



## DETECÇÃO DE LESÕES DE CÁRIE POR BIOIMPEDÂNCIA ELÉTRICA

Andréa Pereira de Moraes

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Biomédica, COPPE, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Engenharia Biomédica.

Orientadores: Marcio Nogueira de Souza  
Alexandre Visintainer Pino

Rio de Janeiro

Dezembro de 2011

# DETECÇÃO DE LESÕES DE CÁRIE POR BIOIMPEDÂNCIA ELÉTRICA

Andréa Pereira de Moraes

TESE SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO INSTITUTO ALBERTO LUIZ COIMBRA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA DE ENGENHARIA (COPPE) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM CIÊNCIAS EM ENGENHARIA BIOMÉDICA.

Examinada por:

---

Prof. Marcio Nogueira de Souza, D.Sc.

---

Prof. Alexandre Visintainer Pino, D.Sc.

---

Prof. Frederico Caetano Jandre de Assis Tavares, D.Sc.

---

Profa. Lucianne Cople Maia de Faria, D.Sc.

---

Profa. Sandra Kalil Bussadori, D.Sc.

RIO DE JANEIRO, RJ – BRASIL

DEZEMBRO DE 2011

Morais, Andréa Pereira de

Detecção de lesões de cárie por bioimpedância elétrica  
/Andréa Pereira de Moraes. - Rio de Janeiro:  
UFRJ/COPPE, 2011.

XVII, 119 p.: il.; 29,7 cm.

Orientadores: Marcio Nogueira de Souza

Alexandre Visintainer Pino

Tese (doutorado) – UFRJ/ COPPE/ Programa de  
Engenharia Biomédica, 2011.

Referências Bibliográficas: p.96-111.

1. Cárie. 2. Cárie oclusal. 3. Bioimpedância. I. Souza,  
Marcio Nogueira *et al.* II. Universidade Federal do Rio de  
Janeiro, COPPE, Programa de Engenharia Biomédica. III.  
Título.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela vida.

Agradeço à minha família, meu pai Ismael, minha mãe Fernanda e minha irmã Celina, que durante todo o meu percurso acadêmico me apoiou e ensinou que o estudo é imprescindível.

Agradeço ao meu marido Túlio pela paciência e compreensão nos momentos de ausência.

Agradeço aos meus orientadores Marcio Nogueira de Souza e Alexandre Visintainer Pino pelo entusiasmo de guiar uma dentista pelos caminhos da Engenharia Biomédica.

Agradeço a todos os Professores que compartilharam seu conhecimento e contribuíram direta ou indiretamente para esta tese. A paciência e a vocação para o ensino sempre estiveram presentes.

Agradeço aos professores Frederico Caetano Jandre de Assis Tavares, à professora Lucianne Cople Maia de Faria e à professora Sandra Kalil Bussadori, a disponibilidade para a avaliação desta tese contribuindo de maneira valiosa para finalização da mesma.

Agradeço aos funcionários do Programa de Engenharia Biomédica pela dedicação e a disponibilidade no desempenho da suas funções.

Finalmente agradeço aos amigos do Programa de Engenharia Biomédica que tanto colaboraram com sugestões, ideias, equações, soldas, ouvidos..... Obrigada a todos.

Resumo da Tese apresentada à COPPE/UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Doutor em Ciências (D.Sc.)

## DETECÇÃO DE LESÕES DE CÁRIE POR BIOIMPEDÂNCIA ELÉTRICA

Andréa Pereira de Morais

Dezembro/2011

Orientadores: Marcio Nogueira de Souza.

Alexandre Visintainer Pino

Programa: Engenharia Biomédica

Este trabalho investigou a aplicação de um método alternativo de espectroscopia de bioimpedância baseado na resposta de corrente ao degrau de tensão (BIS-VI) na detecção de alterações de esmalte e lesões de cárie oclusal de difícil diagnóstico. Estudos iniciais definiram o protocolo de aquisição de dados e investigaram o potencial do método empregando um modelo elétrico baseado em elementos resistivos e capacitivos para interpretar os dados experimentais. Os resultados destes estudos mostraram decréscimo dos parâmetros  $R_1$  ( $p \leq 0,05$ ) e  $R_2$  ( $p \leq 0,05$ ), e aumento do parâmetro  $C_m$  ( $p \leq 0,05$ ) quando se promoveu uma diminuição mecânica da espessura do esmalte, assim como na presença de cáries. Em outro estudo utilizou-se um modelo com um elemento de fase constante (CPE), onde 4 parâmetros ( $R_S$ ,  $R_P$ ,  $C_0$  e  $\alpha$ ) foram estimados a partir de 135 sinais coletados num estudo *in vitro* em 58 dentes posteriores hígidos (H), com cárie em esmalte (CE) ou cáries ocultas em dentina (CD). Neste estudo foram realizadas medições em todos os pontos suspeitos de cárie e esses resultados foram comparados a avaliações de 6 especialistas. Foi possível encontrar diferença estatística entre os grupos H e CE para os parâmetros  $R_S$  ( $p=0,016$ ) e entre os grupos H e CD para os parâmetros  $R_S$  ( $p=0,006$ ),  $R_P$  ( $p=0,022$ ) e  $\alpha$  ( $p=0,041$ ). A utilização de curvas ROC (*Receiver Operating Characteristic*) mostrou que os parâmetros  $R_S$ ,  $R_P$  e  $\alpha$  apresentam potencialidade para a detecção de lesões dentárias. Adicionalmente, a detecção de lesões por bioimpedância se mostrou superior àquela realizada pelos especialistas.

Abstract of Thesis presented to COPPE/UFRJ as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Science (D.Sc.)

## DETECTION OF CARIES LESIONS BY ELECTRICAL BIOIMPEDANCE

Andréa Pereira de Morais

December/2011

Advisors: Marcio Nogueira de Souza

Alexandre Visintainer Pino

Department: Biomedical Engineering

This work investigated the application of an alternative method of bioelectric impedance spectroscopy based on the current response to a voltage step (BIS-VI) in the detection of changes in enamel and occlusal caries of difficult diagnosis. Initial studies defined the data acquisition protocol and had investigated the potentiality of the method using an electric model based in resistive and capacitive elements to interpret the experimental data. The results of this study had shown decrease of the parameters  $R_1$  ( $p \leq 0,05$ ) and  $R_2$  ( $p \leq 0,05$ ), and increase of parameter  $C_m$  ( $p \leq 0,05$ ) when one promoted a mechanical reduction of the enamel thickness, as well as in the presence of caries. In another study a model with an constant phase element of (CPE) were used, and 4 parameters ( $R_S$ ,  $R_P$ ,  $C_0$  and  $\alpha$ ) had been estimated from 135 signals collected in an *in vitro* study with 58 posterior healthy teeth (H), with caries in enamel (CE) or occult caries in dentine (CD). In this study the caries points had been carried through measurements in all suspicious and these results had been compared with the evaluations of 6 specialists. It was possible to find statistical differences between groups H and CE for parameter  $R_S$  ( $p=0,016$ ) and between the groups H and CD for the parameters  $R_S$  ( $p=0,006$ ),  $R_P$  ( $p=0,022$ ), and  $\alpha$  ( $p=0,041$ ). The use of ROC curves (Receiver Operating Characteristic) showed that parameters  $R_S$ ,  $R_P$  and  $\alpha$  present potentiality for the detention of dental injuries. Additionally, the detention of injuries by bioelectric impedance was superior to the one carried through by the specialists.

## SUMÁRIO

1. Introdução .....	1
1.1. Objetivos.....	2
1.1.1. Objetivos Específicos .....	2
2. Fundamentos odontológicos .....	4
2.1. Estrutura dental .....	5
2.1.1. Esmalte dental .....	5
2.1.2. Dentina .....	10
2.1.3. Polpa.....	10
2.1.4. Cimento .....	11
2.2. Cárie dental.....	11
2.2.1. Microbiota da cárie dental.....	12
2.2.2. Diagnóstico da cárie dental oclusal.....	13
2.2.3. Classificação das lesões de cárie .....	17
3. Bioimpedância elétrica .....	19
3.1. Propriedades elétricas dos tecidos biológicos.....	20
3.1.1. Teoria eletrolítica .....	21
3.1.2. Relaxação e dispersão dielétrica de tecidos biológicos.....	22
3.2. Modelo de circuito elétrico equivalente.....	25
3.2.1. Tipos de modelos elétricos .....	25
3.2.2. Circuitos R-C.....	26
3.2.3. Elemento de fase constante (CPE) .....	27
3.2.4. Modelo de circuitos RC com três elementos incluindo o CPE .....	29
4. Bioimpedância na odontologia .....	31
4.1. Bioimpedância no diagnóstico da cárie .....	32

4.1.1. Fatores que influenciam nas medições de bioimpedância .....	41
4.1.2. Modelos elétricos do dente e de seus constituintes .....	43
4.2. Espectroscopia de bioimpedância no diagnóstico da cárie .....	50
5. Materiais e métodos .....	53
5.1. Estudos iniciais .....	53
5.1.1. Trabalhos relacionados à avaliação do arranjo experimental.....	58
5.1.2. Trabalhos relacionados às melhorias do arranjo e do protocolo experimentais.....	59
5.1.3. Trabalho relacionado com remoção de camada de esmalte .....	60
5.2. Estudo final.....	61
5.2.1. Preparação das amostras.....	61
5.2.2. Diagnóstico visual e radiográfico.....	61
5.2.3. Localizações das medidas de bioimpedância .....	62
5.2.4. Mudança da instrumentação de aquisição de dados e modelo com CPE..	63
5.2.5. Avaliação Histológica .....	65
5.2.6. Análise estatística e edição.....	65
6. Resultados.....	66
6.1. Estudos iniciais .....	66
6.1.1. Trabalhos relacionados à avaliação do arranjo experimental.....	66
6.1.2. Trabalhos relacionados às melhorias do arranjo e do protocolo experimentais.....	66
6.1.3. Trabalho relacionado com remoção de camada de esmalte .....	67
6.2. Estudo final.....	68
6.2.1. Superfícies lisas.....	68
6.2.2. Superfícies oclusais .....	71
6.2.2.1. Diagnóstico por bioimpedância .....	71

6.2.2.2. Diagnóstico visual e radiográfico .....	81
7. Discussão .....	87
7.1. Protocolo experimental.....	87
7.2. Estudos iniciais .....	88
7.3. Estudo final.....	90
7.3.1. Superfícies lisas.....	90
7.3.2. Superfícies oclusais .....	91
8. Conclusão.....	98
9. Referências bibliográficas.....	100

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Desenho esquemático de um molar permanente. Extraído de CHANG & SU (2008) (com permissão). .....	5
Figura 2: Foto parcial da arcada superior de um adulto apontando as diferentes faces dos dentes. ....	5
Figura 3: Foto de corte longitudinal do esmalte humano (microscopia eletrônica de varredura, aumento de 330x) evidenciando o aspecto filamentososo dos prismas de esmalte. ....	6
Figura 4: Desenho ilustrando a aparência de um corte transversal de esmalte humano (lado direito) representando o conceito de esmalte prismático/interprismático. Fica evidenciada a ideia de fechadura onde a “cabeça” é o esmalte prismático e a cervical é a “cauda” .....	7
Figura 5: Foto corte transversal de esmalte dental humano (microscopia de luz polarizada, aumento de 50x) evidenciando as bandas de Hunter- Schreger (seta simples) e as estrias de Retzius (seta dupla). ....	8
Figura 6: Orientação dos cristais de hidroxiapatita nas camadas aprismática (A) e prismática (P) do esmalte dental. A região que delimita dois prismas–esmalte interprismático está marcada com setas.....	9
Figura 7: Foto corte transversal de esmalte dental humano (microscopia de luz polarizada, aumento de 50x) evidenciando: esmalte (a); dentina (b); junção amelo-dentinária (seta branca tripla); lamela (seta branca dupla); tufo (seta branca simples); fuso (seta preta). ....	9
Figura 8: Representação da categorização da lesão cáriosa segundo PITTS (1997) – “iceberg” da cárie.....	17
Figura 9: Íon de sódio ( $\text{Na}^+$ ) hidratado por moléculas de água formando a camada de hidratação ao seu redor. ....	21
Figura 10: O caminho da corrente de acordo com a frequência do sinal. Em baixas frequências o caminho preferencial é o líquido intercelular e em altas frequências esse caminho atravessa as células dos tecidos.....	23

Figura 11: Dispersão simples de Debye e dispersão central característica ( $\omega c$ ). Gráfico da permissividade $\epsilon'$ (parte real) em função da frequência (f).....	24
Figura 12: Gráfico representativo da impedância para circuitos R-C com apenas dois componentes (lado esquerdo) e modelo de circuito elétrico (lado direito).....	27
Figura 13: Gráfico representativo da impedância para R-C com apenas três componentes, duas resistências, $R_1$ e $R_2$ e uma capacitância C (lado esquerdo) e modelo de circuito elétrico (lado direito). ....	27
Figura 14: Circuito elétrico representativo do CPE segundo SCHEIDER (1975) (com permissão). ....	28
Figura 15: Modelo de circuito elétrico em série de três elementos com CPE substituindo a tradicional capacitância. ....	29
Figura 16: Gráficos representativos da impedância para circuitos resistivos com CPE (canto superior direito) com diferentes valores de $\alpha$ . ....	30
Figura 17: Eletrodo proposto por OUTHWAITE (1975) (com permissão).....	35
Figura 18: Protótipo fabricado pela empresa ABCOR. Retirado de WHITE <i>et al.</i> (1978) (com permissão).....	36
Figura 19: As duas diferentes versões do Caries Meter® Retirado de KLINKE <i>et al.</i> (2002) .....	36
Figura 20: <i>Electronic Caries Monitor</i> (ECM®). Retirado de KLINKE <i>et al.</i> (2002) (com permissão).....	38
Figura 21: Eletrodo fluídico auto-adaptável (CHANG & SU, 2008) (com permissão).....	42
Figura 22: Modelo elétrico proposto por ATKINSON & PARKER (1969) para o dente isoladamente, à esquerda, e com as estruturas de suporte à direita. E, esmalte; D, dentina; P, polpa; T, tecido mole; B, osso e SL, possível superfície de perda. Resistência e capacitância com notações usuais (com permissão). ....	44
Figura 23: Modelo proposto por KUMASAKI (1975b) para o dente (com permissão).....	45

- Figura 24: Modelo de circuito equivalente de esmalte de dentes bovinos não erupcionados proposto por SCHOLBERG, BORGGREVEN *et al.* (1984a) (com permissão)..... 45
- Figura 25: Circuito equivalente para a dentina proposto por AOKI (1985). ..... 46
- Figura 26: Circuito elétrico equivalente para o esmalte dental humano (permanente e decíduo) e bovino proposto por LEVINKIND, VANDERNOOT *et al.*(1990).  $R_s$  representa a resistência da solução na célula eletroquímica,  $C_i$  a capacitância da instrumentação,  $C_p$  capacitância originária do dielétrico (capacitância das faces opostas da fatia de esmalte) e  $R_p$  a condutividade do eletrólito no poros do esmalte (com permissão). ..... 46
- Figura 27: Circuito elétrico equivalente da dentina proposto por LEVINKIND, VANDERNOOT *et al.*(1992).  $R_1$  representa a resistência da solução eletrolítica da célula eletroquímica,  $R_2$  a resistência da fatia de dentina hidratada como a solução eletrolítica,  $R_3$  a soma das resistências do *smear layers* (lama dentinária) hidratado.  $R_2'$  é a resistência da fatia de dentina sem *smear layers*. O CPE representa a reatância/capacitância da instrumentação e da conexão dos fios (com permissão). ..... 47
- Figura 28: Modelo proposto por HUYSMANS, LONGBOTTOM *et al.* (1996) (com permissão). ..... 47
- Figura 29: Circuito equivalente proposto por PITTS *et al.* (2006).  $R_{oo}$  - resistência prevalente nas altas frequências,  $R_n$  – resistência prevalente nas baixas frequências, CPE – elemento de fase constante (1996)(com permissão). ..... 48
- Figura 30:Modelo proposto por LIAO, FENG *et al.* (2007a) para o esmalte dental.  $R_s$  – resistência da solução eletrolítica,  $R_p$  – resistência do esmalte,  $R_b$ -resistência associada com a penetração do eletrólito nos espécimes (transferência de carga) ,  $C$ -capacitância o esmalte e  $Q$ - capacitância da interface substrato/eletrólito (CPE) (com permissão). ..... 48
- Figura 31: Modelo proposto por CHANG & SU (2008)(com permissão)..... 49
- Figura 32: Modelos de circuitos equivalentes para os fragmentos de dentina com lama dentinária (à esquerda) e sem lama dentinária (à direita) sugerido por XU, NEOH *et al.*(2008).  $R_e$ -resistência do eletrólito,  $R_s$ -resistência da lama dentinária,  $Q_s$ -CPE da

lama dentinária, Rd-resistência da dentina, Qd-CPE da dentina, Rct-resistência associada a penetração do eletrólito nos fragmentos (transferência de carga), Qct-CPE da interface eletrólito/espécime e W-impedância de Warburg (com permissão).....	49
Figura 33: CarieScan® (ROCHLEN & WOLFF, 2011) (com permissão).....	52
Figura 34: Desenho esquemático do aparato experimental.....	54
Figura 35: Regiões onde foram realizadas as quatro medições nas faces lisas (VM, VD, LD e LM, que correspondem, respectivamente a vestibular mesial, vestibular distal, lingual distal e lingual mesial) e as três medições das superfícies oclusias (OM, OC e OD, que correspondem respectivamente a oclusal mesial, oclusal central e oclusal distal) .....	55
Figura 36: Modelo elétrico representativo da configuração experimental (a). Modelo elétrico dental simplificado utilizado (b). .....	56
Figura 37: Dados experimentais obtidos pela técnica da resposta de corrente à excitação por degrau de tensão e a curva teórica obtida a partir da equação analítica da corrente (face vestibular de um terceiro molar superior). .....	58
Figura 38: Calcador <i>holleback</i> #1 (A) e cabo de espelho #25 (B) .....	59
Figura 39: Montagem experimental. A - base de apoio; B - dinamômetro acoplado ao braço mecânico e ao eletrodo de medição (seta); C - sistema de excitação, condicionamento e coleta dos dados; D - base de imersão do dente e eletrodo de referência (seta dupla). .....	60
Figura 40: Modelo elétrico para o dente com a inclusão do CPE.....	64
Figura 41: Valores dos parâmetros de bioimpedância $R_1$ , $R_2$ e $C_m$ , em dentes hígidos e nas profundidades de perfuração respectivas de 0,5mm e 1,0mm para os pré-molares e terceiros molares (n=15). Os grupos ligados por parênteses indicam significância estatística ( $p \leq 0,05$ ) (MORAIS <i>et al.</i> , 2008).....	67
Figura 42: <i>Box plot</i> dos valores de $R_S$ das faces lisas separados por tipo de dente e por tipo de face lisa.....	68
Figura 43: <i>Box plot</i> dos valores de $R_P$ das faces lisas separados por tipo de dente e por tipo de face lisa.....	69

Figura 44: Box plot dos valores de $C_0$ para os diferentes tipos de dentes e para os diferentes tipos de faces lisas (escala logarítmica).....	69
Figura 45: <i>Box plot</i> dos valores de $\alpha$ (adimensional) das faces lisas para os diferentes tipos de dentes e para os diferentes tipos de faces lisas.....	70
Figura 46: <i>Box plot</i> dos valores de $R_S$ , $R_P$ , $C_0$ (escala logarítmica) e $\alpha$ (adimensional) das superfícies lisas. ....	71
Figura 47: Curva teórica e experimental da face oclusal do elemento 34 (Figura 61) referente ao ponto de interesse 34o3 com diagnóstico histológico de higidez. ....	72
Figura 48: Curva teórica e experimental da face oclusal do elemento 55 (Figura 62) referente ao ponto de interesse 55o1 com diagnóstico histológico pigmentado.....	73
Figura 49: Curva teórica e experimental da face oclusal do elemento 59 (Figura 63) referente ao ponto de interesse 59o1 com diagnóstico histológico de cárie em esmalte.....	73
Figura 50: Curva teórica e experimental da face oclusal do elemento 09 (Figura 64) referente ao ponto de interesse 09o1 com diagnóstico histológico de cárie em dentina. ....	74
Figura 51: Valores do parâmetro $R_S$ para os diferentes diagnósticos dentais.....	75
Figura 52: Valores do parâmetro $R_P$ para os diferentes diagnósticos dentais.....	76
Figura 53: Valores do parâmetro $C_0$ para os diferentes diagnósticos dentais.....	76
Figura 54: Valores do parâmetro $\alpha$ para os diferentes diagnósticos dentais.....	77
Figura 55: Curva ROC construída a partir dos dados do parâmetro $R_S$ ( $p < 0,001$ e área sob a curva = 0,726).....	78
Figura 56: Curva ROC construída a partir dos dados do parâmetro $R_P$ (significância = 0,04 e área sob a curva = 0,680).....	79
Figura 57: Curva ROC construída a partir dos dados do parâmetro $C_0$ (significância = 0,26 e área sob a curva = 0,43).....	79
Figura 58: Curva ROC construída a partir dos dados do parâmetro $\alpha$ (significância = 0,05 e área sob a curva = 0,622).....	80

Figura 59: Curva ROC construída a partir do índice LOG (significância = 0,01 e área sob a curva = 0,710).....	80
Figura 60: Distribuição percentual (prevalência) do diagnóstico histológico, por dente, em toda a amostra (lado esquerdo) e na parte da amostra em que foi detectada cárie (lado direito). ....	82
Figura 61: Fotografia oclusal do elemento 34 referente ao corte transversal no ponto de interesse 34o3 com diagnóstico histológico de higidez (E0).....	83
Figura 62: Fotografia do elemento 55 referente ao corte transversal no ponto 55o1 com diagnóstico histológico de higidez (E0) pigmentado.....	83
Figura 63: Fotografia do elemento 59 referente ao corte transversal no ponto de interesse 59o1 com diagnóstico histológico de cárie em esmalte (E3). ....	83
Figura 64: Fotografia do elemento 09 referente ao corte transversal no ponto de interesse 09o1 com diagnóstico histológico de cárie em dentina (D3). ....	84
Figura 65: Percentuais médios das medidas de desempenho para as avaliações com seis categorias .....	85
Figura 66: Percentuais médios das medidas de desempenho para categorias simplificadas.....	85
Figura 67: Percentuais médios dos acertos para a avaliação clínica, radiográfica e combinada (3 critérios, categorias simplificadas). ....	86

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Pesquisas <i>in vitro</i> comparando o ECM <sup>®</sup> com outros métodos diagnósticos da cárie.....	40
Tabela 2: Valores médios dos parâmetros de bioimpedância para os diferentes diagnósticos histológicos.....	74
Tabela 3: Valores de p do teste de Mann-Whitney da comparação entre os diferentes grupos diagnósticos .....	75
Tabela 4: Valores das medidas de desempenho obtidas a partir das curvas ROC .....	81

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Métodos mais utilizados no diagnóstico da cárie.....	16
Quadro 2: Distribuição dos tipos de dispersão de acordo com a frequência.....	23
Quadro 3: Critério visual e radiográfico utilizado pelos voluntários ( <i>CONSENSUS DEVELOPMENT CONFERENCE ON DIAGNOSIS AND MANAGEMENT OF DENTAL CARIES THROUGHOUT LIFE</i> , 2001).....	62

# 1. Introdução

A cárie dentária é uma doença infecciosa, multifatorial, que tem acompanhado a espécie humana ao longo da história. Durante muito tempo foi um relevante problema de saúde pública e individual na maioria dos países (CAUFIELD & GRIFFEN, 2000).

O Brasil é um país de altas prevalências de cárie; porém, um declínio relevante desses índices vem sendo notado. A hipótese explicativa mais plausível é a elevação no acesso a água e creme dental fluorado, além de mudanças nos programas governamentais de saúde bucal coletiva. Porém, em paralelo, dois importantes fenômenos vêm sendo observados, a crescente desigualdade da distribuição da doença entre a população com parcelas cada vez menores da população concentrando grandes quantidades de lesões cáries e a modificação do padrão morfológico da lesão nos tecidos dentais, em especial em cáries das superfícies não lisas (NARVAI *et al.*, 2006).

As lesões cáries de superfícies com cicatrículas e fissuras sempre foram consideradas como as de maior dificuldade de diagnóstico, devido, principalmente, ao seu padrão morfológico e pela dificuldade de visualização. Por esta razão, são as lesões que trazem maiores divergências em relação ao diagnóstico. Soma-se ao fato citado uma notável modificação da morfologia e velocidade de desenvolvimento dessas lesões cáries pelo largo uso de fluoretos como principal recurso preventivo. A observância cada vez maior da legislação vigente, que preconiza a utilização obrigatória de flúor na água de abastecimento, assim como o largo uso de dentifício fluoretados, resultou no que se costuma chamar de “Síndrome dos fluoretos” e está relacionada ao aumento da resistência mecânica da superfície do dente (esmalte). Um esmalte praticamente intacto a olho nu pode mascarar uma lesão em progresso nas camadas internas do dente (dentina) e coloca em dúvida não só a sensibilidade dos métodos diagnósticos tradicionais (tátil, visual e radiográfico), como também a construção de índices de cárie baseados nesses métodos (ISMAIL, 2004).

A filosofia atual de promoção de saúde em que o diagnóstico precoce é peça fundamental para o controle da doença tem levado a inúmeras pesquisas procurando o aprimoramento dos recursos diagnósticos. Entre eles pode-se citar a mensuração da

condução elétrica dos tecidos dentais (bioimpedância) como uma das mais promissoras (AMAECCHI, 2009).

A avaliação da bioimpedância dental tem aplicação na área odontológica não só na detecção de cáries e áreas susceptíveis do dente, como também na avaliação do sucesso de restaurações, assim como na mensuração do comprimento do canal radicular, essencial à área endodôntica (VERDONSCHOT *et al.*, 1995; JACQUOT *et al.*, 1996; MEREDITH & GULABIVALA, 1997; BAYSAN *et al.*, 2001; PETERSSON & KAMBARA, 2004)

Por se tratar de uma técnica relativamente recente, há muito ainda a ser investigado no que se refere a sua aplicação à área odontológica. LONGBOTTOM & HUYSMANS (2004) apontaram a necessidade de uma maior investigação para se determinar como diferentes variáveis afetam essas mensurações da bioimpedância dental. Esses autores também apontam a necessidade do desenvolvimento de modelos que representem o comportamento elétrico, não só dos vários tecidos dentais sadios como também dos tecidos afetados pela cárie.

Desse modo, o diagnóstico da cárie tem na bioimpedância um método de detecção de lesões que pode ser valioso, especialmente para aquelas de difícil diagnóstico, onde os métodos tradicionais têm falhado em apresentar uma resposta adequada às necessidades atuais de prevenção e tratamento precoce da doença cárie em seus diversos aspectos.

## **1.1. Objetivos**

De acordo com o exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a potencialidade da técnica de espectroscopia de bioimpedância baseada na resposta de corrente ao degrau de tensão (NEVES & SOUZA, 2000) na detecção de alterações da camada externa do esmalte, assim como na detecção de lesões de cárie dental.

### **1.1.1. Objetivos Específicos**

Para atingir o objetivo geral foram desenvolvidas as seguintes etapas parciais:

- a) Adaptação do protótipo de medição de espectroscopia de bioimpedância (BIS) baseado na resposta de corrente ao degrau de tensão (BIS-VI),

desenvolvido no Laboratório de Engenharia Biomédica (LIB), às medições de bioimpedância do dente.

- b) Desenvolvimento de modelos elétricos para estimativa e interpretação de parâmetros de bioimpedância dental, obtidos a partir dos dados da BIS-VI.
- c) Desenvolvimento de índice baseados em parâmetros de bioimpedância que foram usados na avaliação da estrutura dental e da cárie, em especial, lesões de difícil diagnóstico.

## 2. Fundamentos odontológicos

Geralmente, pensa-se na cavidade oral como uma entidade, mas é importante salientar que dentro dessa cavidade existem vários compartimentos grandes e pequenos e que, apesar disso, em cada nível, o todo é mais que a somatória de suas partes; ele possui integridade irredutível (FEJERSKOV, 2008). Essa cavidade possui diversas funções sendo a principal delas a mastigação. Os dentes representam as estruturas duras responsáveis por essa essencial função além de representar um papel importante na estética individual tanto valorizada na atualidade.

Os dentes são formados por duas porções: a coroa (porção que se projeta para fora da gengiva) e uma ou mais raízes (dentro do alvéolo ósseo, cavidade onde se aloja o dente). A primeira dentição é chamada decídua (dentes-de-leite), enquanto a segunda é chamada de permanente. Assim, a boca de um adulto possui 32 dentes permanentes e uma criança possui 20 dentes decíduos que são substituídos pelos permanentes a partir dos 6 anos de idade. Dentes decíduos e permanentes, genericamente falando, são semelhantes, mas possuem diferenças tanto na sua forma como na sua estrutura. Assim, em ambas as dentições o dente possui a mesma estrutura básica (Figura 1) com uma porção não calcificada, a polpa, e três partes calcificadas: o esmalte, a dentina e o cemento. O dente tem uma cavidade central denominada cavidade pulpar. Em sua extremidade alveolar encontra-se um orifício, por onde passam vasos e nervos, chamado forame apical. Em volta das raízes encontra-se o ligamento periodontal que é uma estrutura fibrosa que faz a ligação do dente ao seu alvéolo. Os dentes posteriores (molares e pré-molares) possuem uma face fissurada (oclusal) e quatro faces lisas: vestibular, lingual e proximais (mesial e distal). Os dentes anteriores (incisivos e caninos) não possuem faces oclusais e sim faces incisais como pode ser visto na Figura 2 (RICHARD TEN CATE & COPELAND, 1998).

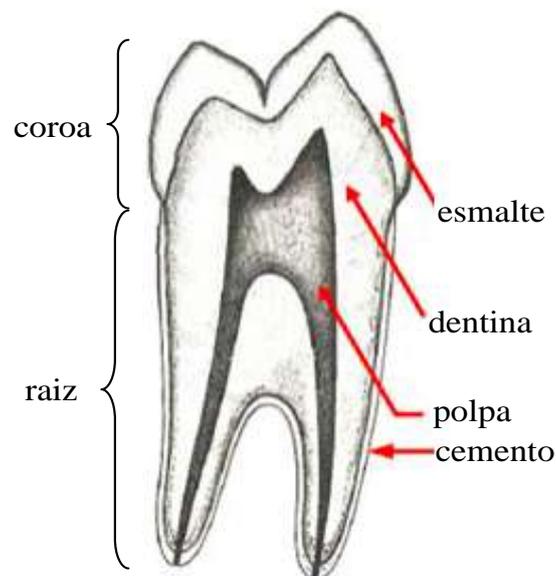


Figura 1: Desenho esquemático de um molar permanente. Extraído de CHANG & SU (2008) (com permissão).

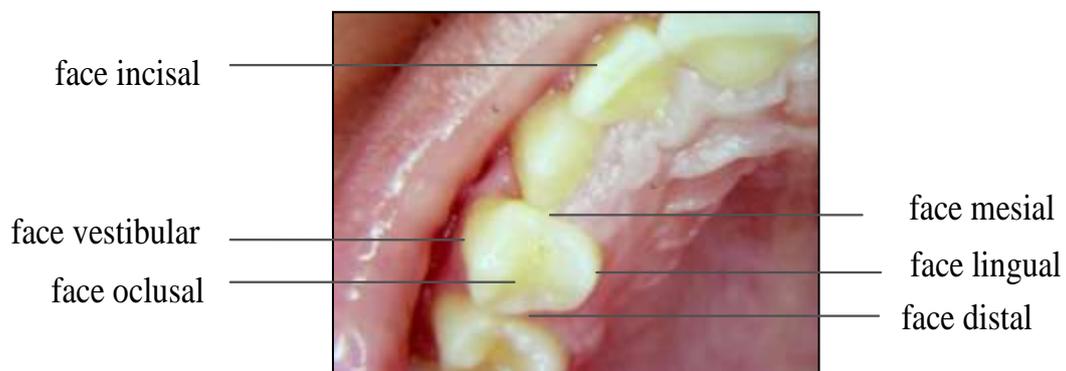


Figura 2: Foto parcial da arcada superior de um adulto apontando as diferentes faces dos dentes.

## 2.1. Estrutura dental

### 2.1.1. Esmalte dental

O esmalte pode ser visto como um sólido microporoso que forma uma capa protetora, permeável, sobre a superfície total da coroa, possuindo espessura variável, chegando a um máximo de 2,5 mm. Possui 96% de seu peso de conteúdo mineral

(cristalino de fosfato de cálcio e hidroxiapatita), semelhante à apatita, formando um arranjo cristalino (cristais de hidroxiapatita). Cada cristal de hidroxiapatita possui 50 nm de largura e 100 nm de comprimento e é envolvido por uma fina rede orgânica. Vários íons podem ser incorporados ou adsorvidos ao esmalte, principalmente durante a formação do dente, como por exemplo, o estrôncio, o chumbo, o magnésio e o fluoreto (RICHARD TEN CATE & COPELAND, 1998).

Somente 4% do esmalte são formados por substância orgânica e água que estão principalmente nos espaços intercristalinos separando cada cristal de esmalte. O corpo do material orgânico é composto pelos polipeptídios amelogeninas ricos em tirosina e proteínas não-amelogeninas (ORBAN & BHASKAR, 1991; BERKOVITZ *et al.*, 2002).

Apesar da definição clássica de prisma estar ligada à geometria e à ótica, em odontologia diz-se que o elemento básico formador do esmalte humano é o prisma e este não corresponde exatamente à uma descrição geométrica clássica desse elemento (Figura 3). O prisma dental possui 5  $\mu\text{m}$  de largura e 9  $\mu\text{m}$  de comprimento e é formado por um arranjo cristalino densamente compactado de hidroxiapatita que se estendem da junção com a dentina até a superfície do esmalte. Esse filamento de cristais compactados (prisma) pode ser claramente delimitado e separado pelo arranjo dos cristais periféricos.

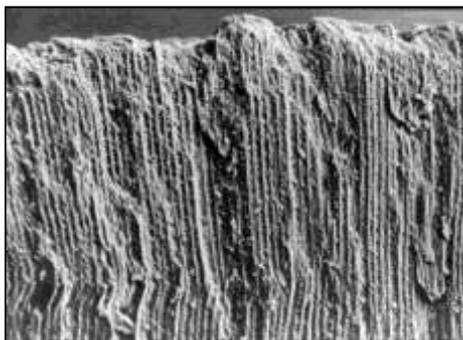


Figura 3: Foto de corte longitudinal do esmalte humano (microscopia eletrônica de varredura, aumento de 330x) evidenciando o aspecto filamentoso dos prismas de esmalte.

Dessa maneira são criadas duas regiões distintas, o esmalte prismático, também chamado cabeça do prisma e o esmalte interprismático, também chamado cauda. Esse

arranjo diferenciado dos cristais com diferentes direções forma um padrão e confere a essa estrutura uma forma alongada semelhante a uma “fechadura” (Figura 4).

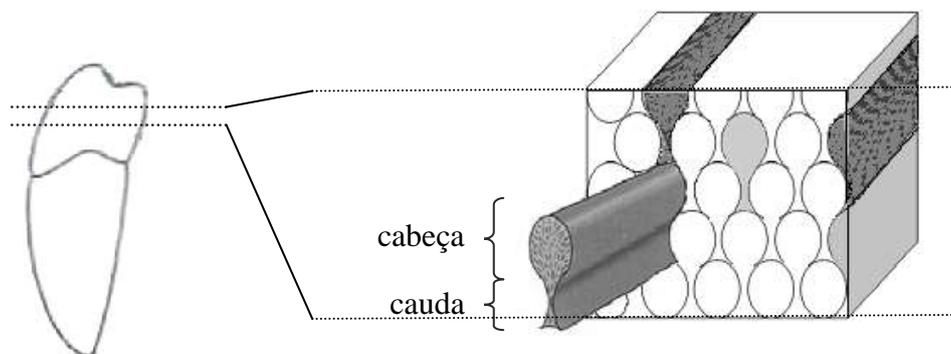


Figura 4: Desenho ilustrando a aparência de um corte transversal de esmalte humano (lado direito) representando o conceito de esmalte prismático/interprismático. Fica evidenciada a ideia de fechadura onde a “cabeça” é o esmalte prismático e a cervical é a “cauda”

Os limites prismáticos (esmalte interprismático) possuem uma maior quantidade de espaços inter cristalinos (microporos) preenchidos por matriz orgânica e água em especial na região superficial do esmalte (MJÖR & FEJERSKOV, 1986).

O prisma dispõe-se perpendicularmente à superfície da dentina formando um trajeto com uma discreta inclinação (ondulação) em direção à cúspide de cada dente. A ondulação desse trajeto reflete as mudanças regulares na direção dos prismas que podem ser vistas como faixas claras e escuras sucessivas perpendiculares ao esmalte quando vistas sob uma luz lateral e são chamadas de bandas de Hunter-Schreger (Figura 5).

Como a superfície interna do esmalte é menor que a sua superfície externa, o prisma individual se alarga um pouco em direção à superfície. Assim, na superfície interna do esmalte temos uma maior concentração de prismas assim como de área interprismática. O organismo humano e da maioria dos vertebrados também possui um ciclo diário denominado de ciclo circadiano que é comandado pelo hormônio melatonina. Este ciclo também fica registrado no esmalte dental na forma de linhas tênues transversais ou linhas incrementais de crescimento (estrias de Retzius) que

parecem ascender ao esmalte onde apresentam formações de degraus ou depressões (periquimácias). Estas estruturas (Figura 5) não só refletem uma mudança na organização e inclinação dos prismas, como parecem possuir acúmulo de matriz orgânica e são em parte responsáveis pela “porosidade” externa do esmalte, atuando como grandes vias de difusão (MJÖR & FEJERSKOV, 1986).

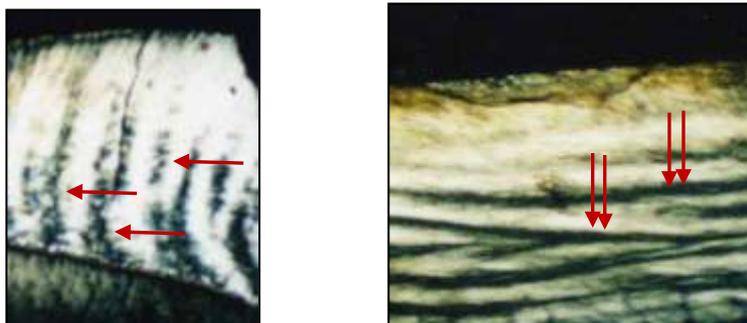


Figura 5: Foto corte transversal de esmalte dental humano (microscopia de luz polarizada, aumento de 50x) evidenciando as bandas de Hunter- Schreger (seta simples) e as estrias de Retzius (seta dupla).

Na região superficial, o esmalte é composto por uma delgada camada com espessura da ordem de 0,02 mm a 0,03 mm, encontrada especialmente em dentes decíduos e em algumas regiões dos dentes permanentes em que a orientação dos cristais de hidroxiapatita é perpendicular à superfície, diferindo da região prismática subjacente onde ocorrem variações nas orientações dos cristais (Figura 4). Essa camada é composta por esmalte aprismático (GWINNETT, 1967; NEWMAN & POOLE, 1974; SMITH & WILLIAMS, 1982).

O esmalte também possui entidades estruturais constituídas durante o seu processo de formação, são elas: tufos, lamelas e fusos do esmalte. São estruturas menos mineralizadas e compostas, em grande parte, por material proteico. Os tufos têm aspecto ramificado, semelhante a tufos de grama, com origem na junção entre esmalte e dentina e alcançam uma pequena distância no interior do esmalte. As lamelas são menos comuns que os tufos e têm constituição semelhante a estes; porém, têm aspecto semelhante a folhas que se estendem até à superfície do esmalte. É comum a confusão destas estruturas (lamelas) com fendas longitudinais as quais se desenvolvem após a

formação do esmalte. Estas fendas também possuem grande quantidade de material proteico, porém, estas são provenientes da saliva (MJÖR & FEJERSKOV, 1986).

