

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO – NÍVEL MESTRADO
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO CLÍNICA ODONTOLÓGICA
ÊNFASE EM DENTÍSTICA/CARIOLOGIA

Linha de Pesquisa

Biomateriais e técnicas terapêuticas em Odontologia

**AVALIAÇÃO LONGITUDINAL DO SELAMENTO DE DENTINA
CARIADA EM LESÕES PROFUNDAS DE CÁRIE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia como parte dos requisitos obrigatórios para a obtenção do título de Mestre em Clínica Odontológica com ênfase em Dentística/Cariologia

Luana Severo Alves

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Marisa Maltz

Porto Alegre, Junho de 2009

*“Tu não tens o direito de evitar um esforço,
a não ser em nome de outro esforço,
pois tua obrigação é crescer”*

Antoine de Saint-Exupéry

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, *Zenir e Hélio Fernando*, que me deram, além da vida, os princípios que me conduziram até aqui.

À minha irmã, *Letícia*, pela amizade e incentivo.

AGRADECIMENTOS

À professora *Marisa Maltz*, pelas oportunidades de crescimento e aprendizado, pelo conhecimento transmitido, pela confiança e compreensão.

À professora *Vania Fontanella*, pelas palavras de otimismo, pelos ensinamentos em Radiologia e pela importante contribuição a este trabalho.

À doutoranda *Clarissa Fatturi Parolo*, pela amizade, bondade, infinita disponibilidade em ajudar e ensinar e pelo exemplo prático de seu profundo amor a Deus.

À doutoranda *Juliana Jobim Jardim*, pela amizade, solidariedade, companheirismo e apoio na realização deste trabalho.

À colega *Fernanda de Santana Giongo*, pela amizade, carinho, coleguismo e companhia.

À bolsista de iniciação científica *Alessandra Damo*, pela amizade, serenidade e dedicação a este trabalho.

À *Elenara Ferreira de Oliveira*, pela disponibilidade e apoio a este trabalho.

Às professoras *Berenice Barbachan e Silva*, *Lina Naomi Hashizume* e *Sandra Liana Henz*, pela amizade, carinho, incentivo e pelo conhecimento transmitido.

Aos bolsistas de iniciação científica *Alessandra Nunes*, *Bruna Mua*, *Caroline Weber*, *Juliana Rosa*, *Lucélen Fontoura*, *Maurício dos Santos Moura* e *Nélio Dorneles*, pela companhia constante no laboratório.

À professora *Patrícia dos Santos Jardim*, pela amizade e apoio.

À laboratorista *Tânia Peres*, pela eficiência, companhia e constante disponibilidade em ajudar.

Ao *Programa de Pós-Graduação em Odontologia* da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pela possibilidade de aperfeiçoamento.

À *Universidade Federal de Santa Maria*, pela minha formação.

Ao professor *Alexandre Henrique Susin*, pelo aprendizado durante a graduação e por ter-me iniciado na pesquisa científica.

Ao professor *Júlio Eduardo Zenkner*, pelas oportunidades dadas e pela forte influência na escolha pela carreira acadêmica.

Aos *pacientes*, pelo interesse e colaboração.

À *CAPES*, pelo auxílio financeiro.

SUMÁRIO

RESUMO.....	7
ABSTRACT.....	8
ANTECEDENTES E JUSTIFICATIVA.....	9
A DOENÇA CÁRIE	
Aspectos clínicos e histopatológicos da lesão de cárie dentinária.....	9
Reações do complexo dentino-pulpar à lesão de cárie dentinária.....	11
O TRATAMENTO RESTAURADOR	
Critérios para remoção de dentina cariada.....	13
Selamento de dentina cariada sob restaurações.....	15
A AVALIAÇÃO DO TRATAMENTO	
Avaliação clínica.....	19
Exame radiográfico convencional.....	20
Subtração digital de imagens radiográficas.....	20
OBJETIVOS.....	25
ARTIGO 1.....	26
ARTIGO 2.....	43
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	64
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	66

