie, a performance do Micro-CT já foi comparada à histologia em lesões interproximais de dentes decíduos (30). Os resultados deste estudo sugerem que para este tipo de lesão, o Micro-CT pode ser considerado como padrão ouro em substituição à avaliação histológica. Entretanto, este resultado precisa ser melhor investigado, uma vez que um estudo anterior [30] mostrou que o Micro-CT, apesar de ser capaz de detectar alterações na estrutura dentária de proximais de dentes permanentes, não atingiu, quando comparado ao padrão ouro, valores de concordância aceitáveis. Desta forma, os autores concluíram que o Micro-CT não pode ser considerado uma alternativa à histologia para detecção de cárie em molares permanentes. Já em relação a superfícies oclusais, nenhum estudo que utilizou o Micro-CT foi encontrado, o que reforça a necessidade de se avaliar melhor a aplicabilidade deste método no âmbito da cariologia.

Em estudos de validação, é importante que o mesmo espécime seja observado por ambos os métodos - padrão ouro e o método que está sendo testado, para que, desta forma, seus resultados possam ser comparados. Considerando as características do Micro-CT, que apresenta uma imagem tridimensional, e da avaliação histológica, cuja imagem é bidimensional, não se pode afirmar que as imagens avaliadas de um mesmo espécime, por ambos os métodos, sejam as mesmas, fato que pode introduzir um viés de aferição quando o objetivo principal do estudo é validar um método. A presença de uma lesão em esmalte restrita em esmalte, menor que 300 micrômetros pode ser facilmente desgastada pela lixa durante o processo de preparação do corte (30). Por esta razão, na presente investigação, optou-se por hemisseccionar os dentes. Tais hemisseções foram escaneadas e reconstruídas, de forma que a imagem visualizada na microtomografia era a mais semelhante possível à fotografia da mesma hemisseção que foi utilizada para a avaliação histológica. Nesse ponto o estudo é inovador.

Para que os resultados pudessem ser analisados, era necessário que a avaliação histológica e a realizada a partir do Micro-CT pudessem ser comparadas à avaliação visual. Desta forma, optou-se por converter os escores do ICDAS II para o critério proposto por Downer (1975) (31). Embora existam outros critérios descritos para a avaliação histológica da profundidade de lesão de cárie (30,36), o critério Downer parece ser o mais compatível com o sistema ICDAS II, uma vez que os pontos de corte são esmalte e dentina, diferentemente do ocorre para o critério

proposto por Ekstrand et al (1997) (37), cujo escore 2 descreve uma lesão que pode estar tanto em dentina quanto em esmalte.

Estudos feitos por Jablonski-Momeni et al (2008) (18) também compararam a avaliação visual de cárie utilizando o ICDAS II com a avaliação histológica na oclusal de molares e pré-molares permanentes. Os autores correlacionaram o escore visual com a presença e profundidade da lesão cariada, utilizando tanto o critério proposto por Downer (1975) (31) quanto por Ekstrand et al (1997) (36). Entretanto, por meio desta análise, não é possível obter o grau de concordância e/ou kappa entre os métodos, bem como valores de sensibilidade e especificidade, o que dificulta o estabelecimento de uma correlação real entre o que se visualiza clinicamente com o que está ocorrendo do ponto de vista histológico. Embora tais estudos tenham apresentado valores de kappa para os examinadores, ou seja, o quanto cada examinador concordou consigo mesmo ou com outro examinador, para se validar um método, o mais importante é saber o quanto o padrão-ouro concorda com o método que está sendo testado. Por esta razão, no presente estudo foram investigados os valores de kappa comparando-se a análise visual, histológica e por meio do Micro-CT.

Antes de se discutir os resultados propriamente ditos da presente investigação, faz-se necessário discorrer sobre a distribuição das lesões de cárie nos dentes que compuseram a amostra total. Observa-se que o número de lesões em dentina foi reduzido, tanto para superfícies oclusais quanto proximais. Tal fato se justifica uma vez que a discordância entre métodos de detecção de cárie é maior para lesões iniciais, já que uma cavidade óbvia em dentina dificilmente não será detectada visualmente, histologicamente ou por meio do Micro-CT. Neste sentido, outros estudos que avaliaram diferentes métodos de diagnóstico de cárie também não incluíram ou incluíram um número bastante reduzido de lesões de cárie tipicamente em dentina, que são escores 4, 5 e 6 do sistema ICDAS II (21, 22, 37).