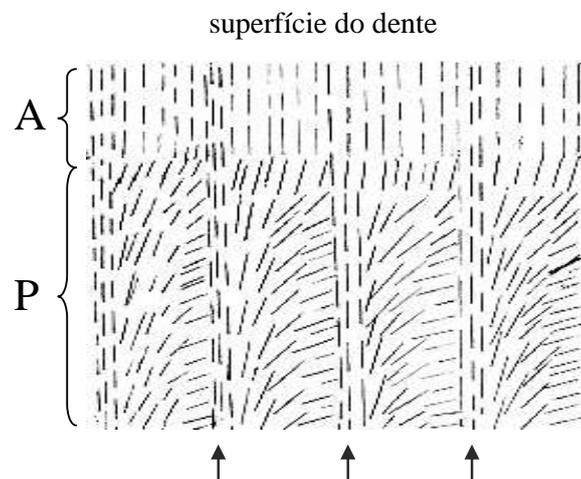


Figura 6: Orientação dos cristais de hidroxiapatita nas camadas aprismática (A) e prismática (P) do esmalte dental. A região que delimita dois prismas—esmalte interprismático está marcada com setas.

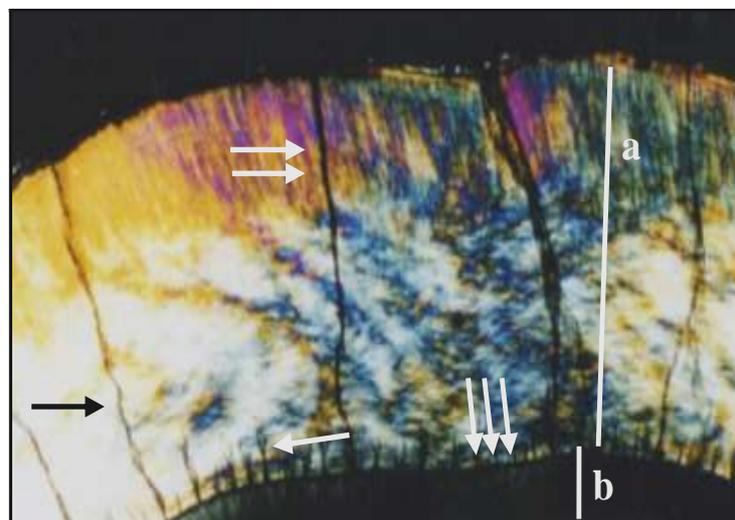


Figura 7: Foto corte transversal de esmalte dental humano (microscopia de luz polarizada, aumento de 50x) evidenciando: esmalte (a); dentina (b); junção amelo-dentinária (seta branca tripla); lamela (seta branca dupla); tufo (seta branca simples); fuso (seta preta).

Além disso, a camada mais externa do esmalte de dentes erupcionados (presentes na boca) é mais mineralizada graças ao processo de mineralização pós-eruptiva, ou seja, uma adaptação da sua camada superficial ao ambiente oral de constante desafio cariogênico (ORBAN & BHASKAR, 1991; RICHARD TEN CATE & COPELAND, 1998).

### **2.1.2. Dentina**

A dentina constitui a maior parte o volume dental. A constituição básica da dentina, por volume, é 45% de material inorgânico (hidroxiapatita), 33% de material orgânico (colágeno, glicoproteínas, proteoglicanos e fosfoproteínas) e 22% de água. É um tecido com propriedades elásticas, sendo unido ao esmalte na junção amelodentinária e ao cimento na porção radicular (RICHARD TEN CATE & COPELAND, 1998)

Caracteriza-se por possuir múltiplos túbulos dentinários que atravessam toda a sua estrutura. Os túbulos seguem um curso reto e mostram um alto grau de ramificações periféricas na dentina radicular, enquanto na dentina coronária apresentam uma configuração em forma de *S* e poucos ramos periféricos. Esses túbulos contêm extensões citoplasmáticas dos odontoblastos que são as células formadoras da dentina e cujos corpos celulares estão alinhados ao longo da extremidade interna da dentina. A dentina é um tecido sensível e, mais importante, é capaz de fazer reparos. Assim, nova dentina pode ser estimulada a se formar conforme haja necessidade (ORBAN & BHASKAR, 1991; RICHARD TEN CATE & COPELAND, 1998).

### **2.1.3. Polpa**

A polpa dental é um tecido conjuntivo mole que ocupa a porção central do dente (câmara pulpar) e a região interna da porção radicular. Histologicamente pode ser dividida em quatro zonas distintas: (1) a camada odontoblástica na periferia da polpa; (2) a camada acelular de Weil abaixo dos odontoblastos, proeminente na polpa coronária; (3) uma camada rica em células, com densidade celular elevada, observada adjacente a camada acelular; (4) o centro da polpa, caracterizado por vasos e nervos maiores da polpa. Suas principais células são os odontoblastos, fibroblastos, células

ectomesenquimais indiferenciadas, macrófagos e outras células imunocompetentes. Assim, a polpa tem função de produzir a dentina que a envolve e repará-la, nutri-la, além de conter a porção nervosa que dá a sensibilidade ao dente (RICHARD TEN CATE & COPELAND, 1998)

#### **2.1.4. Cimento**

O cimento dental, apesar de ser uma estrutura do dente, é considerado parte do periodonto, ou seja, está entre as estruturas de suporte que unem o dente ao osso alveolar (alvéolo dental). Em uma pessoa saudável, o cimento não é visível, pois recobre somente a área radicular que está inserida no osso alveolar. O cimento é um tecido duro (mineralizado), não inervado e avascular sendo composto por 65% de material inorgânico, principalmente hidroxiapatita, 23% de material orgânico e 12% de água (AVERY *et al.*, 2002).

### **2.2. Cárie dental**

A palavra cárie vem do latim e significa destruição, podridão, decomposição. Atualmente, a palavra “cárie” significa tanto uma doença multicausal que provoca uma destruição localizada nos dentes quanto o principal sinal dessa doença, a cavidade formada pela desmineralização e colabamento das estruturas dentais. A evolução progressiva destes sinais pode ser organizada em uma escala linear abrangendo desde mudanças cristalinas minúsculas até estágios visíveis de desmineralização, tendo como resultado final a total destruição do dente acompanhado de um processo doloroso (ARANHA, 1996).

A doença cárie é considerada uma doença multifatorial em que estão incluídos o indivíduo e o dente (hospedeiro), a microbiota local (microflora) e o substrato (carboidratos fermentáveis). Nem toda a placa formada sobre a superfície do dente (acúmulo de restos de alimentos e bactérias da microbiota bucal) favorece o aparecimento da cárie (teoria da placa específica). Somente a união desses três fatores agindo durante um período de tempo resultará em desmineralização da superfície. Apesar de a cárie poder afetar basicamente qualquer superfície exposta do dente, na

prática, as regiões mais afetadas são aquelas onde a placa tem facilidade de se acumular, regiões interproximais entre um dente e outro e regiões de sulcos e fissuras.

Assim, a cárie é um processo dinâmico que ocorre na placa dental nas superfícies do dente e que resulta em distúrbio do equilíbrio entre a substância do dente e o fluido da placa adjacente. Ou seja, é um processo de desmineralização que começa no esmalte dentário pelos ácidos formados por bactérias, as quais atuam sobre os carboidratos introduzidos com a dieta alimentar do indivíduo (FEJERSKOV, 2008).

Quando o esmalte é exposto a ácidos provenientes da placa bacteriana, os minerais são removidos ou dissolvidos do material sólido, o cristal. Até mesmo uma leve remoção de mineral da periferia do cristal reduz o tamanho deste. Isto resulta em ampliação dos espaços intercristalinos, que pode ser observada como aumento da porosidade do tecido. Assim, a quantificação das mudanças na porosidade do tecido pode ser usada como indicador muito sensível da perda mineral do esmalte (FEJERSKOV, 2008).

A presença de vários produtos ácidos na placa em consequência do metabolismo do açúcar varia de indivíduo para indivíduo, entre as várias regiões da boca, com tempo decorrido desde a última exposição aos açúcares assim como com o tipo de açúcar. Pela manhã, antes da primeira refeição, os ácidos fórmico, acético, láctico, propiônico e butírico podem ser encontrados na placa dental, porém, com predominância do fórmico. Após a exposição a açúcares há um rápido e dramático aumento do ácido láctico e este é a principal causa de queda de pH causador de cáries (FEJERSKOV, 2008).

### **2.2.1. Microbiota da cárie dental**

A cárie é considerada uma doença na qual a presença de uma microbiota específica relaciona-se positivamente com o surgimento das lesões. Esta teoria é conhecida como teoria da placa específica em que em algumas espécies colonizam ou dominam certas regiões dentais e promovem a cárie. Estas espécies incluem os “Estreptococos do Grupo Mutans” (EGM) e lactobacilos, na cárie de superfície coronária, além do *Actinomyces viscosus*, na cárie de superfície radicular. Isto não significa que somente estas espécies bacterianas são as responsáveis por todas as lesões de cárie, mas do ponto de vista biológico são as principais responsáveis. Neste conceito

está implícita a possibilidade de ocorrência de placa sem que haja doença, significando a presença de placa não dominada pelos organismos odontopatógenos.

Das espécies de EGM, o *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus* apresentam real potencial cariogênico em humanos e podem ser considerados os microorganismos iniciadores da cárie. Os lactobacilos, sendo acidogênicos e acidúricos, podem se multiplicar no pH baixo, observado no biofilme e nas lesões cariosas pré-estabelecidas. Assim, sua frequência predomina em áreas profundas de cárie de dentina e esses microorganismos desempenham papel importante na progressão da cárie, e não na sua etiologia (EDWARDSSON, 1968; EDWARDSSON, 1974; VAN HOUTE, 1994).

### **2.2.2. Diagnóstico da cárie dental oclusal**

O diagnóstico da doença cárie como arte ou ato de identificar uma doença a partir dos seus sinais e sintomas é realizado a partir de dados da anamnese e de um exame clínico minucioso da cavidade oral. O exame clínico tem como principal objetivo identificar precocemente as lesões e intervir no processo carioso de maneira efetiva e menos invasiva possível (FEJERSKOV, 2008). Tradicionalmente, o ponto de corte entre uma abordagem preventiva não invasiva e uma abordagem restauradora é a cavitação, que é uma fase bastante avançada da doença, geralmente com envolvimento das camadas mais internas do dente (dentina) (NORLUND *et al.*, 2009a).

Existem diversos métodos de detecção de lesões de cárie (Quadro 1) porém, tradicionalmente, nas faces visualmente acessíveis (faces oclusais, linguais e vestibulares) o método de escolha é o exame visual ou tátil. A detecção de cáries nas faces visualmente inacessíveis (faces interproximais), em especial lesões de pequeno porte, são avaliadas por método radiográfico (PITTS, 1991). Como coadjuvante do exame diagnóstico tradicional, a radiografia dentária tem sido largamente utilizada em especial quando se quer o diagnóstico precoce de lesões de cárie. A radiação ionizante, porém, não permite o correto diagnóstico de lesões oclusais em esmalte a não ser que estejam já em dentina (lesão avançada) e expõe o paciente aos riscos inerentes a esse processo diagnóstico (MILES & PARKS, 2011).

O exame visual é o método mais utilizado para a detecção de lesões porque é uma técnica fácil e é perpetuada rotineiramente na prática clínica. O exame visual costuma apresentar boa especificidade (proporção de sítios hígidos corretamente identificados), baixa sensibilidade (proporção de sítios cariados identificados corretamente) e baixa reprodutibilidade por causa da natureza subjetiva do processo de exame (BADER *et al.*, 2002).

Tradicionalmente o método de detecção das lesões oclusais é conduzido com um espelho plano e uma sonda exploradora (afiada ou romba), adotando uma abordagem sistemática (BADER *et al.*, 2001). Porém, esse tipo de exame, em especial aquele realizado com uma sonda de ponta afiada é um método que tem sido questionado há algum tempo (ANGMAR-MÅNSSON & TEN BOSCH, 1987; PITTS, 1991; NEWBRUN, 1993). A retenção da sonda em algum ponto da superfície oclusal pode representar tanto uma pequena cavitação de cárie como uma variação morfológica de uma fissura e é dependente da pressão exercida pelo operador (CARVALHO *et al.*, 1989; PITTS, 1991; FEJERSKOV, 2004). Essa pressão da sonda exploradora pode inclusive gerar o rompimento da camada superficial desmineralizada de esmalte em lesões iniciais (manchas brancas) podendo facilitar a formação de uma cavidade irreversível no esmalte sendo assim considerada como uma técnica invasiva por diversos autores (EKSTRAND *et al.*, 1987; PITTS, 1991; NEWBRUN, 1993; AXELSSON, 2000; MCDONALD *et al.*, 2011). Além disso, existem estudos que consideram a transferência de microorganismos patogênicos de uma área infectada para uma região saudável durante o processo sistemático de sondagem (EKSTRAND *et al.*, 1987; NEWBRUN, 1993)

Na superfície oclusal existe uma dificuldade especial para se detectar a presença das lesões de cárie incipientes, principalmente em esmalte com pigmentação escura (preto ou marrom). A superfície pode estar pigmentada devido à inativação de lesões de cárie ou pela presença de selamento biológico, que se caracteriza pela presença de uma massa amorfa de material com a presença de poucas bactérias e com um processo de mineralização progressiva na base de sulcos ou fossas do dente (GALIL & GWINNETT, 1975; CARVALHO *et al.*, 1989; FEJERSKOV, 2008).

Em uma revisão sistemática (BADER *et al.*, 2001) que englobou 17 estudos de diagnóstico de cáries oclusais, o diagnóstico visual para cárie em esmalte (cáries

incipientes) obteve média de sensibilidade de 66% e especificidade de 69% com prevalência média de lesões de cárie de 21%; o diagnóstico radiográfico teve média de sensibilidade de 30% e especificidade de 76% com prevalência de 18% e finalmente o diagnóstico combinado (visual + radiográfico) obteve a média de sensibilidade de 67%, especificidade de 75% com prevalência média de lesões de 61%. Outra revisão sistemática em 2010 apontou a combinação dos métodos visual-táctil e radiográfico como sendo aquele que obtêm os melhores resultados (EWOLDSSEN & KOKA, 2010).

Outro problema a ser considerado no diagnóstico da cárie oclusal é a “cárie oculta”. Esse termo é utilizado quando não há sinais clínicos de desmineralização na superfície oclusal ou esses sinais são mínimos se comparados à extensa desmineralização no interior da dentina. Esse processo pode ser detectado radiograficamente somente quando há uma invasão de mais 0,5mm da dentina caracterizando assim uma lesão que só pode ser tratado através de procedimentos invasivos, ou seja, restaurações (ANUSAVICE, 2001; ISMAIL, 2004). Esse tipo de lesão está especialmente presente em indivíduos expostos continuamente a fluoretos pois essa substância provoca um endurecimento da camada superficial do esmalte porém não tem grande poder de penetração nesse tecido assim, quando o processo cariioso evolui na subsuperfície afetando de maneira quase imperceptível a camada mais externa do esmalte. Existem poucos estudos na literatura sobre a prevalência desse tipo de cárie provavelmente pela dificuldade de diagnóstico desse tipo de lesão. Um estudo com crianças de (5 e 8 anos) aponta uma prevalência de 15% de dentes com cáries ocultas em 7,5% da população (WEERHEIJM *et al.*, 1992) e um estudo brasileiro com crianças de 5 anos encontrou uma prevalência de cárie oculta de 9,5%, com lesões presentes especialmente em molares semi-erupcionados (COSTA *et al.*, 2002).

Sabe-se, porém que a prevalência desse tipo de lesão vem aumentando pois cada vez mais os indivíduos são expostos à suplementos fluoretados que incluem fluoretos tópicos ou sistêmicos pois são aqueles considerados mais efetivos na prevenção de cárie (SAWLE & ANDLAW, 1988; PITTS, 1991; KIDD *et al.*, 1993; WEERHEIJM *et al.*, 1997; HAUGEJORDEN & TVEIT, 1998; COSTA *et al.*, 2002; ZADIK & BECHOR, 2008a; ZADIK & BECHOR, 2008b).

Quadro 1: Métodos mais utilizados no diagnóstico da cárie

Exame visual	com a utilização de sonda sem pressão
	sem utilização de sonda
Radiográfico	convencional
	digital
Transiluminação por fibra ótica	
Laser	
Bioimpedância elétrica*	

\*Os aspectos relacionados ao diagnóstico de lesões cariosas através bioimpedância elétrica serão abordados no capítulo 4.

O índice de cárie que está presente na maioria dos estudos epidemiológicos conduzidos sob os padrões propostos pela Organização Mundial da Saúde utiliza critérios em que os estágios iniciais da doença que precedem à formação de cavidades, não são levados em consideração. Também não são considerados cariados os dentes com sinais de manchas esbranquiçadas, descolorações rugosas e todas as lesões questionáveis, como sulcos e fissuras manchados em que o explorador prender, mas não apresentar uma base amolecida ou esmalte socavado (camada de esmalte macroscopicamente íntegra ou minimamente perfurada, porém com lesão de cárie extensa na subsuperfície). Uma superfície oclusal é considerada cariada quando um sulco ou fissura apresentar tecido amolecido na base, detectado pelo explorador ou pela descoloração do esmalte (PINTO, 1990).

Assim, o diagnóstico da cárie oclusal incipiente ou não cavitada realizada através dos meios convencionais (exame clínico e radiografia), mesmo que realizada por indivíduos bem treinados, apresenta grande variabilidade, denotando a dificuldade encontrada pelos profissionais no diagnóstico inicial desse tipo de cárie (BADER *et al.*, 2002; TOPPING & PITTS, 2009; ZAFERSOY-AKARSLAN *et al.*, 2009; ZANDONA *et al.*, 2009). Assim, métodos alternativos têm sido pesquisados e entre eles está a bioimpedância elétrica. Este método baseia-se na variação das características de resistividade que compõe os vários tecidos do corpo e na alteração dessas características

mediante um processo patológico ou fisiológico. É um método diagnóstico não invasivo, em tempo real, não expõe o paciente à radiação ionizante e é bastante seguro para o uso na odontologia, inclusive em dentes em formação (ALWAS-DANOWSKA *et al.*, 1999; GRIMNES & MARTINSEN, 2008a).

### 2.2.3. Classificação das lesões de cárie

No final da década de 90 o conceito de diagnóstico da cárie passou a ser visto como um processo complexo que exige habilidade de elaborar decisões sobre o manejo e o prognóstico do processo da doença. Sabendo-se que uma das características que tem o maior peso nesse processo é a profundidade da lesão, categorizou a lesão provocada pela doença cárie de acordo com as diferentes profundidades alcançadas, começando com lesões subclínicas em que a desmineralização do tecido dental pode ser revertido até uma lesão clinicamente óbvia e com envolvimento pulpar (Figura 8).

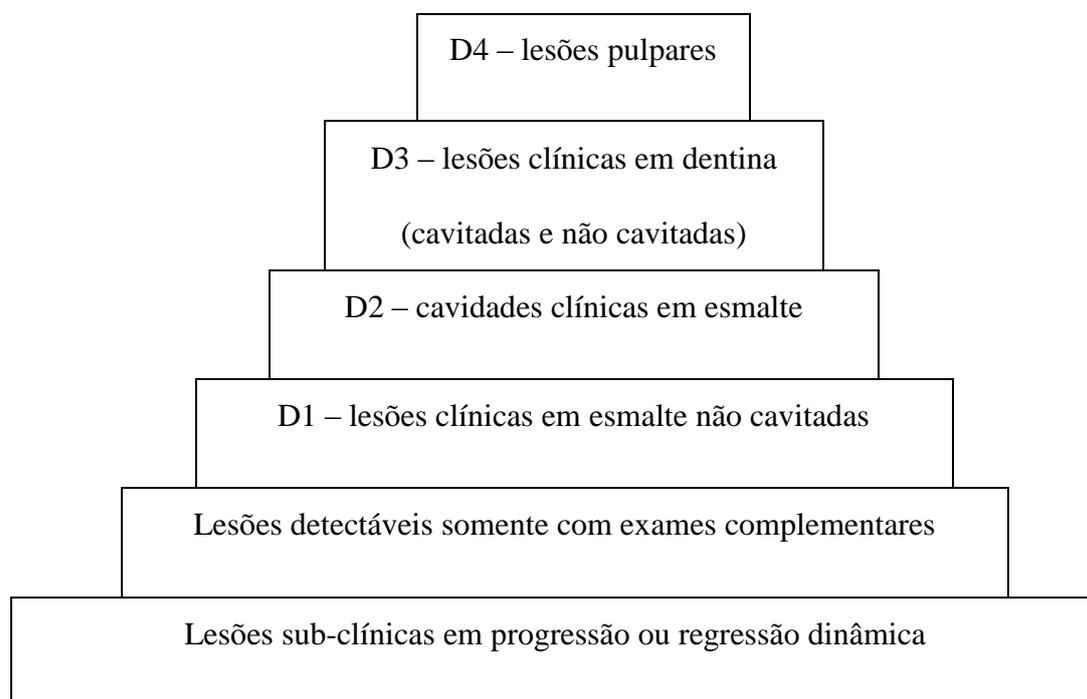


Figura 8: Representação da categorização da lesão cáries segundo PITTTS (1997) – “iceberg” da cárie.

A ideia de que a cárie começa com uma cavidade perceptível a olho nu não é mais aceita pela evidência científica atual, pois a perda de minerais começa bem antes

da lesão se tornar cavitada. Os métodos tradicionais como o exame tátil visual são incapazes de detectar perdas minerais iniciais e mesmo exames complementares, como a radiografia, tem dificuldade na detecção da lesão inicial. É importante destacar que os exames epidemiológicos consideram como cárie apenas lesões presentes em dentina e pela dificuldade inerente ao processo praticamente só são contadas lesões cavitadas.

Assim, pela complexidade do processo carioso e pelo novo paradigma científico, a partir desse momento as lesões provocadas pela doença cárie tiveram diversas classificações além do tradicional índice CPOD (C-cariado; P-perdido; O-obturado; D-dente) proposto pela Organização Mundial da Saúde para a avaliação epidemiológica. Esses vários sistemas de classificação (International Caries Detection and Assessment System – ICDAS, lesion activity assessment–LAA, Nyvad's system, etc.) são baseados principalmente em sua atividade e ou sua extensão e o ponto em comum entre eles é o fato de todos se preocuparem direta ou indiretamente com o manejo da lesão detectada (WORLD HEALTH, 1997; NYVAD *et al.*, 1999; PITTS, 2004; EKSTRAND *et al.*, 2007). Lesões iniciais em esmalte sem cavitação podem ser reendurecidas ou paralisadas e há um consenso que quando a cárie atinge a região mais interna da dentina há a necessidade de um tratamento restaurador.

### 3. Bioimpedância elétrica

Impedância é uma terminologia elétrica genérica que designa a impedância ( $Z$ ) ou a admitância ( $Y$ ) de um circuito ou sistema, sendo que a impedância e a admitância são recíprocos, tais que

$$Z = \frac{1}{Y} \quad (1)$$

A impedância elétrica é a oposição que um sistema, biológico ou não, oferece à passagem de uma corrente elétrica. Quando uma diferença de potencial (tensão) é aplicada a este sistema, haverá a circulação de uma corrente elétrica cuja intensidade depende, então, desta oposição (GRIMNES & MARTINSEN, 2008e). A impedância é uma grandeza complexa obtida pela razão entre a tensão ( $v$ ) e o fluxo de corrente total ( $i$ ).

$$Z = \frac{v}{i} \quad (2)$$

Assim, transferindo esses conceitos para a área biológica, a bioimpedância elétrica pode ser considerada a magnitude da oposição do substrato biológico, cuja unidade fundamental é a célula, à passagem de uma determinada corrente elétrica.

As medidas de impedância elétrica podem fornecer informação a respeito do substrato biológico quando este apresenta uma mudança de dimensão física ou mudanças nas suas propriedades condutivas, uma vez que essas propriedades são influenciada por fatores como a frequência do sinal elétrico, processos eletroquímicos, temperatura, potencial de hidrogênio (pH), estado de hidratação e a viscosidade do fluido ou tecido biológico em questão (GRIMNES & MARTINSEN, 2008g). Dessa forma, a bioimpedância pode fornecer informação sobre os processos eletroquímicos nos tecidos, caracterizando-os ou monitorando mudanças fisiológicas nos mesmos (GRIMNES & MARTINSEN, 2008f).

A impedância ( $Z$ ) é caracterizada por sua componente real resistiva ( $R$ ) e por sua componente imaginária reativa ( $X$ ) conforme equação

$$Z = R - jX_c \quad (3)$$

onde  $j$  é igual a  $\sqrt{-1}$ .

Nos substratos biológicos a componente reativa é normalmente capacitiva, chamada de reatância capacitiva ( $X_c$ ), fazendo com que a tensão se atrase em relação à corrente quando se aplica uma corrente alternada. Esta defasagem entre a tensão e a corrente é uma consequência do ângulo de fase ( $\theta$ ) da impedância, definido como (GRIMNES & MARTINSEN, 2008f; GRIMNES & MARTINSEN, 2008c).

$$\theta = \operatorname{tg}^{-1} \left( \frac{\operatorname{Im}(Z)}{\operatorname{Re}(Z)} \right) \quad (4)$$

Enquanto os sistemas são caracterizados por sua impedância, que depende das propriedades dos materiais que o compõe e de suas dimensões, os materiais constituintes são melhor qualificados através de suas propriedades elétricas, sendo a condutividade ( $\sigma$ ) ou a resistividade ( $\rho$ ) as mais usadas para expressar o caráter elétrico. A condutividade é uma propriedade indicativa da facilidade com a qual um material é capaz de conduzir uma corrente elétrica e é simplesmente o recíproco (inversamente proporcional) da resistividade. Por sua vez, a resistividade é a contrapartida microscópica da resistência, e se relacionando com esta através da seguinte fórmula

$$R = \rho \frac{L}{A} \quad (5)$$

onde  $L$  é o comprimento do material e  $A$  é a área transversal (GRIMNES & MARTINSEN, 2008c).

### 3.1. Propriedades elétricas dos tecidos biológicos

Sob todos os pontos de vista, tecidos biológicos são materiais muito sofisticados. Em relação às propriedades elétricas, esta complexidade se manifesta principalmente em uma escala de dimensões microscópicas, onde se verifica uma grande variedade de componentes iônicos e moleculares na fase líquida e uma morfologia intrincada das membranas lipídicas celulares.

Os tecidos vivos são, do ponto de vista macroscópico, eletricamente caracterizados como condutores eletrolíticos, ou seja, a condução elétrica não é feita por elétrons, mas através do movimento de íons (positivos e negativos) o que implica no transporte de substância. Em contrapartida, as membranas lipídicas são consideradas não condutoras (dielétrico) e, a princípio, dificultam a passagem de íons.

Assim o estudo das principais propriedades elétricas dos substratos biológicos pode-se ater a dois tópicos: a teoria eletrolítica e ao estudo dos dielétricos. Este dois itens serão abordado com mais detalhes a seguir.

### 3.1.1. Teoria eletrolítica

De acordo com a teoria de dissociação de Arrhenius (ARRHENIUS, 1912), moléculas de ácido, base ou sais reagem com as moléculas de água para formar íons separados. São esses íons que determinam o transporte elétrico em soluções eletrolíticas.

Os fenômenos mais importantes que governam a condução elétrica nas soluções eletrolíticas são decorrentes do fato da molécula de água ser polarizada e possuir um forte momento de dipolo elétrico. Essa característica dá origem ao processo chamado hidratação no qual as moléculas de água formam uma bainha ao redor de cada íon eletrolítico dissolvido (GRIMNES & MARTINSEN, 2008g).

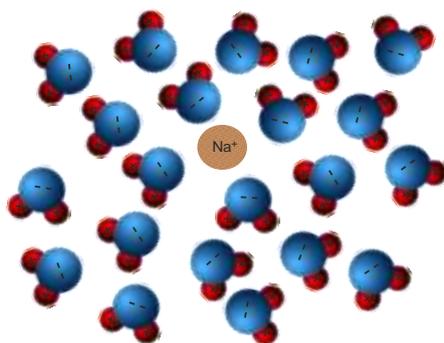


Figura 9: Íon de sódio ( $\text{Na}^+$ ) hidratado por moléculas de água formando a camada de hidratação ao seu redor.

Tanto a camada de hidratação quanto a atmosfera iônica formada pelo leve excesso de íons de carga oposta ao redor do íon eletrolítico central podem retardar a migração dos mesmos na solução, ou seja, a mobilidade iônica necessária à condução elétrica. Dessa forma, o movimento orientado de partículas carregadas em soluções eletrolíticas é motivado principalmente por duas causas distintas: gradiente de potencial elétrico (campo elétrico), que impulsiona cada partícula carregada na direção e sentido da menor energia potencial elétrica e, gradiente de concentração, que impulsiona as partículas no sentido da uniformização da densidade volumétrica em todo o espaço considerado. No primeiro caso, o movimento de cargas é conhecido por corrente de condução e no segundo caso é chamado de corrente de difusão. A corrente total circulante é a soma das correntes de condução e a corrente de difusão (GRIMNES & MARTINSEN, 2008g).

### **3.1.2. Relaxação e dispersão dielétrica de tecidos biológicos**

Uma substância é considerada um dielétrico (isolante) quando não possui cargas livres para migrar. Assim, quando essa substância é submetida a um campo elétrico, suas cargas, dipolos, se orientam (polarizam) obedecendo às linhas de força desse campo elétrico e armazenando energia. A esse fenômeno chama-se relaxação dielétrica e ao fenômeno correlato no domínio da frequência chama-se dispersão. A medida da facilidade com que esses dipolos (moléculas) podem ser polarizadas e orientadas em um campo elétrico chama-se permissividade ( $\epsilon$ ). Assim, quando um material é submetido a um degrau de campo elétrico ocorrem deslocamentos de carga, que determinam a resposta elétrica do meio. A cinética desses deslocamentos, por sua vez, depende da permissividade e da condutividade do material de acordo com a frequência (GRIMNES & MARTINSEN, 2008c).

A partir do fato de que a célula é a unidade fundamental da vida, quando se aplica um campo elétrico a um biomaterial, os íons carregados eletricamente se movem e se acumulam em ambos os lados da membrana celular. Esta estrutura se baseia em uma camada bilipídica não condutora e atua como uma interface dielétrica podendo ser comparada às placas de um capacitor e estar situada entre duas regiões condutoras formadas por proteínas e eletrólitos, ou seja, os líquidos intracelular e extracelular.

Assim, o comportamento elétrico dos tecidos revela uma dependência dos parâmetros elétricos com a frequência devido aos fenômenos de relaxação e dispersão, que ocorrem quando a corrente passa através do tecido. Quando a frequência aumenta, a condutividade da maioria dos tecidos é incrementada e esse incremento da condutividade está associado a um decréscimo da permissividade, pois as cargas (dipolos) não são rápidas suficientes para seguir as mudanças no campo elétrico. Assim, nos tecidos biológicos pode-se observar uma diminuição da permissividade, assim como um aumento da condutividade, proporcional ao aumento da frequência da corrente aplicada. Essa peculiaridade do tecido biológico faz com que o caminho percorrido pela corrente varie em função da frequência (Figura 10).

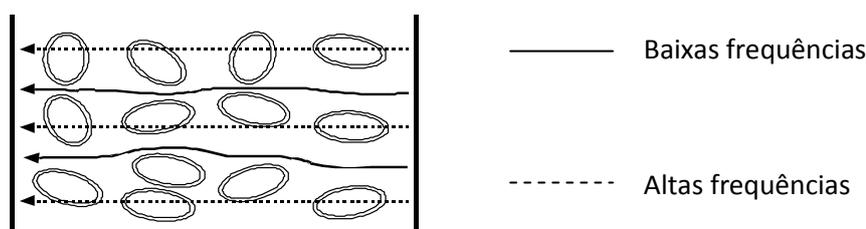


Figura 10: O caminho da corrente de acordo com a frequência do sinal. Em baixas frequências o caminho preferencial é o líquido intercelular e em altas frequências esse caminho atravessa as células dos tecidos.

O processo de relaxação ou dispersão dielétrica pode ser dividido em quatro grupos principais, dispersão  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\delta$ . Esses grupos normalmente estão associados a diferentes estruturas celulares dando origem a diferentes mecanismos de relaxação e estão situados em diferentes faixas de frequência (Quadro 2) (RIGAUD *et al.*, 1996).

Quadro 2: Distribuição dos tipos de dispersão de acordo com a frequência

Tipo	$\alpha$	$\beta$	$\delta$	$\gamma$
Faixa de frequência característica	mHz - kHz	0,1 - 100 MHz	baixos GHz	0,1 - 100 GHz

A dispersão  $\alpha$  geralmente é associada com o processo de difusão das espécies iônicas e a dispersão  $\beta$  com as propriedades dielétricas das membranas celulares e suas interações com os eletrólitos do meio intra e extracelular. As propriedades dielétricas da região  $\gamma$  são atribuídas ao conteúdo aquoso das espécies biológicas e a presença de pequenas moléculas, enquanto a região  $\delta$  está comumente relacionada às grandes moléculas que possuem grandes momentos de dipolo elétrico, como, por exemplo as proteínas (GRIMNES & MARTINSEN, 2008g).

Cada um desses tipos de dispersão em que se tem uma permissividade com dois níveis de frequência distinta e uma zona de transição ao redor da frequência característica de dispersão ( $\omega_c$ ) é comumente chamados de dispersão simples de Debye (Figura 11). Em uma dispersão simples, também chamada de Debye, é encontrado um nível de permissividade em baixas frequências (relacionada ao tempo para completar o relaxamento) e um segundo nível em altas frequências, que formarão a zona de transição ao redor da frequência de dispersão central característica ( $\omega_c$ ).

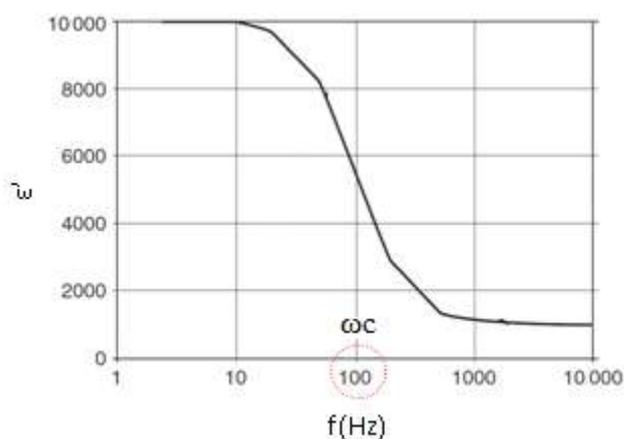


Figura 11: Dispersão simples de Debye e dispersão central característica ( $\omega_c$ ). Gráfico da permissividade  $\epsilon'$  (parte real) em função da frequência ( $f$ ).

Materiais biológicos raramente exibem uma dispersão simples de Debye e sim uma distribuição dos tempos de relaxação. Essa clara distinção entre esses grupos (dispersões simples) somente pode ser vista em experimentos com células em suspensão, pois quando essas células estão organizadas em tecidos, as regiões de dispersão são mais amplas e sobrepostas, algumas vezes como uma contínua queda, quase sem platô.

### **3.2. Modelo de circuito elétrico equivalente**

A palavra modelo tem basicamente duas interpretações: um protótipo ou um equivalente. Quando se modela um tipo de substrato biológico através de um circuito elétrico procura-se uma ligação de elementos elétricos, tais como resistores e capacitores, de modo que forme um caminho fechado para a corrente elétrica e cuja impedância represente física ou fisiologicamente a bioimpedância desse substrato.

Baseado na teoria eletrolítica e na teoria da relaxação e dispersão dos dielétricos pode-se dizer que os modelos de circuitos elétricos equivalentes a um substrato biológico normalmente são representados por elementos resistivos, relacionados à energia dissipada no sistema, e elementos capacitivos, relacionados à energia armazenada no sistema.

Os modelos elétricos basicamente podem ser mais ou menos descritivos ou explicativos. No primeiro caso os componentes elétricos tendem a mimetizar macroscopicamente ou microscopicamente as estruturas biológicas. Já no segundo caso, há uma grande preocupação com a equivalência elétrica do mesmo e muitas vezes, a interpretabilidade anatômica é perdida em detrimento da fidelidade do ajuste dos dados apurados (GRIMNES & MARTINSEN, 2008b).

Um modelo elétrico ideal deveria simular a resposta em frequência do material biológico estudado, assim como possuir uma interpretação anatômica compatível com o mesmo, considerando as propriedades elétricas dos tecidos e seus processos de polarização, relaxação e dispersão.

#### **3.2.1. Tipos de modelos elétricos**

Se os biomateriais fossem representados por um circuito contendo apenas resistores, a impedância seria independente da frequência. Porém, em um tecido biológico, com propriedades resistivas e capacitivas, a impedância complexa total ( $Z$ ) é frequência dependente e pode ser representada por um gráfico característico no plano complexo. Assim, é conveniente para a análise da impedância que essa seja representada em função da frequência. Convencionou-se que, graficamente, o componente resistivo, ou seja, a parte real da impedância  $Z$ , seja representada na abscissa, e o componente reativo, imaginário, seja representado na ordenada.

É importante lembrar que para o estudo dos substratos biológicos o uso de corrente contínua permite apenas avaliar as componentes resistivas. Já com a corrente alternada é possível obter informação das partes real e imaginárias da impedância, e com isso a melhor caracterização do material.

### 3.2.2. Circuitos R-C

Vários tipos de modelos podem ser vistos na literatura, onde os mais simples mimetizam a impedância encontrada nos tecidos por meio de circuitos R-C, ou seja, com apenas dois componentes, uma resistência (R) e uma capacitância (C) (Figura 12) cuja impedância (Z) é dada pela equação

$$Z = R - j \frac{1}{\omega C} \quad (6)$$

onde  $R$  é a resistência,  $C$  é a capacitância,  $j$  é  $\sqrt{-1}$  e  $\omega$  é a frequência angular (em rd/s), sendo esta igual a  $2\pi f$ , onde  $f$  a frequência linear em Hz.

Um modelo com apenas dois componentes normalmente é muito simples para mimetizar com precisão suficiente as inúmeras variáveis de um sistema biológico. Dessa forma, um terceiro componente comumente é adicionado. Esse componente pode ser um capacitor ou um resistor e, na caracterização dos tecidos odontológicos, a inclusão de um resistor em série (modelo em série) é a mais utilizada (Figura 13).

A equação que define a impedância (Z) desse circuito é

$$Z = R_1 + \frac{R_2}{1 + j\omega R_2 C} \quad (7)$$

onde  $R_1$  e  $R_2$  são as resistências,  $\omega$  é a frequência angular,  $C$  é a capacitância e  $j$  é  $\sqrt{-1}$ .

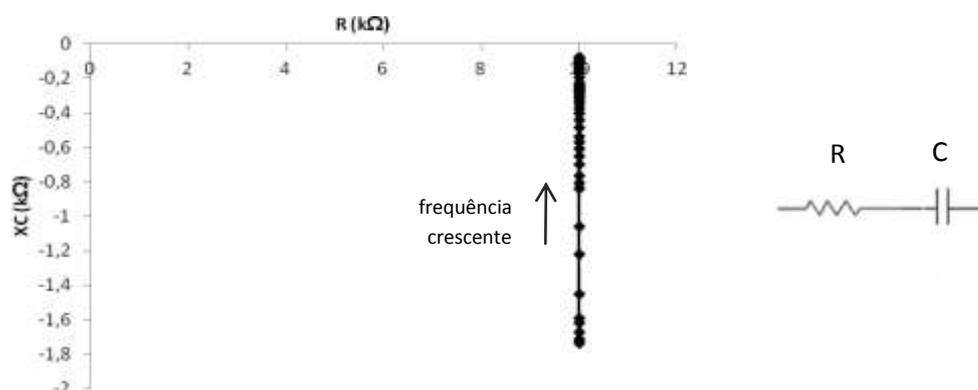


Figura 12: Gráfico representativo da impedância para circuitos R-C com apenas dois componentes (lado esquerdo) e modelo de circuito elétrico (lado direito).