RESUMO

Este estudo avaliou clínica e radiograficamente dentes com lesões profundas de cárie submetidos ao selamento de dentina cariada por 10 anos. Trinta e dois dentes permanentes foram submetidos à remoção parcial de dentina cariada da parede pulpar da cavidade, remoção completa da dentina cariada das paredes laterais (critério de dureza clínica), forramento com cimento à base de hidróxido de cálcio, selamento provisório por 6-7 meses, reabertura da cavidade (finalidades metodológicas: avaliação clínica da dentina e coleta de uma amostra para análise microbiológica) e restauração. Os pacientes foram avaliados clínica e radiograficamente na consulta inicial, após 6-7 meses, 1 ano e meio, 3, 5 e 10 anos. Análises radiográficas qualitativas (deposição de dentina terciária e profundidade da lesão cariosa) e quantitativas (alterações na densidade radiográfica da zona radiolúcida abaixo da restauração através da subtração radiográfica digital) foram realizadas comparando-se as radiografias *bitewings* de 6-7 meses, 3 e 10 anos com a radiografia inicial. Dos 32 dentes, um sofreu exposição pulpar durante a remoção do material provisório e foi excluído da amostra. Ao final de 10 anos, um paciente teve sua restauração substituída e quatro desistiram de participar da pesquisa. Dos 26 dentes restantes, 16 apresentaram sucesso da terapia (vitalidade pulpar) e 10 apresentaram insucesso da terapia (5 necroses e 5 fraturas). As taxas de sucesso após 1 ano e meio, 3, 5 e 10 anos foram 97%, 90%, 82% e 63% respectivamente. Dos 16 dentes vitais, 13 foram incluídos nas análises radiográficas. Na maioria dos casos, a profundidade da lesão cariosa reduziu ou permaneceu inalterada (12/13) e foi observada a deposição de dentina terciária (10/13). Não houve alteração na densidade radiográfica da zona radiolúcida nos exames de 6-7 meses e 3 anos, porém observou-se seu aumento significativo na reavaliação de 10 anos. O selamento de dentina cariada mostrou-se uma terapia efetiva para o tratamento de lesões profundas de cárie, sendo capaz de paralisar o processo carioso, promover reações dentino-pulpare e induzir ganho mineral na dentina cariada.

Palavras-Chave

Cárie dentinária, remoção parcial de dentina cariada, análise de sobrevivência, longevidade de restaurações, subtração radiográfica digital.

ABSTRACT

This study assessed clinically and radiographically teeth with deep caries lesions submitted to the sealing of carious dentine over a 10-year period. Thirty-two permanent teeth were submitted to partial caries removal from the pulpal cavity wall, complete removal of carious dentine from the surrounding walls (clinical hardness criteria), capping with a calcium hydroxide cement, temporary sealing for 6-7 months, cavity reopening (methodological purposes: clinical assessment of dentine and collection of a sample for microbiological analysis) and filling. Patients were clinically and radiographically assessed at the initial session and after 1.5; 3; 5 and 10 years. Radiographic assessments were performed comparing bitewing radiographs taken after 6-7 months, 3 and 10 years to the baseline one, both qualitatively (tertiary dentine deposition and lesion depth) and quantitatively (radiographic density changes in the radiolucent zone beneath the restoration using digital subtraction radiography). One tooth had its pulp exposed during temporary sealing removal and was excluded from the sample. Over 10 years, one tooth had its restoration replaced and four quitted the trial. Of the remaining 26 teeth, 16 had therapy success (tooth vitality) and 10 had therapy failure (5 necroses and 5 fractures). Therapy success rates were 97%, 90%, 82% and 63% at 1.5-year, 3-year, 5-year and 10-year follow-ups, respectively. Of the 16 vital teeth, 13 were included in the radiographic analysis. In most cases, lesion depth remained unchanged or decreased (12/13) and tertiary dentine formation was observed (10/13) at the 10-year follow-up. There were no radiographic density changes at 6-7 months and 3-year follow-ups; however, it was observed its increase at the 10-year assessment. Partial carious dentine removal is an effective therapy for deep caries lesions on a long-term basis, being able to arrest carious process, promote pulp-dentin reactions and induce mineral gain in the carious dentine.

Key-words

Dentine caries, partial caries removal, survival analysis, restoration longevity, digital subtraction radiography.

A DOENÇA CÁRIE

O conceito atual de cárie dentária define a doença como um processo dinâmico localizado na superfície dentária coberta por biofilme, caracterizado pelo desequilíbrio nos processos de desmineralização e remineralização que ocorrem constantemente na cavidade bucal. Ao longo de um determinado período de tempo, a predominância de momentos de perda mineral dos tecidos duros do dente (principalmente íons cálcio e fosfato) para o biofilme e saliva resulta no estabelecimento da lesão cariiosa. Diversos fatores, não só biológicos, mas também sociais, ambientais e comportamentais parecem estar envolvidos e interagindo no processo para determinar o estabelecimento da doença (HOLST *et al.*, 2001).

O perfil da cárie dentária tem-se alterado significativamente nas últimas décadas. A menor prevalência da doença bem como a menor velocidade de progressão das lesões ativas rumo à cavitação têm sido observadas (KRASSE, 1996; BARMES, 1999; BAELUM; HEIDMANN; NYVAD, 2006). Entretanto, apesar destas evidentes alterações, a doença cárie continua sendo a maior causa de perdas dentárias em todas as idades (BAELUM *et al.*, 1997).

A lesão de cárie inicia em um nível subclínico, podendo evoluir, se não tratada, para a formação de cavidade e, em estágios avançados, levar à perda dentária. Apesar do aperfeiçoamento dos métodos e critérios de diagnóstico (o que possibilita a identificação cada vez mais precoce das lesões cariosas) e da existência de medidas para o controle da doença, lesões de cárie em estágios avançados ainda são rotina na prática clínica. Fatores como condição sócio-econômica e acesso aos serviços de saúde podem estar relacionados ao atraso no diagnóstico e à tardia oportunidade de tratamento observada em lesões profundas de cárie.