No que se refere ao maior número de superfícies híginas proximais em relação à oclusal, é importante dizer que no momento da hemisseção, buscou-se sempre incluir ao menos uma lesão de cárie por corte. Desta maneira, com maior frequência, foram incluídas superfícies proximais híginas em dentes que apresentavam a superfície oclusal cariada. Tal fato pode ter influenciado os resultados, uma vez que a prevalência maior de superfícies híginas pode ter contribuído para os maiores valores de concordância e kappa obtidos para as

superfícies proximais em relação às oclusais. Adicionalmente à menor frequência de superfícies oclusais híginas em relação às proximais, outro fator que pode explicar a melhor performance de todos os métodos para as superfícies proximais é a própria anatomia da superfície oclusal. Um diagnóstico acurado da presença de lesão cariiosa na superfície oclusal é muito mais difícil de se obter que para superfícies lisas [39]. As paredes invaginadas que formam as fissuras são facilmente colonizáveis por bactérias cariogênicas responsáveis pela formação de lesões iniciais que podem passar despercebidas durante o exame visual (39).

A detecção de cárie na superfície oclusal por meio do Micro-CT também parece ser influenciada negativamente pela anatomia da superfície oclusal, uma vez que há uma dificuldade de se distinguir o que é fissura do que é lesão em função da pequena espessura do esmalte na região (40). Desta forma, para a amostra avaliada neste estudo, valores aceitáveis de kappa para a superfície oclusal só foram observados quando os métodos histológico e Micro-CT foram comparados. Tal resultado indica que o método visual falhou mais na detecção da presença e/ou profundidade correta de algumas lesões de cárie na superfície oclusal em relação à proximal, quando comparado à análise histológica e realizada por meio do Micro-CT.

A baixa performance do sistema ICDAS II para detecção de cárie oclusal em molares permanentes em comparação à análise histológica já foi descrita na literatura. Num estudo cujo objetivo foi avaliar a extensão e profundidade de lesões de cárie na oclusal de dentes permanentes, cerca de 18 a 25% das lesões registradas visualmente apresentavam escores menores que aos observados na histologia (41). Uma correlação fraca entre o ICDAS II e a avaliação histológica também foi encontrada por Jablonski-Momenietal (2008) (18). Uma das razões que ajudar a explicar esta baixa performance refere-se à descrição clínica do ICDAS II, na qual os escores 1, 2 e 3 dizem respeito à lesões em esmalte. Entretanto, observa-se que, na região de fóssulas e fissuras, 10% das lesões registradas como ICDAS II 1 já se encontram em dentina. Para as lesões 2 e 3, este valor é ainda superior: em 50% e 77% dos casos, as lesões ICDAS II 2 e 3, respectivamente, já estão histologicamente localizadas em dentina (36). Para as superfícies proximais, um estudo mostrou que 37% das lesões visualmente classificadas pelo sistema ICDAS II como 2 já estavam em dentina pela análise histológica (42). Desta maneira, na presente investigação, esta discrepância entre a descrição clínica dos escores ICDAS II e a profundidade da lesão observada na avaliação histológica,

ficou bastante evidente quando estes escores foram convertidos para aqueles propostos por Downer. Por esta razão, a maioria dos estudos que correlacionaram o sistema ICDAS II à histologia utilizaram o critério Ekstrand (42). Além disso, esses valores evidenciam a necessidade em se discutir a necessidade por exemplo, de ser restaurar clinicamente algumas lesões que já se encontram e dentina, ou optar apenas pelo acompanhamento de tais lesões.