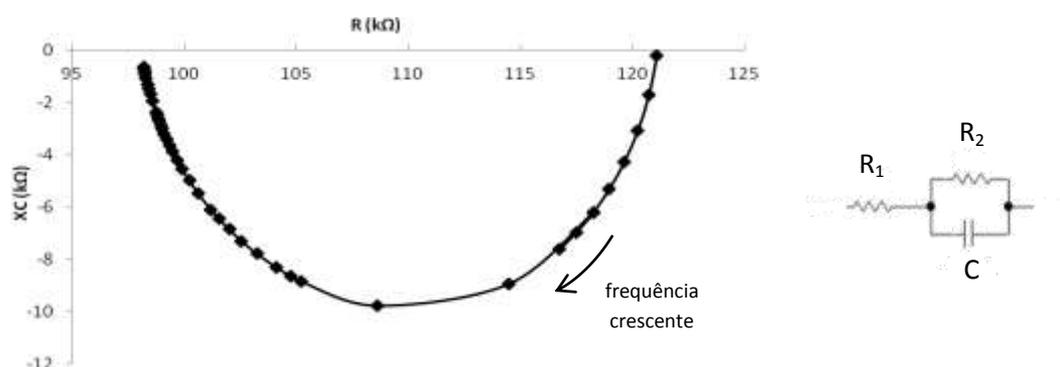


Figura 13: Gráfico representativo da impedância para R-C com apenas três componentes, duas resistências,  $R_1$  e  $R_2$  e uma capacitância  $C$  (lado esquerdo) e modelo de circuito elétrico (lado direito).

### 3.2.3. Elemento de fase constante (CPE)

Os modelos tradicionais de circuito equivalente de dois ou três componentes são obviamente muito simples para mimetizar completamente a impedância dos biomateriais em todas as frequências. Dessa forma componentes elétricos, não reais, foram

idealizados para se obter um melhor ajuste dos dados que foram encontrados em algumas situações reais. O principal desses elementos é o CPE (do inglês *Constant Phase Element*).

Segundo GRIMNES & MARTINSEN (2008b), do ponto de vista elétrico, o CPE pode ser visto como a associação série de um elemento resistivo e um elemento capacitivo, sendo ambos frequência dependentes, cuja impedância consegue melhor representar o fenômeno de dispersão. Porém, diversos autores (BRUG *et al.*, 1984; ZOLTOWSKI, 1998; WHITE *et al.*, 1999) propuseram diferentes equações para definir o CPE. Esse fato corrobora com a afirmativa que o significado físico deste elemento ainda não é claro. Diferentes suposições foram propostas para explicar a origem desse fenômeno, sendo que a maioria está ligada a fenômenos no eletrodo e heterogeneidade dos materiais (JORCIN *et al.*, 2006).

SCHEIDER (1975) propôs um circuito elétrico R-C ramificado representativo do CPE que pode ser visto na Figura 14. Segundo o autor, o grau de ramificação desse circuito é ilimitado.

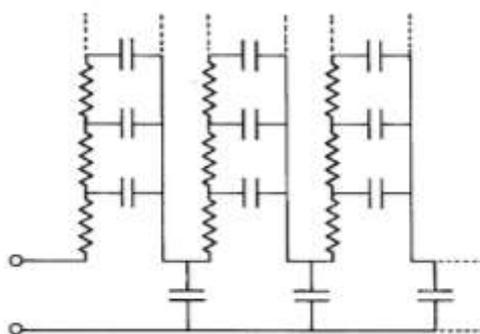


Figura 14: Circuito elétrico representativo do CPE segundo SCHEIDER (1975) (com permissão).

A impedância total ( $Z_t$ ) do circuito da Figura 14 é representada teoricamente por uma fração ilimitada tal como

$$Z_t = \frac{1}{y + \frac{1}{z + \frac{1}{y + \dots}}} \quad (8)$$

onde  $z$  é a impedância por unidade de comprimento horizontal e  $y$  é a admitância paralela por unidade de comprimento.

Nesta tese será utilizado o elemento de fase constante definido por Fricke (GRIMNES & MARTINSEN, 2008b) que doravante será chamado simplesmente de CPE. A impedância desse elemento fictício ( $Z_{CPE}$ ) foi definido matematicamente por (MAGIN, 2004b) de acordo com a equação

$$Z_{CPE} = \frac{1}{(j\omega)^\alpha (C)^\alpha} \quad (9)$$

onde  $\omega$  é a frequência angular,  $C$  é a capacitância,  $j$  é a  $\sqrt{-1}$  e  $\alpha$  é um parâmetro para os dados de biimpedância ( $0 < \alpha < 1$ ).

A particularidade do modelo proposto por Fricke está no fato que há uma interdependência entre a parte real e a parte imaginária fazendo uma correlação entre o expoente da frequência ( $\alpha$ ) e o ângulo de fase constante ( $\varphi_{CPE}$ ) da forma:  $\varphi_{CPE} = \alpha\pi/2$ .

### 3.2.4. Modelo de circuitos RC com três elementos incluindo o CPE

Diferentes tipos de modelos de circuitos equivalentes que incluem o CPE podem ser construídos e um dos mais utilizados na literatura odontológica é um modelo de circuito elétrico de três elementos em série como visto na Figura 15.

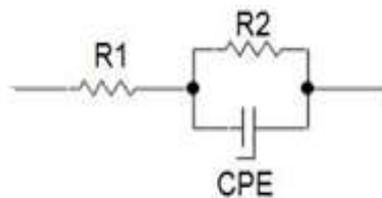


Figura 15: Modelo de circuito elétrico em série de três elementos com CPE substituindo a tradicional capacitância.

O modelo elétrico da Figura 15 resulta em um gráfico de impedância representado por um semicírculo deprimido no diagrama de Nyquist. O valor da constante  $\alpha$  nesses modelos está relacionado com o grau de depressão do semicírculo observado no gráfico de impedância. Quanto menor o valor de  $\alpha$  maior a depressão do semicírculo no eixo x como pode ser visto nos gráficos da Figura 16 e maior o efeito de dispersão dielétrica (GRIMNES & MARTINSEN, 2008b).

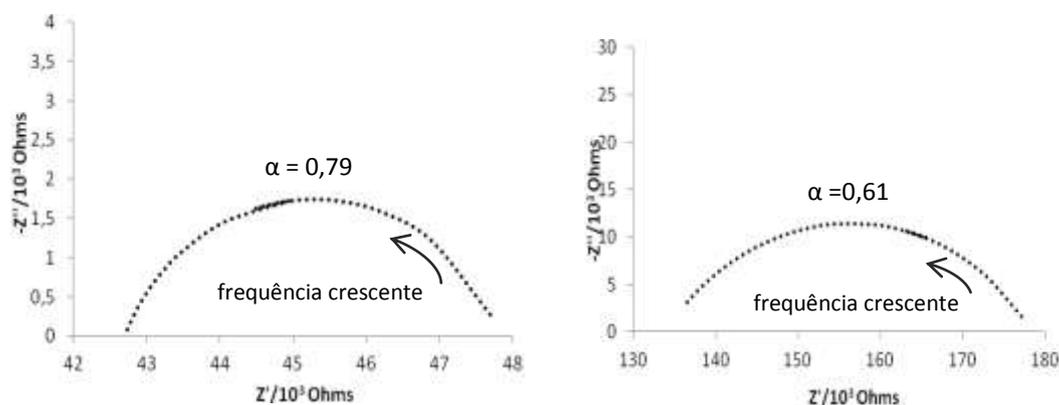


Figura 16: Gráficos representativos da impedância para circuitos resistivos com CPE (canto superior direito) com diferentes valores de  $\alpha$ .

## 4. Bioimpedância na odontologia

A técnica de bioimpedância tem sido utilizada de várias maneiras na área odontológica. Em endodôntia a técnica foi utilizada para se estabelecer um método seguro e não invasivo para a obtenção do comprimento e o estado de sujidade do canal radicular, pois estes são parâmetros importantes no tratamento dessa porção dentária quando a cárie atinge a polpa (VERDONSCHOT *et al.*, 1995; JACQUOT *et al.*, 1996; MEREDITH & GULABIVALA, 1997; PETERSSON & KAMBARA, 2004). Na dentística restauradora e na área de prevenção, a bioimpedância foi utilizada para a detecção de descontinuidades (defeitos) marginais em restaurações, assim como tem sido usada na pesquisa da eficácia do aumento da resistência do esmalte ou cimento dental humano proporcionada pela utilização de dentifrícios (VERDONSCHOT *et al.*, 1995; WOLINSKY *et al.*, 1999; PETERSSON & KAMBARA, 2004). Na área da periodontia a avaliação do grau de hidratação dos tecidos de sustentação dental foi avaliada através da passagem da corrente elétrica (MOSKOVETS *et al.*, 2007).

A ideia de se usar a bioimpedância no diagnóstico da cárie foi precedida de diversas pesquisas sobre as características elétricas do dente. O primeiro estudo sobre a condutividade elétrica dos tecidos dentais, devidamente documentado na literatura científica, remonta ao ano de 1905 quando SCHRODER relatou que o esmalte era vinte vezes mais resistente que a dentina (LEICESTER, 1949). Nas décadas seguintes, diversos autores se propuseram estudar o dente sob a perspectiva da impedância elétrica, e estudos foram sumarizados por LEICESTER (1949) em seu livro *Biochemistry of the teeth*, apontando para valores de resistência do esmalte e dentina extremamente variados.

A maioria dos trabalhos dedicados ao estudo das propriedades elétricas do dente procurou explicar essas características a partir das principais partes constituintes do elemento dental, ou seja, o esmalte e a dentina. As medidas de bioimpedância dental foram expressas historicamente como resistências e a parte imaginária foi desprezada por grande parte dos trabalhos por ser considerada pequena e com pouca relevância, em especial no diagnóstico da cárie. Os primeiros valores de resistência elétrica relacionados ao dente estão entre 17 a 36k $\Omega$  para o esmalte e entre 1,2 a 2,1k $\Omega$  para a

dentina (LEICESTER, 1949). Mais tarde BRADEN (1976) trabalhou com fatias de tecido dental e apontou valores de resistividades de 7 a 60 k $\Omega$ cm para a dentina e 2,6 a 6,9 M $\Omega$ cm para o esmalte.

O principal constituinte do dente, e em especial do esmalte dental, é a hidroxiapatita assim, as características elétricas do dente podem ser em grande parte atribuídas à alta resistividade desse material (33 T $\Omega$ .cm) e uma capacitância específica de 5pF/cm<sup>2</sup> (OEHLER & KATZ, 1971) e o esmalte dental por ser um tecido muito mineralizado, é esperado ser um tecido mau condutor elétrico.

É fato porém que esse tecido é poroso e possui uma permeabilidade seletiva que é afetada pelo tamanho dos seus poros (KLEIN & AMBERSON, 1929). Dessa maneira pode-se dizer que a condutividade elétrica está relacionada com a permeabilidade química pois as vias de difusão de íons através do esmalte são as principais vias de condução da corrente elétrica (NOMURA *et al.*, 1971; SCHOLBERG *et al.*, 1984b).

O comportamento elétrico dos dentes, como de todo material orgânico, é altamente dependente do grau de hidratação. Grandes diferenças entre a resistividade do tecido dental úmido e seco foram encontradas por GODT and VON BREDOW (1967). Se completamente desidratado, a resistividade de ambos os tecidos mostrou-se na região de 30G $\Omega$ cm. Os valores de resistividade seca indicam que o tecido dental é um bom isolante e confirmam que a condução ocorre no líquido no interior do esmalte e dentina. Assim, a condutividade elétrica está correlacionada diretamente à presença de íons na solução que permeia o dente (NOMURA *et al.*, 1971).

LEVINKIND, VANDERNOOT *et al.* (1992) mostraram que a presença de lama dentinária (partículas de detritos e material orgânico proveniente de corte do tecido) impregnada nos túbulos da dentina pode aumentar o valor de resistividade desse tecido já que dificulta a passagem da corrente elétrica e aumenta a concentração da solução eletrolítica.

#### **4.1. Bioimpedância no diagnóstico da cárie**

A teoria do uso da bioimpedância no diagnóstico da cárie está baseada no fato que a condução elétrica pelo material do dente é essencialmente o resultado da migração iônica pela solução eletrolítica contida nos poros da dentina e esmalte (HUYSMANS *et*

*al.*, 2000). A resistividade desses tecidos, primeiramente esmalte (mais externo) e depois a dentina (mais internamente) é reduzida após desmineralizações, uma vez que há o aumento do tamanho dos poros que são preenchidos por mais fluidos condutores. No caso do esmalte dentário em seu ambiente natural, a boca, esse fluido é essencialmente a saliva. Com a evolução do processo cariioso, quando a cárie não é paralisada e uma vez que o esmalte é perdido localmente formando uma cavidade, a resistência do dente é determinada basicamente pela dentina, material mais orgânico, que contém inúmeros túbulos preenchidos por fluidos fisiológicos, e assim tem uma menor resistividade (HUYSMANS *et al.*, 1996).

LOS *et al.*(2006) compararam o esmalte dental a um polímero isolante com uma matriz mineral, de baixa condutividade que possui poros preenchidos por líquido fisiológico (solução eletrolítica). Esses poros, em um esmalte hígido, possuem uma estrutura regular com algumas pontes de ligação assim, quando a concentração da carga condutora é pequena, a condutividade é essencialmente aquela do meio dielétrico. Já o esmalte cariado mostra um aumento dessa porosidade e também um incremento considerável das pontes interporos, gerando um aumento do volume da solução eletrolítica e um grande número de aglomerados (*clusters*) se formam atingindo um limite de concentração onde a condutividade aumenta rapidamente (limiar de percolação). Esse fato poderia explicar a variação dos valores de impedância entre dentes hígidos e cariados o que possibilita a detecção de lesões cariosas.

A bioimpedância como método de diagnóstico da cárie dental foi estudada primeiramente por PINCUS (1951). Esse autor realizou um estudo *in vivo* da cárie oclusal e concluiu que o esmalte íntegro é um bom isolante elétrico pelo seu alto teor inorgânico e que quando há uma fissura ou rachadura com um aumento do material orgânico (cárie) há um aumento da condutividade.

Ainda na década de 1950, MUMFORD (1956) realizou estudos *in vitro* e *in vivo* procurando definir os parâmetros de resistência elétrica para os dentes humanos hígidos e cariados. Houve uma correlação positiva entre a diminuição da resistência e a presença de cáries em diferentes profundidades e a presença de áreas do esmalte com fissuras profundas. Fissuras hígidas tiveram resistências na faixa de 2.900k $\Omega$  (*in vitro*) a 2.000k $\Omega$  (*in vivo*), e cáries incipientes de fissuras obtiveram valores de 270k $\Omega$  (*in*

*vitro*) e  $310\text{k}\Omega$  (*in vivo*). Os resultados para homens e mulheres foram semelhantes, assim como para dentes homólogos superiores e inferiores (MUMFORD, 1956).

Os primeiros trabalhos sobre bioimpedância dental não utilizaram equipamentos específicos para o diagnóstico da cárie, sendo que os trabalhos de PINCUS (1951), MUMFORD (1956; 1962) e NOMURA, SAKADA (1971) se caracterizaram por utilizar a corrente contínua nas suas medições. Tais medidas, reconhecidamente, apresentam efeitos de polarização nos eletrodos e podem elevar os valores das medidas de resistência. Assim, a partir desse momento os estudos abandonaram a corrente contínua e as medidas foram realizadas utilizando corrente alternada a fim de superar esses efeitos indesejáveis. O emprego de corrente alternada, além de evitar os efeitos de polarização, traz reconhecidamente vantagens às medidas elétricas de materiais biológicos, pois, com a variação de frequência é possível destacar diferentes processos físicos ou propriedades de um sistema (HOPPENBROUWERS *et al.*, 1986; GRIMNES & MARTINSEN, 2008f)

O trabalho de MAYUZUMI *et al.*(1964) concluiu que as medidas de condutividade elétrica foram superiores ao exame clínico convencional e sugeriram que regiões com resistência menor que  $250\text{k}\Omega$  já possuem cáries ou são regiões mais suscetíveis ao desenvolvimento da mesma. Já valores maiores que  $600\text{k}\Omega$  determinam regiões de higiene. ATKINSON e PARKER (1969) em estudo *in vivo* e *in vitro* propuseram pela primeira vez um modelo elétrico para o dente e acharam valores em torno de  $66\text{k}\Omega$  de resistência e  $11\text{pF}$  de capacitância para dentes não cariados.

OUTHWAITE (1975) propôs um modelo específico de eletrodo para a área de bioimpedância dental. Este eletrodo era semirrígido feito a partir de um fio de ouro (1 mm de diâmetro) dentro de um tubo plástico contendo um gel de contato (Figura 17). O desenho experimental procurava o íntimo contato com as irregularidades da superfície dentária assim como o controle da quantidade de gel aplicado.

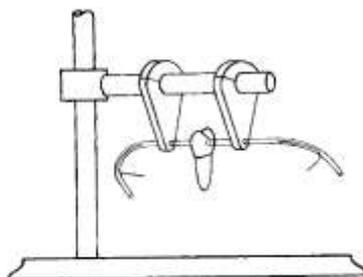


Figura 17: Eletrodo proposto por OUTHWAITE (1975) (com permissão).

WILLIAMS *et al.* (1978) descreveram um dos primeiros dispositivos específicos para a detecção de cáries e utilizavam 6V de tensão para correlacionar medidas de resistência elétrica com o exame tátil das superfícies oclusais. O eletrodo de exploração foi similar a uma sonda exploradora tradicional e não foi utilizado nenhum meio de contato com o dente. Esses autores mostraram a capacidade de medição elétrica para a detecção precoce da cárie através da análise estatística dos valores de resistência elétrica entre os dentes hígidos e cariados.

WHITE *et al.* (1978) usaram um protótipo fabricado pela empresa ABCOR (Figura 18) para um estudo *in vivo*. Foi aplicando um sinal de 5 V em uma frequência de 180Hz e novamente uma sonda exploradora odontológica adaptada foi utilizada como eletrodo de exploração da superfície do dente e o eletrodo de referência ficava na mão do paciente. Não houve utilização de meio de contato na interface eletrodo/dente. Esses autores demonstraram através de um estudo clínico com validação histológica, a superioridade do diagnóstico utilizando bioimpedância sobre o exame clínico tradicional.



Figura 18: Protótipo fabricado pela empresa ABCOR. Retirado de WHITE *et al.* (1978)  
(com permissão).

Os primeiros equipamentos comerciais foram desenvolvidos e comercializados na década de 1980 (Caries Meter<sup>®</sup> e o Vanguard Electronic Caries Detector<sup>®</sup>). O Caries Meter<sup>®</sup> (Figura 19) utilizava um sinal senoidal e em duas diferentes versões, uma que opera na frequência de 384Hz e outra utilizando 407Hz. Seu eletrodo de referência era colocado na boca em contato com a saliva apoiado sobre o lábio do paciente e o eletrodo de medição também possuía uma ponta semelhante a uma sonda odontológica (ponta agulhada). Era utilizada uma solução salina como meio de contato e a dificuldade de controlar o espalhamento dessa solução era um dos pontos fracos desse sistema (NAKATA & HAMANO, 1982; SAWADA, 1986; RICKETTS *et al.*, 1996).

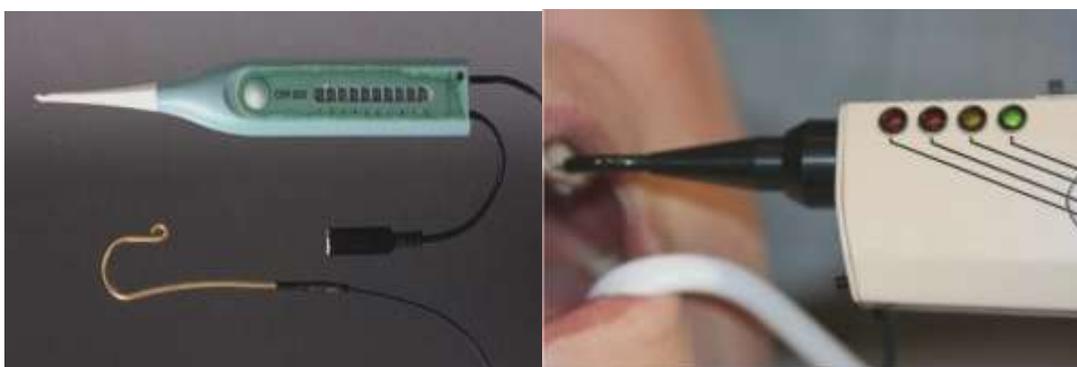


Figura 19: As duas diferentes versões do Caries Meter<sup>®</sup> Retirado de KLINKE *et al.*  
(2002)

Outro dispositivo, conhecido como Vanguard Electronic Caries Detector<sup>®</sup> desenvolvido a partir do trabalho de WHITE *et al.* (1978), empregava um sinal de onda quadrada com frequência de 25Hz. O eletrodo de exploração possuía uma alimentação coaxial de ar para secar o esmalte no qual se fazia a medição. VERDONSCHOT *et al.* (1992), em um trabalho de comparação com outros métodos de diagnóstico (exame clínico, fibra ótica e radiografias), afirmaram que a medição da resistência elétrica era o único método com um desempenho aceitável. A incorporação de um suprimento de ar coaxial nesse aparelho foi importante para determinar um padrão de medição “a seco” que foi posteriormente utilizado pelo *Electronic Caries Monitor* (ECM<sup>®</sup>) (RICKETTS *et al.*, 1996).

Alguns outros protótipos semelhantes surgiram na literatura como nos anos subsequentes, por exemplo, o UDK-87. Porém, não trouxeram contribuições relevantes ao problema da detecção da cárie e não obtiveram sucesso a ponto de serem comercializados (NIKOLISHIN *et al.*, 1990).

O ECM<sup>®</sup> (Figura 20) é o aparelho comercial com mais pesquisas relatadas. Esse equipamento se baseava na mensuração da impedância elétrica do dente através de uma onda senoidal de baixa frequência (21,3 Hz) e uma baixa corrente (<0,3  $\mu$ A), sendo capaz de realizar medidas entre 1 k $\Omega$  a 10G $\Omega$ , com uma acurácia de 1%. Foi desenvolvido primariamente para o diagnóstico de cáries oclusais e os valores de resistência (parte real da impedância) eram usados para expressar a severidade do “defeito do dente”, ou seja, cáries (LONGBOTTOM & HUYSMANS, 2004).

Para a realização das medições era utilizado um eletrodo de referência que ficava na mão do paciente e um de medição, assemelhado a uma sonda odontológica (RICKETTS *et al.*, 1996). O equipamento possuía junto à ponta ativa um fluxo de ar constante sob o qual era feito o diagnóstico. Ou seja, o profissional era capaz de fazer aferições pontuais em sítios específicos da superfície oclusal que permanecia seca e, segundo o fabricante, não havia recomendação do uso de qualquer meio que facilite o contato entre eletrodo e dente. Tanto o ECM<sup>®</sup> como o *Vanguard Electronic Caries Detector*<sup>®</sup> usaram um fluxo de ar para quebrar o filme de saliva superficial e não permitir a condução pela gengiva marginal ou outras áreas do sistema de fissuras (MOSAHEBI & RICKETTS, 2002).



Figura 20: *Electronic Caries Monitor* (ECM<sup>®</sup>). Retirado de KLINKE *et al.*(2002)(com permissão).

Vários autores propuseram trabalhos comparando o ECM<sup>®</sup> com outros métodos diagnósticos da cárie (Tabela 1) e esse equipamento obteve sempre bons resultados, tanto para cáries em esmalte como em dentina, existindo uma forte correlação entre as mensurações do ECM<sup>®</sup> e a profundidade da lesão e sua atividade. (IE *et al.*, 1995; RICKETTS *et al.*, 1996; RICKETTS *et al.*, 1997a; RICKETTS *et al.*, 1997c; EKSTRAND *et al.*, 1998). Apesar desse sucesso, o equipamento obtinha baixos valores preditivos positivos, ou seja, quando se utilizava o ECM<sup>®</sup> como método diagnóstico e base para a intervenção operativa, significava arriscar a execução de tratamentos desnecessários.

Usando o ECM-II *in vitro* em 76 sítios sem sinal visível de cavitação com prevalência de cárie em esmalte de 33% e cárie em esmalte de 32% RICKETTS *et al.* (RICKETTS *et al.*, 1997a) obtiveram valores de sensibilidade de 92% e especificidade de 87%.

Usando o ECM-II com uma amostra *in vitro* de 48 pré-molares e 48 molares com uma prevalência de cárie de 87% para molares e 69% para pré-molares, RICKETTS *et al.* (1997c) usaram uma variação protocolar do aparelho (gel Ky<sup>®</sup> em toda a fissura avaliada) e conseguiram melhores resultados para dentes molares. Para lesões clínicas em esmalte não cavitadas, esses autores obtiveram 61% de sensibilidade, 86% de especificidade e um limite de corte de 0,448M $\Omega$  entre dentes hígidos e cariados. Para lesões clínicas em dentina (cavitadas e não cavitadas) obtiveram 76% para sensibilidade e especificidade para toda a amostra.

Além do simples diagnóstico de lesões de cárie o ECM<sup>®</sup> foi também usado para monitorar a progressão das lesões (ROCK & KIDD, 1988) e diagnosticar sítios de maior risco de desenvolver lesões de cárie (WHITE *et al.*, 1981).

Os vários equipamentos de detecção de lesões de cárie produzidos comercialmente até então (ECM<sup>®</sup>, *Caries Meter*<sup>®</sup>, *Vanguard Electronic Caries Detector*<sup>®</sup>) utilizavam corrente alternada, baixa tensão e uma frequência fixa. Embora esse protocolo possa fornecer uma aproximação de um parâmetro que está relacionada com a permeabilidade do esmalte (resistência a 0 Hz), o uso de uma frequência fixa fornece um valor simples para cada mensuração de cárie. Isso não permite determinar uma variedade de informação sobre as características físicas do dente (SCHOLBERG *et al.*, 1982; SCHOLBERG *et al.*, 1984a). Segundo KUHNISCH, HEINRICH-WELTZIEN *et al.* (2006) o uso de uma única frequência pode resultar em erros devido a efeitos de polarização (superestimação da resistência) em baixas frequências e a subestimação da resistência com as altas frequências, gerando erros inerentes a esse sistema e artificializando os resultados e não fornecendo informações suficientes sobre os diferentes graus da lesão cariiosa. As medidas utilizando uma frequência fixa, apesar de úteis, são muito limitadas e para se observar o comportamento elétrico de um sistema (GRIMNES & MARTINSEN, 2008f).

Tabela 1: Pesquisas *in vitro* comparando o ECM<sup>®</sup> com outros métodos diagnósticos da cárie

AUTOR	VALIDAÇÃO	EXAME	SENSIBILIDADE (%)		ESPECIFICIDADE (%)	
Lussi <i>et al.</i> , 1995	histológica		ESMALTE		ESMALTE	
		ECM <sup>®</sup>	<b>93</b>		<b>77</b>	
		RX	62		77	
Ricketts <i>et al.</i> , 1996	microradiog.	ECM <sup>®</sup>	<b>92</b>		<b>100</b>	
Ashley <i>et al.</i> , 1998	histológica		ESMALTE	DENTINA	ESMALTE	DENTINA
		ECM <sup>®</sup>	<b>65</b>	<b>78</b>	<b>73</b>	<b>80</b>
		Visual	60	24	73	97
		FOTI	21	14	88	95
		RX	19	24	80	89
		RX digital	24	19	80	89
Lussi <i>et al.</i> , 1999	histológica		ESMALTE	DENTINA	ESMALTE	DENTINA
		ECM <sup>®</sup>	<b>87</b>	<b>92</b>	<b>64</b>	<b>0,78</b>
		DIAGNODENT <sup>®</sup>	83-87	76-84	72-78	79-87
Bamzahim <i>et al.</i> , 2002	histológica	ECM <sup>®</sup>	<b>75</b>		<b>88</b>	
		DIAGNODENT <sup>®</sup>	80		100	
Ellwood <i>et al.</i> , 2004	histológica	ECM <sup>®</sup>	<b>80</b>	<b>79</b>	<b>90</b>	<b>91</b>
Kuhnisch <i>et al.</i> , 2006	histológica	ECM <sup>®</sup>	-	<b>57</b>	-	<b>85</b>

#### 4.1.1. Fatores que influenciam nas medições de bioimpedância

O fato de o processo cariioso aumentar a porosidade do esmalte e posteriormente da dentina resultando essencialmente na redução na resistência elétrica, é a base do processo de diagnóstico da cárie pela bioimpedância. No entanto, outros fatores afetam a porosidade do esmalte, como, por exemplo, certas doenças hereditárias e de desenvolvimento como a fluorose, amelogenese ou dentinogenese imperfeita e outras hipoplasias. Apesar de a bioimpedância poder ser utilizada como método diagnóstico de tais condições, a sua coexistência com a lesão cariiosa pode se tornar um fator de confusão no diagnóstico da cárie (NIKOLISHIN *et al.*, 1990).

Também a maturação pós-eruptiva do esmalte pode influenciar por estabelecer um padrão diferenciado de porosidade na região externa do esmalte (SCHULTE *et al.*, 1999). A camada superficial do esmalte se torna mais resistente após erupção do dente na cavidade oral, graças ao contato com a saliva (fluoretos) combinado aos diários desafios cariogênicos (ácido). Dessa maneira as camadas sucessivas de esmalte apresentam resistividade crescente a partir da junção amelodentinária até a superfície e a camada mais superficial (100 a 200 $\mu$ m) é mais resistiva em dentes erupcionados comparados com os não erupcionados (HOPPENBROUWERS *et al.*, 1986).

Além da porosidade, outros fatores podem ser determinantes na variação nos valores de bioimpedância do dente. LEICESTER (1949) já ressaltava que a quantidade de umidade, mineralização, sais solúveis e as diferenças estruturais e anatômicas de cada dente, por si só, podem ocasionar uma grande variabilidade.

MATSUMOTO (1981) discutiu os fatores que reduzem a eficácia clínica da detecção de cárie através da bioimpedância e citou a geometria do eletrodo, o meio de contato, a área de contato do eletrodo e a contaminação da solução de condução por detritos na superfície do dente como fatores relevantes. LONGBOTTOM & HUYSMANS (2004) abordaram de uma maneira sistemática os fatores que podem afetar as medições elétricas e definiram que além da porosidade do tecido, a área de superfície de contato do eletrodo, a espessura do tecido, o grau de hidratação do tecido, a temperatura e a concentração dos íons no fluido no tecido dental devem ser considerados.

Em relação ao eletrodo de medição, diferentes materiais e geometrias já foram usados para o diagnóstico da cárie em sulcos e fissuras. O desenho mais utilizado

(ECM<sup>®</sup> e CariesMeter<sup>®</sup>) foi uma ponta de metal agulhada semelhante ao instrumento tradicional de diagnóstico odontológico (sonda exploradora) com uma ponta ativa de 460µm de diâmetro (RICKETTS *et al.*, 1996). O CarieScan<sup>®</sup> utiliza um eletrodo metálico de uso único e descartável com um diâmetro de 1mm (GUIMERA *et al.*, 2008). É sabido que o tamanho da ponta ativa do eletrodo que entra em contato com dente é inversamente proporcional a sua resistência. CHANG & SU (2008), criaram um eletrodo fluídico auto-adaptável (Figura 21) que dispensa o uso de um meio de contato extra sobre o dente já que este, por si só, pode ser um fator de influência na medição.

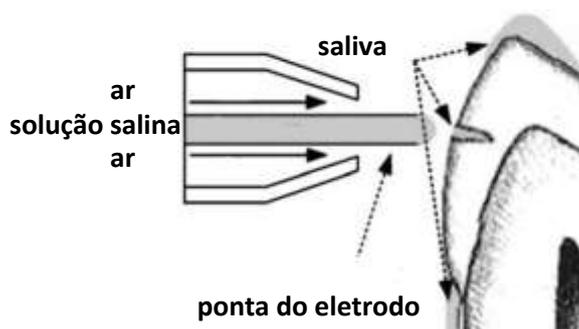


Figura 21: Eletrodo fluídico auto-adaptável (CHANG & SU, 2008) (com permissão).

Apesar da recomendação do fabricante da medição a seco, diferentes meios de contato (soro fisiológico, dentifrício e Ky<sup>®</sup> gel lubrificante) foram utilizados na literatura para melhorar o contato esmalte/eletrodo (SAWADA, 1986; ASHLEY *et al.*, 1998; MOSAHEBI & RICKETTS, 2002). Um estudo de HUYSMANS, VERDONSCHOT *et al.* (1995) trabalhou com uma variação da área coberta pelo meio de contato entre 4 e 20mm<sup>2</sup> e concluiu que existe uma relação direta e linear entre essa área de cobertura e a condução elétrica. Um diferente protocolo (medição superfície específica) utilizou a colocação do meio de contato (KY<sup>®</sup>) em toda a superfície oclusal visando fornecer leituras de toda superfície de uma só vez (RICKETTS *et al.*, 1997c). Nessa modalidade de medição espera-se que a corrente procure o caminho de menor resistência, a cárie. Os autores alertam para o fato de que os valores de resistência padronizados são alterados e dentes com diferentes superfícies oclusais (pré-molares e molares) terão valores diferentes (RICKETTS *et al.*, 1997c; HUYSMANS *et al.*, 1998).

Assim como a quantidade e distribuição do meio de contato, a presença de saliva pode também causar o “espalhamento” da corrente e a preocupação com a secagem dente prévia à medição está presente em diversos trabalhos para diferentes equipamentos (RICKETTS *et al.*, 1997b; LONGBOTTOM & HUYSMANS, 2004).

O fato da espessura do esmalte influenciar na impedância elétrica é esperado. Como a resistência de um corpo ou objeto aumenta em função do comprimento do caminho de condução. Assim, quanto maior a espessura que deve ser atravessada pela corrente maior a resistência elétrica (GRIMNES & MARTINSEN, 2008g). Deste modo, valores de impedância diferenciados são esperados para superfícies lisas com grande espessura de esmalte/dentina quando comparados a sulcos e fissuras em cuja espessura de tecido é muito diminuída (HOPPENBROUWERS *et al.*, 1986; LOS *et al.*, 2007).

A impedância bioelétrica reflete não apenas a resistência tecido, mas também outros fatores que impedem o fluxo da corrente, uma vez que soluções eletrolíticas têm resistividade dependente da concentração e da temperatura. Desse modo, o grau de hidratação do tecido, no caso o dente, está ligado diretamente à concentração da solução que o embebe o que torna as medições sensíveis às mudanças de temperatura. (LEVINKIND *et al.*, 1992; SCHULTE *et al.*, 1998). Em condições fisiológicas, o aumento da concentração iônica em uma solução aquosa, tende a aumentar a condutividade pois a condutividade específica dos eletrólitos está diretamente ligada ao número de cargas (íons) em solução. Somente em altas concentrações pode-se perceber uma diminuição da condutividade, pois a interação entre os íons diminui sua mobilidade (GRIMNES & MARTINSEN, 2008d).

A forte influência que a temperatura possui nas medidas de bioimpedância está relacionada à mobilidade dos íons e, por conseguinte à variação da viscosidade da solução eletrolítica ou da concentração dos íons no fluido no tecido dental, pois quanto mais rapidamente um íon se move, mais rápida é a passagem de carga (GRIMNES & MARTINSEN, 2008d). HUYSMANS *et al.* (2000), assim como GODT & VON BREDOW (1967), demonstraram que a resistência de esmalte e dentina bovina são reduzidas com o aumento da temperatura.

#### **4.1.2. Modelos elétricos do dente e de seus constituintes**

O comportamento elétrico de qualquer elemento biológico pode ser descrito em termos de uma combinação de componentes elétricos conhecida como um circuito equivalente (modelo elétrico). As pesquisas sobre o uso da bioimpedância para o diagnóstico de cárie propuseram diferentes modelos elétricos para o dente, procurando uma fidedignidade de ajuste dos dados experimentais ou também uma interpretação anatômica compatível com a estrutura do dente.

Por ser o elemento dental um elemento anatômico complexo constituído de tecidos relativamente simples (esmalte e dentina), a literatura apresenta muitos trabalhos com fragmentos (fatias) do dente em que somente um desses tecidos é estudado. O processo cariioso, porém, torna o conjunto formado por eles especialmente complexo.

Quanto à modelagem do sistema, apesar de uma abordagem intuitiva ser usualmente utilizada, fatores como a natureza física das amostras, as suas propriedades elétricas e o arranjo espacial dos equipamentos utilizados para fazer as medições devem ser levados em consideração. O circuito utilizado como modelo deve conter o mínimo de componentes possível e estes devem ser representativos e distinguíveis uns dos outros com base no comportamento de suas impedâncias (LEVINKIND *et al.*, 1990).

Um dos primeiros modelos elétricos para o dente foi proposto por ATKINSON & PARKER (1969) e utilizava uma combinação de circuitos R-C para representar tanto o dente como as estruturas de suporte (gingiva, osso alveolar, etc.) (Figura 22). Foram realizados estudos *in vivo* e *in vitro* procurando determinar a impedância do dente como um todo, do esmalte e da dentina. Foi utilizado um eletrodo de ponte salina construído a partir de um conta-gotas equipado com um fio de prata para medir os biopotenciais e valores de bioimpedância.

Modelos que utilizam combinações de resistores e capacitores em diferentes arranjos têm sido largamente utilizados na literatura para descrever sistemas biológicos e modelos com um circuito R-C em paralelo, associado em série a um resistor, estão entre os mais empregados para o estudo de sistemas predominantemente dielétricos como o dente.

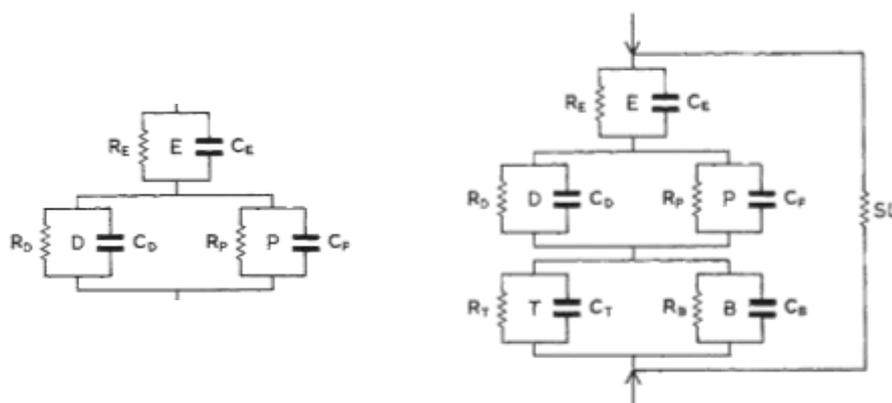


Figura 22: Modelo elétrico proposto por ATKINSON & PARKER (1969) para o dente isoladamente, à esquerda, e com as estruturas de suporte à direita. E, esmalte; D,

dentina; P, polpa; T, tecido mole; B, osso e SL, possível superfície de perda. Resistência e capacitância com notações usuais (com permissão).

KUMASAKI (1975a), propôs um circuito equivalente para a dentina. Nesse arquétipo de modelo a anatomia é desconsiderada e o dente foi considerado como uma “caixa preta”, tendo relevância apenas a fidelidade elétrica do modelo.

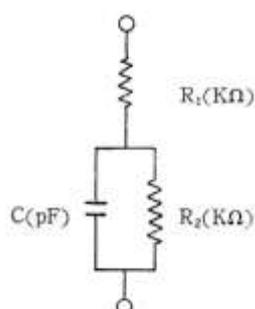


Figura 23: Modelo proposto por KUMASAKI (1975b) para o dente (com permissão).

SCHOLBERG, BORGGREVEN *et al.* (1984a) trabalharam com esmalte bovino *in vitro* na faixa de frequência de 1Hz a 1MHz propondo como circuito equivalente uma rede de resistores em paralelo com capacitores, o que poderia simular a permeabilidade do esmalte.