Aspectos clínicos e histopatológicos da lesão de cárie dentinária

A lesão de cárie dentinária pode ser dividida, morfológicamente, na direção da superfície para a polpa, em cinco regiões: (1) zona de destruição e desorganização total, constituída por uma dentina necrótica; (2) zona de desmineralização avançada ou

superficial; (3) zona de invasão bacteriana, caracterizada pela presença de microorganismos no interior dos túbulos dentinários; (4) zona de desmineralização inicial ou profunda, promovida por produtos bacterianos, como ácidos e enzimas, provenientes da zona de invasão bacteriana e (5) zona de esclerose dentinária (CONSOLARO, 1996).

A impossibilidade de distinguir clinicamente estas zonas de evolução da cárie dentinária levou à necessidade de se estabelecer outros critérios para diferenciá-las. Esta distinção faz-se clinicamente importante para estabelecer parâmetros para definir o que deve ser removido e o que pode ou convém ser preservado no preparo cavitário (CONSOLARO, 1996). Assim, duas camadas distintas de dentina cariada foram definidas, as quais são diferentes do ponto de vista morfológico, bioquímico, bacteriológico e fisiológico (FUSAYAMA, 1979).

A camada mais externa da lesão cariada, denominada de zona infectada, abriga a maior invasão bacteriana, apresentando cerca de 10^8 células bacterianas viáveis por grama de dentina, com predominância de microorganismos proteolíticos (OSTROM, 1984). Clinicamente, este tecido se apresenta amolecido e amarelado, com consistência de queijo. Tal zona não é passível de remineralização, conforme demonstrado por Fusayama (1979) em lesões cariosas artificialmente desenvolvidas em cães. Esta camada de tecido necrótico é facilmente removida com colheres de dentina devido ao menor conteúdo mineral e à reduzida quantidade de fibras colágenas (FUSAYAMA, 1979).

A dentina mais profunda, de consistência ligeiramente endurecida ou coriácea e normalmente mais escura, constitui a zona afetada. Apesar do arranjo distorcido, o tecido dentinário mantém sua estrutura tubular e apresenta fibras colágenas semelhantes às fibras da dentina sadia (FUSAYAMA, 1979). Por estas razões, esta camada apresenta maior resistência à remoção com instrumentos manuais durante a confecção do preparo cavitário. As características microbiológicas desta zona diferem quanto ao número e tipo de bactérias, apresentando menor nível de contaminação (que pode variar de 10^5 células bacterianas viáveis por grama de dentina até a ausência de microorganismos) e maior proporção de microorganismos acidogênicos (OSTROM, 1984). A dentina afetada encontra-se parcialmente desmineralizada e é passível de remineralização, podendo atingir níveis de cálcio e dureza semelhantes à da dentina hígida (FUSAYAMA, 1979).

Reações do complexo dentino-pulpar à lesão de cárie

A dentina pode ser classificada em três tipos básicos: (1) primária, secretada durante o período de odontogênese; (2) secundária, depositada lentamente ao longo da vida biológica do dente, como uma resposta a estímulos de baixa intensidade decorrentes da função fisiológica normal e (3) terciária, depositada frente a agressões intensas, como a lesão cariosa. A dentina secundária caracteriza-se por apresentar túbulos dentinários em menor número e com menor diâmetro do que a dentina primária e desenvolve-se em toda a extensão da região circumpulpar, determinando a redução lenta e gradual da luz da câmara pulpar. Já a dentina terciária apresenta túbulos irregulares e tortuosos, em pequeno número ou mesmo ausentes e é depositada subjacente ao local da injúria.

O íntimo relacionamento entre a polpa e a dentina através dos prolongamentos odontoblásticos constitui uma das razões para que ambas sejam entendidas como uma entidade funcional, referida como complexo dentino-pulpar. O complexo dentino-pulpar apresenta a capacidade de desencadear uma série de reações como resposta a estímulos patológicos provenientes do meio externo, como a lesão cariosa. A magnitude destas respostas, que incluem tanto reações imunes e inflamatórias quanto diminuição da permeabilidade da dentina primária e/ou formação de dentina terciária, varia de acordo com a severidade da lesão de cárie.

De acordo com Bjørndal, Darvann e Thylstrup (1998), as primeiras reações do complexo dentino-pulpar à cárie dentária já podem ser observadas em lesões não cavitadas em esmalte, atingindo aproximadamente $\frac{1}{4}$ da sua espessura. Nestas situações, embora não sejam observadas alterações no grau de mineralização da dentina subjacente, já se verificam as primeiras reações celulares, como a redução da proporção citoplasma/núcleo dos odontoblastos. Quando a lesão em esmalte se aproxima da junção amelo-dentinária, envolvendo mais de $\frac{2}{3}$ de sua espessura, já é possível verificar um aumento do grau de mineralização da dentina (BJØRNDAL; THYLSTRUP, 1995). A esclerose dentinária, como é denominada, baseia-se na aceleração da deposição normal de dentina peritubular, constituindo-se em uma tentativa de bloquear a evolução da lesão cariosa (CONSOLARO, 1996).