A principal diferença deste e os demais critérios refere-se ao escore 2, que descreve uma lesão que pode estar tanto em esmalte quanto em dentina. Entretanto, fazer uma conversão direta dos escores ICDAS II para o critério Ekstrand, para que se pudesse calcular o coeficiente kappa entre os métodos, tornou-se uma tarefa impossível, pois um escore ICDAS II podia ser convertido para mais de um escore Ekstrand. A dificuldade do sistema ICDAS II em classificar lesões localizadas em esmalte e/ou no terço externo da dentina também foi reportada por Gomezetal (2013) (22). No caso deles, para que a análise estatística pudesse ser realizada, lesões histologicamente localizadas na junção amelo-dentinária foram classificadas como lesões em esmalte. Tal fato parece não ter um impacto quando o objetivo do estudo é correlacionar as avaliações clínicas/histológicas às decisões de tratamento, mas parece ser bastante importante para um estudo de validação.

Os valores de sensibilidade, especificidade e acurácia foram calculados para que os métodos pudessem ser comparados e validados. A sensibilidade identifica os verdadeiros doentes, levando em consideração na sua fórmula o número de falsos negativos, ou seja, os dentes cariados que foram classificados como não cariados. Já a especificidade identifica os dentes considerados sadios, levando em consideração o número de dentes avaliados como falso positivos. Um valor alto para especificidade e sensibilidade é encontrado quando o mesmo tem boa capacidade para identificar os verdadeiramente doentes e verdadeiramente sadios.

Comparando-se o exame histológico ao visual, mostrado na tabela 9, nota-se um valor de sensibilidade baixo contrapondo a uma especificidade de 100% para o corte 1(Dentina). Tal valor reafirma a hipótese de que a identificação de lesões em dentina, referentes aos escores Downer 3 e 4, é mais fácil de ser realizada que as lesões iniciais, escores Downer 1 e 2. Valores baixos de sensibilidade e altos de especificidade também foram reportados por Duruturk et al (2011) (43) quando molares permanentes recém-irrompidos foram avaliados.

Na maioria dos casos de discordância entre os métodos, como já citado anteriormente, ocorreu um erro quando a superfície era julgada clinicamente. Não pelo fato do examinador não detectar a lesão de cárie, mas pela falta de correlação entre o escore dado clinicamente com o que foi registrado histologicamente e/ou pelo Micro-CT. Essa foi a principal explicação para os baixos valores de sensibilidade nas superfícies proximais e oclusais no presente estudo.

O valor preditivo negativo é um valor que depende da prevalência da doença, além da sensibilidade e especificidade. Para que seus valores possa ser considerados válidos, é necessário um número grande de espécimes avaliados. Nas tabelas 9 e 12, para o corte 2 (esmalte), nota-se valores baixos de valores preditivos negativos para a superfície oclusal, que é justificado, devido a baixa quantidade de análises verdadeiro negativo (hígidos, escore 0 unicamente) decorrente de um baixo valor de superfícies oclusais analisadas. Desta forma, nossos achados reforçam a teoria de que a prevalência da doença tem uma influência importante no cálculo dos valores preditivos negativos e/ou positivos (44).

Comparando-se os valores para o corte 1 (dentina) e corte 2 (esmalte), nota-se que os valores mais altos são recorrentes entre as comparações dos métodos para o corte 1, na maioria dos dados avaliados. Isso se deve ao fato de ser mais fácil analisar e diferenciar lesões mais extensas, em dentina, que identificar lesões iniciais de cárie. Por este motivo o número de falsos positivos e negativos é mais frequente entre os escores 0 e 1, que entre os outros escores.

Comparando-se os testes histológicos e Micro-CT, tendo o último como padrão ouro, observa-se um valor baixo de especificidade para a face oclusal, no corte 2. Isso se dá ao valor alto de falsos positivos. Ou seja, o teste histológico visualizou algumas lesões iniciais de cárie para oclusal, que o Micro-CT não identificou como lesão. Sabe-se que as áreas de desmineralização serão visualizadas no Micro-CT em diferentes níveis de cinza, que por sua vez está relacionado com o conteúdo mineral presente. Num estudo que buscou caracterizar lesões de mancha branca incipientes por meio do Micro-CT, observou-se que uma lesão clinicamente visível podia apresentar um conteúdo mineral variando de 74% a 100% em relação ao esmalte sadio (45). Portanto, pode-se inferir que, na presente investigação, o grau de desmineralização de algumas lesões em esmalte não era suficientemente grande para que o Micro-CT as pudesse detectar.