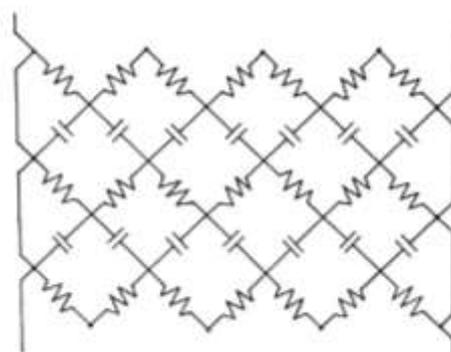


Figura 24: Modelo de circuito equivalente de esmalte de dentes bovinos não erupcionados proposto por SCHOLBERG, BORGGREVEN *et al.* (1984a) (com permissão).

AOKI (1985) trabalhou com dentes hígidos utilizando corrente alternada senoidal explorando a faixa de frequências entre 7,14Hz e 3,22kHz e propôs um circuito equivalente que consistia de um resistor em série com uma combinação de um capacitor

e um resistor em paralelo capaz de mimetizar os dados experimentais, porém esse autor não se preocupou com a interpretabilidade dos elementos constituintes desse circuito.



Figura 25: Circuito equivalente para a dentina proposto por AOKI (1985).

LEVINKIND *et al.*, (1990) trabalhando com frequências que variavam entre 1Hz e 65 kHz e uma tensão senoidal de 50mV (rms) aplicada ao esmalte humano e bovino e propuseram o estudo da parte complexa da bioimpedância dental para um maior detalhamento e melhor correlação entre os aspectos sutis da bioimpedância e a estrutura dental. Pela primeira vez um modelo elétrico com um CPE foi utilizado com uma interpretação anatômica simplificada do dente com foco nas estruturas que poderiam ter uma maior contribuição nas propriedades elétricas do esmalte.

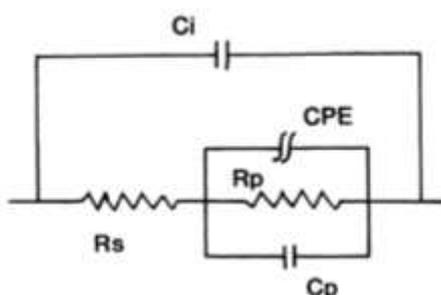


Figura 26: Circuito elétrico equivalente para o esmalte dental humano (permanente e decíduo) e bovino proposto por LEVINKIND, VANDERNOOT *et al.*(1990).  $R_s$  representa a resistência da solução na célula eletroquímica,  $C_i$  a capacitância da instrumentação,  $C_p$  capacitância originária do dielétrico (capacitância das faces opostas da fatia de esmalte) e  $R_p$  a condutividade do eletrólito no poros do esmalte (com permissão).

Dois anos mais tarde, os mesmos autores estudaram a influência da lama dentinária (*smear layers*) proveniente do preparo cavitário com brocas, na impedância e como esta pode proporcionar informações sobre a permeabilidade desse tecido.

Novamente houve o foco nas estruturas que tem uma maior contribuição nas propriedades elétricas, no caso, da dentina (LEVINKIND *et al.*, 1992).

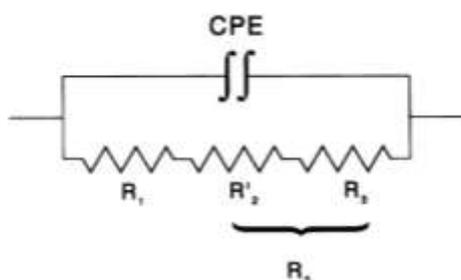


Figura 27: Circuito elétrico equivalente da dentina proposto por LEVINKIND, VANDERNOOT *et al.*(1992).  $R_1$  representa a resistência da solução eletrolítica da célula eletroquímica,  $R_2$  a resistência da fatia de dentina hidratada como a solução eletrolítica,  $R_3$  a soma das resistências do *smear layers* (lama dentinária) hidratado.  $R_2'$  é a resistência da fatia de dentina sem *smear layers*. O CPE representa a reatância/capacitância da instrumentação e da conexão dos fios (com permissão).

HUYSMANS *et al.* em (1996), estudando a cárie de superfícies lisas, propuseram um modelo elétrico para o dente também utilizando o CPE. Esse modelo foi proposto com base na adequação dos dados teóricos aos dados experimentais (Figura 28: Modelo proposto por HUYSMANS, LONGBOTTOM *et al.* (1996)(Figura 28).

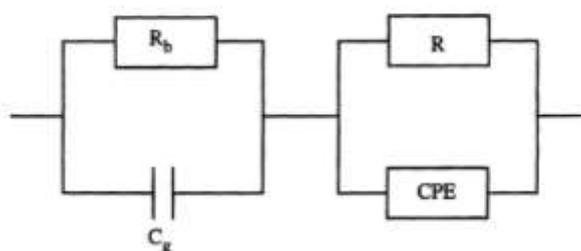


Figura 28: Modelo proposto por HUYSMANS, LONGBOTTOM *et al.* (1996) (com permissão).

Em um estudo *in vitro* utilizando a espectroscopia de bioimpedância, PITTS *et al.* (2006) propuseram um circuito equivalente para o ajuste dos dados experimentais utilizando o CPE como forma de representar a heterogeneidade química, morfológica e física da amostra composta por em faces lisas de pré-molares com e sem cárie.

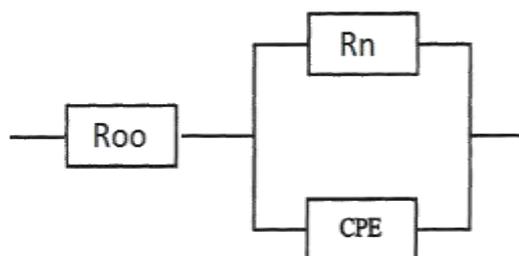


Figura 29: Circuito equivalente proposto por PITTS *et al.* (2006).  $R_{oo}$  -resistência prevalente nas altas frequências,  $R_n$  – resistência prevalente nas baixas frequências, CPE – elemento de fase constante (1996)(com permissão).

O processo de desmineralização dental foi estudado por LIAO *et al.* (2007a). Nesse estudo, pedaços de esmalte dental foram expostos à solução desmineralizante por até 166 horas. Foi utilizada tensão sinusoidal variando de +10 a -10 mV e frequências entre  $10^{-3}$  a  $10^5$  Hz. Um modelo equivalente, que melhor se ajustou aos dados experimentais utilizando o CPE foi sugerido pelos autores.

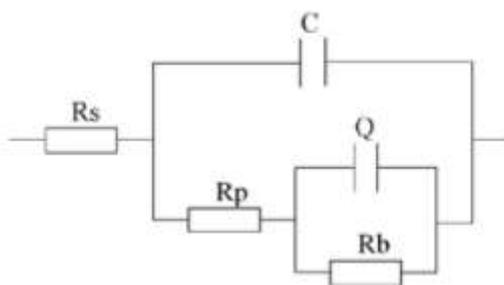


Figura 30:Modelo proposto por LIAO, FENG *et al.* (2007a) para o esmalte dental.  $R_s$  – resistência da solução eletrolítica,  $R_p$  – resistência do esmalte,  $R_b$ - resistência associada com a penetração do eletrólito nos espécimes (transferência de carga) ,  $C$ -capacitância o esmalte e  $Q$ - capacitância da interface substrato/eletrodo (CPE) (com permissão).

Em 2008, um novo eletrodo fluido (miniatura) capaz de se autoadaptar ao formato do dente foi testado para o uso na detecção de cáries por bioimpedância. Um modelo elétrico do dente foi sugerido inclui um CPE com a finalidade de mimetizar a distribuição não homogênea de elementos resistivos e capacitivos no dente; porém,

nenhuma interpretabilidade foi sugerida para os elementos do circuito (CHANG & SU, 2008).

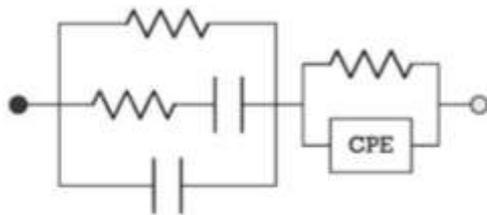


Figura 31: Modelo proposto por CHANG & SU (2008)(com permissão).

XU *et al.* (2008) ao estudarem o processo de remoção ácida da *smear layers* (lama dentinária) da dentina humana, propuseram diferentes modelos elétricos para os fragmentos dentinários antes e após a desmineralização. Modelos interpretativos foram utilizados e o CPE foi incluído para representar a heterogeneidade dos materiais (dentina e lama dentinária).

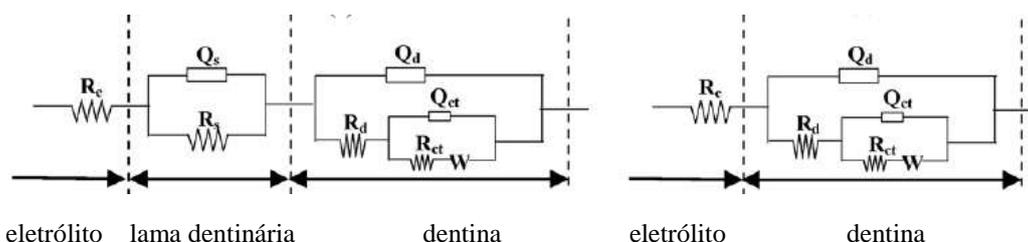


Figura 32: Modelos de circuitos equivalentes para os fragmentos de dentina com lama dentinária (à esquerda) e sem lama dentinária (à direita) sugerido por XU, NEOH *et al.* (2008).  $R_c$ -resistência do eletrólito,  $R_s$ -resistência da lama dentinária,  $Q_s$ -CPE da lama dentinária,  $R_d$ -resistência da dentina,  $Q_d$ -CPE da dentina,  $R_{ct}$ -resistência associada a penetração do eletrólito nos fragmentos (transferência de carga),  $Q_{ct}$ -CPE da interface eletrólito/espécime e  $W$ -impedância de Warburg (com permissão).

## 4.2. Espectroscopia de bioimpedância no diagnóstico da cárie

A principal vantagem da utilização do método de espectroscopia de bioimpedância (BIS – do inglês *Bioelectric Impedance Spectroscopy*) sobre o uso de uma frequência fixa está baseada no fato que os biomateriais apresentam diferentes respostas elétricas em diferentes frequências, assim, a BIS pode ajudar a determinar mais precisamente os diferentes parâmetros que são obtidos nessas frequências.

A BIS foi primeiramente utilizada em estudos preliminares de caracterização da permeabilidade do esmalte e da dentina (KUMASAKI, 1975b; SCHOLBERG *et al.*, 1982; SCHOLBERG *et al.*, 1984a; HOPPENBROUWERS *et al.*, 1986; LEVINKIND *et al.*, 1990; CAREY *et al.*, 1991; LEVINKIND *et al.*, 1992).

Em 1996, dois estudos *in vitro* (HUYSMANS *et al.*, 1996; LONGBOTTOM *et al.*, 1996) utilizaram a BIS para a detecção de cárie oclusal e interproximal em pré-molares. As medidas foram feitas com uma corrente menor que 1 $\mu$ A e uma tensão senoidal de 10 mV (rms) com frequência variando de 0,1 Hz a 1 MHz. O eletrodo de medição era uma haste de aço inoxidável com 4 mm de diâmetro coberta na ponta com fibras carbonadas que entrava em contato direto com o dente sem o uso de qualquer gel de acoplamento (Figura 20, p.38). Foi proposto pela primeira vez um circuito equivalente com o uso do CPE e dentre os valores experimentais obtidos aquele que obteve a mais alta correlação com o status de cárie foi a soma das resistências. Os valores médios da soma das resistências para os grupos sem cárie, lesão sem cavitação e lesão com cavitação para as faces interproximais lisas foram respectivamente de 68M $\Omega$ , 5,9M $\Omega$  e 0,3M $\Omega$  e os valores médios para a superfície oclusal dos três grupos foram de 53 M $\Omega$ , 3,7M $\Omega$  e 0,3M $\Omega$ .

HUYSMANS *et al.* (2000), em um estudo *in vitro*, investigaram a influência da temperatura em um estudo *in vitro* utilizando molares e pré-molares (faces lisas e fissuradas). Foi proposto um modelo que também utilizava o CPE e as medições eram feitas através de um eletrodo de medição de aço inoxidável com a ajuda de gel condutivo. A tensão era de 100 a 300mV (rms) e a frequência era de 100 kHz a 10 Hz. O único parâmetro que se correlacionou com a variação de temperatura proposta (22 a 40<sup>o</sup>C) foi a soma das resistências, ou melhor, o logaritmo do inverso dessa soma.

A partir dos anos 2000 são raros os trabalhos sobre bioimpedância dental publicados sob a forma de artigo completo na literatura científica. A exceção se faz ao artigo de GUIMERA, CALDERON *et al.* (2008). Neste trabalho os autores

apresentaram um novo equipamento, o CarieScan<sup>®</sup> (Figura 33). Segundo o fabricante, esse equipamento mede impedâncias entre 10k $\Omega$  a 10M $\Omega$  com frequências variando entre 100Hz e 100kHz e erro máximo de 5%. Seu eletrodo de medição descartável é feito de material flexível e seu eletrodo de referência tem um formato de um gancho que fica pendurado sobre o lábio inferior do paciente. O fabricante não aconselha o uso de qualquer gel de contato, porém indica que o dente deve ser seco por 5 segundos e deve ser mantido seco durante a medição.

PITTS *et al.* (2006), desenvolveram um microeletrodo multiponto e utilizando os parâmetros de impedância do CPE, chegaram a 100% de sensibilidade e especificidade na detecção *in vitro* de cáries sem cavitação com o uso do BIS em superfícies lisas em uma amostra com prevalência de lesões de 26,8%

Dois estudos *in vitro*, apresentados em congresso, concluíram que o método de classificação de rede neural associado ao BIS aplicado ao diagnóstico da cárie de superfícies lisas e fissurado é um método de alta acurácia. Esses estudos, apesar dos autores não revelarem a prevalência de cárie na amostra, obtiveram altos valores de sensibilidade e especificidade, entre 80% e 95% (CZAJCZYNSKA-WASZKIEWICZ *et al.*, 2006; CZAJCZYNSKA-WASZKIEWICZ *et al.*, 2007). LONGBOTTOM *et al.* (2007), em um estudo *in vitro*, utilizando o modelo de árvore de decisão associado à BIS, obtiveram 93% de taxa de sucesso para a detecção de cáries em esmalte sem cavitação, porém, a prevalência de cáries na amostra era de 91,2%. LOS *et al.* (2007), em um estudo *in vitro*, obtiveram uma taxa de sucesso de 93% para o diagnóstico de cárie em superfícies oclusais. A amostra possuía uma prevalência de 92,3% de cárie e contava com diferentes estágios de cárie na amostra.

A BIS também foi usada com sucesso para monitorar o progresso de lesões de cárie além de uma correlação positiva com a morfologia da lesão cariada (KOCHAN *et al.*, 2007; PITTS *et al.*, 2007).

PITTS *et al.* (2008a) em um estudo *in vitro*, analisaram 128 sítios para o estudo de diagnóstico de superfícies oclusais (fissuradas) com o CarieScan<sup>®</sup> obtiveram uma sensibilidade de 92,5%, especificidade de 92,5 e acurácia de 79,4%; porém com uma prevalência de 83,9% de cárie na amostra. Em outro estudo *in vitro*, PITTS *et al.* (2008b), agora com cáries ocultas (superfície oclusal) e prevalência de 38%, detectaram 31% de todas as cáries e 100% das cáries escondidas em dentina profunda. Os autores porém não mencionaram os valores de falsos positivos.

Um trabalho com CarieScan<sup>®</sup>, *in vivo*, revelou que existe uma correlação significativa entre lesões de caries oclusais sem cavitação e o exame clínico; porém, sem relação com os achados radiográficos. Os autores chamam atenção para o fato de que esse equipamento ainda necessitar de melhoras (BUCHGRABER *et al.*, 2009).

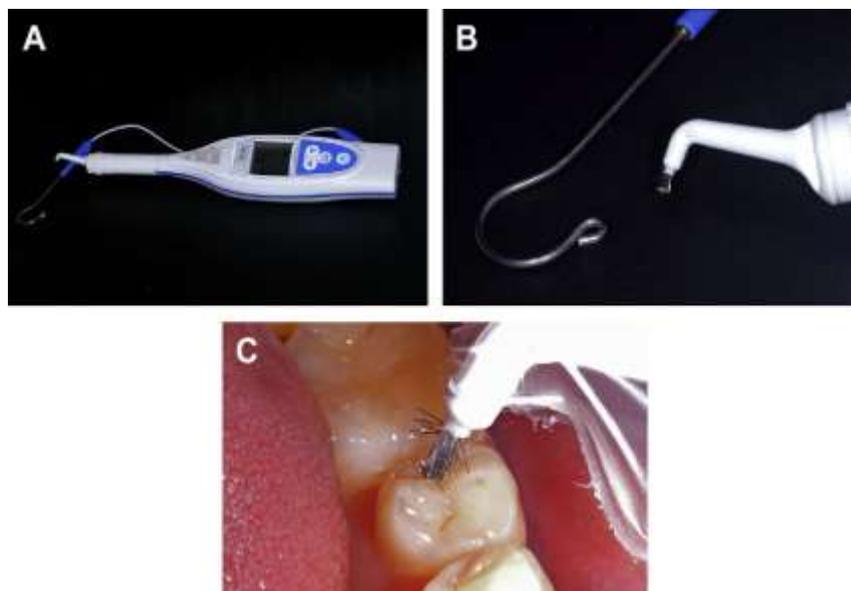


Figura 33: CarieScan<sup>®</sup> (ROCHLEN & WOLFF, 2011) (com permissão).

## 5. Materiais e métodos

Uma metodologia alternativa para realização da espectroscopia de bioimpedância foi desenvolvida por NEVES & SOUZA (2000). De modo resumido, pode-se dizer que essa metodologia é baseada na resposta da corrente à excitação por degrau de tensão. A principal vantagem deste método em relação ao método clássico baseado em varredura de senóides, utilizado na maior parte dos aparelhos multifrequenciais convencionais, está na necessidade de um menor levantamento de sinais para a caracterização do sistema, já que a excitação utilizada (degrau) explora teoricamente todos os componentes de frequência. O método de espectroscopia de bioimpedância baseada na resposta de corrente à excitação por degrau de tensão (BIS-VI) nunca havia sido aplicado a tecidos de grande impedância, como é o caso do esmalte dental e da dentina. No entanto, por sua vantagem em relação aos métodos tradicionais tetrapolares no que se refere a medição de bioimpedância em sistemas de pequenas dimensões, nos quais não é exequível a aplicação de quatro eletrodos; esse método foi escolhido para a utilização nesta tese. O protocolo experimental *in vitro* empregado para a coleta de dados foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Instituto de Estudos em Saúde Coletiva da Universidade Federal do Rio de Janeiro (anexo 1).

O desenvolvimento do método BIS-VI aplicado ao dente foi desenvolvido em duas etapas, doravante denominadas *estudos iniciais* e *estudo final*. Os chamados estudos iniciais podem ser sumarizados de três trabalhos que visaram à adaptação e aprimoramento da técnica para aplicação odontológica. O estudo final foi baseado nos resultados e aprimoramento obtidos nos estudos iniciais e teve como objetivo obter dados de bioimpedância de superfícies lisas e realizar a detecção de lesões de cárie de difícil diagnóstico através da técnica BIS-VI.

As seções que se seguem descrevem as duas grandes etapas do trabalho, assim como os detalhes dos estudos intermediários que as compõem.

### 5.1. Estudos iniciais

Todos os trabalhos e experimentos dessa primeira etapa foram realizados *in vitro* com dentes (terceiros molares e pré-molares) extraídos por motivos cirúrgicos ou ortodônticos. Depois de retirar os detritos (restos de ligamento periodontal e osso), os

dentos foram limpos com pedra pomes de fina granulação, escovas rotativas e um contra-ângulo odontológico. Todos foram então esterilizados em autoclave e armazenados em solução salina (NaCl 0,9%) sob constante refrigeração (DOMINICI *et al.*, 2001).

A Figura 34 ilustra o princípio geral do arranjo experimental utilizado, no qual um suporte experimental mecânico era utilizado para suportar o dente e permitir que suas raízes ficassem imersas em soro fisiológico e a coroa ficava livre para as medições de bioimpedância, as quais foram realizadas por meio de um eletrodo de medição. Imerso no soro fisiológico ficava posicionado o eletrodo de referência e ambos os eletrodos tiveram conexão com o sistema de medida.

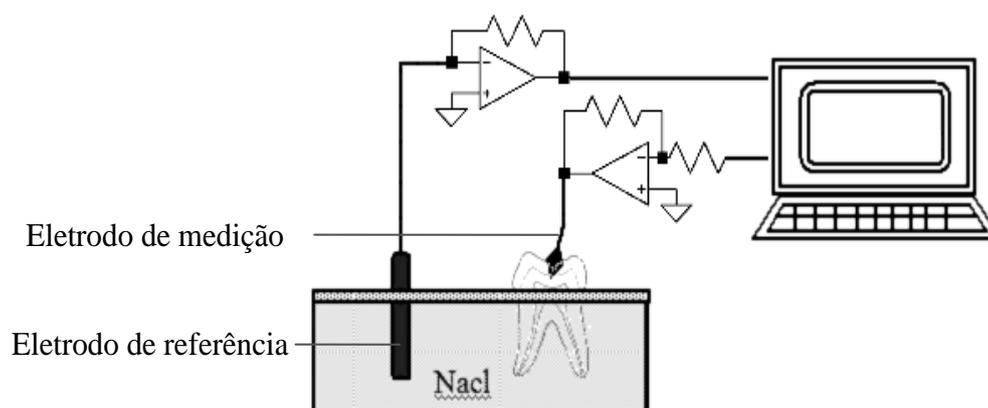


Figura 34: Desenho esquemático do aparato experimental.

As medições de bioimpedância eram realizadas, nas superfícies lisas, em quatro pontos na região equatorial de cada dente (linha de maior contorno da coroa dental) e em três pontos das superfícies oclusais dos dentes hígidos (Figura 35). Quando havia alguma lesão de cárie, a medição era realizada diretamente sobre a lesão.

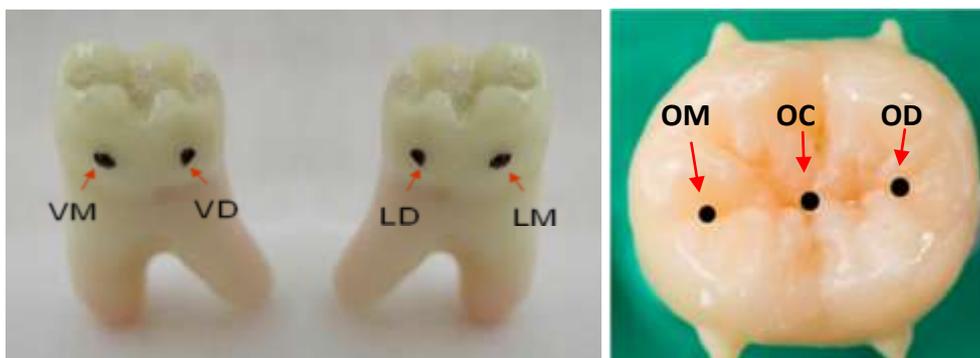


Figura 35: Regiões onde foram realizadas as quatro medições nas faces lisas (VM, VD, LD e LM, que correspondem, respectivamente a vestibular mesial, vestibular distal, lingual distal e lingual mesial) e as três medições das superfícies oclusais (OM, OC e OD, que correspondem respectivamente a oclusal mesial, oclusal central e oclusal distal)

O método de BIS-VI necessita da definição de um modelo elétrico representativo do arranjo experimental que se está estudando (Figura 34), sendo que neste caso utilizou-se o modelo elétrico visto na Figura 37(a). Neste circuito hipotetizou-se inicialmente que  $R_1$  seria o modelador da resistência da camada de esmalte e  $R_2$  e  $C_m$  modelam, respectivamente, a resistência e capacitância da camada de dentina e polpa. Assim,  $R_1$ ,  $R_2$  e  $C_m$  seriam os parâmetros elétricos que caracterizariam o dente, sendo ainda a resistência do meio eletrolítico representada por  $R_b$  e a impedância das interfaces entre os eletrodos metálicos e a solução eletrolítica pelo paralelo  $R_e//C_e$ .

Experimentos preliminares corroboraram achados de outros pesquisadores (LONGBOTTOM, HUYSMANS *et al.*, 1996) de que a impedância dental é largamente dominante no modelo, para a faixa de frequência utilizada (1kHz a 500kHz). Dessa forma, o modelo elétrico observado na Figura 35(a) pode ser simplificado para o modelo visto na Figura 35 (b).

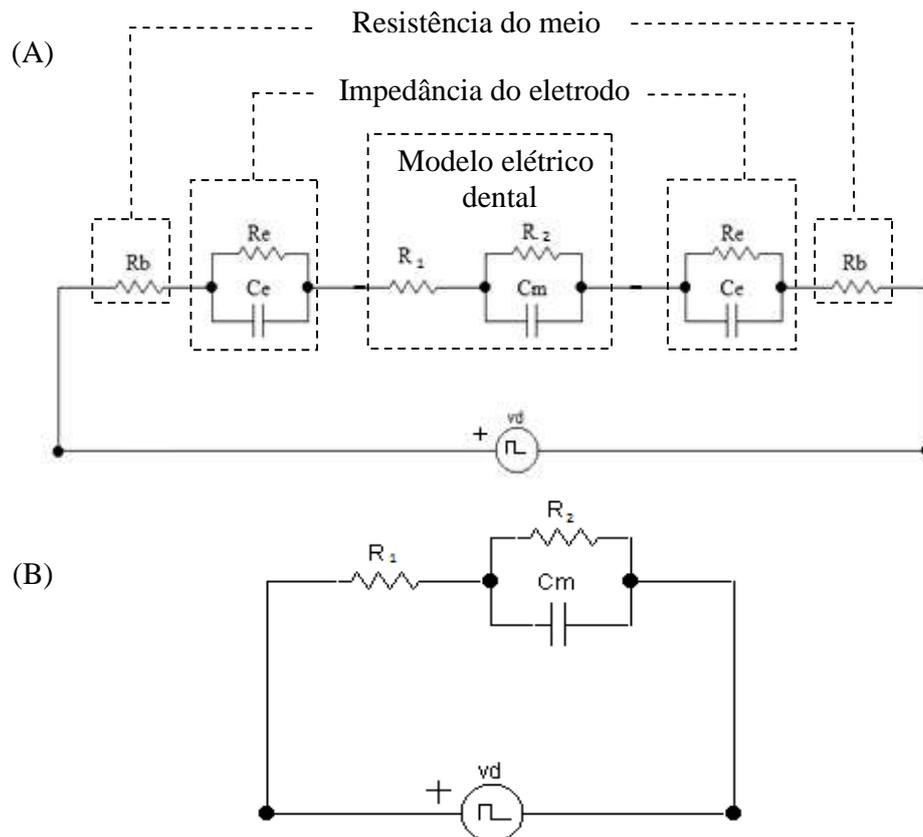


Figura 36: Modelo elétrico representativo da configuração experimental (a). Modelo elétrico dental simplificado utilizado (b).

É possível demonstrar que a análise do modelo elétrico da Figura 36 (b), quando excitado por um degrau de tensão, leva à estimativa teórica da resposta de corrente como na Equação 10.

$$i(t) = I_p \left( 1 + \frac{R_2}{R_1} e^{-\frac{t}{\tau}} \right) \quad (10)$$

onde  $I_p = \frac{vd}{(R_1 + R_2)}$ , sendo  $vd$  a amplitude do degrau de tensão;

e 
$$\tau = \frac{(R_1 R_2)}{(R_1 + R_2)} C_m$$

A obtenção dos dados experimentais da resposta de corrente foi realizada com um protótipo de um sistema de BIS-VI desenvolvido no Laboratório de Instrumentação Biomédica (LIB) do Programa de Engenharia Biomédica da COPPE/UFRJ.

Na primeira etapa do trabalho, além de um sistema eletrônico especialmente desenvolvido para a geração do degrau de tensão (500mV de amplitude) e condicionamento do sinal de corrente (pré-amplificador de transimpedância 560k $\Omega$ ), utilizou-se uma placa de aquisição de dados (National Instruments, USA - modelo PCMCIA DAC-Card 6062) para a digitalização dos dados a uma taxa de 500kHz. Tal sistema de aquisição de dados foi instalado em uma plataforma móvel (*Laptop TOSHIBA Satellite 2410*) rodando Windows XP como sistema operacional e um programa desenvolvido em Labview (National Instruments, USA) como software de aquisição, controle e exibição de dados.

A partir da estimativa teórica e de uma versão experimental da resposta de corrente à excitação por degrau de tensão, pode-se estimar os parâmetros que modelam as características do dente, sendo utilizado nestes trabalhos um método de otimização multiparamétrica baseado em gradiente descendente. Esse método estima os parâmetros de uma função teórica buscando o mínimo de uma função objetivo, ou função erro, relacionada com a distância entre a curva teórica e os pontos experimentais. Para computar os parâmetros que melhor ajustam a curva aos pontos experimentais o método estima o gradiente da função objetivo e atualiza os valores dos parâmetros da função teórica baseando-se na descida do gradiente da função objetivo; tendendo a diminuir a distância entre a curva teoria e pontos experimentais. Esse método, no entanto, não garante a obtenção de parâmetros que globalmente representam o mínimo da função objetivo, pois as estimativas finais são dependentes dos valores iniciais dos parâmetros e da complexidade da função objetivo. Tal característica é conhecida como mínimo local (GILLI & WINKER, 2003).

A Figura 37 ilustra um exemplo de ajuste da expectativa teórica a dados experimentais, mostrando que o modelo e a equação analítica da corrente descrevem o comportamento médio dos resultados experimentais.

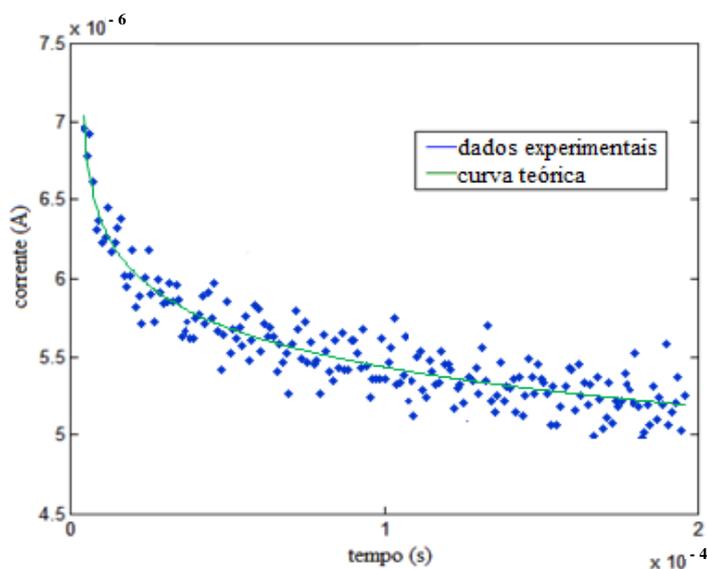


Figura 37: Dados experimentais obtidos pela técnica da resposta de corrente à excitação por degrau de tensão e a curva teórica obtida a partir da equação analítica da corrente (face vestibular de um terceiro molar superior).

### 5.1.1. Trabalhos relacionados à avaliação do arranjo experimental

Os primeiros trabalhos dessa etapa (MORAIS & SOUZA, 2006a; MORAIS & SOUZA, 2006b) objetivaram avaliar o arranjo experimental e a obtenção dos primeiros dados de bioimpedância dental. Neles foram utilizados 17 dentes e estes foram examinados visualmente por um único avaliador e classificados de acordo com a sua higidez ou estágio de doença. Assim, foram colhidos 41 sinais das faces oclusais e 54 sinais das faces lisas de 14 dentes hígidos permanentes (8 terceiros molares e 6 pré-molares) e três dentes cariados (molares permanentes) com diferentes graus da doença.

Como a amostra era composta basicamente de dentes hígidos, apenas 3 dentes estavam cariados, procurou-se explorar as diferentes regiões de cada elemento dental para o estabelecimento de um padrão de normalidade dos 3 parâmetros ( $R_1$ ,  $R_2$  e  $C_m$ ) obtidos através do método.

Nesses experimentos utilizou-se uma base de borracha onde os dentes eram posicionados, acoplada a um recipiente contendo soro fisiológico. Como eletrodo de medição da bioimpedância foi usado um instrumento odontológico feito de aço inoxidável com duas pontas (calçador *holleback* 1, Duflex<sup>®</sup> ref 10635; Figura 38). Porém, somente a ponta de maior calibre (1mm de diâmetro) foi utilizada como ponta

de medição de bioimpedância, não sendo, nesta fase inicial, utilizado nenhum gel condutor para melhorar o acoplamento entre o eletrodo e o dente. O eletrodo de referência foi produzido com a mesma liga de aço inoxidável (cabo de espelho odontológico infantil 25, Duflex<sup>®</sup> ref 10305).



Figura 38: Calcador *holleback* #1 (A) e cabo de espelho #25 (B)

Apesar de ter fornecido resultados importantes no que concerne à potencialidade da aplicação da técnica de BIS-VI ao estudo dental, o arranjo experimental apresentava dificuldades de estabilidade mecânica para a aquisição dos sinais de bioimpedância assim como uma acoplagem precária entre o eletrodo de investigação e a superfície dental.

### 5.1.2. Trabalhos relacionados às melhorias do arranjo e do protocolo experimentais

Os trabalhos posteriores dessa primeira etapa (MORAIS & SOUZA, 2007; MORAIS *et al.*, 2008), foram caracterizados pela mudança no aparato mecânico de modo a garantir uma melhor estabilidade às medidas de bioimpedância (Figura 39) e pelo uso de um gel eletrolítico (Carbogel<sup>®</sup>) para promover um acoplamento efetivo do eletrodo com a superfície dental e tornar a impedância da interface metal eletrólito realmente desprezível frente à impedância dental. O eletrodo de investigação foi também modificado para um que possuía 6 mm de diâmetro por 4 cm de extensão, com uma ponta de exploração de 2 mm de diâmetro e também era composto de aço

inoxidável. Este eletrodo de medição foi acoplado a um dinamômetro e esse a um braço mecânico garantindo uma pressão de  $0,143\text{kgf/cm}^2$  constante a todas as medições.

Os mencionados trabalhos dessa etapa tiveram o objetivo de reavaliar os parâmetros de bioimpedância dental, assim como suas variabilidades, sendo utilizados 22 novos dentes hígidos (pré-molares e terceiros molares).

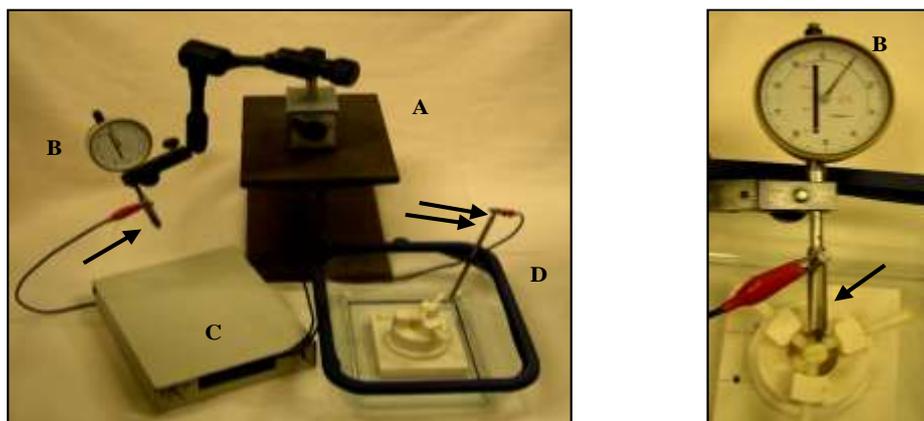


Figura 39: Montagem experimental. A - base de apoio; B - dinamômetro acoplado ao braço mecânico e ao eletrodo de medição (seta); C - sistema de excitação, condicionamento e coleta dos dados; D - base de imersão do dente e eletrodo de referência (seta dupla).

### 5.1.3. Trabalho relacionado com remoção de camada de esmalte

Utilizando as melhorias do arranjo e protocolo experimentais mostradas no item anterior (5.1.2) foi idealizado um novo experimento para se avaliar a sensibilidade do método em detectar mudanças estruturais do dente. Este experimento realizou um total de 12 perfurações no esmalte das faces lisas (vestibular e lingual) de dentes utilizados nos trabalhos anteriores com auxílio de uma broca diamantada cilíndrica (1,0 mm de diâmetro) montada em uma caneta de alta rotação em um equipamento odontológico. Os valores de bioimpedância foram medidos primeiramente com a face hígida e depois de cada uma das duas perfurações seriadas de 0,5mm no mesmo ponto. Obteve-se uma profundidade total de 1mm no esmalte e assim, pode-se avaliar com mais precisão o efeito da retirada mecânica de parte do esmalte dental nos parâmetros de bioimpedância.

## 5.2. Estudo final

Com base nos trabalhos realizados foi proposto um estudo que permitisse comparar os resultados do método BIS-VI com outras técnicas diagnósticas utilizadas na detecção de cáries consideradas de interesse no ponto de vista odontológico.

### 5.2.1. Preparação das amostras

Uma nova amostra de conveniência de 50 terceiros molares e 8 pré-molares hígidos ou cariados foi selecionada de um conjunto de 96 dentes extraídos por motivos cirúrgicos ou ortodônticos para participar do estudo.

Como critério de exclusão utilizou-se apenas dentes hígidos ou que apresentassem cáries sem cavitação aparente (macroscópica) que estivessem totalmente irrupcionados e com rizogênese completa no momento da extração (HOPPENBROUWERS *et al.*, 1986; SCHULTE *et al.*, 1999; KATAOKA *et al.*, 2007). Os dentes também não possuíam selantes, cáries de superfície lisa, restaurações ou tártaro visível clinicamente. Depois de retirar os detritos (restos de ligamento periodontal e osso), os dentes foram limpos com pedra pomes de fina granulação, escovas rotativas e um contra-ângulo odontológico. Todos foram então esterilizados em autoclave e armazenados em solução salina (NaCl 0,9%) sob constante refrigeração (DOMINICI *et al.*, 2001). Após a preparação das amostras, como já mencionado, as faces oclusais de todos os dentes foram fotografadas (anexo 2).

### 5.2.2. Diagnóstico visual e radiográfico

Numa primeira fase desse estudo final, seis estudantes de pós-graduação em odontologia realizaram, separadamente, um diagnóstico visual (*in vitro*) e um diagnóstico radiográfico. Em uma segunda etapa foi realizada uma combinação destes dois métodos. Entre cada uma das etapas um intervalo de 2 meses foi respeitado para que não ocorresse o viés de lembrança.

Em cada uma das três fases, a face oclusal de cada dente foi classificada em seis categorias (Quadro 3) de acordo com *Consensus Development Conference on Diagnosis & Management of Dental Caries Throughout Life* (2001).

Para o exame visual (primeira fase), os dentes foram secados por 10 s com ar comprimido e examinados sob uma luz de um refletor odontológico e cada face oclusal foi então classificada.

Quadro 3: Critério visual e radiográfico utilizado pelos voluntários (*CONSENSUS DEVELOPMENT CONFERENCE ON DIAGNOSIS AND MANAGEMENT OF DENTAL CARIES THROUGHOUT LIFE*, 2001).