À medida que a lesão cariosa evolui, as reações do complexo dentino-pulpar, antes restritas a alterações nas dentinas primária e secundária, passam a envolver a formação de dentina terciária. Esta permanente habilidade da polpa vital formar dentina,

mesmo após o término do desenvolvimento dentário, constitui-se em um importante mecanismo de defesa do órgão dentino-pulpar.

A dentina terciária pode ser dividida em dois sub-tipos: reacionária e reparativa. Em injúrias leves, como lesões cariosas em esmalte, lesões cariosas crônicas em dentina, lesões de erosão ou abrasão, os odontoblastos primários sobrevivem e são estimulados a secretar dentina reacionária abaixo do sítio da injúria (BJØRNDAL; DARVANN, 1999; TZIAFAS, 2004). Como esta dentina é depositada pelos próprios odontoblastos primários, existe continuidade e comunicação entre os túbulos dentinários deste novo tecido e os túbulos da dentina primária e secundária (TZIAFAS; SMITH; LESOT, 2000). Já em injúrias severas sem exposição pulpar, como aquelas causadas por lesões dentinárias agudas, preparos cavitários ou materiais restauradores, os odontoblastos primários localizados abaixo do sítio afetado podem ser destruídos. Nestas situações, em condições adequadas, ocorre a diferenciação de uma nova geração de células, semelhantes aos odontoblastos primários, as quais serão responsáveis pela deposição de dentina reparativa (BJØRNDAL; DARVANN, 1999; TZIAFAS, 2004). A secreção deste tecido a partir de uma nova camada de células implica na descontinuidade da estrutura tubular, e, conseqüentemente, na redução de sua permeabilidade (TZIAFAS; SMITH; LESOT, 2000). A permeabilidade dentinária tem sido descrita como um importante fator do ponto de vista clínico, visto que a porta de entrada para bactérias, produtos bacterianos e substâncias tóxicas provenientes de materiais restauradores são os túbulos dentinários (BJØRNDAL; MJÖR, 2001). Bjørndal e Darvann (1999) observaram que dentes com cavidades de cárie dentinária retentivas de biofilme, ativas ou de rápida progressão, apresentaram uma dentina terciária predominantemente atubular. Já nas lesões cavitadas de lenta progressão, passíveis de higienização, foi possível observar a formação de uma dentina terciária tubular bem definida. Os autores sugeriram que a transmissão de estímulos da biomassa cariogênica interfere na estrutura do novo tecido formado.

Tem sido sugerido que moléculas bioativas como fatores de crescimento desempenham um papel importante nas reações do complexo dentino-pulpar e estariam relacionados à sinalização dos odontoblastos primários e à diferenciação da nova geração de células nos processos de deposição de dentina reacionária e reparativa (TZIAFAS; SMITH; LESOT, 2000; BJØRNDAL; MJÖR, 2001; TZIAFAS, 2004).

O TRATAMENTO RESTAURADOR

O tratamento da doença cárie visa restabelecer o equilíbrio entre os processos de desmineralização e remineralização através do controle dos diversos fatores que interagem neste processo, como o controle de biofilme através da higiene bucal, o controle da dieta, o acesso ao flúor, entre outros. O tratamento restaurador representa uma parte do tratamento da doença, sendo responsável pela substituição da estrutura dentária perdida. As principais indicações do tratamento restaurador são: impossibilidade de controle mecânico de biofilme, restabelecimento da função ou da estética e proteção da estrutura dentária.

Uma das etapas do tratamento restaurador de lesões cariosas é a confecção do preparo cavitário, o qual implica na remoção de tecido cariado remanescente.

Crítérios para remoção de dentina cariada

A discussão acerca da quantidade de dentina cariada a ser removida durante o preparo cavitário é bastante antiga. Já em 1859, Sir John Tomes escreveu que “é melhor permitir que uma camada descolorida de dentina seja deixada para proteção da polpa do que correr o risco de sacrificar o dente. Supondo-se que as paredes ao redor da cavidade são fortes e saudáveis, não parece que a retenção de uma pouca e levemente amolecida dentina no fundo da cavidade interfira seriamente com a durabilidade da restauração” (TOMES, 1859). Por outro lado, Black (1908), nos primórdios do século XX, ao idealizar uma seqüência lógica de procedimentos para a confecção do preparo cavitário, sugeriu que a remoção de toda a dentina cariada deveria ser realizada, seguindo critérios clínicos, como dureza e coloração. Segundo o autor, o material restaurador não poderia ser colocado sobre dentina amolecida, pois causaria irritação nos tecidos dentários e induziria reações contra este “corpo estranho”. Assim, o tecido dentinário estaria adequadamente limpo e pronto para receber o material restaurador quando apresentasse resistência à sondagem suficiente para promover o “grito da dentina”, além de coloração semelhante à dentina hígida.