Finalmente, é importante discutir alguns aspectos que podem ser vistos como limitação deste estudo. Em primeiro lugar, como discutido anteriormente, o número reduzido de superfícies oclusais híginas pode ter tido uma influência nos resultados. Desta forma, outros estudos com delineamento metodológico semelhante precisam ser realizados para que nossos resultados possam ser confirmados. Outro aspecto refere-se ao fato de que as imagens do Micro-CT foram analisadas apenas bidimensionalmente. Há a possibilidade de que, se as análises tivessem sido feitas em 3-D, a performance do Micro-CT pudesse ter sido diferente da encontrada. Entretanto, para o fim de validação de um método em relação ao outro, o desenho metodológico proposto parece ser o mais viável. Adicionalmente, embora alguns recomendem, mesmo para análises histológicas, que mais de um corte por dente deva ser avaliado (18) no presente estudo, os desacordos ocorreram mais frequentemente quando a análise visual foi comparada ou ao Micro-CT ou à histologia.

Considerando que a detecção de cárie em superfícies oclusais é mais difícil que em superfícies proximais, que lesões em esmalte são mais difíceis de serem detectadas que lesões em dentina, e que lesões incipientes tem se tornado cada vez mais importantes no contexto da saúde pública pela redução da prevalência de lesões cavitadas em muitas populações, é de extrema importância que mais estudos referentes à detecção de cárie em superfícies oclusais possam ser desenvolvidos. O Micro-CT parece ser um instrumento útil para se avaliar estes tipos de lesões; entretanto, mais informações sobre sua performance precisam ser obtidas.

6. CONCLUSÃO

- O Micro-CT é válido para a detecções de lesões de cárie em superfícies proximais, enquanto a superfície oclusal não se pode afirmar o mesmo sem a avaliação de novos estudos.
- A análise visual apresenta limitações na detecção da extensão de lesões de cárie, especialmente em superfícies oclusais.
- O Micro-CT apresentou boa performance quando utilizado como padrão-ouro.

7. BIBLIOGRAFIA

1. Report UN. Political declaration of the High-level Meeting of the General Assembly on the Prevention and Control of Non-communicable Diseases. United Nations. UN; 2011 Report 66.
2. World Health Organization. The World Oral Health Report 2003. Continuous improvement of oral health in the 21st century—the approach of the WHO Global Oral Health Programme. Geneva: WHO; 2003.
3. Fejerskov O, Kidd E. Cárie Dentária – A Doença e seu Tratamento Clínico. São Paulo: Santos, 2005. 370 p.
4. Featherstone J.D.B. The continuum of dental caries-evidence for a dynamic disease process. . J Dent Res. 2004;(83) 39-42
5. Navai PC, Frazão P, Roncalli AG. Cárie Dentária no Brasil: declínio, polarização inequidade e exclusão social. Rev Panam Salud Publica . 2006; 19 (6) 385-393
6. Greig I, Conway DI. Fluoride varnish was effective at reducing caries on high caries risk school children in rural Brazil. Evid Based Dent. 2012;13(3):78-9.
7. Bertella N, Moura M.S., Alves L.S, Damé-Teixeira N, Fontanella V, Maltz M. Clinical and radiographic diagnosis of underlying dark brown dentin (ICDAS 4) in permanent molars. Caries Res .2013; 47: 429-432.
8. Ministério da Saúde. Pesquisa Nacional de Saúde Bucal. Pinto HA, editor. Brasília: Ministério da Saúde; 2012 Jan p.116
9. R.G. de Amorim : M.J. Figueiredo : S.C. Leal. Caries experience in a child population in a deprived area of Brazil, using ICDAS II. Clinical Oral Investigation 2012.;16(2):513-20.