<b>Classificação</b>	<b>Critério Diagnóstico</b>
E0	Não há lesão em esmalte
E1	Lesão apenas na metade externa do esmalte
E2	Lesão na metade interna do esmalte
D1	Lesão no terço externo da dentina
D2	Lesão no terço médio da dentina
D3	Lesão no terço interno da dentina

Em uma segunda fase, para padronizar as tomadas radiográficas, os dentes foram submetidos a radiografias periapicais (RX Odontomax 70-7p, Astex Equipamentos odontológicos, Brasil) utilizando um posicionador radiográfico adaptado com cera utilidade a fim de manter o plano oclusal de cada dente paralelo ao feixe de raios-X e transversal ao filme. As radiografias foram reveladas manualmente em câmara escura com controle de tempo e temperatura e as imagens radiográficas foram observadas para a classificação da superfície oclusal sob iluminação adequada com uma máscara de proteção para eliminar o excesso de luz, utilizando um negatoscópio odontológico.

Em uma terceira fase foi realizada uma avaliação combinada, ou seja, para a classificação das superfícies oclusais os seis voluntários fizeram a avaliação visual e radiográfica em um mesmo momento diagnóstico para a decisão de classificação.

### **5.2.3. Localizações das medidas de bioimpedância**

Os dados relativos ao comportamento elétrico das superfícies lisas hígidas de terceiros molares e pré-molares foram colhidos para uma familiarização com a técnica de BIS utilizada e para a formação de um banco de dados já que essas superfícies são relativamente mais simples anatomicamente. Nas faces lisas (vestibular e lingual) foram

realizadas duas medições na região equatorial como mostrado na Figura 35 totalizando quatro medições (VM, VD, LD e LM).

Na região oclusal foram realizadas medições de bioimpedância específicas em todos os pontos suspeitos de cárie (manchas e descolorações) e em algumas regiões consideradas de maior ocorrência de cárie oclusal de maneira que houvesse pelo menos dois pontos de medição em cada dente (anexo 2).

#### **5.2.4. Mudança da instrumentação de aquisição de dados e modelo com CPE**

Com a intenção de padronizar possíveis alterações provenientes da desidratação natural decorrente da exposição do dente ao ar ambiente e da secagem do dente no momento da medição foi utilizado o protocolo proposto em MORAIS *et al.* (2009). Neste protocolo, os dentes eram mantidos estáveis por um aparato isolante (Figura 39, p.60), com suas raízes imersas em soro fisiológico e a coroa exposta para investigação em ambiente com temperatura e umidade controladas. As medições eram iniciadas após 2 minutos de desidratação natural ao ar ambiente e cada face era secada com uma pera de ar antes da medição.

De modo a propiciar a investigação da aplicação de um modelo com CPE à interpretação dos dados experimentais obtidos pela técnica BIS-VI, o sistema de aquisição foi modificado para uma placa de aquisição de 12 bits (modelo Ni USB 6251 National Instruments, EUA) com uma taxa de amostragem é 1,25 MS/s. Com o novo sistema de aquisição foram coletados dados da resposta de corrente ao degrau de tensão que foram modelados pelo circuito elétrico ilustrado na Figura 40. Neste modelo, o circuito R-C paralelo ilustrado na Figura 37(b) para modelar o comportamento dentina-polpa foi substituído por um CPE.

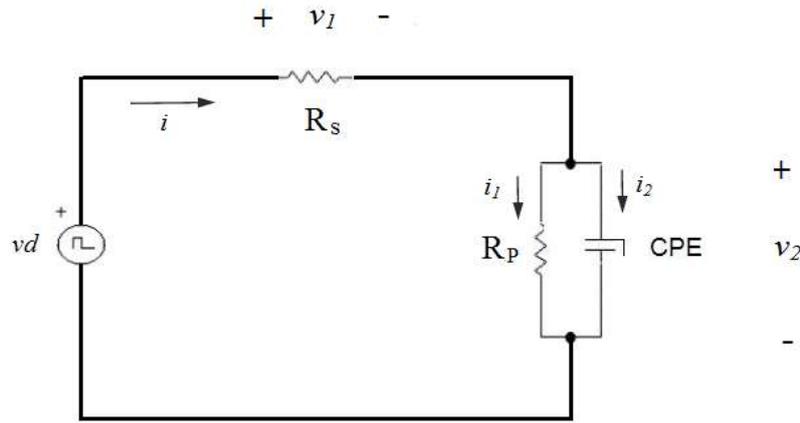


Figura 40: Modelo elétrico para o dente com a inclusão do CPE.

Considerando-se a relação entre tensão e corrente no CPE como descrita na Equação 10 (MAGIN, 2004a), é possível demonstrar (Anexo 3) que a corrente teórica  $i(t)$  pode ser escrita como na Equação 11.

$$i = C_0^\alpha \frac{d^\alpha v}{dt^\alpha} \quad (11)$$

$$i(t) = \frac{vd}{R_s + R_p} \left[ 1 + \frac{R_p}{R_s} E_\alpha(-(\lambda t)^\alpha) \right] \quad (12)$$

sendo  $\lambda^\alpha = \frac{R_p + R_s}{R_p R_s (C_0)^\alpha}$ , onde  $vd$  é a magnitude do degrau de tensão,  $E_\alpha(x)$  é a função

de *Mittag-Leffler* com um parâmetro de argumento.

Através da Equação 11 e da sua análoga obtida experimentalmente através do equipamento de BIS-VI podem-se extrair os parâmetros elétricos modeladores da bioimpedância do dente ( $R_s$ ,  $R_p$ ,  $C_0$  e  $\alpha$ ) usando uma técnica de otimização multiparamétrica (método dos mínimos quadrados). Essa técnica procura encontrar o melhor ajustamento para um conjunto de dados tentando minimizar a soma dos quadrados das diferenças entre o valor estimado e os dados observados (GILLI & WINKER, 2003).

### **5.2.5. Avaliação Histológica**

Depois de todas as avaliações visuais, radiológicas e de bioimpedância, seções bucolinguais foram cortadas perpendicularmente aos sítios suspeitos de cárie. Para a obtenção das amostras, os dentes foram seccionados com uma lâmina de diamante montado em uma máquina de corte de precisão (modelo ISOMET 1000, Buehler Ltda., EUA), com disco diamantado e refrigerado com soro fisiológico com uma velocidade de 250 rpm e um peso de 100g. Um único avaliador, que desconhecia o resultado das avaliações prévias, avaliou cada uma das seções cortadas sob uma lupa (modelo TL-1000, Toyo Ltda., Brasil) com iluminação própria com aumento de 12 vezes. Esse avaliador não havia participado da etapa de avaliação visual e radiográfica dos dentes. As lesões de cárie foram classificadas de acordo com o critério previamente determinado (Quadro 3, p. 62) e qualquer achado histológico anormal foi anotado.

### **5.2.6. Análise estatística e edição**

Para a edição da tese e gerenciamento bibliográfico foram utilizados respectivamente os programas Microsoft Office Word 2007 (parte do Microsoft Office Home & Student 2007) e o programa Endnote X2.0.4. Para a análise estatística e confecção dos elementos gráficos foram utilizados Microsoft Office Excel (parte do Microsoft Office Home & Student 2007) e o programa SPSS Statistics 17.0.

## 6. Resultados

### 6.1. Estudos iniciais

#### 6.1.1. Trabalhos relacionados à avaliação do arranjo experimental

Com os primeiros estudos percebeu-se também que houve uma grande variação nos valores dos parâmetros  $R_1$ ,  $R_2$  e  $C_m$  obtidos para terceiros molares e pré-molares hígidos nos diferentes pontos de medição. Após a análise estatística não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre diferentes tipos de dentes (terceiros molares e pré-molares), faces (lisas e fissuradas) ou pontos dentro de cada face. Os valores médios dos parâmetros de interesse para os dentes hígidos foram  $R_1 = 204,33 \pm 168,22 \text{ k}\Omega$ ;  $R_2 = 11,22 \pm 7,16 \text{ k}\Omega$  e  $C_m = 1,8 \pm 1,8 \text{ pF}$ . Foi possível também perceber nos dentes cariados, como a medição foi pontual, os parâmetros de bioimpedância se modificavam, dentro de um mesmo dente, quando havia uma lesão de cárie. Regiões mais cariadas apresentavam menores valores de resistência e maiores valores de capacitância. Nos 3 dentes que possuíam cárie em diferentes graus aplicou-se o protocolo de medição pontual e observou-se que os valores resistivos ( $R_1$  e  $R_2$ ) eram progressivamente menores acompanhando a gravidade e invasividade da cárie. Fatos inversalmente proporcionais foram observados em relação aos valores da capacitância ( $C_m$ ).

#### 6.1.2. Trabalhos relacionados às melhorias do arranjo e do protocolo experimentais

Nos estudos seguintes (MORAIS & SOUZA, 2007; MORAIS *et al.*, 2008), o método proposto, quando aplicado a dentes hígidos ( $n=22$ ), foi capaz de caracterizar (diferença estatisticamente significativa) os diferentes tipos de superfícies dentais (lisa e fissurada) e elementos dentais (TM e PM). Os valores médios dos parâmetros de interesse foram para superfícies oclusais  $R_1=550,8 \pm 585,3 \text{ k}\Omega$ ;  $R_2=67,0 \pm 12,0 \text{ k}\Omega$  e  $C_m = 3,8 \pm 1,7 \text{ pF}$  e para as superfícies lisas  $R_1=1.206,7 \pm 882,5 \text{ k}\Omega$ ;  $R_2=85,2 \pm 56,1 \text{ k}\Omega$  e para  $C_m = 3,5 \pm 1,7 \text{ pF}$ .

### 6.1.3. Trabalho relacionado com remoção de camada de esmalte

Em um teste para avaliar a sensibilidade do método, foram realizadas perfurações de 0,5 mm e 1,0mm e profundidade no esmalte das faces lisas (vestibular e lingual) de TM e PM (MORAIS *et al.*, 2008). Após a perfuração não foram encontradas diferenças estatisticamente relevantes entre os dois grupos (TM e PM), assim, estes foram tratados como um grupo único. Porém, quando os dentes foram perfurados, foi possível observar que diferentes pontos de medição nos dois tipos de face obtiveram valores que não foram estatisticamente diferentes (Figura 41).

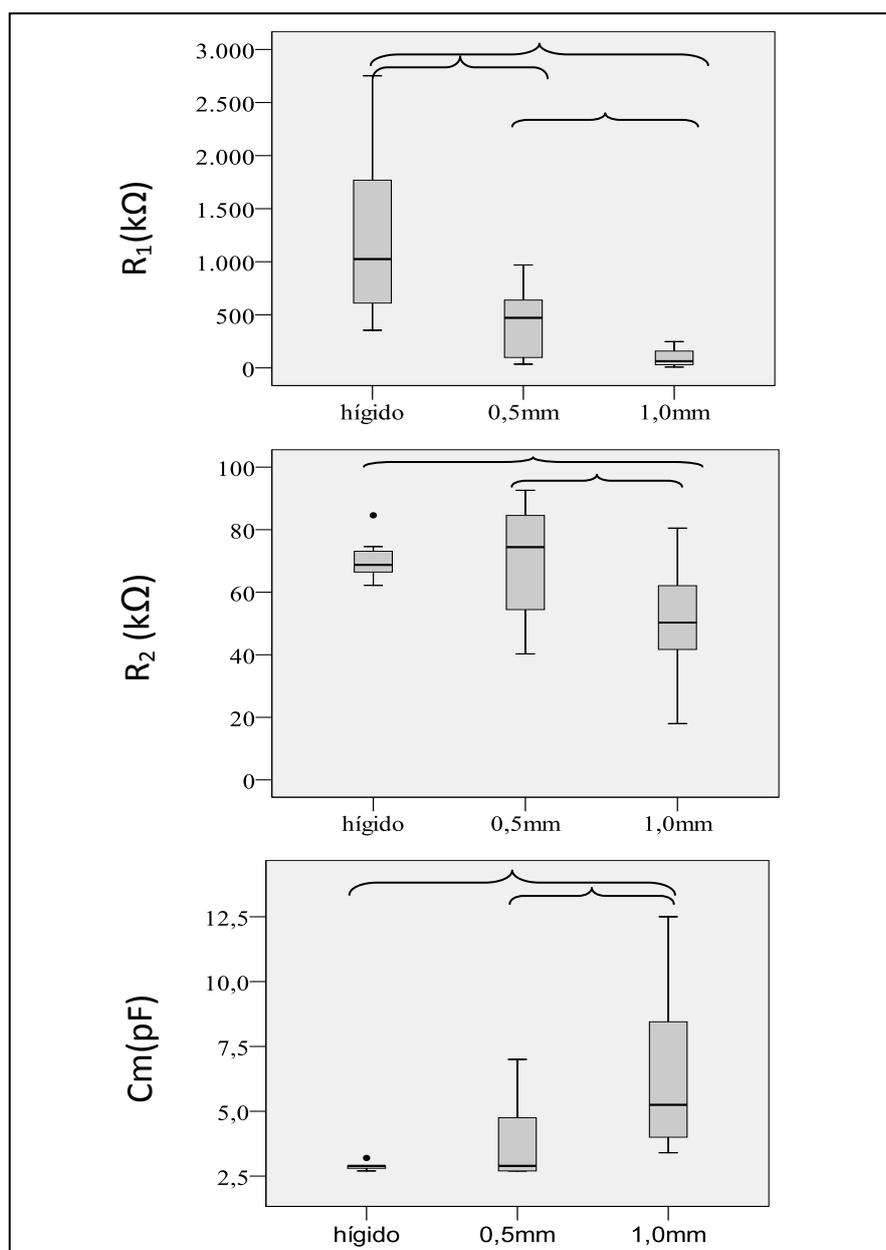


Figura 41: Valores dos parâmetros de bioimpedância  $R_1$ ,  $R_2$  e  $C_m$ , em dentes hígidos e nas profundidades de perfuração respectivas de 0,5mm e 1,0mm para os pré-molares e

terceiros molares (n=15). Os grupos ligados por parênteses indicam significância estatística ( $p \leq 0,05$ ) (MORAIS *et al.*, 2008).

## 6.2. Estudo final

### 6.2.1. Superfícies lisas

Foram colhidos 223 sinais (58 dentes) e os valores dos parâmetros de bioimpedância obtidos das faces lisas obtidos podem ser vistos, separados por tipo de face (vestibular ou lingual) e por tipo de dente (terceiro molar ou pré-molar), nas Figura 42, 43, 44 e 45. Em tais resultados pode-se notar que há uma grande homogeneidade nos valores dos parâmetros entre diferentes tipos de dentes ou faces.

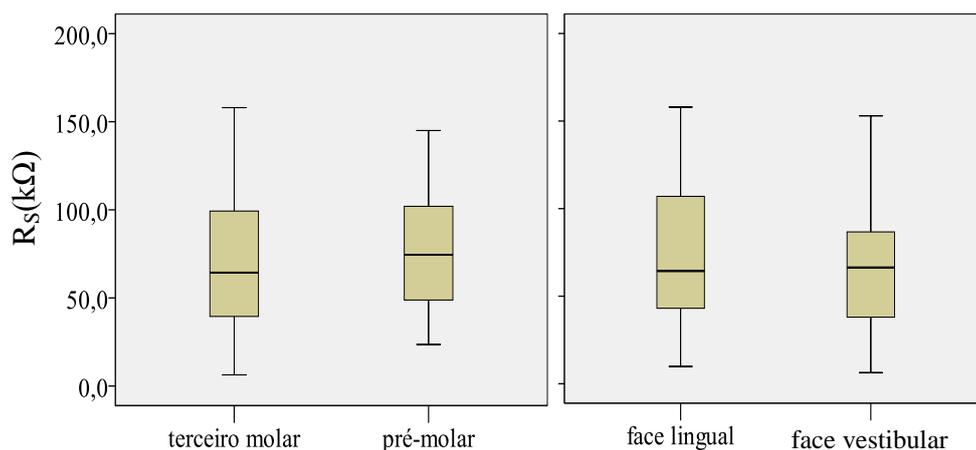


Figura 42: *Box plot* dos valores de  $R_s$  das faces lisas separados por tipo de dente e por tipo de face lisa.

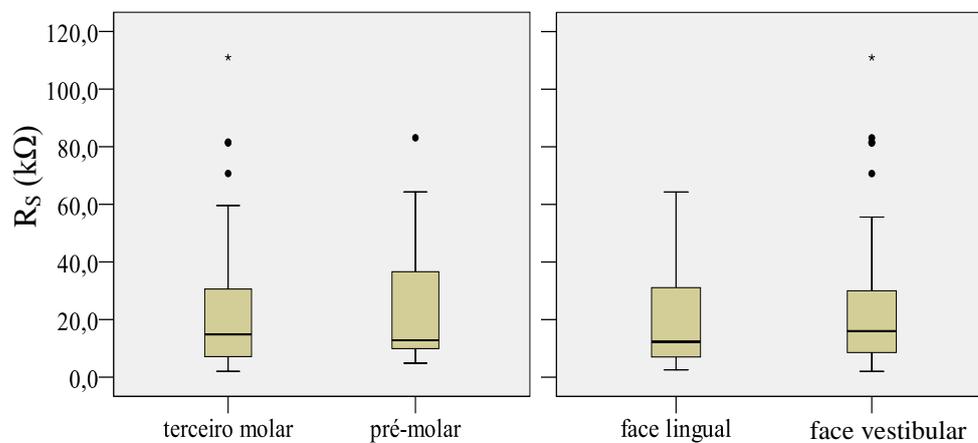


Figura 43: *Box plot* dos valores de  $R_p$  das faces lisas separados por tipo de dente e por tipo de face lisa.

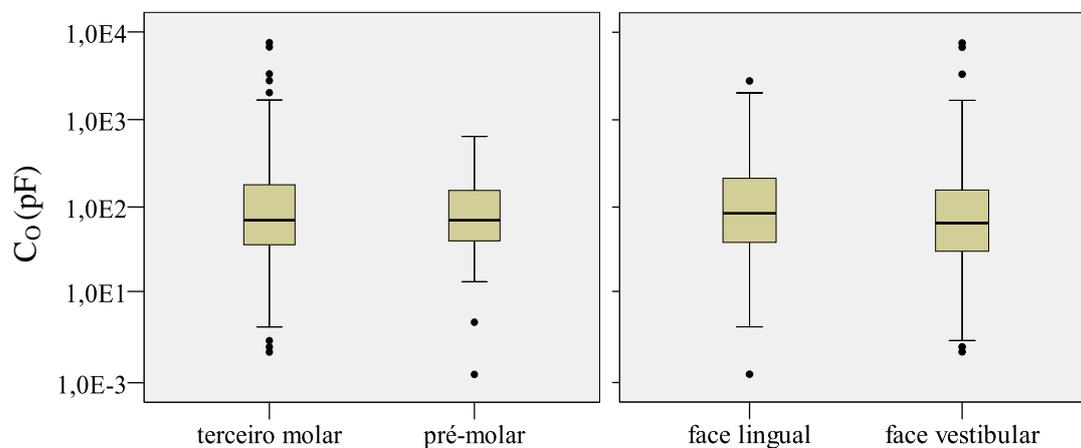


Figura 44: *Box plot* dos valores de  $C_0$  para os diferentes tipos de dentes e para os diferentes tipos de faces lisas (escala logarítmica).

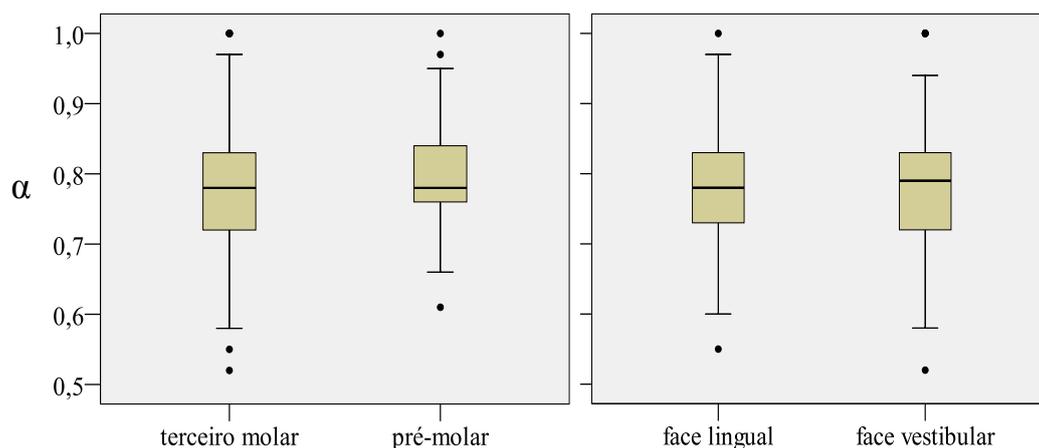


Figura 45: *Box plot* dos valores de  $\alpha$  (adimensional) das faces lisas para os diferentes tipos de dentes e para os diferentes tipos de faces lisas.

O resultado da aplicação do teste de Shapiro-Wilks para verificar se os parâmetros obtidos para as superfícies lisas possuíam aderência à curva de normalidade indicou que os dados não tiveram distribuição normal. Assim, foram comparados os valores de  $R_S$ ,  $R_P$ ,  $C_0$  e  $\alpha$  para os dois tipos de dente (terceiro molar e pré-molar) e para as duas diferentes faces (vestibular e lingual) através do teste não paramétrico de Mann-Whitney e não foi possível demonstrar diferença estatisticamente relevante entre os tipos de faces ou entre os diferentes tipos de dentes. Os valores médios de  $R_S$ ,  $R_P$ ,  $C_0$  e  $\alpha$  são respectivamente  $71,18 \pm 37,24 \text{ k}\Omega$ ;  $20,64 \pm 17,46 \text{ k}\Omega$ ;  $261,62 \pm 771,41 \text{ pF}$  e  $0,78 \pm 0,09$ . Os parâmetros dos resultados compilados encontram-se nos gráficos da Figura 46.

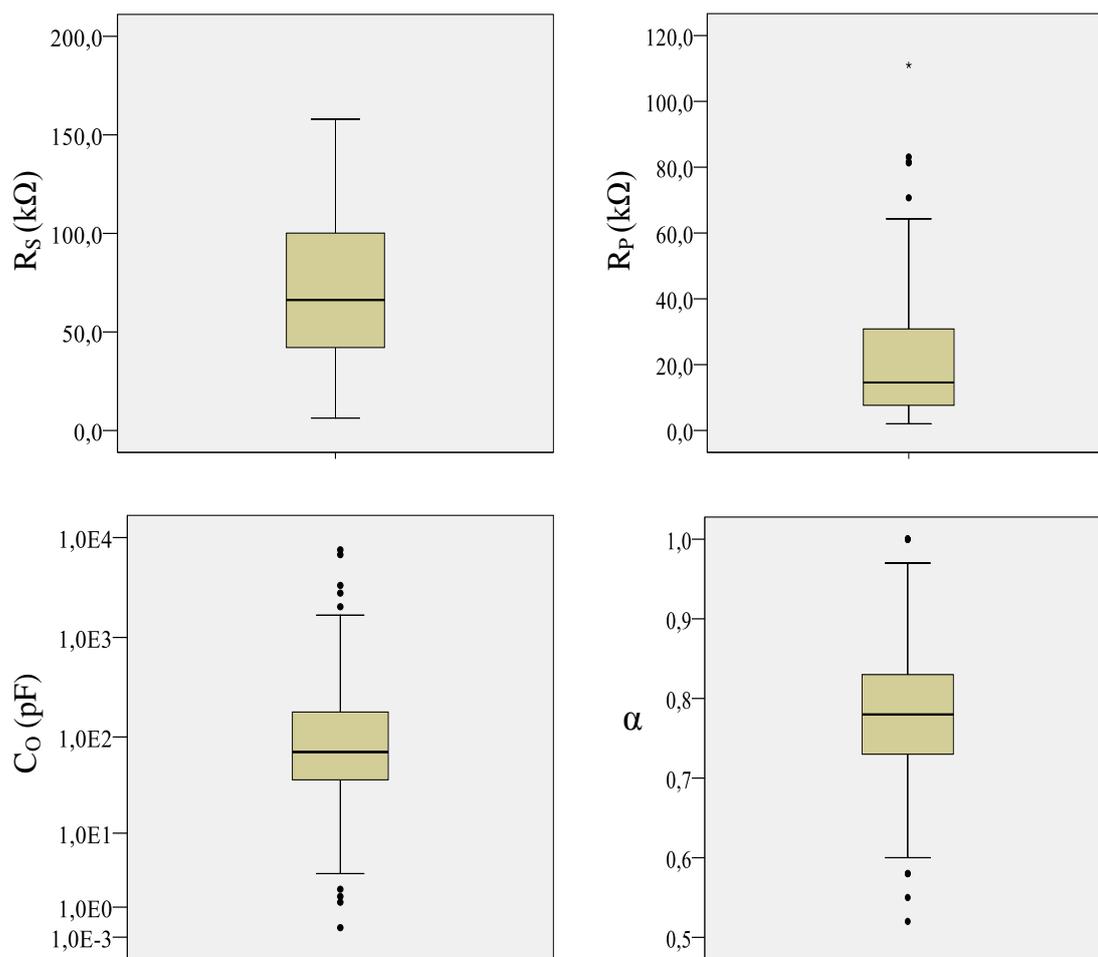


Figura 46: *Box plot* dos valores de  $R_S$ ,  $R_P$ ,  $C_0$  (escala logarítmica) e  $\alpha$  (adimensional) das superfícies lisas.

## 6.2.2. Superfícies oclusais

### 6.2.2.1. Diagnóstico por bioimpedância

Em relação aos dados de bioimpedância, das superfícies oclusais, nos 58 dentes (8 pré-molares e 50 terceiros molares), foram colhidos 135 sinais (16 da face oclusal de pré-molares e 119 da face oclusal de terceiros molares). Treze sinais (terceiros molares) foram descartados pois pertenciam aos dentes com diagnóstico histológico inconclusivo. Nas Figura 47, 48, 49 e 50 podem ser vistos os gráficos com as curvas obtidas experimentalmente e a curva teórica obtida a partir do modelo elétrico da Figura 36.

Quanto aos parâmetros estimados, estes foram reunidos de acordo com o tipo de dente (TM ou PM) e com o resultado do diagnóstico histológico nas categorias E0, E1, E2, D1, D2 e D3. Os subgrupos de cárie em esmalte (E1 e E2) e cárie em dentina (D1, D2 e D3) só possuíam representatividade no grupo de TM e possuíam poucos elementos por subgrupo, assim, com a finalidade de tornar a comparação entre grupos mais representativa, da mesma maneira que a avaliação clínica e radiológica feita pelos voluntários, os dados foram reagrupados nas três categorias simplificadas: hígido (h), cárie em esmalte (cesm) e cárie em dentina (cdent). Em alguns dentes, apesar de não possuírem cárie, após o corte foi verificada a presença de pigmentação (p) na região dos sulcos. Como essa característica compõe o que comumente é chamado de selamento biológico e é a causa mais comum de falsos positivos no diagnóstico da cárie oclusal, esse parâmetro foi acrescentado aos subgrupos já citados para a avaliação de bioimpedância. Porém, os dentes que possuem essa característica são considerados hígidos para possíveis comparações.

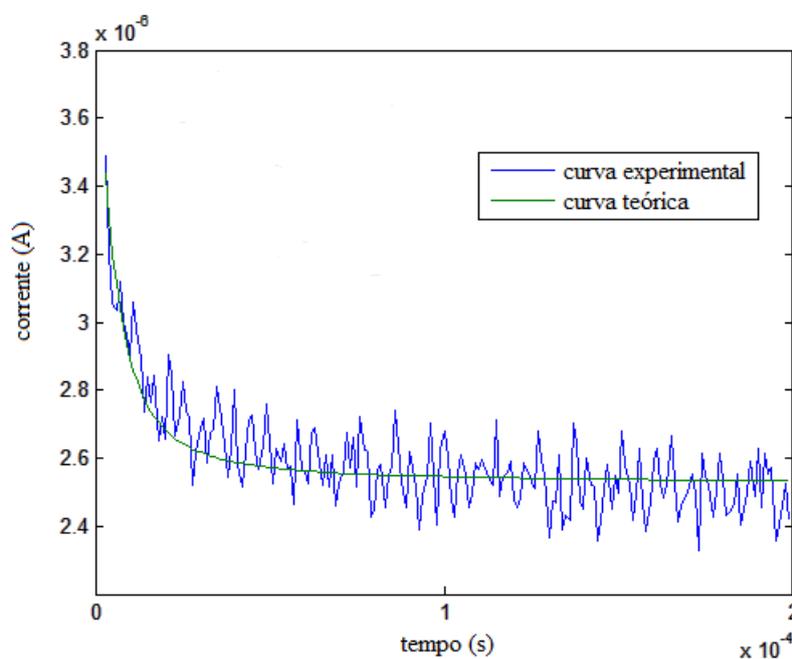


Figura 47: Curva teórica e experimental da face oclusal do elemento 34 (Figura 61) referente ao ponto de interesse 34o3 com diagnóstico histológico de higidez.

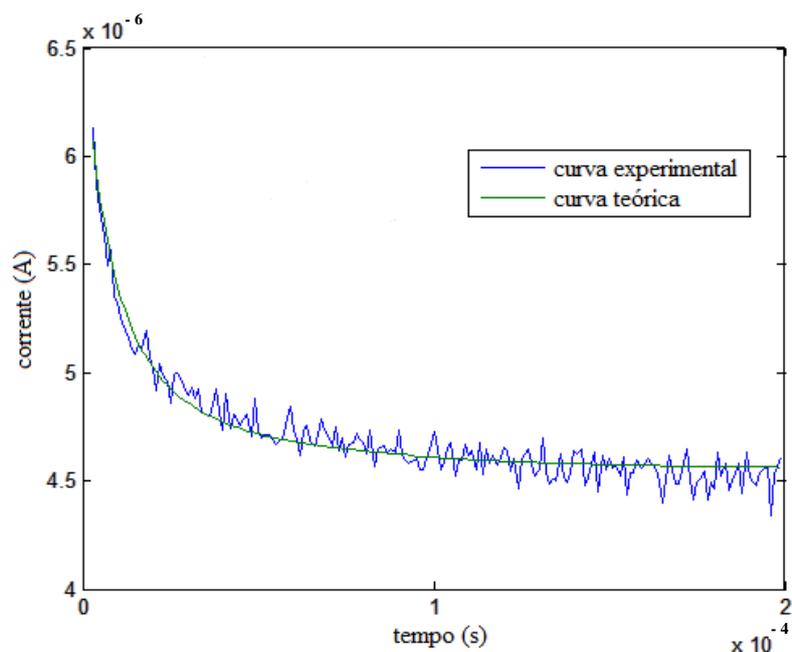


Figura 48: Curva teórica e experimental da face oclusal do elemento 55 (Figura 62) referente ao ponto de interesse 55o1 com diagnóstico histológico pigmentado.

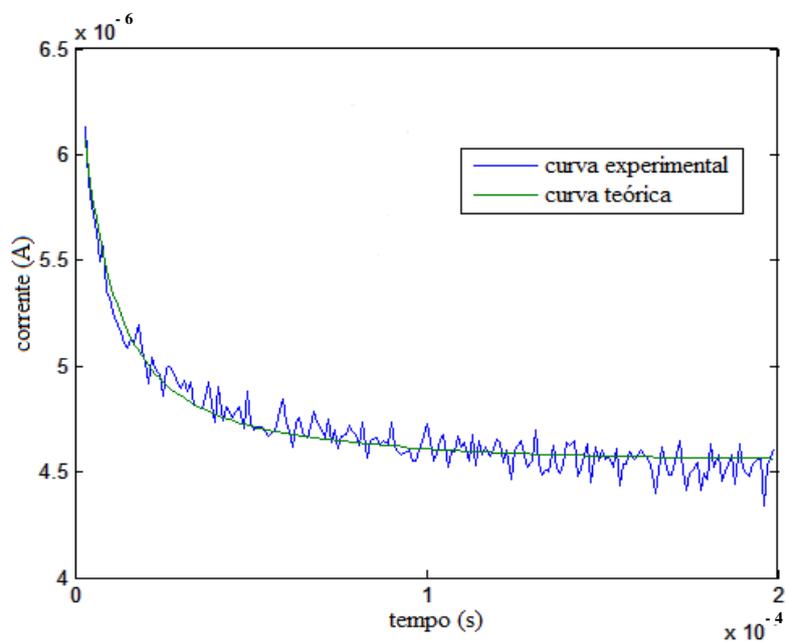


Figura 49: Curva teórica e experimental da face oclusal do elemento 59 (Figura 63) referente ao ponto de interesse 59o1 com diagnóstico histológico de cárie em esmalte.

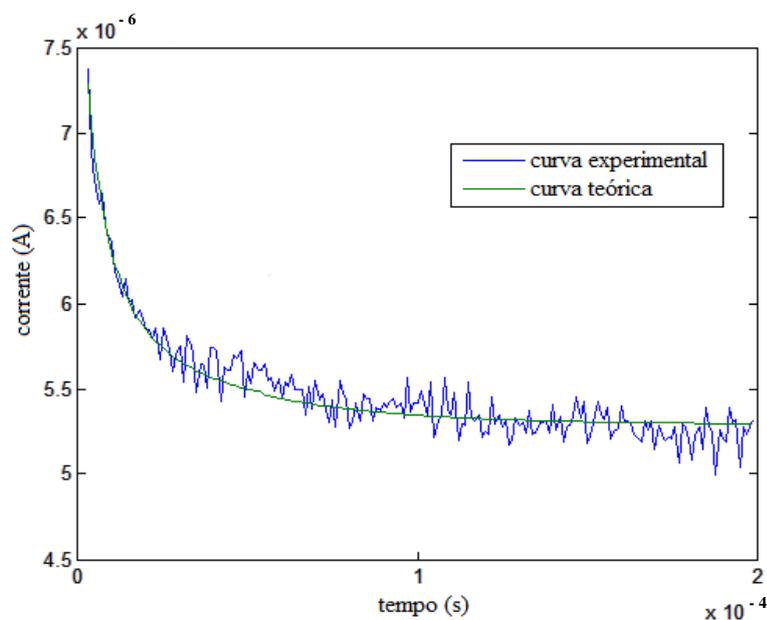


Figura 50: Curva teórica e experimental da face oclusal do elemento 09 (Figura 64) referente ao ponto de interesse 09o1 com diagnóstico histológico de cárie em dentina.

Tabela 2: Valores médios dos parâmetros de bioimpedância para os diferentes diagnósticos histológicos

Diagnóstico histológico	Parâmetros			
	$R_S$ (k $\Omega$ )	$R_P$ (k $\Omega$ )	$C_0$ (pF)	$\alpha$ (adimensional)
pigmentado	59,08±28,04	34,15±22,84	39,11±29,15	0,78±0,07
hígido	54,20±25,23	29,77±19,75	79,03±94,49	0,76±0,05
cárie esmalte	38,63±19,85	22,14±20,29	61,15±46,55	0,76±0,06
cárie dentina	35,09±21,90	17,87±17,55	53,48±29,41	0,74±0,06

Os dados de bioimpedância das faces oclusais foram testados para a adequação à curva de normalidade e como o Teste de Shapiro-Wilks não foi significativo para a maioria dos dados. Foi então utilizado o teste não paramétrico de Mann-Whitney para

verificar se haviam diferenças entre os grupos TM e PM. Como não houve diferenças estatisticamente significativas os dados foram reunidos de acordo com o diagnóstico histológico e podem ser vistos sob a forma gráfica nas Figura 51, 52, 53 e 54. Pode-se observar uma tendência de decréscimo nos valores de resistência ( $R_S$  e  $R_P$ ) nas regiões cariadas se comparadas às regiões sem cárie.

Tabela 3: Valores de p do teste de Mann-Whitney da comparação entre os diferentes grupos diagnósticos

Diagnóstico histológico	Parâmetros			
	$R_S$	$R_P$	$C_0$	$\alpha$
hígido/pigmentado x cárie esmalte	0,016	0,098	0,591	0,438
hígido/pigmentado x cárie dentina	0,006	0,022	0,542	0,041

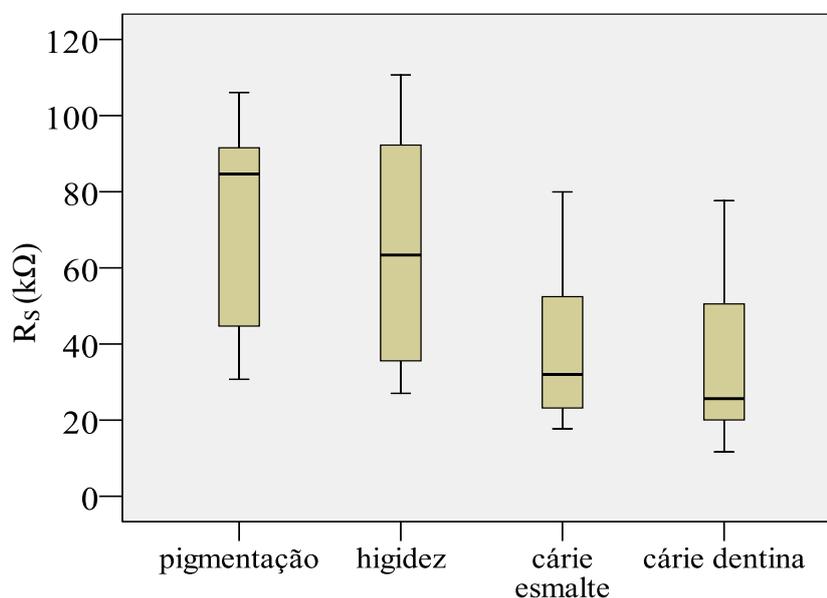


Figura 51: Valores do parâmetro  $R_S$  para os diferentes diagnósticos dentais.

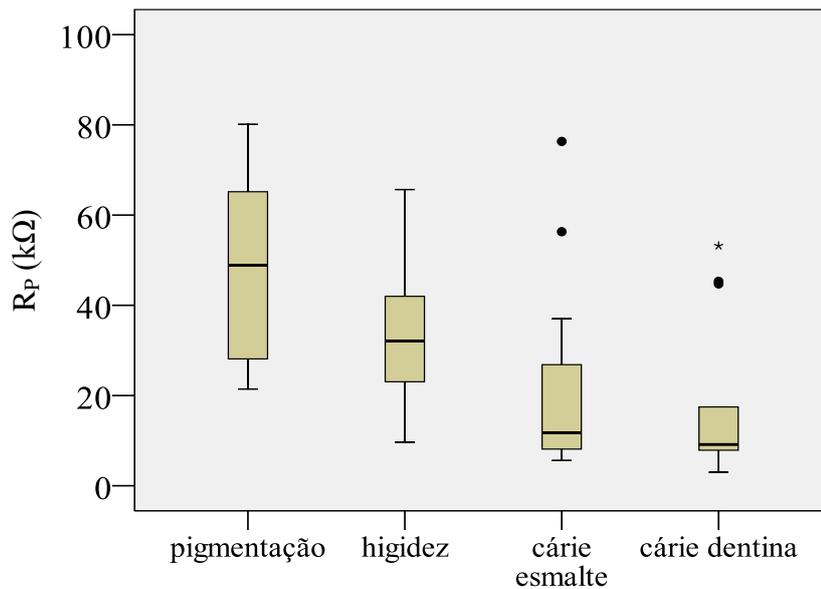


Figura 52: Valores do parâmetro  $R_p$  para os diferentes diagnósticos dentais.

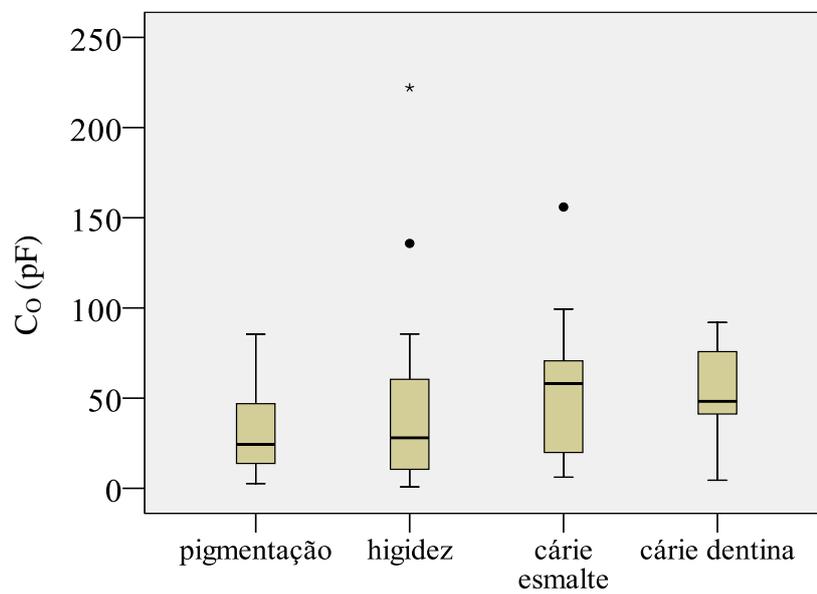


Figura 53: Valores do parâmetro  $C_o$  para os diferentes diagnósticos dentais.