A odontologia restauradora tradicional preconiza a remoção total do tecido cariado (KREULEN *et al.*, 1997; WEERHEIJM *et al.*, 1999). A obtenção de um tecido duro pressupõe a remoção da dentina contaminada. Entretanto, estudos posteriores demonstraram não haver relação entre dureza clínica e contaminação bacteriana,

revelando que a “remoção completa” do tecido cariado seguindo o critério clínico de dureza não assegura a remoção total de microorganismos (MACGREGOR; MARSLAND; BATTY, 1956; WHITEHEAD; MACGREGOR; MARSLAND, 1960; SHOVELTON, 1968).

Macgregor, Marsland e Batty (1956) avaliaram o crescimento bacteriano em 100 cavidades de cárie após remoção de todo o tecido amolecido e obtenção de uma dentina dura. Através de avaliação microbiológica, foi demonstrado que 51% das cavidades tratadas apresentaram colônias bacterianas viáveis, evidenciando que a remoção de dentina cariada guiada pelo critério clínico convencional de dureza não garante ausência de microorganismos. Whitehead, Macgregor e Marsland (1960) utilizando a mesma metodologia ao avaliar 200 dentes decíduos e 200 dentes permanentes demonstraram que a dentina, embora dura, apresentou crescimento microbiano em 75,5% dos dentes decíduos e 49,5% dos dentes permanentes.

Shovelton (1968) investigou a relação entre consistência da dentina e presença de microorganismos através da confecção de preparos cavitários em 102 dentes. A remoção do tecido cariado foi realizada de modo que a dentina remanescente no fundo da cavidade pudesse ser classificada em dura, coriácea ou amolecida. O autor concluiu que a dureza do tecido dentinário não é um parâmetro confiável para a determinação da presença bacteriana, uma vez que 36% dos dentes com dentina dura apresentaram contaminação bacteriana, ao passo que 39% dos casos com dentina coriácea e 28% dos dentes com dentina amolecida apresentaram-se livres de microorganismos.

A constante preocupação com a remoção completa da dentina cariada resultou no desenvolvimento de corantes para a sua identificação. A proposta original surgiu na década de 70, quando um corante orgânico à base de fucsina básica foi utilizado para guiar a remoção da dentina infectada, irreversivelmente desmineralizada pela lesão de cárie e que deveria ser removida (FUSAYAMA; TERASHIMA, 1972; SATO; FUSAYAMA, 1976). O mesmo deveria ser aplicado quantas vezes fossem necessárias durante a remoção da dentina cariada até que não restasse nenhuma porção pigmentada de tecido.

Estudos posteriores passaram a questionar a confiabilidade da utilização dos corantes como guia para remoção de dentina cariada (KIDD; JOYSTON-BECHAL; BEIGHTON, 1993; BOSTON; GRAVER, 1994; HENZ, 1997; ANSARI *et al.*, 1999). Através de análises microbiológicas, observou-se a baixa especificidade do método, pigmentando zonas livres de microrganismos e não pigmentando áreas contaminadas.

Os estudos sugeriram que os corantes apresentam, na realidade, afinidade não por dentina contaminada por bactérias, mas sim por sítios com menor conteúdo mineral e maior proporção de matéria orgânica, como a dentina circumpulpar e a junção amelodentinária (locais mais freqüentemente pigmentados pelo corante). Os autores foram unânimes em afirmar que não há correlação entre dentina corada e presença bacteriana, sendo que a utilização clínica de corantes como método para guiar a remoção de dentina cariada induz a remoção desnecessária de tecido dentinário (KIDD; JOYSTON-BECHAL; BEIGHTON, 1993; BOSTON; GRAVER, 1994; HENZ, 1997; ANSARI *et al.*, 1999).

De acordo com Lopes *et al.* (1987), a presença de microrganismos na dentina cariada parece não ter relação com os métodos de detecção e remoção da mesma (uso de corantes ou evidenciadores de dentina cariada, dureza tecidual ou descoloração da dentina desmineralizada). Os autores observaram invasão bacteriana mesmo em locais em que a dureza da dentina apresentava-se semelhante à da dentina hígida.

Está claro na literatura que os critérios clínicos de dureza e coloração, os mais comumente utilizados para guiar a remoção da dentina cariada, não asseguram a remoção de todo o tecido contaminado. Mesmo sabendo-se que microorganismos são rotineiramente selados sob restaurações e que isto não resulta fatalmente em insucesso clínico, restam dúvidas acerca da quantidade de tecido cariado a ser removido ou mantido na cavidade.