10. Davis G.R, Evershed A.N.Z, Mills D. Quantitative high contrast X-ray micro tomography for dental research. *Journal of Dental Research* 2013; 41: 475- 82.
11. Cury J.A, Tenuta L.M.A, Ribeiro C.C.C, Paes Leme A.F, The importance of fluoride dentifrices to the current caries prevalence in Brazil . *Brazilian Dental Journal*. 2004;.15(3) .
12. Pitts N, Ekstrand K; ICDAS Foundation.International Caries Detection and Assessment System (ICDAS) and its International Caries Classification and Management System (ICCMS) - methods for staging of the caries process and enabling dentist stomanage caries. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2013; 41(1):e41-52.
13. Pitts N. “ICDAS” international sistem for caries detection na assessment being developed to facilitate caries epidemiology, research and appropriate clinical management. *Community Dent Heath*. 2004; 21 (3); 193-8
14. World Heath Organization. Oral health survey. Basic methods. WHO; 1997
15. Broadbent J.M, Thomson W.M. For debate: problems with the DMF index pertinent to dental caries data analysis. *Community Dent Oral Epidemiol*.2005 33(6):400–409.
16. Clara J, Bourgeois D, Muller-Bolla M. DMF from WHO basic methods to ICDAS II Advanced .Methods: a systematic review of literature. *Odontostomatol Trop*. 2012 35(139):5-11.
17. Ismail A.I, Sohn W, Tellez M, Amaya A, Sen A, Hasson H, Pitts N.B. The International Caries Detection and Assessment System (ICDAS): an integrated system for measuring dental caries. *Community Dent Oral Epidemiol* 2007; 35(3): 170–178,

18. Jablonski A.M, Bourgeois D, Muller-Bolla M BOLLA .DMF from WHO Basic versus digital imaging used for two histological classification systems. *J Dent*. 2009 ;37(3):204-11.
19. Fracaro M.S, Seow W.K, McAllan L.H, Purdie The sensitivity and specificity of clinical assessment compared with bitewing radiography for detection of occlusal dentin caries. *Pediatr Dent*. 2001;23(3):204-10.
20. Cochrane N.J, Anderson P, Davis G.R., Adams G.G, Stacey M.A, Reynolds E.C. An X-ray microtomographic study of natural white-spot enamel lesions. - . *J Dent Res*. 2012 91(2):185-91 .
21. Rodrigues J.A, Hug I, Diniz M.B, Lussi A. Performance of fluorescence methods, radiographic examination and ICDAS II on occlusal surfaces in vitro. *Caries Res*. 2008;42(4):297-304.
22. Gomez J, Zakian C, Salsone S, Pinto S.C, Taylor A, Pretty IA, Ellwood R. In vitro performance of different methods in detecting occlusal caries lesions. *J Dent* ;2013 Feb;41(2):180-6.
23. Soviero V.M, Paris S, Leal S.C, Azevedo R.B, Meyer-Luckel H. Ex vivo evaluation of caries infiltration after different application times in primary molars. *Caries Res*. 2013;47(2):110-6.
24. Huysmans M.C, Longbottom C. The challenges of validating diagnostic methods and selecting appropriate gold standards. *J Dent Res*. 2004;83 Spec No C:C48-52.
25. Braga M.M, Oliveira L.B, Bonini G.A, Bönecker M, Mendes F.M. Feasibility of the International Caries Detection and Assessment System (ICDAS-II) in Epidemiological Surveys and Comparability with Standard World Health Organization Criteria. *Caries Res*. 2009;43(4):245-9.
26. Flannery B.P, Deckman HW, Roberge WC, DÁmico KL. Three-dimensional X-ray microtomography. *Science* 1987; (237): 1439-1444.