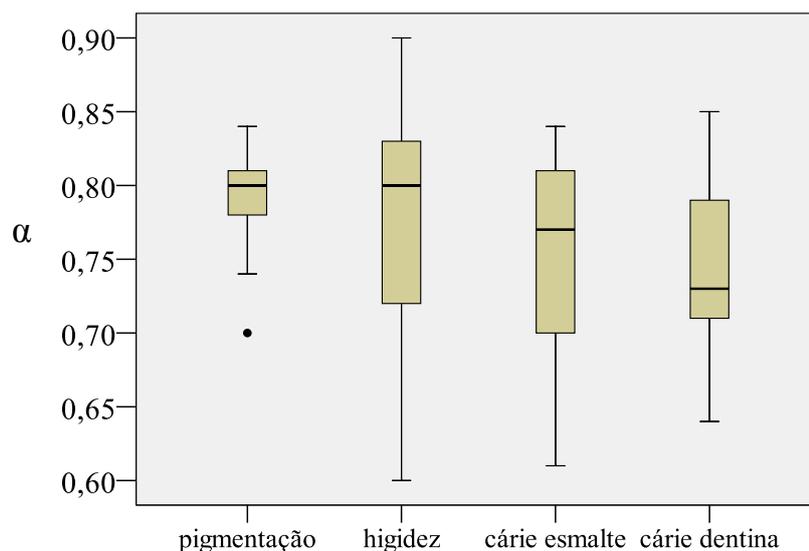


Figura 54: Valores do parâmetro  $\alpha$  para os diferentes diagnósticos dentais.

Foi aplicado o teste de Mann-Whitney para comparar os parâmetros de bioimpedância ( $R_S$ ,  $R_P$ ,  $C_0$  e  $\alpha$ ) entre os diferentes grupos de diagnóstico e os p valores podem ser observados na Tabela 4. Não foi possível encontrar diferenças significativas entre o grupo pigmentação e hígidez para nenhum parâmetro. Assim, esse grupo foi adicionado ao grupo hígido para análise em relação às cáries. Foi possível encontrar diferença estatisticamente significativa para  $R_S$  entre o grupo hígido/pigmentado e entre o grupo hígido/pigmentado e cárie em dentina cárie para  $R_S$ ,  $R_P$  e  $\alpha$ . Também não foi possível diferenciar o grupo cárie em dentina do grupo cárie em esmalte.

Com a intenção de descrever quantitativamente o desempenho de cada parâmetro como ferramenta diagnóstica e permitir estudar a variação da sensibilidade e especificidade para diferentes valores de corte foram realizadas as curvas ROC (*Receiver Operating Characteristic*) que podem ser vistas nas Figura 55, 56, 57, 58 e 59.

A curva ROC é um gráfico de sensibilidade (ou taxa de verdadeiros positivos) versus taxa de falsos positivos e a linha diagonal pontilhada que se encontra no meio do gráfico, corresponde a um teste que é positivo ou negativo, aleatoriamente. Apesar da curva ROC ser um índice visual da precisão do ensaio, a área sob a curva é um resumo estatístico útil para a determinação da acurácia e representa a probabilidade de que o resultado do ensaio de um caso positivo escolhido aleatoriamente irá exceder o resultado de um processo escolhido aleatoriamente negativo (MARTINEZ *et al.*, 2003).

HUYSMANS *et al.*(1996; 2000) propõe o logarítmico do inverso da soma das resistências como melhor parâmetro de correlação com a cárie. Assim, novas curvas ROC foram construídas a partir desse parâmetro. Na Figura 59 pode-se observar a curva ROC construída a partir do  $\log_{10}\left(\frac{1}{(R_s + R_p)}\right)$  para o diagnóstico de cárie de esmalte e dentina que será chamado nesta tese de índice LOG.

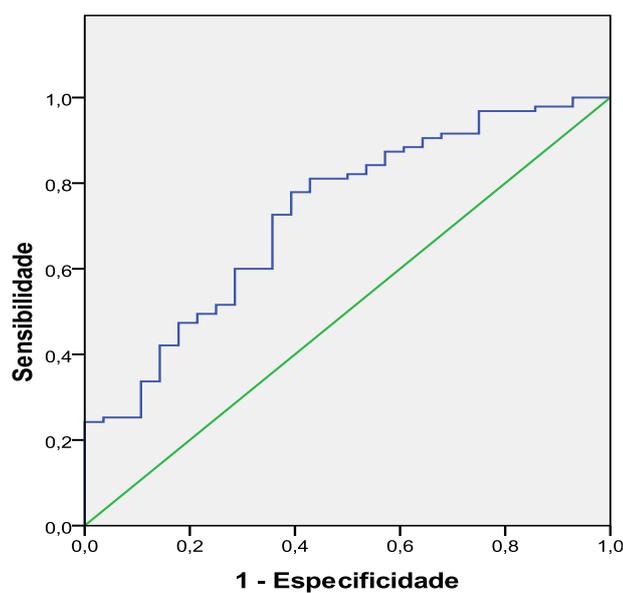


Figura 55: Curva ROC construída a partir dos dados do parâmetro  $R_s$  ( $p < 0,001$  e área sob a curva = 0,726).

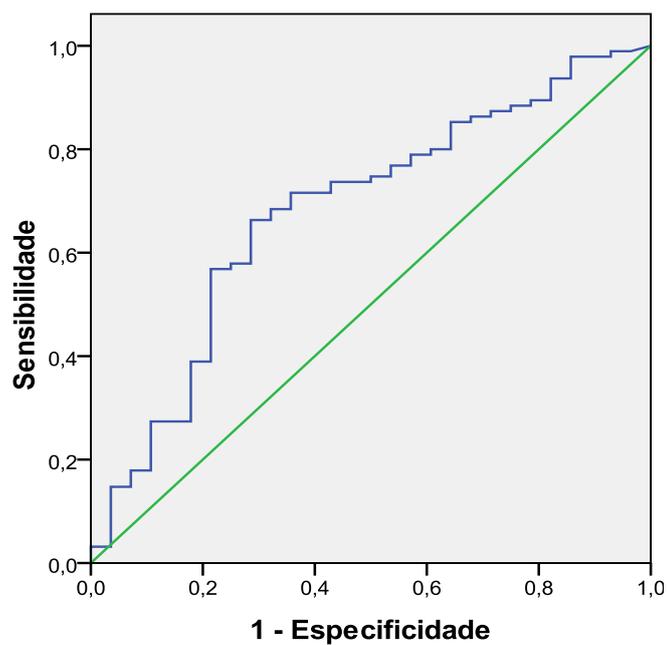


Figura 56: Curva ROC construída a partir dos dados do parâmetro  $R_p$  (significância = 0,04 e área sob a curva = 0,680).

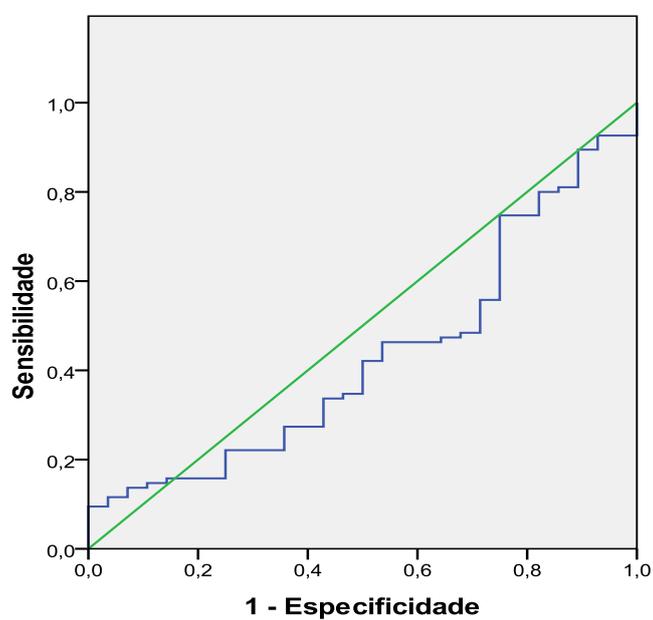


Figura 57: Curva ROC construída a partir dos dados do parâmetro  $C_0$  (significância = 0,26 e área sob a curva = 0,43).

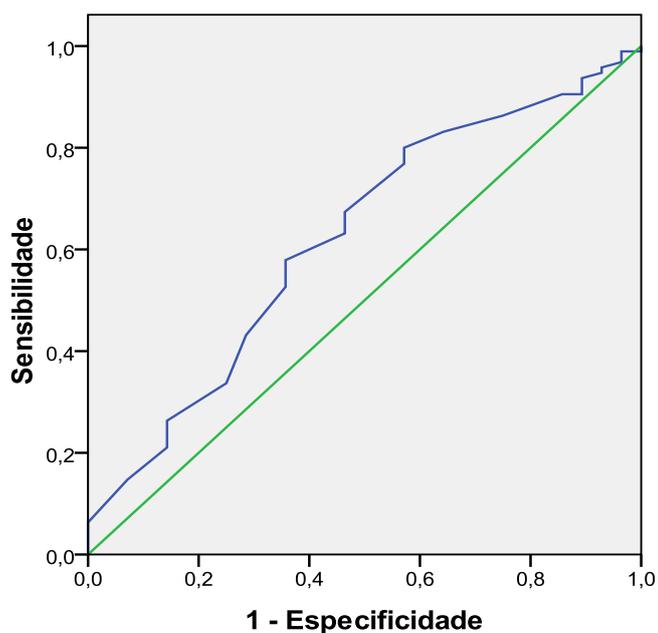


Figura 58: Curva ROC construída a partir dos dados do parâmetro  $\alpha$  (significância = 0,05 e área sob a curva = 0,622).

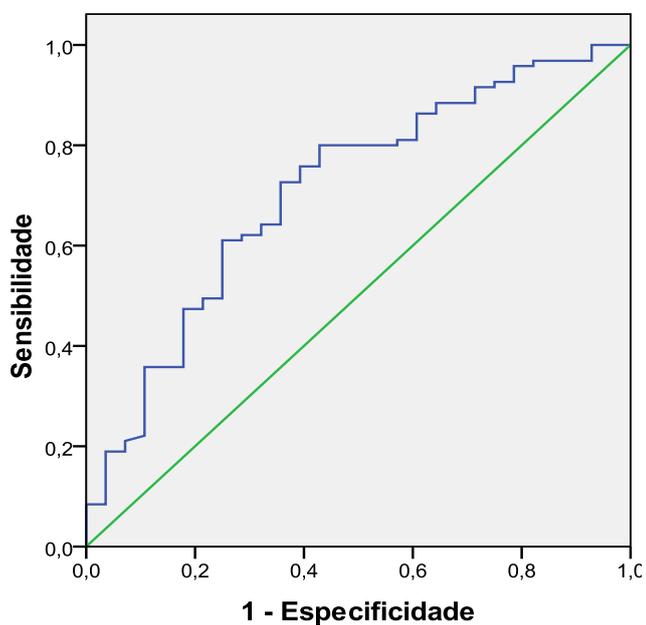


Figura 59: Curva ROC construída a partir do índice LOG (significância = 0,01 e área sob a curva = 0,710).

Tradicionalmente valores da área sob a curva acima de 0,7 são considerados satisfatórios, além do fato de ser considerada melhor a curva ROC que se aproxima

mais do canto superior esquerdo. Tomando como base esse paradigma somente  $R_S$  e o índice LOG parecem interessantes como ferramentas diagnósticas.

A construção das curvas ROC também permite escolher o melhor ponto de corte baseado em pares de valores de sensibilidade e especificidade. Assim, com a finalidade de comparação com a literatura, a Tabela 4, apresenta os valores escolhidos como pontos de corte para a detecção de cárie (esmalte ou dentina) e os valores de sensibilidade, especificidade e acurácia obtidos. Somente os parâmetros cuja área sob a curva ROC foi maior que 0,7 foram utilizados.

Tanto para  $R_S$  como para o índice LOG, quando utilizado o ponto de corte da Tabela 4, proporcionam por meio da método de BIS-VI um percentual de detecção de lesões em dentina de 61,0% e 61,5% com detecção de 100% de cáries em dentina profunda.

Tabela 4: Valores das medidas de desempenho obtidas a partir das curvas ROC

Medidas de desempenho				
parâmetros	ponto de corte	sensibilidade	especificidade	acurácia
$R_S$	33,73(k $\Omega$ )	77,9%	60,7%	73,2%
$\log_{10}\left(\frac{1}{R_S + R_P}\right)$	4,69	72,6%	69,2%	74,8%

#### 6.2.2.2. Diagnóstico visual e radiográfico

Após todas as análises visuais, os dentes foram submetidos à avaliação histológica. Cinco dentes foram descartados da pesquisa, pois o diagnóstico histológico foi inconclusivo. A amostra revelou que, apesar das faces oclusais apresentarem-se hígidas ou sem cavitação aparente, foi possível diagnosticar cáries em esmalte ou já atingindo a dentina. Também foram encontrados pontos de análise que possuíam apenas pigmentação nas fissuras sem qualquer aspecto de cárie. Esses pontos, para a comparação e avaliação final, foram considerados hígidos. Como o exame histológico

foi realizado pontualmente, para a comparação com os exames clínico e radiográfico feito pelos avaliadores, a face oclusal era considerada cariada quando fosse diagnosticada cárie histologicamente em qualquer ponto da sua superfície para que a unidade de avaliação fosse o dente (superfície oclusal). Quando havia dois pontos de cárie na superfície, esta era classificada sempre pela maior profundidade.

A amostra apresentou a presença de cárie em 33% dos dentes sendo 17,18% de cáries em esmalte (cárie incipiente) e 15,82% de cáries em dentina (cárie oculta). Na

Figura 60 pode ser observada a distribuição da amostra (prevalência) segundo o diagnóstico histológico por dente.

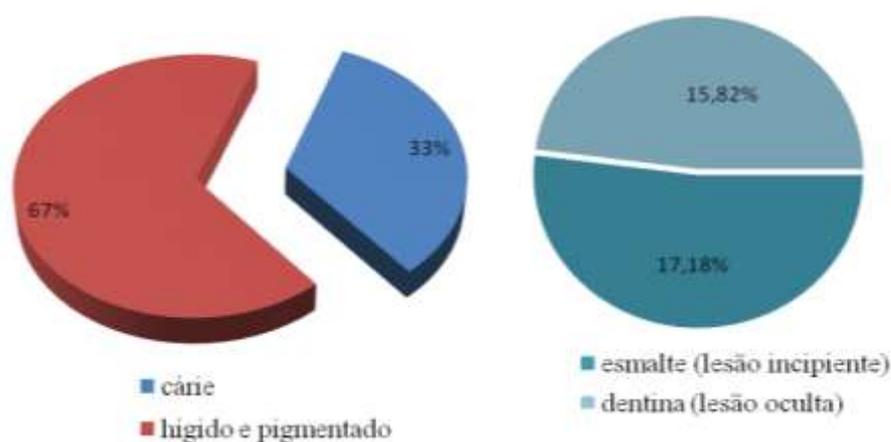


Figura 60: Distribuição percentual (prevalência) do diagnóstico histológico, por dente, em toda a amostra (lado esquerdo) e na parte da amostra em que foi detectada cárie (lado direito).

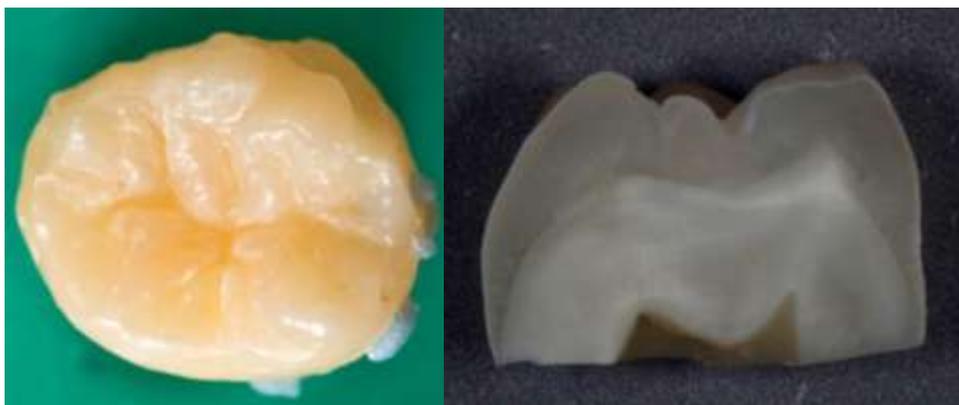


Figura 61: Fotografia oclusal do elemento 34 referente ao corte transversal no ponto de interesse 34o3 com diagnóstico histológico de higidez (E0).



Figura 62: Fotografia do elemento 55 referente ao corte transversal no ponto 55o1 com diagnóstico histológico de higidez (E0) pigmentado.



Figura 63: Fotografia do elemento 59 referente ao corte transversal no ponto de interesse 59o1 com diagnóstico histológico de cárie em esmalte (E3).



Figura 64: Fotografia do elemento 09 referente ao corte transversal no ponto de interesse 09o1 com diagnóstico histológico de cárie em dentina (D3).

Como a amostra foi de conveniência não foi possível garantir a distribuição igualitária da patologia nos dois grupos de dentes (PM e TM) e após o exame histológico pode-se verificar a presença de cárie somente no grupo dos terceiros molares. O grupo dos pré-molares possuía apenas dentes hígidos ou com pigmentos.

Assim, os dados do diagnóstico visual e radiográfico foram comparados ao diagnóstico histológico (padrão ouro) e avaliados através de medidas de desempenho (sensibilidade, especificidade e acurácia). Com a intenção de aproximar o padrão de diagnóstico proposto pelo *Consensus Development Conference on Diagnosis and Management of Dental Caries Throughout Life* (2001) daquele utilizado para agrupar os resultados da análise por bioimpedância (Figura 51, 52, 53 e 54) os diagnósticos foram reagrupados em 3 categorias: hígido (E0), cárie em esmalte (E1+E2) e cárie em dentina (D1+D2 +D3).

Os resultados médios encontrados (6 avaliadores) para 6 critérios e para a avaliação simplificada com apenas três categorias podem ser vistos nas Figura 65 e 66. Pode-se perceber que com a simplificação da avaliação houve um aumento da sensibilidade, especificidade e acurácia para os três tipos de avaliação (visual, radiográfico e combinado). A exceção pode ser percebida na especificidade do exame combinado cujo desempenho piorou com a simplificação da avaliação, passando de 60,2% para 59,0%.

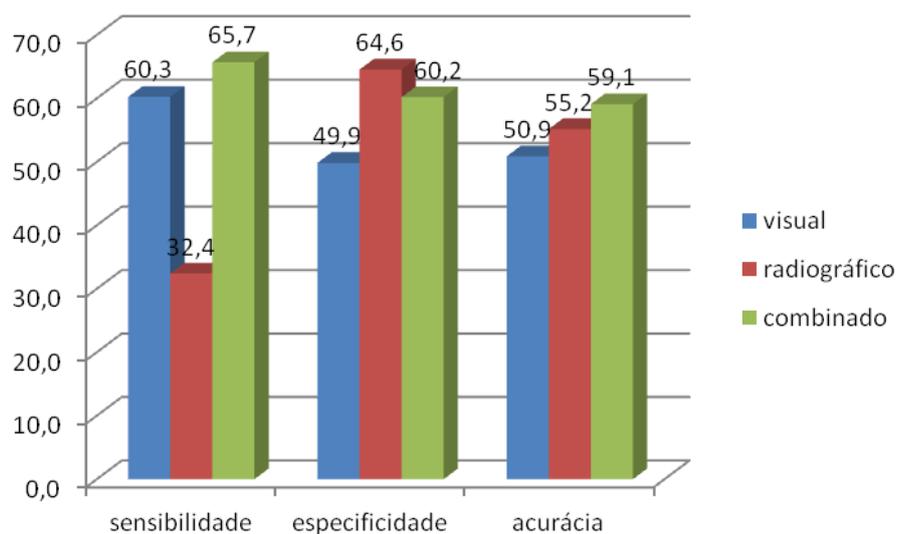


Figura 65: Percentuais médios das medidas de desempenho para as avaliações com seis categorias

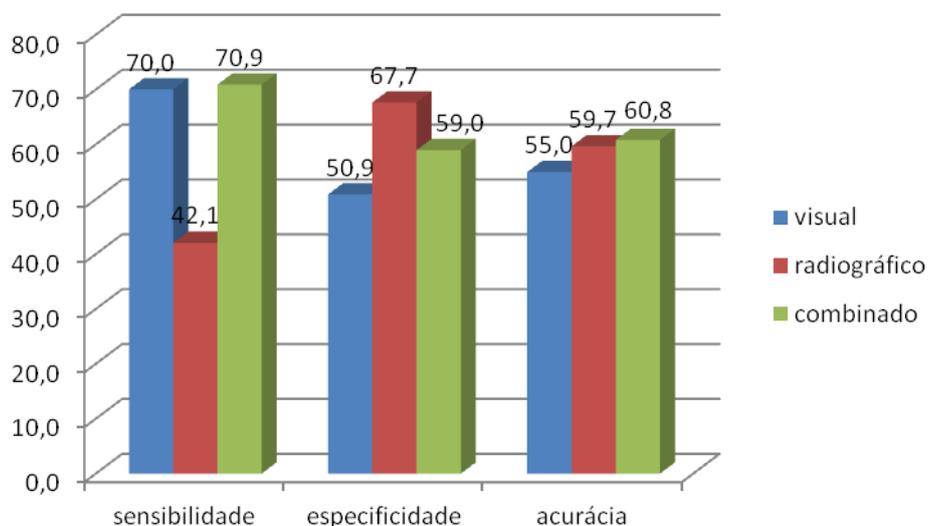


Figura 66: Percentuais médios das medidas de desempenho para categorias simplificadas.

Quando a amostra foi separada por tipo de cárie e com o diagnóstico utilizando apenas 3 critérios (categorias simplificadas), a média de acertos para cárie em esmalte, ou seja, a proporção de diagnósticos positivos entre todos com diagnóstico positivo correto foi 58,3% para o diagnóstico visual, 33,3% para o diagnóstico radiográfico e

58,3% para o diagnóstico combinado e para cáries em dentina (cáries ocultas) foi de 24,1% para o diagnóstico visual, 37% para o diagnóstico radiográfico e 37% para o diagnóstico combinado.

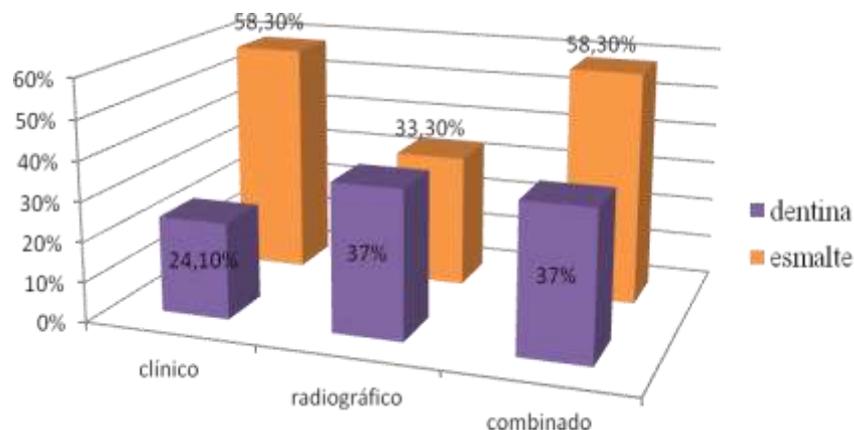


Figura 67: Percentuais médios dos acertos para a avaliação clínica, radiográfica e combinada (3 critérios, categorias simplificadas).

Para a análise da concordância inter-avaliadores (n=6) em relação aos diagnósticos visual, radiográfico e combinado, da amostra (n=58) foi utilizado o índice estatístico Kappa Fleiss. O coeficiente para a análise simplificada com 3 categorias foi de 0,50 para o diagnóstico visual, 0,56 para o diagnóstico radiográfico e 0,51 para o diagnóstico combinado (visual e radiográfico).

## 7. Discussão

### 7.1. Protocolo experimental

A literatura tem apontado para o arranjo tetrapolar de eletrodos como sendo a melhor escolha para a análise de tecidos biológicos, porque, a princípio, eliminam-se os efeitos da interface eletrodo/tecido, além deste arranjo ser menos sensível aos artefatos de movimento (GRIMNES & MARTINSEN, 2008f). O arranjo bipolar utilizado nos estudos iniciais (MORAIS & SOUZA, 2006a; MORAIS & SOUZA, 2006b; MORAIS & SOUZA, 2007; MORAIS *et al.*, 2008; MORAIS *et al.*, 2009; MORAIS *et al.*, 2010) e no estudo final com o modelo utilizando o CPE se justifica pela facilidade de aplicação do método em uma amostra de tamanho reduzido (dente), onde é praticamente impossível a aplicação de um método tetrapolar. Preocupação especial foi dirigida ao tamanho da ponta ativa do eletrodo que entrou em contato com dente (eletrodo de medição). Essa ponta ativa teve seu tamanho reduzido o bastante (2 mm) para fazer o diagnóstico pontual das lesões de cárie sem provocar danos a superfície possivelmente fragilizada dessa mesma lesão. Sabe-se, porém, que o tamanho dessa ponta é inversamente proporcional a sua resistência. Assim, quando se diminui esse diâmetro a proporções microscópicas, como no caso dos equipamentos com pontas agulhadas (ECM<sup>®</sup>), aumenta-se de maneira considerável a influência da impedância do eletrodo nas medidas de bioimpedância (OUTHWAITE, 1975).

A presença de um agente de acoplamento (gel de contato) foi ignorada em muitos estudos atuais que utilizaram a bioimpedância (CZAJCZYNSKA-WASZKIEWICZ *et al.*, 2006; PITTS *et al.*, 2006; CZAJCZYNSKA-WASZKIEWICZ *et al.*, 2007; LOS *et al.*, 2007; GUIMERA *et al.*, 2008; PITTS *et al.*, 2008a; BUCHGRABER *et al.*, 2009) já que existe recomendação de alguns fabricantes em relação ao contato direto com o dente, além da medição ser feita sob um fluxo de ar constante de alguns equipamentos (ECM<sup>®</sup> e *Vanguard Electronic Caries Detector*<sup>®</sup>) tornando virtualmente impossível a utilização de um gel de acoplamento.

Como já mencionado, estudos preliminares (MORAIS & SOUZA, 2006a; MORAIS & SOUZA, 2006b; MORAIS & SOUZA, 2007) apontaram o fato de que em condições normais de uma interface regular e com uma área de contato de diâmetro não em formato agulha, a impedância da solução eletrolítica e dos eletrodos poderia ser desconsiderada frente à impedância dental. Contudo, irregularidade da superfície do

dente e o modo como o eletrodo de exploração é colocado sobre esta superfície pode levar a áreas efetivas de contato bem pequenas e propiciar impedâncias de eletrodo comparáveis, ou até maiores, que a própria impedância dental. Estes efeitos podem fazer com que os valores de bioimpedância estimados por meio do modelo exposto na Figura 37(b) apresentem valores acima da faixa esperada, além de um considerável dispersão (MORAIS & SOUZA, 2007; MORAIS *et al.*, 2009). Apesar de alguns autores utilizarem dentífrico, soro fisiológico e pasta profilática dental (ASHLEY *et al.*, 1998), o gel lubrificante íntimo KY<sup>®</sup> foi considerado o agente de acoplamento mais adequado para medições de bioimpedância (SAWADA, 1986; ASHLEY *et al.*, 1998; MOSAHEBI & RICKETTS, 2002). Por sua composição (água, glicerina, propilenoglicol, hidroxietilcelulose, fosfato monobásico de sódio, metilparabeno, fosfato dibásico de sódio e propilparabeno) o KY<sup>®</sup>, nessa função, pode ser considerado como um gel eletrolítico, assim, decidiu-se por utilizar um gel condutor de base aquosa industrial (condutividade de 2 S/m) fabricado com essa finalidade (Carbogel<sup>®</sup>) para acoplamento de transmissão e captação de sinais elétricos.

Outro aspecto importante para o estudo da bioimpedância dental é a umidade da amostra. MORAIS *et al.* (2009) avaliaram o comportamento dos sinais de corrente (técnica BIS-VI) ao longo de 4 minutos de exposição ao ar ambiente (desidratação) e 2 diferentes protocolos de secagem do dente (somente a face investigada ou todas as faces). Concluiu-se que durante os dois primeiros minutos, os sinais de corrente sofriam uma queda em magnitude, porém mantinham o formato exponencial típico. Após esse período essa queda tornava-se desprezível revelando a influência da desidratação no período inicial e a necessidade de aperfeiçoamento no protocolo de medição. Assim, a adoção desse protocolo foi essencial na diminuição dos erros relativos ao ambiente.

Devido aos diferentes protocolos e técnicas utilizados na literatura e as distintas maneiras pelas quais as medições são obtidas, a comparação dos valores estimados por meio da técnica BIS-VI para os constituintes dos modelos elétricos dentais (valores de resistência, capacitância, etc.) deve ser feita com cautela, contudo, alguns pontos serão confrontados a seguir.

## **7.2. Estudos iniciais**

O método de espectroscopia de bioimpedância baseado na resposta de corrente ao degrau de tensão apesar de não ser um método recente (NEVES & SOUZA, 2000) nunca havia sido utilizado para o diagnóstico de lesões de cárie, assim, os resultados dos

estudos preliminares utilizando o modelo elétrico com resistências e capacitâncias (Figura 36, p.56), foram imprescindíveis para que se realiza a técnica com segurança em dentes com cáries de difícil diagnóstico.

Com os primeiros estudos (MORAIS & SOUZA, 2006a; MORAIS & SOUZA, 2006b) foi possível obter os dados iniciais da técnica resposta da corrente à excitação por degrau de tensão aplicada ao elemento dental (terceiros molares e pré-molares). Apesar do método não conseguir distinguir diferentes tipos de faces (lisas e oclusais) ou dentes, os parâmetros de bioimpedância se mostraram sensíveis à detecção da lesão cariada variando inclusive de acordo com a gravidade e invasividade da lesão. Regiões mais cariadas apresentavam menores valores de resistência e maiores valores de capacitância, achados também reportados por outros estudos de bioimpedância dental (RICKETTS *et al.*, 1996; HUYSMANS *et al.*, 1998; LONGBOTTOM & HUYSMANS, 2004).

Nos estudos seguintes (MORAIS & SOUZA, 2007; MORAIS *et al.*, 2008), o método proposto, foi capaz de caracterizar os diferentes tipos de superfícies dentais (lisa e fissurada) e elementos dentais (TM e PM) concordando com os achados de KACZMAREK, LOS *et al.* (2001) e LONGBOTTOM & HUYSMANS (2004).

As faces lisas de dentes PM e TM perfurados mecanicamente não puderam ser diferenciados estatisticamente. Este achado pode ser explicado pela anatomia das faces lisas desses elementos dentais, pois as paredes que circundam os TM e os PM são constituídas de esmalte e dentina com espessuras semelhantes (ORBAN & BHASKAR, 1991; MACHO & BERNER, 1993; STROUD *et al.*, 1994), soma-se a isso o fato de que as perfurações foram padronizadas não respeitando a proporcionalidade em volume dos diferentes tipos de dente. Também pode-se observar que ocorreu um decréscimo significativo nos parâmetros  $R_1$  e  $R_2$  e um aumento de  $C_m$  com a remoção de camadas sucessivas de esmalte (Figura 41, p. 67). Comparando os diferentes grupos, dois a dois, foi possível encontrar os valores de  $p$  variando entre 0,02 e 0,05. No entanto, algumas diferenças não foram estatisticamente significativas, especialmente nos parâmetros  $R_2$  e  $C_m$ . A retirada de parte dessa substância dental leva a uma significativa diminuição nos valores de resistência do dente. No modelo proposto parece que tanto  $R_1$  como  $R_2$  estão relacionadas com essa resistência. Acredita-se que 95% da resistência do dente podem ser atribuídos ao esmalte, em especial as camadas mais externas do esmalte, que sendo constituído basicamente de hidroxiapatita possui alto valor de resistividade elétrica (LEVINKIND *et al.*, 1990; HUYSMANS *et al.*, 1996). Ao se retirar um pedaço da

camada externa do esmalte seria esperado que somente  $R_1$  e  $R_2$  sofressem mudanças em seus valores, porém o parâmetro  $C_m$  também sofreu mudanças significativas. HUYSMANS *et al.* (1996) mostraram em seu trabalho valores de 1 a 5 pF para a capacitância de dentes hígidos. Se considerarmos o esmalte dental como um dielétrico, quanto mais fino for este elemento maior a capacitância que explicaria a mudança de valores observada com a perda parcial de espessura de esmalte.

Sendo assim, o modelo elétrico com resistências e capacitâncias (Figura 36, p.56), utilizado nos trabalhos iniciais não teve uma correlação anatômico-fisiológica direta com os componentes do dente sendo o modelo mais explicativo que descritivo. Desse modo, esperava-se que a introdução de novos componentes no modelo elétrico, que se relacionem com a heterogeneidade do material, como por exemplo o CPE (elemento de fase constante), pudesse levar a melhora na interpretabilidade dos resultados.

### **7.3. Estudo final**

Nos resultados utilizando o modelo com CPE desta tese foi possível perceber uma dispersão elevada dos valores de  $R_S$ ,  $R_P$ ,  $C_O$  e  $\alpha$  semelhante à encontrada nos outros estudos. TEN BOSCH, FENNIS-LE *et al.* (2000) relatam que o desvio padrão das medidas de resistência elétrica é frequentemente 100% do valor da média das medidas e esse fato está relacionado à variabilidade do elemento biológico, o dente. Pontos fora da curva com resistência muito diminuída podem ser devido a fendas no esmalte causadas pelo processo da extração já que a pesquisa foi realizada *in vitro* ou o ponto de medição possui algum grau de hipomaturação, fluorose ou hipomineralização que não pode ser diagnosticado através da avaliação histológica. De modo semelhante, pontos fora da curva com resistência aumentada podem estar relacionados a áreas de hipermineralização já que o esmalte não é um sólido homogêneo (HUYSMANS *et al.*, 1995; LONGBOTTOM & HUYSMANS, 2004).

#### **7.3.1. Superfícies lisas**

Em relação às superfícies lisas, foi possível perceber que não houve diferença estatisticamente significativa entre os diferentes pontos estudados em uma mesma superfície tanto para TM e PM. Esse fato possibilitou o agrupamento de dados para a análise em conjunto, ou seja, os dois pontos mensurados em cada uma dessas superfícies assim como as medições na superfície vestibular e lingual puderam ser

avaliados como um só conjunto facilitando a análise (Figura 46, p.71). Nesta tese, utilizando o modelo com CPE, as faces lisas de pré-molares e terceiros molares não puderam ser diferenciadas discordando dos achados de HUYSMANS *et al.* (1998). Cabe ressaltar que no exercício clínico odontológico, a separação entre PM e TM através da bioimpedância não parece ter aspecto prático.

Estudos que utilizaram a espectroscopia de bioimpedância (BIS) para a análise, encontraram valores de  $53,47 \pm 11,2 M\Omega$  (LONGBOTTOM *et al.*, 1996) e  $68 \pm 29 M\Omega$  (HUYSMANS *et al.*, 1996) relacionados à resistência das faces lisas hígidas de pré-molares. Nesses dois artigos, esses valores estão relacionados à totalidade da resistência e foram obtidos pela soma das resistências do modelo elétrico proposto (Figura 28, p.47). Para uma comparação com a literatura procedeu-se a soma dos valores de  $R_S$  e  $R_P$  encontrados nesta tese cuja média foi de:  $91,83 \pm 51,27 k\Omega$ . Outro trabalho de HUYSMANS *et al.* (1998) utilizando o mesmo modelo elétrico (Figura 28, p.47) estabeleceu valores limite de  $507 k\Omega$  e  $233 k\Omega$  para superfícies lisas hígidas de molares e pré-molares, porém, foi utilizado um meio de condução (gel) espalhado em toda a superfície oclusal. Se comparados aos valores do estudo de HUYSMANS *et al.* de 1996, pode-se notar que houve uma considerável diminuição nos valores desse parâmetro resistivo confirmando a influencia do meio de contato nas medições. Ainda assim, valores de  $507 k\Omega$  (molares) e  $233 k\Omega$  (pré-molares) são maiores que os  $91,83 \pm 51,27 k\Omega$  desta tese. Entretanto, pode-se atribuir essa diferença aos diversos modelos elétricos utilizados nos estudos comparativos, todos sem CPE.

### 7.3.2. Superfícies oclusais

A abordagem preventiva em odontologia, parte da premissa que a detecção precoce de lesões de cárie pode minimizar os tratamentos invasivos ou diminuir a complexidade dos mesmos. As lesões de cicatrículas e fissuras são as de maior dificuldade diagnóstica devido ao seu padrão morfológico e pela dificuldade de higienização dessas áreas dentais (REIS *et al.*, 2006; BRAGA *et al.*, 2010; EWOLDSSEN & KOKA, 2010; ZERO *et al.*, 2011). A literatura aponta como melhor método para a detecção de lesões de cárie, a combinação do método táctil-visual e o radiográfico apesar de esse método ter um desempenho precário, em especial na detecção de lesões não cavitadas (BAELUM, 2010; EWOLDSSEN & KOKA, 2010).

No intuito de revelar o problema do diagnóstico da cárie oclusal, os dentes utilizados nesta, possuíam lesões cuja detecção é particularmente difícil e desafiante

(dentes hígidos, com pigmentações ou cáries sem cavitação) e para fins comparativos, foram realizados, por especialistas voluntários, apenas o exame visual e o radiográfico já que o exame tátil vem sendo descartado pela comunidade científica (EKSTRAND *et al.*, 1987; PITTS, 1991; NEWBRUN, 1993; AXELSSON, 2000; MCDONALD *et al.*, 2011). Essa amostra de dentes, apesar de ser uma amostra de conveniência, revelou-se com uma prevalência de cárie oculta (15,82%), bastante semelhante à reportada na literatura existente (WEERHEIJM *et al.*, 1992; COSTA *et al.*, 2002). Esse fato tem particular importância, pois quando se pretende utilizar testes de desempenho de diagnóstico, a inclusão de um grande número de lesões (grande prevalência) resulta em uma superestimação dos valores de sensibilidade enquanto a inclusão de um grande número de dentes hígidos em um estudo resulta em uma superestimação dos valores de especificidade (VERDONSCHOT *et al.*, 1991).