Selamento de dentina cariada sob restaurações

Diversos estudos foram conduzidos a fim de avaliar os possíveis efeitos do selamento de dentina cariada sob restaurações. Características microbiológicas e clínicas do tecido cariado selado foram investigadas tanto em lesões cariosas rasas (metade externa da espessura da dentina) quanto em lesões profundas (metade interna da espessura da dentina) (BESIC, 1943; MERTZ-FAIRHURST *et al.*, 1979a, 1979b; BJØRNDAL; LARSEN; THYLSTRUP, 1997; MALTZ *et al.*, 2002; PINTO *et al.*, 2006; WAMBIER *et al.*, 2007).

Um dos primeiros estudos microbiológicos que avaliou a contagem bacteriana antes e após o selamento de dentina cariada foi conduzido por Besic (1943). Nesta série de casos, uma pequena quantidade de dentina amolecida foi deixada na parede pulpar de cavidades de cárie. Amostras do tecido dentinário foram coletadas para análise

microbiológica em antes da restauração e após variados períodos de selamento. O autor observou que (1) o processo carioso em dentina cessa imediata ou gradualmente tão logo a cavidade é isolada do meio externo, mesmo que microorganismos permaneçam vivos, (2) as bactérias têm a tendência de tornarem-se inativas, (3) em 30% dos casos estudados foram observadas culturas positivas de estreptococos após um ano de selamento e (4) nenhum dos casos apresentou indícios de progressão de lesão. Mesmo após estes achados, o autor preconiza a remoção total do tecido amolecido antes da restauração definitiva.

A partir da década de 70, diversos estudos microbiológicos foram conduzidos em lesões cariosas em metade externa de dentina. Os autores foram unânimes em relatar a significativa redução do número de bactérias viáveis quando a lesão de cárie é isolada do ambiente externo, seja através do uso de selantes (THEILEDE *et al.*, 1977; GOING *et al.*, 1978; MERTZ-FAIRHURST *et al.*, 1979a; JENSEN; HANDELMAN, 1980; MERTZ-FAIRHURST; SCHUSTER; FAIRHURST, 1986; WEERHEIJM *et al.*, 1992) ou de materiais restauradores (KREULEN *et al.*, 1997; WEERHEIJM *et al.*, 1999).

Com relação a lesões profundas de cárie, dois tratamentos conservadores baseados no selamento de tecido cariado têm sido indicados: o tratamento expectante e o capeamento pulpar indireto. Independentemente do protocolo utilizado, estudos microbiológicos demonstraram a redução do número de bactérias viáveis após o selamento de dentina cariada por variados períodos de tempo (BJØRNDAL; LARSEN; THYLSTRUP, 1997; BJØRNDAL; LARSEN, 2000; MALTZ *et al.*, 2002; PINTO *et al.*, 2006; WAMBIER *et al.*, 2007; ORHAN *et al.*, 2008). Análises de microscopia eletrônica de varredura também demonstraram a redução do nível de contaminação de lesões profundas de cárie após o seu selamento (MASSARA; ALVES; BRANDÃO, 2002; BRESSANI, 2003; CORRALO, 2003; WAMBIER *et al.*, 2007).

Diferentemente dos estudos anteriores, que investigaram o número de bactérias cultiváveis por cavidade cariosa, Fisher (1966) avaliou o número de dentes com crescimento microbiano após o selamento de dentina cariada. Após dois a 14 meses de selamento, foi possível observar que a maioria dos dentes apresentaram crescimento bacteriano: 13 de 15 dentes após dois meses e 8 de 11 dentes após 14 meses. O autor concluiu que bactérias permanecem viáveis abaixo das restaurações por longos períodos de tempo; porém, não há evidência de que estes microorganismos estejam envolvidos na progressão do processo carioso. Utilizando metodologia semelhante, Fisher (1969) acompanhou outros dentes permanentes por um período superior a dois anos e observou

resultados semelhantes ao estudo anterior: oito dos 10 avaliados apresentaram crescimento bacteriano de lactobacilos e estreptococos após 26 meses. Apesar destes achados, o autor ressaltou que o processo cariioso parece progredir muito lentamente ou não progredir abaixo das restaurações.