27. Huang T.T, Jones A.S, He L.H, Darendeliler M.A, Swain M.V. .Characterization of enamel White spot lesions using X-Ray micro-tomography. *J Dent.* 2007 Sep;35(9):737-43.
28. Swain M.V, Xue J. State of Micro-CT. Applications in Dental Research. *Int J Oral Sci.* 2009 Dec;1(4):177-88.
29. Mitropoulos P, Rahiotis C, Stamatakis H, Kakaboura A. Diagnostic performance of the visual caries classification system ICDAS II versus radiography and micro-computed tomography for proximal caries detection: An in vitro study. *J Dent.* 2010 Nov;38(11):859-67.
30. Soviero V.M, Leal S.C, Silva R.C, Azevedo R.B. Validity of Micro CT for in vitro detection of proximal carious lesions primary molars. *J Dent* 2012; 40 (1) ; 35-40
31. Downer M.C. Concurrent validity of an epidemiological diagnostic system for caries with the histological appearance of extracted teeth as validating criterion. *Caries Res* 1975(9):231–46.
32. Costa S.M, Martins C.C, Bonfim M.L, Zina G, Paiva S.M, Podeus I.A, Abreu M.H. A systematic review of socioeconomic indicators and dental caries in adults. *Int J Int J Environ Res Public Health* 2012, (9): 3540-3547.
33. de Souza A.L, Leal S.C, Chaves S.B, Bronkhorst E.M, Frencken J.E, Creugers N.H. The Caries Assessment Spectrum and Treatment (CAST) instrument: construct validation. *Eur J Oral Sci.* 2014 Apr;122(2):149-53.
34. de Souza A.L, Bronkhorst E.M, Creugers N.H, Leal S.C, Frencken J.E. The Caries Assessment Spectrum and Treatment (CAST) instrument:Its reproducibility in clinical studies. *Int Dent J.* 2014 Aug;64(4):187-94

35. Park Y.S, Bae K.H, Chang J, Shon W.J. Theory of X-ray microcomputed tomography in dental research: application for the caries research. *Imaging Sci Dent.* Jun 2011; 41(2): 43–51.
36. Ekstrand K.R, Ricketts D.N, Kidd E.A. Reproducibility and accuracy of three methods for assessment of demineralization depth of the occlusal surface: an in vitro examination. *Caries Res.* 1997;31(3):224-31.
37. Diniz M.B, Rodrigues J.A, Hug I, Cordeiro RdeC, Lussi A. Reproducibility and accuracy of the ICDAS-II for occlusal caries detection. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2009;37(5):399-404
38. McComb D, Tam LE. Diagnosis of occlusal caries: part I. Conventional methods. *J Can Dent Assoc* 2001; 67(8): 454-7.
39. Sinonoglu A, Ozturk E, Ozel E. Diagnosis of occlusal caries using laser fluorescence versus conventional methods in permanent posterior teeth: a clinical study. *Photomed Laser Surg.* 2014 Mar;32(3):130-7.
40. Taylor A.M, Satterthwaite J.D, Ellwood R.P, Pretty I.A. Na automated assessment algorithm for micro-CT images of occlusal caries. *Surgeon* 2010; 8(6): 334-40.
41. Bankhashandeh A, Ekstrand KR, Qvist V. Measurement of histological and radiographic depth and width of occlusal caries lesion: a methodological study. *Caries Res.* 2011;45(6):547-55.
42. Ekstrand KR, Luna LE, Promisiero L, Cortes A, Cuevas S, Reyes JF, Torres CE, Martignon S. The reliability and accuracy of two methods for proximal caries detection and depth on directly visible proximal surface: an in vitro study. *Caries Res.* 2011;45(2):93-9.
43. Duruturk L, Ciftçi A, Baharoglu S, Oztuna D. Clinical evaluation of DIAGNOdent in detection of occlusal caries in newly erupted non cavitated first permanent molars in caries-active children. *Oper Dent.* 2011;36(4):348-55.

44. Kryzostaniak J, Surdacka A, Kulczyk T, Dyszkiewicz-Konwinska M, Owecka M. Diagnostic accuracy of cone beam computed tomography compared with intra oral radiography for the detection of non cavitated occlusal carious lesions. *Caries Res.* 2014, 21;48(5):461-466.

45. Cochrane N.J, Anderson P, Davis ., Adams G.G, Stacey M.A, Reynolds E.C. An X-ray microtomography study of natural white-spot enamel lesions. *J Dent Res.* 2012;91(2):185-91.

8. ANEXOS

8.1 ANEXO A: Documento de Aprovação pelo Comitê de Ética da Faculdade de Medicina– Universidade de Brasília