Nas avaliações realizadas pelos 6 especialistas com a simplificação dos critérios, o exame visual teve melhor valor de sensibilidade que o exame radiográfico e em relação à especificidade, o exame radiográfico obteve melhor desempenho que o exame visual (Figura 66, p.85). Já os valores preditivos para lesões em esmalte foram melhores para o exame visual e os valores preditivos para cárie em dentina foram melhores para o exame radiográfico (Figura 67, p.86). Apesar de BADER *et al.*(2002) e EWOLDSSEN (2010) afirmarem que o exame visual possui uma boa especificidade e baixa sensibilidade, esse fato não foi confirmado nesta tese, provavelmente pela natureza das lesões de cárie da amostra que dificultava o reconhecimento de verdadeiros negativos (especificidade). Deve-se salientar que esse desempenho foi obtido em condições otimizadas de observação (*in vitro*), com indivíduos bem treinados e com um critério diagnóstico simplificado (hígido, cárie em esmalte e cárie em dentina). Assim, é possível concluir que lesões de cárie incipientes foram mais bem detectadas pelo exame visual e as lesões de cárie oculta pelo exame radiográfico revelando a necessidade de um exame combinado (visual + radiográfico) cujo valor médio de acurácia foi de 60,8% e os valores de sensibilidade e especificidade foram respectivamente 70,9% e 59,0% (Figura 66, p.85). Os valores do exame de concordância inter-avaliadores (Kappa Fleiss) para o exame visual, radiográfico e do exame combinado ficaram na faixa considerada apenas moderada (LANDIS & KOCH, 1977). Assim, com base nesses estudos da amostra de dentes utilizada e em dados da literatura (KIDD *et al.*, 1993; NORLUND *et al.*, 2009b; BAELUM, 2010) pode-se concluir que no diagnóstico de

lesões de cárie oculta e incipiente os métodos tradicionais apresentam um desempenho irregular e pouco eficiente representando ainda um desafio.

Como alternativa ao diagnóstico clínico e radiográfico, a bioimpedância tem sido utilizada com relativo sucesso durante as últimas décadas. Os estudos que utilizaram essa metodologia (bioimpedância) basearam-se na avaliação dos parâmetros resistivos do modelo elétrico ou com mais frequência o logaritmo do inverso da soma das resistências (HUYSMANS *et al.*, 1995; LUSSI *et al.*, 1995; HUYSMANS *et al.*, 1996; RICKETTS *et al.*, 1996; HUYSMANS *et al.*, 1998; HUYSMANS *et al.*, 2000; KUHNISCH *et al.*, 2006; CZAJCZYNSKA-WASZKIEWICZ *et al.*, 2007).

Os valores médios de resistência (soma de resistências) para a superfície oclusal nos grupos hígido, cárie em esmalte e cárie em dentina foram respectivamente 53M $\Omega$ , 3,7M $\Omega$  e 0,3M $\Omega$  nos estudos de HUYSMANS *et al.*(1996) e LONGBOTTOM *et al.*, (1996). Em outro estudo os valores limite para faces oclusais híginas foram de 10M $\Omega$  a 99M $\Omega$  para o ECM<sup>®</sup> e 1,1 M $\Omega$  a 2,0M $\Omega$  para o CRM<sup>®</sup> (KUHNISCH *et al.*, 2006). CZAJCZYNSKA-WASZKIEWICZ *et al.* (2007) que possui o único estudo que utiliza um modelo com CPE capaz de fornecer valores comparáveis aos dessa tese, chegaram a valores de resistência maiores que 0,5 M $\Omega$  para superfícies oclusais híginas e valores menores que 0,2 M $\Omega$  para superfícies com cáries em dentina profunda. Os valores médios da soma das resistências ( $R_S + R_P$ ) encontrados nesta tese utilizando o BIS-VI com o modelo com CPE foram 83,97k $\Omega$  para regiões híginas, 93,23k $\Omega$  para regiões pigmentadas, 60,77k $\Omega$  para regiões com cárie incipiente (em esmalte) e 52,96k $\Omega$  para cáries ocultas (em dentina).

A comparação dos parâmetros  $R_S$  e  $R_P$  (Figura 51 e 52, p.76), nos diferentes grupos (sítios saudáveis; sítios de cárie em esmalte e sítios com cárie em dentina) mostra diferença estatisticamente significativa entre o grupo cárie em esmalte e grupo hígidos/pigmentado com valores resistivos mais altos para regiões híginas/pigmentadas. Além disso, a análise das curvas ROC nos permitiu afirmar que os melhores parâmetros para a detecção de cárie foram  $R_S$  e o índice LOG. Dessa maneira, pode-se dizer que os valores de resistência podem ser associados ao diagnóstico dental através do método BIS-VI utilizando o modelo com CPE, pois existe uma forte correlação entre resistência elétrica e a presença de lesão independente de sua profundidade.

Apesar de não haver sido encontrada diferença estatisticamente significativa, os sítios pigmentados parecem ter valores de resistência maiores do que os dos sítios saudáveis concordando com os trabalhos de ELLWOOD & CORTES (2004) e

KUHNISCH *et al.* (2006) que mostram um aumento da resistência de sulcos com manchas em molares, apesar desses autores não utilizarem o CPE em seus modelos elétricos. CORTES *et al.* (2003), entretanto, encontraram resistências menores para esses sítios. Esse fato, porém, é conflitante com a descrição histológica dessa característica (pigmentação), comumente chamada de selamento biológico, pois a mesma representa um processo de mineralização da placa dentária de fissuras, tendendo a obliterá-las fazendo-as mais resistente que o resto do esmalte (GALIL & GWINNETT, 1975).

EKSTRAND *et al.* (1998), CORTES *et al.*(2000) e CORTES *et al.*(2003) demonstraram que a presença de manchas escuras pode reduzir significativamente o desempenho de diferentes métodos diagnósticos na detecção da cárie oclusal, incluindo o método tradicional (tátil/visual). Em 1997, ANUSAVICE relata que dentistas são frequentemente relutantes em deixar uma lesão ou mancha sem restaurar, com receio de que procedimentos preventivos e conservadores possam ser considerados como negligência por seus colegas e pelos tribunais de leis levando assim a inúmeros tratamentos invasivos (restauradores) desnecessários. Particularmente o método proposto nesta tese foi bastante eficaz em diferenciar sítios com pigmentação daqueles com cárie em esmalte ou dentina (Tabela 3, p.75).

Apesar dos parâmetros resistivos terem grande importância na detecção das lesões de cárie, PITTS *et al.* (2006) utilizando BIS em um modelo com o CPE puderam constatar que os parâmetros capacitivos também são relevantes para o diagnóstico. Quando analisamos os resultados obtidos nesta tese com o método proposto por NEVES e SOUZA (2000) aplicado ao modelo dental, o parâmetro  $C_0$ , parâmetro do CPE que não corresponde exatamente à capacitância, apresentou uma pequena tendência a ser menor em sítios saudáveis quando comparado com os de cárie, porém esse parâmetro não apresentou diferença estatística em nenhuma comparação e a área sob a curva ROC para esse parâmetro apresenta-se perto dos valores incapazes de discriminar sítios hígidos e cariados (0,43) concordando com os achados de LIAO *et al.* (2007a) que utilizou o modelo elétrico com CPE e HUYSMANS *et al.* (1996) que utilizou um modelo sem CPE. Esses autores afirmam que o processo de desmineralização do esmalte em que cristais de hidroxiapatita são desorganizados e dissolvidos e então substituídos por ar ou fluido eletrolítico tem um pequeno efeito na capacitância.

Esta tese avaliou também o parâmetro  $\alpha$  do CPE do modelo elétrico proposto em relação ao diagnóstico de lesões cariosas. Segundo LIAO *et al.* (2007b); XU *et*

*al.*,(2008), esse parâmetro está relacionado à frequência de dispersão das constantes de tempo provocadas pela heterogeneidade local. Já, segundo HUYSMANS *et al.* (2000), esse parâmetro confere flexibilidade ao ângulo de fase e ao módulo da impedância, contribuindo assim para a redução das distorções entre a curva experimental e a curva teórica. Nesta tese, houve uma diminuição no valor de  $\alpha$  com a progressão da cárie. Porém, esses valores foram significativamente menores somente para cáries ocultas, ou seja aquelas mais profundas, em dentina (Tabela 3, p.75). As lesões incipientes de cárie (cárie em esmalte) se caracterizam por modificações superficiais (mancha branca), porém em lesões ocultas, a grande transformação está em regiões mais profundas e menos minerais que se tornam extremamente porosas podendo haver inclusive perda de substância (Figura 64, p.84). Assim, a explicação de um aumento da rugosidade ligada a  $\alpha$  proposta por LIAO *et al.* (2007b) e XU *et al.* (2008) parece plausível.

Porém, outra interpretação possível está relacionada à capacitâncias parasitas da instrumentação que poderia causar heterogeneidades na densidade de corrente e, assim, desvios do comportamento ideal da impedância capacitiva e assim dificultar a adequação da curva teórica à curva experimental (LEVINKIND *et al.*, 1990; LEVINKIND *et al.*, 1992; KIM *et al.*, 2003; JORCIN *et al.*, 2006; XU *et al.*, 2008). Nesta tese foi possível perceber a boa correlação existente entre as curvas teóricas obtidas pela análise do modelo elétrico incluindo o CPE e as curvas experimentais (Figura 47 e Figura 48, p.72 e Figura 49 e Figura 50, p.73) o que reforça o conceito de adequação do modelo elétrico proposto ao substrato estudado.

Deve-se levar em conta também que os tecidos que compõe a maior parte do elemento dental (esmalte e dentina) são materiais relativamente “simples” para o desenvolvimento de circuitos equivalentes, porém, a cárie torna esses circuitos mais complexos transformando os poros do esmalte e dentina em estruturas irregulares e mais heterogêneas à medida que o processo patológico avança (LONGBOTTOM & HUYSMANS, 2004). Outros autores sugerem que certos aspectos físicos das amostras (por exemplo, distribuição de cargas nas paredes dos poros de esmalte e dentina) também podem ser atribuídos diretamente ao CPE (LEVINKIND *et al.*, 1990; HUYSMANS *et al.*, 1996; PITTS *et al.*, 2006; LIAO *et al.*, 2007a). Nesta tese, apesar dos valores de  $\alpha$  serem estatisticamente significativos na detecção de lesões profundas, não foi possível a correlação direta entre os elementos do circuito elétrico, inclusive o CPE, com nenhuma estrutura dental revelando-se ser esse modelo mais explicativo que descritivo. Dessa maneira, a inclusão do CPE no modelo elétrico desta tese

proporcionou um circuito equivalente bem realístico tanto para a higidez dental como para o processo carioso assim como parece haver alguma representatividade do parâmetro  $\alpha$  para a indicação de cáries.

Diversos parâmetros e modelos elétricos vêm sendo utilizados para a detecção de lesões de cárie porém, o sucesso é bastante variado na literatura. Estudos com o ECM<sup>®</sup> que utilizavam basicamente a resistência elétrica como parâmetro de avaliação obtiveram índices de sensibilidade variando entre 57% a 93% e especificidade de 64% a 100% em estudos com diferentes estágios de cárie, diferentes protocolos de uso de meio de contato e diferentes prevalências de cárie na amostra (Tabela 1, p.40).

Estudos mais recentes (*in vitro*) que fazem uso da bioimpedância e utilizam parâmetros resistivos e capacitivos para a detecção de lesões de cárie oclusais obtiveram taxas de sucesso (acurácia) variando entre 79,4% e 93% (CZAJCZYNSKA-WASZKIEWICZ *et al.*, 2007; LONGBOTTOM *et al.*, 2007; LOS *et al.*, 2007; PITTS *et al.*, 2008a). Nesses estudos porém, as altas taxas de prevalência de lesões de cárie nas amostras testadas (83,9% a 92,3%) podem deteriorar os bons resultados encontrados. Dois estudos *in vivo* com o único equipamento do mercado Cariescan<sup>®</sup> revelaram bons índices de concordância intra-examinador e inter-examinadores (HALLA *et al.*, 2007) e uma pobre correlação com o diagnóstico radiográfico para caries oclusais sem cavitação (BUCHGRABER *et al.*, 2009).

Um estudo *in vitro* de PITTS *et al.* (2008b) utilizou como amostra 128 sítios com uma prevalência de 38,1% de cáries oculta, que se aproxima bastante dos relatos da literatura (WEERHEIJM *et al.*, 1992; COSTA *et al.*, 2002) e apresentou detecção de 31% de todas as cáries ocultas (lesões em dentina não cavitadas) e 100% das cáries ocultas em dentina profunda. A detecção deste tipo de cárie tem grande importância no processo de prevenção já que quando a cárie encontra-se em um processo avançado a única abordagem possível é o tratamento restaurador invasivo (SHWARTZ *et al.*, 1984)

Nesta tese, os dados da Tabela 4, p.81 apresentam números bastante promissores. Apesar desses números (sensibilidade, especificidade e acurácia) terem sido conseguidos a partir da mesma amostra em que foram obtidos os valores de corte, é possível verificar que a aplicação do método de BIS-VI à detecção de lesões de cárie parece bastante promissor se comparada à literatura. Os valores de sensibilidade para  $R_S$  (77,9%) e para o índice LOG (72,6%) foram superiores aos valores obtidos pelos voluntários tanto para o diagnóstico visual das lesões (70,0%), como para o diagnóstico radiográfico (42,1%) e o combinado (70,9%). Os valores de especificidade para o

parâmetro  $R_S$  (60,1%) e para o índice LOG (69,2%) foram bem superiores ao tradicional diagnóstico visual (50,9%) e o índice LOG se mostrou superior inclusive ao diagnóstico radiográfico (67,7%). A acurácia obtida a partir de  $R_S$  ou do índice LOG, apresenta-se em 71 e 73% e o método de BIS-VI apresentou um percentual de detecção de lesões em dentina, 61,0% para  $R_S$  e 61,5% para o índice LOG, bem superior ao estudo de PITTS *et al.* (2008b) além da detecção de 100% de cáries em dentina profunda independente do parâmetros usado ( $R_S$  ou índice LOG).

A detecção de lesões ocultas assim como de lesões iniciais em esmalte tem grande importância para a Odontologia. As primeiras pela inadiável necessidade restauradora mesmo frente à lenta evolução do processo cariioso e a segunda pela oportunidade de tratamento conservador não restaurativo. Ambas se corretamente diagnosticadas evitam sofrimento e gastos desnecessários para o paciente, assim como contribuem para uma Odontologia de alto nível sem intervenções desnecessárias mas sim com tratamentos judiciosos eficazes.

## 8. Conclusão

Esta tese teve como objetivo geral investigar a aplicação da técnica de espectroscopia de bioimpedância baseada na resposta de corrente ao degrau de tensão (BIS-VI) ao problema da detecção de lesões à estrutura dental. Para isso um protótipo de medição do método BIS-VI foi adaptado à medição de bioimpedância do dente para estudos *in vitro*.

Estudos iniciais definiram o protocolo de aquisição de dados e investigaram o potencial do método empregando um modelo elétrico baseado em elementos resistivos e capacitivos (Figura 36, p.56) para interpretar os dados experimentais. Nesses estudos, apesar do modelo elétrico proposto não revelar uma correlação anatômo-fisiológica direta com os componentes do dente, os parâmetros de bioimpedância se mostraram sensíveis à detecção da lesão cariosa e a remoção de camadas sucessivas de esmalte, variando, inclusive, de acordo com a gravidade e invasividade da lesão. Regiões mais cariadas ou com esmalte mais fino apresentavam menores valores de resistência e maiores valores de capacitância.

O modelo elétrico com a inclusão do CPE (Figura 40, p.64) proporcionou, a partir dos dados obtidos com o método BIS-VI, a estimação de parâmetros que se mostram relacionados tanto com a higidez dental, como com o processo cariioso. No entanto, tais parâmetros não puderam ser associados diretamente aos diferentes tecidos dentais ou a componentes anatômicos do dente, indicando que o modelo proposto é fortemente explicativo e pouco descritivo. Adicionalmente, os achados indicam que existe uma forte relação entre os valores da parte resistiva do modelo proposto com CPE e a presença de lesão de cárie na superfície oclusal, independente de sua profundidade. Por outro lado, o parâmetro  $\alpha$  parece estar associado às cáries ocultas.

## Comunicações científicas geradas durante o doutorado

- MORAIS, A. P. and SOUZA, M. N., 2006a, "Caracterização dos tecidos dentais por espectroscopia de bioimpedância.". In: 23 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de pesquisa Odontológica, Águas de Lindóia, S.P., Brasil, Brazilian Oral Research, v. 20. pp. 198.
- MORAIS, A. P. and SOUZA, M. N., 2006b, "Espectroscopia de bioimpedância aplicada à odontologia", In: Anais do XX Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica. pp. 1283-1286, São Pedro, S.P., Brasil.
- MORAIS, A. P. and SOUZA, M. N., 2007, "Protocolo de avaliação *in vitro* dos tecidos dentais por espectroscopia de bioimpedância. ". In: 24 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica, Atibaia, S.P., Brasil, Brazilian Oral Research, v. 21. pp. 123.
- MORAIS, A. P., MAIA, L. C., PINO, A. V., *et al.*, 2008a, "Diagnóstico clínico e radiográfico da cárie oclusal clinicamente incipiente. ". In: 25 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica Águas de Lindóia, S.P., Brasil, Brazilian Oral Research, v. 22. pp. 143.
- MORAIS, A. P., SOUZA, M. N. and PINO, A. V., 2008b, "Características de bioimpedância de dentes hígidos", In: Anais do XXI Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica pp. 778-781, Salvador, Brasil.
- MORAIS, A. P., PINO, A. V. and SOUZA, M. N., 2009, "Avaliação dos sinais de corrente obtidos por espectroscopia de bioimpedância dental.". In: 26 Anais da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica, Águas de Lindóia, S.P., Brasil, Brazilian Oral Research, v. 23. pp. 156.
- MORAIS, A. P., PINO, A. V. and SOUZA, M. N., 2010a, "Detecção de cáries oclusais de difícil diagnóstico". In: Anais da 27 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica, Águas de Lindóia, S.P., Brasil, Brazilian Oral Research, v. 24. pp. 218.
- MORAIS, A. P., PINO, A. V. and SOUZA, M. N., 2010b, "A fractional electrical impedance model in detection of occlusal non-cavitated carious", In: Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. pp. 6551-6554, Buenos Aires, Argentina.
- MORAIS, A. P., PINO, A. V. and SOUZA, M. N., 2011, "Análise da cárie oclusal de difícil diagnóstico ". In: Anais da 27 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica, Águas de Lindóia, Brazilian Oral Research, v. 25. pp. 31.
- MORAIS, A. P., PINO, A. V. and SOUZA, M. N., 2011, "An alternative bioimpedance spectroscopy method applied to the assessment of dental health: an *in vitro* study." Biomedical Engineering OnLine. (submetido)

## 9. Referências bibliográficas

- ALWAS-DANOWSKA, H. M., HUYSMANS, M. C., VERDONSCHOT, E. H., 1999, "Effects of alternating and direct electrical current application on the odontoblastic layer in human teeth: an in vitro study", International of Endodontic Journal, v. 32, n. 6, pp. 459-463.
- AMAECHE, B. T., 2009, "Emerging technologies for diagnosis of dental caries: The road so far", Journal of Applied Physics, v. 105, n. 10, pp. 9.
- ANGMAR-MÅNSSON, B., TEN BOSCH, J. J., 1987, "Optical Methods for the Detection and Quantification of Caries", Advances in Dental Research, v. 1, n. 1, pp. 14-20.
- ANUSAVICE, K., 2001, "Clinical decision-making for coronal caries management in the permanent dentition", Journal of Dental Education, v. 65, n. 10, pp. 1143-1146.
- AOKI, E., 1985, "Tooth impedance diagrams at maximum potential applied by a finite-sine alternating current during rest conditions", Shigaku, v. 72, n. 6, pp. 1338-1347.
- ARANHA, F. L., 1996, Bioquímica odontológica. 1 ed. São Paulo, Sarvier.
- ARRHENIUS, S. Theories of Solutions. 1912. Disponível em: <<http://ebooks.library.ualberta.ca/local/theoriesofsoluti00arrhuoft>>. Acesso em: 15 de novembro de 2010.
- ASHLEY, P. F., BLINKHORN, A. S., DAVIES, R. M., 1998, "Occlusal caries diagnosis: an in vitro histological validation of the Electronic Caries Monitor (ECM) and other methods", Journal of Dentistry, v. 26, n. 2, pp. 83-88.
- ATKINSON, H. F., PARKER, D. A. S., 1969, "Bioelectric properties of tooth", Journal of Dental Research, v. 48, n. 5P1S, pp. 789.
- AVERY, J. K., STEELE, P. F., AVERY, N., 2002, Oral Development and Histology. 1 ed. Stuttgart; New York, Thieme.
- AXELSSON, P., 2000, Diagnosis and Risk Prediction of Dental Caries. 1 ed. Chicago, Quintessence Pub. Co.
- BADER, J. D., SHUGARS, D. A., BONITO, A. J., 2001, "Systematic reviews of selected dental caries diagnostic and management methods", Journal of Dental Education, v. 65, n. 10, pp. 960-968.
- BADER, J. D., SHUGARS, D. A., BONITO, A. J., 2002, "A systematic review of the performance of methods for identifying carious lesions", Journal of Public Health dentistry, v. 62, n. 4, pp. 201-213.
- BAELUM, V., 2010, "What is an appropriate caries diagnosis?", Acta Odontologica Scandinavica, v. 68, n. 2, pp. 65-79.
- BAYSAN, A., LYNCH, E., ELLWOOD, R., *et al.*, 2001, "Reversal of primary root caries using dentifrices containing 5,000 and 1,100 ppm fluoride", Caries Research, v. 35, n. 1, pp. 41-46.
- BERKOVITZ, B. K. B., HOLLAND, G. R., MOXHAM, B. J., 2002, Oral Anatomy, Histology and Embryology. 1 ed. Edinburgh, Mosby.
- BRADEN, M., 1976, "Biophysics of the tooth", Frontiers of Oral Physiology, v. 2, n. 3, pp. 1-37.

- BRAGA, M. M., MENDES, F. M., EKSTRAND, K. R., 2010, "Detection Activity Assessment and Diagnosis of Dental Caries Lesions", Dental Clinics of North America, v. 54, n. 3, pp. 479-493.
- BRUG, G. J., VAN DEN EEDEN, A. L. G., SLUYTERS-REHBACH, M., *et al.*, 1984, "The analysis of electrode impedances complicated by the presence of a constant phase element", Journal of Electroanalytical Chemistry Journal of Electroanalytical Chemistry, v. 176, n. 1-2, pp. 275-295.
- BUCHGRABER, B., ALLMER, N., STÄDTLER, P., 2009, "In vivo Accuracy of CarieScan for Detecting Caries". In: 56th ORCA Congress, pp. 218. Budapest.
- CAREY, C. M., VOGEL, G. L., CHOW, L. C., 1991, "Permeability of sound and carious human dental enamel as measured by membrane-potential", Journal of Dental Research, v. 70, n. 12, pp. 1479-1485.
- CARVALHO, J. C., EKSTRAND, K. R., THYLSTRUP, A., 1989, "Dental plaque and caries on occlusal surfaces of first permanent molars in relation to stage of eruption", Journal of Dental Research, v. 68, n. 5, pp. 773-779.
- CAUFIELD, P. W., GRIFFEN, A. L., 2000, "Dental caries. An infectious and transmissible disease", Pediatric Clinics of North America, v. 47, n. 5, pp. 1001-1019, v.
- CHANG, S. H., SU, Y. C., 2008, "A self-adaptive fluidic probe for electrical caries detection", Biomedical Microdevices, v. 10, n. 3, pp. 447-457.
- CORTES, D. F., EKSTRAND, K. R., ELIAS-BONETA, A. R., *et al.*, 2000, "An in vitro Comparison of the Ability of Fibre-Optic Transillumination, Visual Inspection and Radiographs to Detect Occlusal Caries and Evaluate Lesion Depth", Caries Research, v. 34, n., pp. 443-447.
- CORTES, D. F., ELLWOOD, R. P., EKSTRAND, K. R., 2003, "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 Research, v. 37, n. 1, pp. 8-16.
- COSTA, H. S., ROSENBLATT, A., MOTA, E. L. A., 2002, "Prevalence of hidden caries in a group of school children", Journal of Dental Research, v. 81, n., pp. B156-B156.
- CZAJCZYNSKA-WASZKIEWICZ, A., LOS, P., PITTS, N. B., *et al.*, 2007, "Artificial Neural Network Analyses of AC Impedance Spectroscopy Derived Dental Caries Data". In: 54th ORCA Congress, pp. 296. Helsingør, Denmark.
- CZAJCZYNSKA-WASZKIEWICZ, A., LOS, P., PITTS, N. B., *et al.*, 2006, "Neural Network Classification Algorithms for the AC Impedance Method of Clinically Evaluating Dental Caries". In: 53rd ORCA Congress, pp. 348. Glasgow, UK.
- DIAGNOSIS, N. I. H. C. D. C. O., MANAGEMENT OF DENTAL CARIES THROUGHOUT, L., 2001, NIH Consensus Development Conference on Diagnosis and Management of Dental Caries Throughout Life, March 26-28, 2001. Washington, DC, Division of Communications, American Dental Education Association.
- DOMINICI, J. T., ELEAZER, P. D., CLARK, S. J., *et al.*, 2001, "Disinfection/sterilization of extracted teeth for dental student use", Journal of Dental Education, v. 65, n. 11, pp. 1278-1280.

- EDWARDSSON, S., 1968, "Characteristics of caries-inducing human streptococci resembling *Streptococcus mutans*", Archives of Oral Biology, v. 13, n. 6, pp. 637-646.
- EDWARDSSON, S., 1974, "Bacteriological studies on deep areas of carious dentine", Odontologisk Revy, v. 32, n. 1, pp. 1-143.
- EKSTRAND, K., QVIST, V., THYLSTRUP, A., 1987, "Light microscope study of the effect of probing in occlusal surfaces", Caries Research, v. 21, n. 4, pp. 368-374.
- EKSTRAND, K. R., MARTIGNON, S., RICKETTS, D. J. N., *et al.*, 2007, "Detection and Activity Assessment of Primary Coronal Caries Lesions: A Methodologic Study", Operative Dentistry, v. 32, n. 3, pp. 225-235.
- EKSTRAND, K. R., RICKETTS, D. N., KIDD, E. A., *et al.*, 1998, "Detection, diagnosing, monitoring and logical treatment of occlusal caries in relation to lesion activity and severity: an in vivo examination with histological validation", Caries Research, v. 32, n. 4, pp. 247-254.
- ELLWOOD, R. P., CORTES, D. F., 2004, "In vitro assessment of methods of applying the electrical caries monitor for the detection of occlusal caries", Caries Research, v. 38, n. 1, pp. 45-53.
- EWOLDSSEN, N., KOKA, S., 2010, "There are no Clearly Superior Methods for Diagnosing, Predicting, and Noninvasively Treating Dental Caries", Journal of Evidence Based Dental Practice, v. 10, n. 1, pp. 16-17.
- FEJERSKOV, O., 2004, "Changing Paradigms in Concepts on Dental Caries: Consequences for Oral Health Care", Caries Research, v. 38, n. 3, pp. 182-191.
- FEJERSKOV, O., KIDD, E.A.M. , 2008, Dental Caries. The Disease and its Clinical Management. 2 ed. Oxford, Blackwell Munksgaard.
- GALIL, K. A., GWINNETT, A. J., 1975, "Human tooth-fissure contents and their progressive mineralization", Archives of oral biology, v. 20, n. 9, pp. 559-562.
- GILLI, M., WINKER, P., 2003, "A global optimization heuristic for estimating agent based models", Computational statistics & data analysis, v. 42, n. 3, pp. 299.
- GODT, H., VON BREDOW, B., 1967, "Studies on the electrical resistance in dental hard tissues", Deutsche Zahn-, Mund-, und Kieferheilkunde mit Zentralblatt für die gesamte Zahn-, Mund-, und Kieferheilkunde, v. 48, n. 9, pp. 363-370.
- GRIMNES, S., MARTINSEN, Ø. G., Clinical applications. In: GRIMNES, S., MARTINSEN, Ø. G., Bioelectricity and Bioimpedance Basics (Second Edition), New York, Academic Press, 2008a.
- GRIMNES, S., MARTINSEN, Ø. G., Data and models. In: GRIMNES, S., MARTINSEN, Ø. G., Bioelectricity and Bioimpedance Basics (Second Edition), New York, Academic Press, 2008b.
- GRIMNES, S., MARTINSEN, Ø. G., Dielectrics. In: GRIMNES, S., MARTINSEN, Ø. G., Bioelectricity and Bioimpedance Basics (Second Edition), New York, Academic Press, 2008c.
- GRIMNES, S., MARTINSEN, Ø. G., ELECTROLYTICS. In: GRIMNES, S., MARTINSEN, Ø. G., Bioelectricity and Bioimpedance Basics (Second Edition), New York, Academic Press, 2008d.

- GRIMNES, S., MARTINSEN, Ø. G., HISTORY OF BIOIMPEDANCE AND BIOELECTRICITY. In: GRIMNES, S., MARTINSEN, Ø. G., Bioelectricity and Bioimpedance Basics (Second Edition), New York, Academic Press, 2008e.
- GRIMNES, S., MARTINSEN, Ø. G., Instrumentation and measurement. In: GRIMNES, S., MARTINSEN, Ø. G., Bioelectricity and Bioimpedance Basics (Second Edition), New York, Academic Press, 2008f.
- GRIMNES, S., MARTINSEN, Ø. G., Passive tissue electrical properties. In: GRIMNES, S., MARTINSEN, Ø. G., Bioelectricity and Bioimpedance Basics (Second Edition), New York, Academic Press, 2008g.
- GUIMERA, A., CALDERON, E., LOS, P., *et al.*, 2008, "Method and device for bio-impedance measurement with hard-tissue applications", Physiological measurement, v. 29, n. 6, pp. 279-290.
- GWINNETT, A. J., 1967, "The ultrastructure of the "prismless" enamel of permanent human teeth", Archives of Oral Biology, v. 12, n. 3, pp. 381-388.
- HALLA, A. F., KACZMAREK, U., PITTSAC, N. B., *et al.*, 2007, "Intra- and inter-examiner repeatability of ac-Impedance Spectroscopy to detect sound and caries sites *in vivo*". In: 54th ORCA Congress, pp. 296. Helsingør, Denmark.
- HAUGEJORDEN, O., TVEIT, A. B., 1998, "The effect of fluoridation on the occurrence of hidden caries in clinically sound occlusal surfaces". In: 45th ORCA Congress, pp. 266. Stockholm, Sweden.
- HOPPENBROUWERS, P. M., SCHOLBERG, H. P., BORGGREVEN, J. M., 1986, "Measurement of the permeability of dental enamel and its variation with depth using an electrochemical method", Journal of Dental Research, v. 65, n. 2, pp. 154-157.
- HUYSMANS, M. C., LONGBOTTOM, C., CHRISTIE, A. M., *et al.*, 2000, "Temperature dependence of the electrical resistance of sound and carious teeth", Journal of Dental Research, v. 79, n. 7, pp. 1464-1468.
- HUYSMANS, M. C., LONGBOTTOM, C., HINTZE, H., *et al.*, 1998, "Surface-specific electrical occlusal caries diagnosis: reproducibility, correlation with histological lesion depth, and tooth type dependence", Caries Research, v. 32, n. 5, pp. 330-336.
- HUYSMANS, M. C., LONGBOTTOM, C., PITTS, N. B., *et al.*, 1996, "Impedance spectroscopy of teeth with and without approximal caries lesions--an *in vitro* study", Journal of Dental Research, v. 75, n. 11, pp. 1871-1878.
- HUYSMANS, M. C., VERDONSCHOT, E. H., RONDEL, P., 1995, "Electrical conductance and electrode area on sound smooth enamel in extracted teeth", Caries Research, v. 29, n. 2, pp. 88-93.
- IE, Y. L., VERDONSCHOT, E. H., SCHAEKEN, M. J., *et al.*, 1995, "Electrical conductance of fissure enamel in recently erupted molar teeth as related to caries status", Caries Research, v. 29, n. 2, pp. 94-99.
- ISMAIL, A. I., 2004, "Visual and visuo-tactile detection of dental caries", Journal of Dental Research, v. 83 n. Spec No C, pp. 56-66.
- JACQUOT, B. M., PANIGHI, M. M., STEINMETZ, P., *et al.*, 1996, "Microleakage of Cavit, CavitW, CavitG and IRM by impedance spectroscopy", International Endodontic Journal, v. 29, n. 4, pp. 256-261.

- JORCIN, J.-B., ORAZEM, M. E., PÉBÈRE, N., *et al.*, 2006, "CPE analysis by local electrochemical impedance spectroscopy", Electrochimica Acta, v. 51, n. 8-9, pp. 1473-1479.
- KACZMAREK, U., LOS, P., PITTS, N., *et al.*, 2001, "Electrical properties of teeth surfaces by AC impedance spectroscopy", Journal of Dental Research, v. 80, n. 4, pp. 1284-1284.
- KATAOKA, S., SAKUMA, S., WANG, J., *et al.*, 2007, "Changes in electrical resistance of sound fissure enamel in first molars for 66 months from eruption", Caries Research, v. 41, n. 2, pp. 161-164.
- KIDD, E. A., RICKETTS, D. N., PITTS, N. B., 1993, "Occlusal caries diagnosis: a changing challenge for clinicians and epidemiologists", Journal of Dentistry, v. 21, n. 6, pp. 323-331.
- KIM, C.-H., PYUN, S.-I., KIM, J.-H., 2003, "An investigation of the capacitance dispersion on the fractal carbon electrode with edge and basal orientations", Electrochimica Acta, v. 48, n. 23, pp. 3455-3463.
- KLEIN, H., AMBERSON, W., 1929, "A Physico-Chemical Study of the Structure of Dental Enamel", Journal of Dental Research, v. 9, n. 5, pp. 667-688.
- KLINKE, T., KLIMM, W., ZRAIKI, S., *et al.*, 2002, "Evaluation of Four Methods of Occlusal Caries Detection at Discoloured Fissures in vivo – Preliminary Data", International Poster Journal of Dentistry and Oral Medicine v. 4, n. 1, pp. 115.
- KOCHAN, S., LONGBOTTOM, C., PITTS, N. B., *et al.*, 2007, "Morphology of natural carious lesions related to ac impedance characteristic of teeth". In: 54th ORCA Congress, pp. 295. Helsingør, Denmark.
- KUHNISCH, J., HEINRICH-WELTZIEN, R., TABATABAIE, M., *et al.*, 2006, "An in vitro comparison between two methods of electrical resistance measurement for occlusal caries detection", Caries Research, v. 40, n. 2, pp. 104-111.
- KUMASAKI, M., 1975a, "An electric characteristic of the tooth and its equivalent circuit and clinical application. Part 2", Journal of Osaka Dental University, v. 9, n. 1-2, pp. 19-30.
- KUMASAKI, M., 1975b, "An electric characteristic of the tooth and its equivalent circuit. Part 1", Journal of Osaka Dental University, v. 9, n. 1, pp. 9-18.
- LANDIS, J. R., KOCH, G. G., 1977, "An Application of Hierarchical Kappa-type Statistics in the Assessment of Majority Agreement among Multiple Observers", Biometrics, v. 33, n. 2, pp. 363-374.
- LEICESTER, H. M., 1949, Biochemistry of the teeth. 1 ed. St. Louis, C. V. Mosby Co.
- LEVINKIND, M., VANDERNOOT, T. J., ELLIOTT, J. C., 1990, "Electrochemical impedance characterization of human and bovine enamel", Journal of Dental Research, v. 69, n. 12, pp. 1806-1811.
- LEVINKIND, M., VANDERNOOT, T. J., ELLIOTT, J. C., 1992, "Evaluation of smear layers on serial sections of human dentin by means of electrochemical impedance measurements", Journal of dental Research, v. 71, n. 3, pp. 426-433.
- LIAO, Y.-M., FENG, Z.-D., CHEN, Z.-L., 2007a, "In situ tracing the process of human enamel demineralization by electrochemical impedance spectroscopy (EIS)", Journal of Dentistry, v. 35, n. 5, pp. 425-430.

- LIAO, Y. M., FENG, Z. D., CHEN, Z. L., 2007b, "In situ tracing the process of human enamel demineralization by electrochemical impedance spectroscopy (EIS)", Journal of Dentistry, v. 35, n. 5, pp. 425-430.
- LONGBOTTOM, C., HALL, A. F., CZAJCZYNSKA-WASZKIEWICZ, A., *et al.*, 2007, "Caries Detection by Optimal Clinical Visual, Radiographic, Laser Fluorescence and AC Impedance Spectroscopy Techniques". In: 54th ORCA Congress, pp. 297. Helsingør, Denmark.
- LONGBOTTOM, C., HUYSMANS, M. C., 2004, "Electrical measurements for use in caries clinical trials", Journal of Dental Research, v. 83 n. Spec No C, pp. 76-79.
- LONGBOTTOM, C., HUYSMANS, M. C., PITTS, N. B., *et al.*, 1996, "Detection of dental decay and its extent using a.c. impedance spectroscopy", Nature Medicine, v. 2, n. 2, pp. 235-237.
- LOS, P., PITTS, N. B., LONGBOTTOM, C., 2006, "Application of Percolation Theory to Human Tooth Enamel Electrical Conductivities at Different Stages of Caries ". In: 53rd ORCA Congress, pp. 310. Glasgow, UK.
- LOS, P., PITTS, N. B., LONGBOTTOM, C., *et al.*, 2007, "Ac-Impedance Spectroscopy technique for the detection of dental caries in human teeth". In: 54th ORCA Congress, pp. 296. Helsingør, Denmark.
- LUSSI, A., FIRESTONE, A., SCHOENBERG, V., *et al.*, 1995, "In vivo diagnosis of fissure caries using a new electrical resistance monitor", Caries Research, v. 29, n. 2, pp. 81-87.
- MACHO, G. A., BERNER, M. E., 1993, "Enamel thickness of human maxillary molars reconsidered", American Journal of Physical Anthropology, v. 92, n. 2, pp. 189-200.
- MAGIN, R. L., 2004a, "Fractional calculus in bioengineering", Critical Reviews in Biomedic Engineering, v. 32, n. 1, pp. 1-104.
- MAGIN, R. L., 2004b, "Fractional calculus in bioengineering, part 3", Critical Reviews in Biomedic Engineering, v. 32, n. 3-4, pp. 195-377.
- MARTINEZ, E. Z., LOUZADA-NETO, F., PEREIRA, B. D. B., 2003, "A curva ROC para testes diagnosticos", Cadernos saúde coletiva (Rio de Janeiro), v. 11, n. 1, pp. 7-31.
- MATSUMOTO, H., 1981, "Some problems involved in measurement of electrical impedance of carious teeth", Journal of Dentistry, v. 9, n. 1, pp. 43-52.
- MAYUZUMI, Y., SUZUKI, K., SUNADA, I., 1964, "Diagnosis of incipiente caries by means of measurement of electric resistance". In: 42nd IADR, pp. 941. Los Angeles, USA.
- MCDONALD, R. E., AVERY, D. R., STOOKEY, G. K., *et al.*, 2011, Dental Caries in the Child and Adolescent. 9 ed. Saint Louis, Mosby.
- MEREDITH, N., GULABIVALA, K., 1997, "Electrical impedance measurements of root canal length", Endodontics & Dental traumatology, v. 13, n. 3, pp. 126-131.
- MILES, D. A., PARKS, E. T., 2011, Radiographic Techniques. 1 ed. Saint Louis, Mosby.