Além destes achados microbiológicos quantitativos, alguns estudos avaliaram qualitativamente a composição da microflora presente antes e após o selamento de dentina cariada (BJØRNDAL; LARSEN, 2000; PADDICK *et al.*, 2005). Bjørndal e Larsen (2000) avaliaram microbiologicamente dentes permanentes com lesões profundas de cárie submetidos à remoção de dentina cariada em duas etapas. A maioria dos microorganismos isolados na primeira sessão, antes da restauração dos dentes, foram bastonetes gram-positivos, correspondendo a 70% das unidades formadoras de colônia encontradas. O gênero predominante foi o dos lactobacilos. Após quatro a seis meses de selamento, foi observada uma redução expressiva da frequência e proporção de lactobacilos, ao passo que outras espécies, como *A. naeslundii* e alguns estreptococos, tornaram-se predominantes. Os autores concluíram que a flora bacteriana cultivável reduziu significativamente após o tratamento e que a distribuição das espécies bacterianas após a reabertura dos dentes não representava a microbiota cariogênica típica de lesões profundas de cárie. Diferentemente do estudo anterior, que utilizou a técnica do cultivo, Paddick *et al.* (2005) analisaram a diversidade fenotípica e genotípica da microbiota selada sob restaurações utilizando técnicas de biologia molecular. As amostras de dentina coletadas antes do selamento apresentaram predominantemente lactobacilos, estreptococos (*S. mutans* e *S. parasanguinis*) e actinomicetes (*A. israelii* e *A. gerencseriae*). Nenhuma destas espécies bacterianas foi encontrada na microbiota após o selamento da dentina cariada por cinco meses, que consistiu principalmente de *A. naeslundii*, *S. oralis*, *S. intermedius* e *S. mitis*. A menor disponibilidade de nutrientes durante o período de selamento ou a relativa simplicidade e homogeneidade destes nutrientes afetou significativamente a microbiota sobrevivente abaixo das restaurações, que se tornou menos complexa do que aquela microbiota constantemente exposta à secreção salivar e às alterações de pH presentes no ambiente bucal.

Diversos estudos avaliaram as características clínicas da dentina cariada observadas após o seu selamento. A substituição de um tecido amolecido e amarelado por uma dentina mais dura e mais escura após o selamento da cavidade tem sido consistentemente relatada, tanto em lesões cariosas rasas (MERTZ-FAIRHURST *et al.*,

1979b; MERTZ-FAIRHURST; SCHUSTER; FAIRHURST, 1986; KREULEN *et al.*, 1997) quanto profundas (BJØRNDAL; LARSEN; THYLSTRUP, 1997; BJØRNDAL; THYLSTRUP, 1998; BJØRNDAL; LARSEN, 2000; MALTZ *et al.*, 2002; MASSARA; ALVES; BRANDÃO, 2002; BRESSANI, 2003; CORRALO, 2003; PINTO *et al.*, 2006; ORHAN *et al.*, 2008). O aumento de dureza observado clinicamente foi confirmado por análises laboratoriais de microdureza, realizadas em dentes decíduos esfoliados (MARCHI *et al.*, 2008; FRANZON *et al.*, 2009). Estudos laboratoriais e radiográficos têm sugerido o aumento do conteúdo mineral da dentina cariada, demonstrando, após o seu selamento, maiores níveis de cálcio (MASSARA; ALVES; BRANDÃO, 2002) e fósforo (EIDELMAN; FINN; KOULOURIDES, 1965) e maior radiopacidade na zona radiolúcida abaixo da restauração (MALTZ *et al.*, 2002). Análises em microscopia eletrônica de varredura demonstraram a reorganização estrutural da dentina cariada selada, com obliteração total ou parcial de túbulos dentinários (MASSARA; ALVES; BRANDÃO, 2002; CORRALO, 2003; WAMBIER *et al.*, 2007).

O selamento de dentina cariada tem sido avaliado em estudos longitudinais. MERTZ-FAIRHURST *et al.* (1998) avaliaram por 10 anos restaurações resinosas seladas confeccionadas sobre tecido cariado em lesões de cárie restritas à metade externa da dentina. O preparo cavitário se restringiu à confecção de um bisel em esmalte. Tais restaurações foram comparadas com restaurações “ultra-conservadoras” de amálgama, também seladas, e com restaurações classe I convencionais de amálgama (“extensão para prevenção”). A remoção total do tecido cariado foi realizada nestes dois grupos controle. Os resultados mostraram que as lesões cariosas seladas permaneceram estacionárias sob as restaurações resinosas ao longo do período experimental. Tais restaurações apresentaram taxa de sobrevivência semelhante às restaurações convencionais de amálgama, demonstrando que a manutenção de tecido cariado abaixo das restaurações não comprometeu sua longevidade.

Quando o selamento de dentina cariada é realizado em lesões profundas de cárie, o principal desfecho investigado é a manutenção da vitalidade pulpar. Mediante análise clínica e radiográfica, os estudos observaram a paralisação do processo carioso (ausência de progressão da lesão selada) e a manutenção da sensibilidade pulpar na grande maioria dos casos, tanto em dentes decíduos (RIBEIRO *et al.*, 1999; FALSTER *et al.*, 2002; MARCHI *et al.*, 2006; FRANZON *et al.*, 2007; CASAGRANDE *et al.*, 2008) quanto permanentes (BJØRNDAL; THYLSTRUP, 1998; OLIVEIRA *et al.*, 2006; MALTZ *et al.*, 2007). Os períodos de acompanhamento dos pacientes nestes

estudos variaram de um a quatro anos, não estando disponíveis na literatura estudos com períodos mais longos de acompanhamento de lesões profundas de cárie submetidas ao selamento de dentina cariada.