- MJÖR, I. A., FEJERSKOV, O., 1986, Human Oral Embryology and Histology. 1 ed. Copenhagen, Munksgaard.
- MORAIS, A. P., PINO, A. V., SOUZA, M. N., 2009, "Avaliação dos sinais de corrente obtidos por espectroscopia de bioimpedância dental.". In: 26 Anais da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica, pp. 156. Águas de Lindóia, S.P., Brasil.
- MORAIS, A. P., PINO, A. V., SOUZA, M. N., 2010, "A fractional electrical impedance model in detection of occlusal non-cavitated carious", In: Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. pp. 6551-6554, Buenos Aires, Argentina.
- MORAIS, A. P., SOUZA, M. N., 2006a, "Caracterização dos tecidos dentais por espectroscopia de bioimpedância.". In: 23 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de pesquisa Odontológica, pp. 198. Águas de Lindóia, S.P., Brasil.
- MORAIS, A. P., SOUZA, M. N., 2006b, "Espectroscopia de bioimpedância aplicada à odontologia", In: Anais do XX Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica. pp. 1283-1286, São Pedro, S.P., Brasil.
- MORAIS, A. P., SOUZA, M. N., 2007, "Protocolo de avaliação in vitro dos tecidos dentais por espectroscopia de bioimpedância. ". In: 24 Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica, pp. 123. Atibaia, S.P., Brasil.
- MORAIS, A. P., SOUZA, M. N., PINO, A. V., 2008, "Características de bioimpedância de dentes hígidos", In: Anais do XXI Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica pp. 778-781, Salvador, Brasil.
- MOSAHEBI, N., RICKETTS, D. N. J., 2002, "Effect of contact media on the diagnostic quality of electrical resistance measurements for occlusal caries", Community dentistry and oral epidemiology, v. 30, n. 3, pp. 161-167.
- MOSKOVETS, O. N., NIKOLAEV, D. V., SMIRNOV, A. V., 2007, "Evaluation of the periodontal tissue hydration level via bioimpedance spectrometry", IFMBE Proceedings, v. 17, n., pp. 142-145.
- MUMFORD, J. M., 1956, "Relationship between the electrical resistance of human teeth and the presence and extent of dental caries.", British Dental Journal, v. 100, n. 1, pp. 239-244.
- MUMFORD, J. M., 1962, "Effect of Current Direction Frequency, and Duration on Electrical Threshold of Human Teeth", Journal of Dental Research, v. 41, n. 6, pp. 1254.
- NAKATA, M., HAMANO, Y., 1982, "Diagnosis of dental caries with caries meter", Nippon Shika Ishikai zasshi, v. 34, n. 10, pp. 1039-1045.
- NARVAI, P. C., FRAZÃO, P., RONCALLI, A. G., *et al.*, 2006, "Cárie dentária no Brasil: declínio, polarização, iniquidade e exclusão social", Revista Panamericana de Salud Pública, v. 19, n., pp. 385-393.
- NEVES, C. E., SOUZA, M. N., 2000, "A method for bio-electrical impedance analysis based on a step-voltage response", Physiological Measurement, v. 21, n. 3, pp. 395-408.
- NEWBRUN, E., 1993, "Problems in caries diagnosis", International Dental Journal, v. 43, n. 2, pp. 133-142.

- NEWMAN, H. N., POOLE, D. F., 1974, "Observations with scanning and transmission electron microscopy on the structure of human surface enamel", Archives of Oral Biology, v. 19, n. 12, pp. 1135-1143.
- NIKOLISHIN, A. K., MAKSIMENKO, P. T., LARIONOV, G. G., *et al.*, 1990, "Ustroistvo dlia élektrodiagnostiki kariesa UDK-87", Stomatologija, v. 1, n. 5, pp. 132-134.
- NOMURA, H., SAKADA, S., ITOW, H., 1971, "Some observations on electric conductivity of the tooth", The Bulletin of Tokyo Dental College, v. 12, n. 1, pp. 15-23.
- NORLUND, A., AXELSSON, S., DAHLÅN, G., *et al.*, 2009a, "Economic aspects of the detection of occlusal dentine caries", Acta odontologica Scandinavica, v. 67, n. 1, pp. 38-43.
- NORLUND, A., AXELSSON, S., DAHLEN, G., *et al.*, 2009b, "Economic aspects of the detection of occlusal dentine caries", Acta odontologica Scandinavica, v. 67, n. 1, pp. 38-43.
- NYVAD, B., MACHIULSKIENE, V., BAELUM, V., 1999, "Reliability of a new caries diagnostic system differentiating between active and inactive caries lesions", Caries Research, v. 33, n. 4, pp. 252-260.
- OEHLER, G. C., KATZ, J. M., 1971, "Electrical conductivity of apatitic and bone mineral crystalline powders.", In: 67<sup>th</sup> IADR pp. 70,
- ORBAN, B. J., BHASKAR, S. N., 1991, Orban's oral histology and embryology. 4. St. Louis, Mosby Year Book.
- OUTHWAITE, W. C., 1975, "Electrodes for measuring electrical resistance of teeth", Journal of Dental Research, v. 54, n. 3, pp. 693.
- PETERSSON, L. G., KAMBARA, M., 2004, "Remineralisation study of artificial root caries lesions after fluoride treatment. An in vitro study using electric caries monitor and transversal micro-radiography", Gerodontology, v. 21, n. 2, pp. 85-92.
- PINCUS, P., 1951, "A New Method of Examination of Molar Tooth Grooves for the Presence of Dental Caries", Journal of Physiology-London, v. 113, n. 2, pp. 13.
- PINTO, V. G., 1990, Saúde bucal : Odontologia Social e Preventiva. 1 ed. S. Paulo., SP, Santos.
- PITTS, N. B., 1991, "The diagnosis of dental caries: 1. Diagnostic methods for assessing buccal, lingual and occlusal surfaces", Dental Update, v. 18, n. 9, pp. 393-396.
- PITTS, N. B., 1997, "Diagnostic tools and measurements-impact on appropriate care", Community Dentistry and Oral Epidemiology, v. 25, n. 1, pp. 24-35.
- PITTS, N. B., 2004, ""ICDAS"--an international system for caries detection and assessment being developed to facilitate caries epidemiology, research and appropriate clinical management", Community Dental health, v. 21, n. 3, pp. 193-198.
- PITTS, N. B., LONGBOTTOM, C., HALL, A. F., *et al.*, 2008a, "Diagnostic Accuracy of an optimised ac impedance device to aid caries detection and monitoring". In: 55th ORCA pp. 211-212. Groningen, The Netherlands.

- PITTS, N. B., LONGBOTTOM, C., RICKETTS, D., *et al.*, 2008b, "Hidden Dental Caries Detection Using a Novel Electrical Impedance Device". In: 86th IADR pp. 234. Toronto, Canada.
- PITTS, N. B., LOS, P., BIESAK, P., *et al.*, 2007, "Ac-Impedance Spectroscopy technique for monitoring dental caries in human teeth.". In: 54th ORCA pp. 321-322. Helsingor, Denmark.
- PITTS, N. B., LOS, P., LONGBOTTOM, C., *et al.*, 2006, "Statistical Analysis of the Effectiveness of AC Impedance in Detection of Early Caries *in vitro*". In: 53rd ORCA Congress, pp. 348. Glasgow, UK.
- REIS, A., MENDES, F. M., ANGNES, V., *et al.*, 2006, "Performance of methods of occlusal caries detection in permanent teeth under clinical and laboratory conditions", Journal of dentistry, v. 34, n. 2, pp. 89-96.
- RICHARD TEN CATE, COPELAND, E., 1998, Oral Histology: Development, Structure, & Function. 5th ed., Mosby Elsevier Health Science.
- RICKETTS, D. N., KIDD, E. A., LIEPINS, P. J., *et al.*, 1996, "Histological validation of electrical resistance measurements in the diagnosis of occlusal caries", Caries Research, v. 30, n. 2, pp. 148-155.
- RICKETTS, D. N. J., KIDD, E. A. M., WILSON, F., 1997a, "The electronic diagnosis of caries in pits and fissures: Site-specific stable conductance readings or cumulative resistance readings?", Caries Research, v. 31, n. 2, pp. 119-124.
- RICKETTS, D. N. J., KIDD, E. A. M., WILSON, R. F., 1997b, "The effect of airflow on site-specific electrical conductance measurements used in the diagnosis of pit and fissure caries *in vitro*", Caries Research, v. 31, n. 2, pp. 111-118.
- RICKETTS, D. N. J., KIDD, E. A. M., WILSON, R. F., 1997c, "Electronic diagnosis of occlusal caries *in vitro*: Adaptation of the technique for epidemiological purposes", Community Dentistry and Oral Epidemiology, v. 25, n. 3, pp. 238-241.
- RIGAUD, B., MORUCCI, J. P., CHAUVEAU, N., 1996, "Bioelectrical impedance techniques in medicine .1. Bioimpedance measurement - Second section: Impedance spectrometry", Critical Reviews in Biomedical Engineering, v. 24, n. 4-6, pp. 257-351.
- ROCHLEN, G. K., WOLFF, M. S., 2011, "Technological Advances in Caries Diagnosis", Dental Clinics of North America, v. 55, n. 3, pp. 441-452.
- ROCK, W. P., KIDD, E. A. M., 1988, "The electronic detection of demineralization in occlusal fissures", British Dental Journal, v. 164, n. 8, pp. 243-247.
- SAWADA, K., KOIKE, M., SUDA H., SUNADA, I., 1986, "A new device for detecting dental caries.", Quintessence Int, v. 17, n. 6, pp. 373-376.
- SAWLE, R. F., ANDLAW, R. J., 1988, "Has occlusal caries become more difficult to diagnose? A study comparing clinically undetected lesions in molar teeth of 14-16-year old children in 1974 and 1982", British Dental journal, v. 164, n. 7, pp. 209-211.
- SCHEIDER, W., 1975, "Theory of the frequency dispersion of electrode polarization. Topology of networks with fractional power frequency dependence", The Journal of Physical Chemistry, v. 79, n. 2, pp. 127-136.

- SCHOLBERG, H. P., BORGGREVEN, J. M., DRIESSENS, F. C., 1982, "Impedance of dental enamel membranes as a predictor for their permeability", Medical & Biological Engineering & Computing, v. 20, n. 5, pp. 578-584.
- SCHOLBERG, H. P., BORGGREVEN, J. M., DRIESSENS, F. C., 1984a, "A phenomenological interpretation of the frequency-dependent impedance behaviour of bovine dental enamel", Archives of Oral Biology, v. 29, n. 12, pp. 965-970.
- SCHOLBERG, H. P. F., BORGGREVEN, J. M. P. M., DRIESSENS, F. C. M., 1984b, "A phenomenological interpretation of the frequency-dependent impedance behaviour of bovine dental enamel", Archives of Oral Biology, v. 29, n. 12, pp. 965-970.
- SCHULTE, A., GENTE, M., PIEPER, K., 1999, "Posteruptive changes of electrical resistance values in fissure enamel of premolars", Caries Research, v. 33, n. 3, pp. 242-247.
- SCHULTE, A., GENTE, M., PIEPER, K., *et al.*, 1998, "The electrical resistance of enamel-dentine cylinders. Influence of NaCl content in storage solutions", Journal of dentistry, v. 26, n. 2, pp. 113-118.
- SHWARTZ, M., GRÖNDAHL, H. G., PLISKIN, J. S., *et al.*, 1984, "A longitudinal analysis from bite-wing radiographs of the rate of progression of approximal carious lesions through human dental enamel", Archives of Oral Biology, v. 29, n. 7, pp. 529-536.
- SMITH, D. C., WILLIAMS, D. F., 1982, Biocompatibility of Dental materials. 1 ed. Boca Raton, USA., CRC Press.
- STROUD, J. L., BUSCHANG, P. H., GOAZ, P. W., 1994, "Sexual dimorphism in mesiodistal dentin and enamel thickness", Dentomaxillofac Radiol, v. 23, n. 3, pp. 169-171.
- TEN BOSCH, J. J., FENNIS-LE, Y., VERDONSCHOT, E. H., 2000, "Time-dependent decrease and seasonal variation of the porosity of recently erupted sound dental enamel in vivo", Journal of Dental Research, v. 79, n. 8, pp. 1556-1559.
- TOPPING, G. V., PITTS, N. B., 2009, "Clinical visual caries detection", Monographs in Oral Science, v. 21, n. 2, pp. 15-41.
- VAN HOUTE, J., 1994, "Role of micro-organisms in caries etiology", Journal of Dental Research, v. 73, n. 3, pp. 672-681.
- VERDONSCHOT, E. H., BRONKHORST, E. M., BURGERSDIJK, R. C. W., *et al.*, 1992, "Performance of some diagnostic systems in examinations for small occlusal carious lesions", Caries Research, v. 26, n. 1, pp. 59-64.
- VERDONSCHOT, E. H., BRONKHORST, E. M., WENZEL, A., 1991, "Approximal caries diagnosis using fiber-optic transillumination: a mathematical adjustment to improve validity", Community Dentistry and Oral Epidemiology, v. 19, n. 6, pp. 329-332.
- VERDONSCHOT, E. H., RONDEL, P., HUYSMANS, M. C., 1995, "Validity of electrical conductance measurements in evaluating the marginal integrity of sealant restorations", Caries Research, v. 29, n. 2, pp. 100-106.

- WEERHEIJM, K. L., GRUYTHUYSEN, R. J., VAN AMERONGEN, W. E., 1992, "Prevalence of hidden caries", ASDC Journal of Dentistry for Children, v. 59, n. 6, pp. 408-412.
- WEERHEIJM, K. L., KIDD, E. A., GROEN, H. J., 1997, "The effect of fluoridation on the occurrence of hidden caries in clinically sound occlusal surfaces", Caries Research, v. 31, n. 1, pp. 30-34.
- WHITE, G. E., TSAMTSOURIS, A., WILLIAMS, D. L., 1978, "Early detection of occlusal caries by measuring the electrical resistance of the tooth", Journal of Dentistry Research, v. 57, n. 2, pp. 195-200.
- WHITE, G. E., TSAMTSOURIS, A., WILLIAMS, D. L., 1981, "A longitudinal study of electronic detection of occlusal caries", Journal of Pedodontics, v. 5, n. 2, pp. 91-101.
- WHITE, R. E., CONWAY, B. E. E., BOCKRIS, J. O. M., 1999, Modern aspects of electrochemistry. 1 ed. New York, Plenum Press.
- WILLIAMS, D. L., TSAMTSOURIS, A., WHITE, G. E., 1978, "Electrical resistance correlation with tactile examination on occlusal surfaces", Journal of Dentistry Research, v. 57, n. 1, pp. 31-35.
- WOLINSKY, L. E., GNAGNE-AGNERO, N. D., CHAMKASEM, P., *et al.*, 1999, "An in vitro assessment and a pilot clinical study of electrical resistance of demineralized enamel", Journal of Clinical Dentistry, v. 10, n. 1 Spec No, pp. 40-43.
- WORLD HEALTH, O., 1997, Oral health surveys : basic methods. Geneva :, World Health Organization.
- XU, Z., NEOH, K. G., KISHEN, A., 2008, "Monitoring acid-demineralization of human dentine by electrochemical impedance spectroscopy (EIS)", Journal of Dentistry, v. 36, n. 12, pp. 1005-1012.
- ZADIK, Y., BECHOR, R., 2008a, "Hidden occlusal caries lesion--a diagnostic challenge", Refu'at ha-peh ve-ha-shinayim (1993), v. 25, n. 1, pp. 34-39.
- ZADIK, Y., BECHOR, R., 2008b, "Hidden occlusal caries: challenge for the dentist", New York State Dentistry Journal, v. 74, n. 4, pp. 46-50.
- ZAFERSONY-AKARSLAN, Z., ERTEN, H., UZUN, O., *et al.*, 2009, "Reproducibility and agreement of clinical diagnosis of occlusal caries using unaided visual examination and operating microscope", Journal of Canadian Dentistry Association, v. 75, n. 6, pp. 455.
- ZANDONA, A. G., AL-SHIHA, S., EGGERTSSON, H., *et al.*, 2009, "Student versus faculty performance using a new visual criteria for the detection of caries on occlusal surfaces: an in vitro examination with histological validation", Operative Dentistry, v. 34, n. 5, pp. 598-604.
- ZERO, D. T., ZANDONA, A. F., VAIL, M. M., *et al.*, 2011, "Dental Caries and Pulpal Disease", Dental Clinics of North America, v. 55, n. 1, pp. 29-46.
- ZOLTOWSKI, P., 1998, "On the electrical capacitance of interfaces exhibiting constant phase element behaviour", Journal of Electroanalytical Chemistry, v. 443, n. 1, pp. 149-154.

## ANEXO 1



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE ESTUDOS DE SAÚDE COLETIVA  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

**PARECER N° 74 /2009**  
**PROCESSO N° 04/2009**

**Projeto de Pesquisa: Detecção Não-invasiva de doenças dentais por espectroscopia de Bioimpedância.**

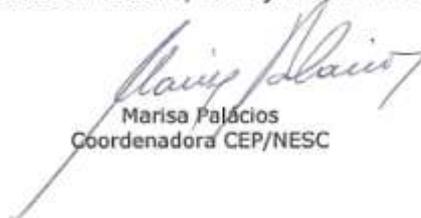
**Pesquisador: Andréia Pereira de Moraes**

O Comitê de Ética em Pesquisa, tendo em vista o que dispõe a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, resolve APROVAR o presente projeto.

Informamos que o CEP está à disposição do pesquisador para quaisquer esclarecimento ou orientação que se façam necessários no decorrer da pesquisa.

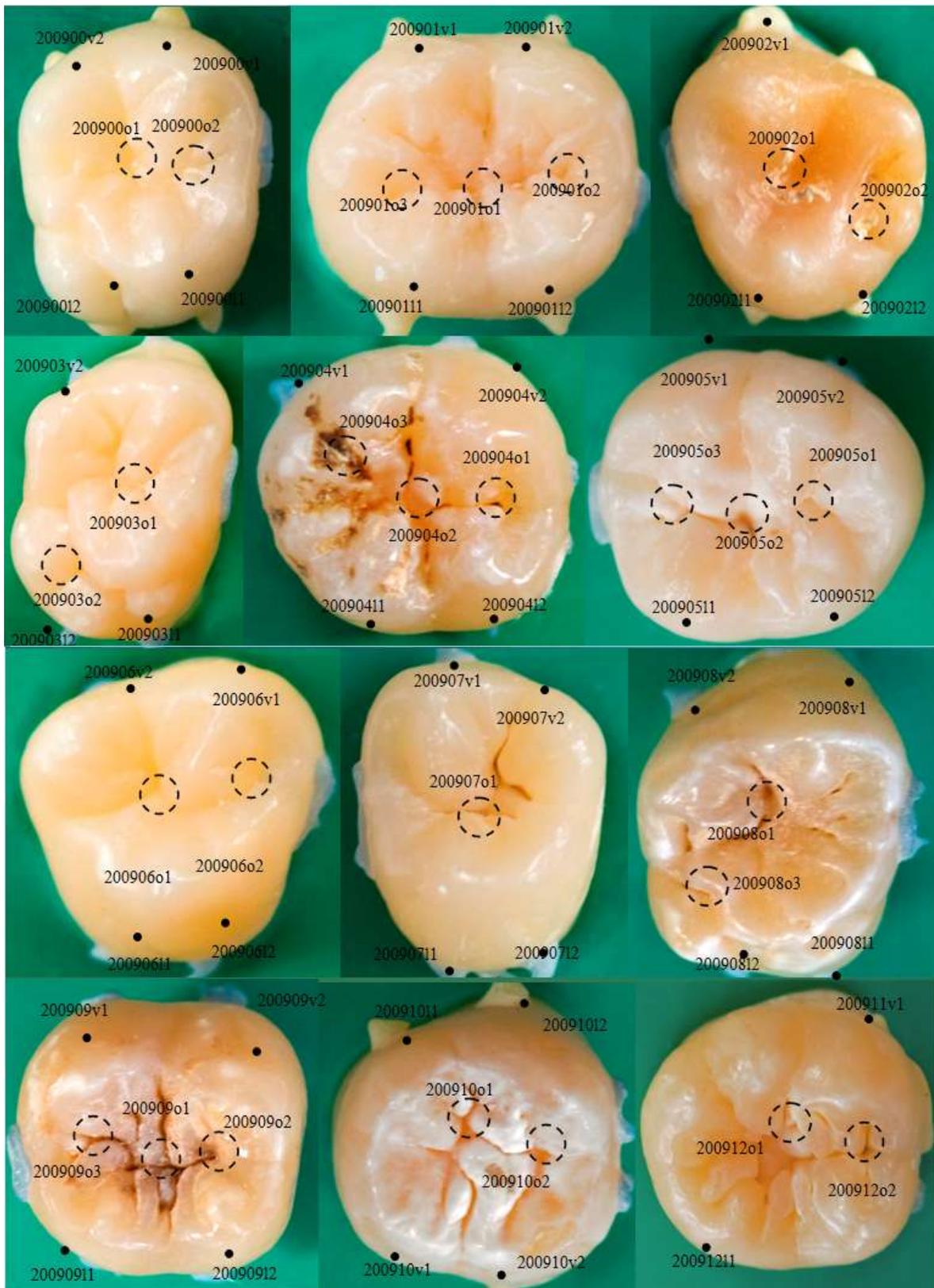
Lembramos que o pesquisador deverá apresentar relatório da pesquisa no prazo de um ano a partir desta data.

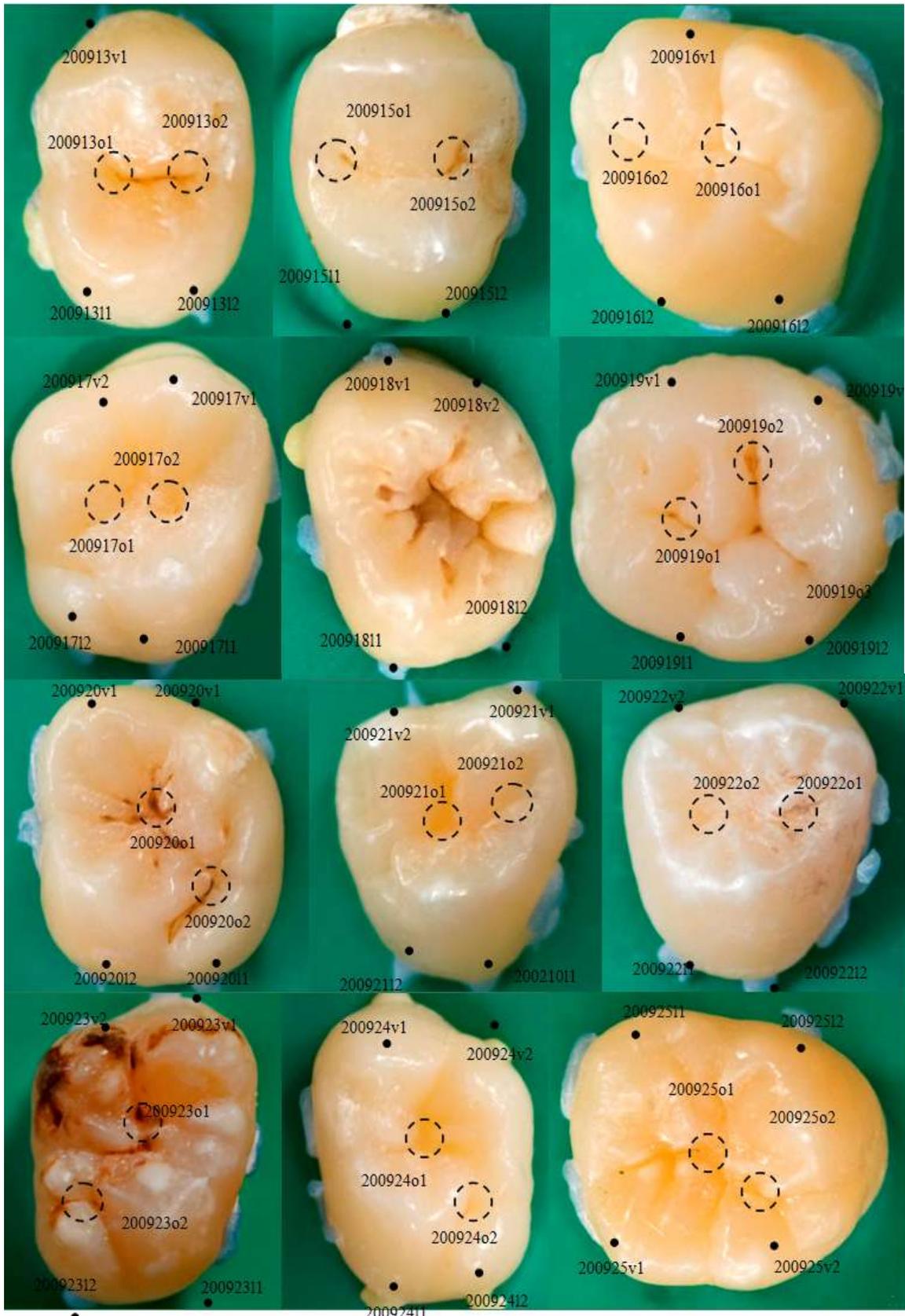
Cidade Universitária, 29 de junho de 2009.

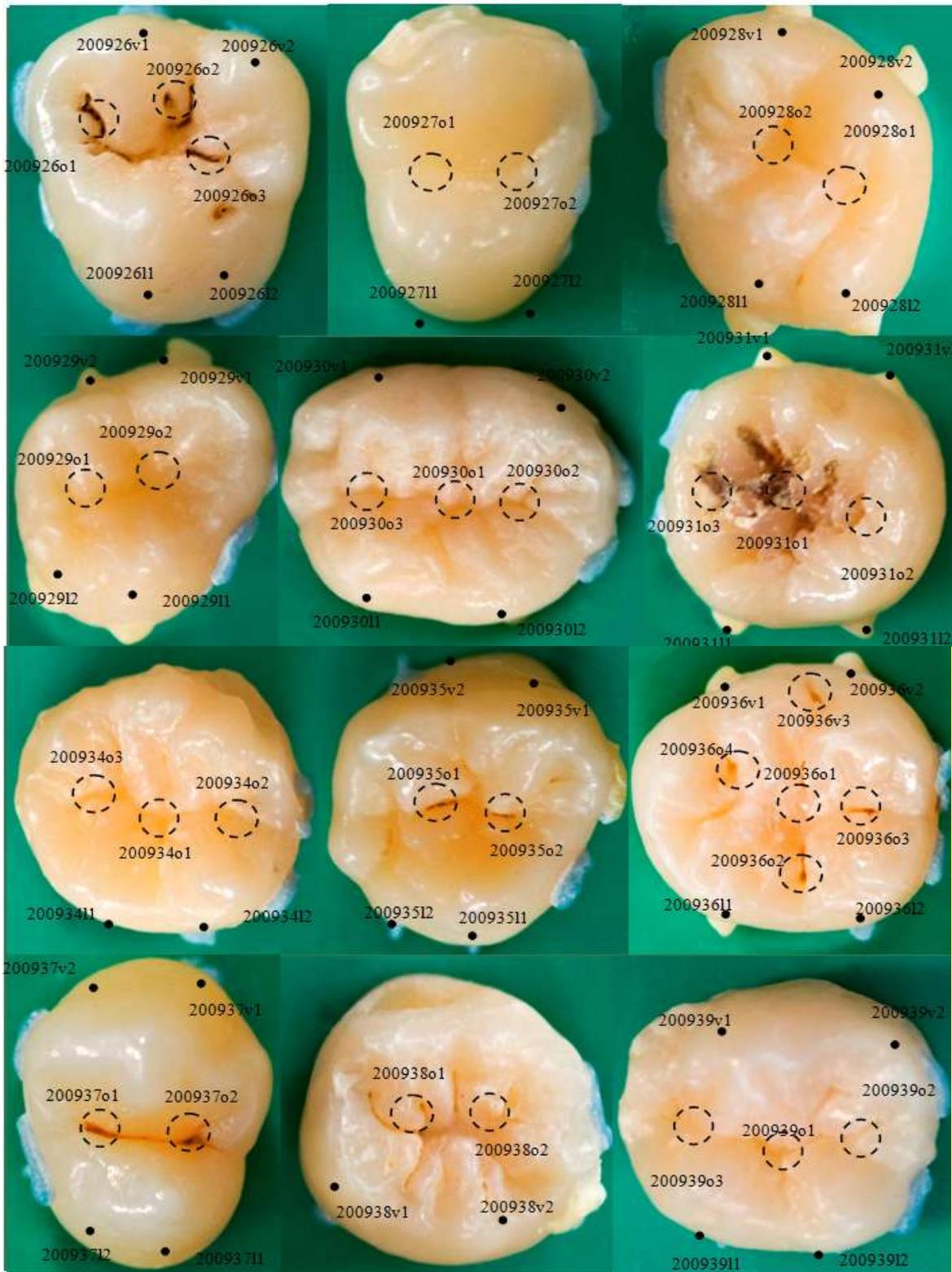


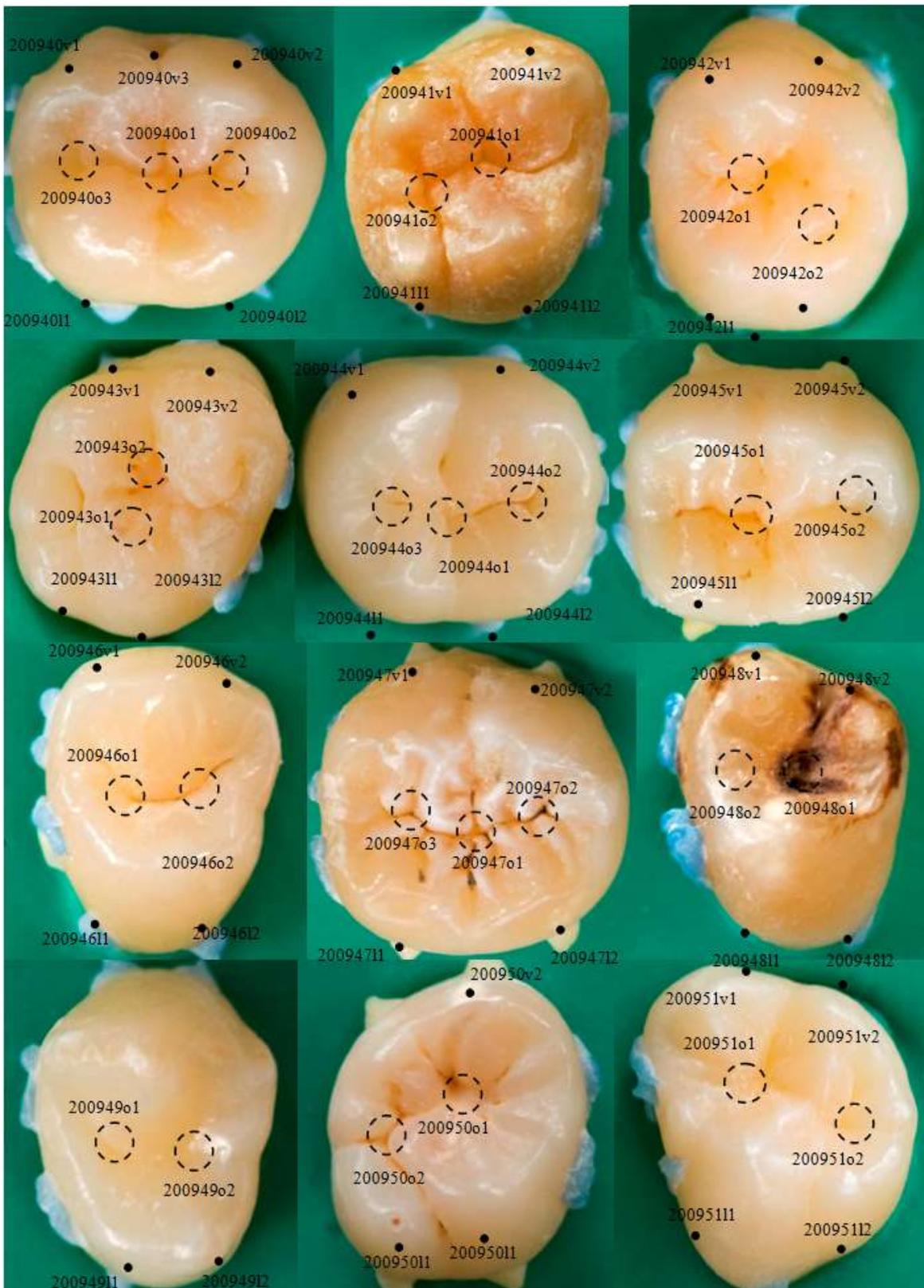
Marisa Palácios  
Coordenadora CEP/NESC

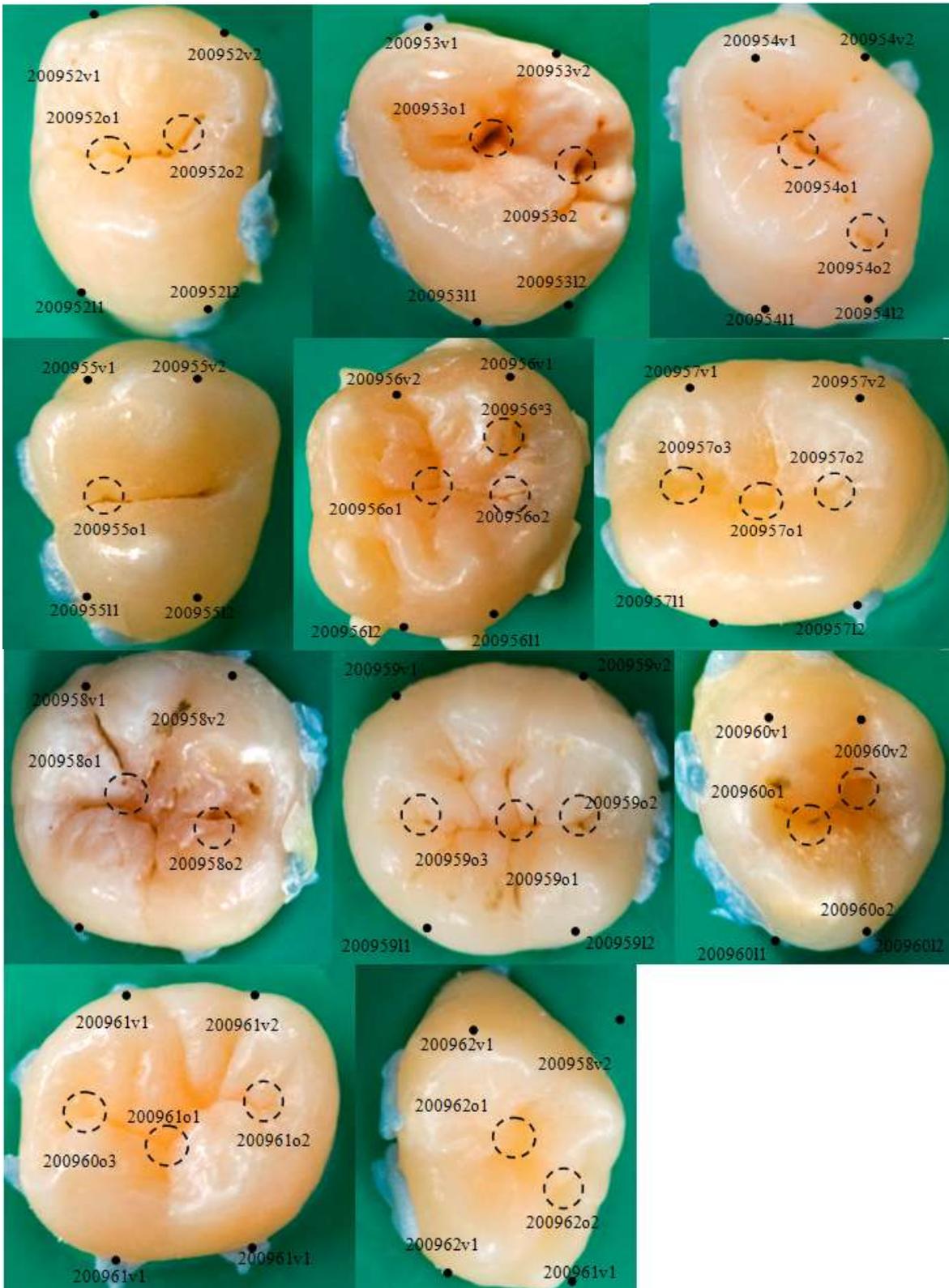
## ANEXO 2



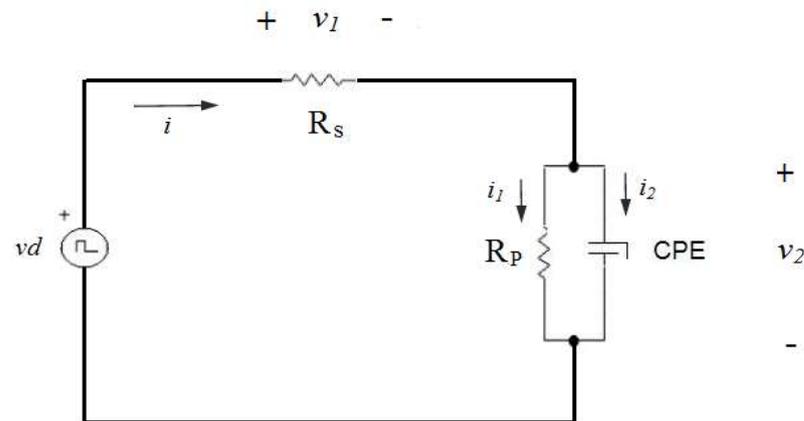








## ANEXO 3



Considerando-se a impedância do CPE como descrita por MAGIN (2004a) aplicada ao modelo desenhado acima, a demonstração do cálculo da corrente teórica esperada  $i(t)$  é demonstrada a seguir.

A lei das correntes nos permite escrever

$$i(t) = i_1 + i_2$$

$$i_1 = \frac{v_2}{R_p} \quad \text{e} \quad i_2 = C_0^\alpha \frac{d^\alpha v_2}{dt^\alpha}$$

Pelas leis da tensão de Kirchhoff

$$v_1 = R_s i \quad \text{ou} \quad i = \frac{v_1}{R_s}$$

Assim:

$$C_0^\alpha \frac{d^\alpha v_2}{dt^\alpha} + \frac{v_2}{R_p} = \frac{vd - v_2}{R_s}$$

Se considerarmos  $vd = vd_0 u(t)$  sendo  $vd_0$  a tensão no momento  $t=0$ , então

$$C_0^\alpha \frac{d^\alpha v_2}{dt^\alpha} + \frac{R_s + R_p}{R_s R_p} v_2 = vd_0 \cdot u(t)$$

Sendo

$$\frac{R_s + R_p}{R_p} = \frac{1}{R^*}$$

Aplicando a transformada de Laplace

$$C_0^\alpha (s^\alpha v_2) + \frac{1}{R^*} v_2 = \frac{v d_0}{R_s} \frac{1}{s}$$

Sendo  $R^* C_0^\alpha = \tau^\alpha$

$$v_2 = \frac{v d_0}{R_s C_0^\alpha} \frac{1}{s \left( s^\alpha + \frac{1}{\tau^\alpha} \right)}$$

Aplicando cálculo dos resíduos (DESOER & KUH, 1969), os coeficientes  $k_1$  e  $k_2$  podem ser obtidos.

$$k_1 = \tau^\alpha \quad \text{e} \quad k_2 = -\tau^\alpha s^{(\alpha-1)}$$

$$v_2 = v d_0 \frac{R^*}{R_s} \left[ \frac{1}{s} - \frac{s^{(\alpha-1)}}{\left( s^\alpha + \frac{1}{\tau^\alpha} \right)} \right]$$

Utilizando tabelas de transformação de Laplace (MAGIN, 2004b) e retornando a função do tempo

$$\text{Sendo } \lambda = \frac{1}{\tau}$$

$$v_2(t) = v d_0 \frac{R^*}{R_s} \{1 - E_\alpha[-(\lambda t^\alpha)]\}$$

$$v_2(t) = \frac{v d_0 R_p}{R_p + R_s} \{1 - E_\alpha[-\lambda t^\alpha]\}$$

Para o cálculo da corrente  $i(t)$

$$i(t) = \frac{vd_0 - v_2}{R_1}$$

Para  $t \geq 0$ ,  $vd = vd_0$ . Juntando as equações acima

$$i(t) = \frac{vd - \left[ \frac{vdR_p}{R_p + R_s} \{1 - E(-(\lambda t)^\alpha)\} \right]}{R_s}$$

Finalmente

$$i(t) = \frac{vd}{R_s + R_p} \left[ 1 + \frac{R_p}{R_s} E_\alpha(-(\lambda t)^\alpha) \right]$$

$$\text{Sendo } \lambda^\alpha = \frac{R_p + R_s}{R_s R_p (C_0)^\alpha}$$

onde  $R_s$ ,  $R_p$ ,  $C_0$  e  $\alpha$  são os parâmetros de interesse,  $vd$  é a magnitude do degrau de tensão,  $E_\alpha(x)$  é a função de *Mittag-Leffler* de um parâmetro de argumento  $x$ .