A AVALIAÇÃO DO TRATAMENTO

O acompanhamento longitudinal de longo prazo é essencial para a avaliação da taxa de sucesso de uma determinada terapia. A ocorrência de fracassos tende a aumentar ao longo do tempo (LUNDIN; KOCH, 1999; BARTHEL *et al.*, 2000), demonstrando que taxas de sobrevivência obtidas em curto prazo podem superestimar a real efetividade do tratamento avaliado. Apesar de todas as evidências indicativas da paralisação do processo carioso após o selamento de dentina cariada em lesões profundas de cárie, os períodos de acompanhamento dos pacientes são geralmente reduzidos, o que impossibilita a avaliação dos dentes tratados ao longo do tempo.

Tradicionalmente, critérios clínicos e radiográficos têm sido utilizados para avaliar longitudinalmente a paralisação da progressão de lesões cariosas após o tratamento restaurador.

Avaliação clínica

Em geral, a avaliação clínica longitudinal do tratamento restaurador restringe-se à observação de sinais e sintomas, uma vez que a avaliação direta do tecido dentário mediante a remoção do material restaurador consiste em um método invasivo e clinicamente inviável. No caso de lesões profundas de cárie, o desfecho principal a ser avaliado é a vitalidade pulpar, a qual pode ser verificada através do teste de sensibilidade ao frio. Este teste é subjetivo e depende do relato do paciente, sendo de difícil utilização em crianças. O teste de sensibilidade pulpar deve ser complementado pelo exame radiográfico a fim de avaliar a região periapical e a área radiolúcida abaixo da restauração.

Exame radiográfico convencional

A análise radiográfica é o método mais indicado para avaliar o comportamento das lesões de cárie (WENZEL; ANTHONISEN; JUUL, 2000), seja sua progressão ou

paralisação. Apesar de ser um método de amplo conhecimento e utilização pelo clínico, a análise radiográfica convencional apresenta algumas limitações. Toda lesão visível em uma radiografia inevitavelmente será uma imagem bidimensional de uma estrutura tridimensional (PITTS, 1983). A radiolucidez observada é menos abrangente do que as regiões mais profundas da lesão quando analisada histologicamente, ou seja, a radiografia subestima a sua profundidade (GWINNETT, 1971). A interpretação da imagem radiográfica é subjetiva, apresentando ampla variabilidade intra e inter-examinadores (WENZEL *et al.*, 1990; ESPELID; TVEIT; FJELLTVEIT, 1994; ESPELID; TVEIT; RIORDAN, 1994; LAZARCHIK *et al.*, 1995). Esta questão referente à alta taxa de discordância entre o mesmo examinador em momentos distintos ou entre dois ou mais examinadores apresenta importante implicação clínica. A atribuição de diferentes diagnósticos a um mesmo caso pode determinar a indicação de diferentes tratamentos para o mesmo dente, dependendo do momento da avaliação ou do avaliador. Outra limitação da técnica radiográfica convencional é a dificuldade em registrar pequenas modificações no conteúdo mineral (WENZEL *et al.*, 1990).

Na tentativa de compensar algumas destas limitações, novas técnicas para a análise de imagens radiográficas têm sido propostas, dentre as quais se destaca a subtração radiográfica.

Subtração digital de imagens radiográficas

A subtração digital de imagens radiográficas foi proposta inicialmente por Gröndahl, Gröndahl e Webber (1983) como um método potencialmente mais sensível do que a análise radiográfica convencional para a detecção de pequenas alterações minerais em tecidos duros. A técnica baseia-se em um par de radiografias tomadas com um determinado intervalo de tempo.

As imagens radiográficas utilizadas nesta técnica devem estar disponíveis no formato digital, para, assim, serem processadas por *softwares* apropriados. Além da própria radiografia digital, na qual a imagem é capturada diretamente por um receptor de imagens e transferida para o monitor do computador, radiografias convencionais podem ser digitalizadas por um *scanner* com leitor de transparências (KHADEMI, 1996). Com a conversão digital, a informação contida na imagem é decomposta em uma matriz formada por *pixels*. Um *pixel* é a menor unidade de informação da imagem, equivalendo aos cristais de prata da imagem radiográfica convencional. Cada *pixel*

ocupa um local na imagem e possui um tom de cinza, representado numericamente (KHADEMI, 1996).

A possibilidade de modificar características da imagem radiográfica digital no computador (processamento de imagens) é a diferença essencial entre este tipo de imagem e a radiografia convencional, baseada em filmes radiográficos (VAN DER STELT, 2008). A qualidade da imagem radiográfica convencional é determinada no momento em que o filme é retirado das soluções de processamento (WENZEL, 1993), não sendo passível de alteração. As condições de exposição e de processamento do filme determinam o resultado final, que, quando insatisfatório, leva à repetição da tomada radiográfica, expondo o paciente à nova radiação. O uso da radiografia digital oferece uma série de vantagens ao clínico, como ajuste de contraste e brilho, aumento e aproximação da imagem (“zoom”), medição exata de distâncias, inversão dos tons de cinza, entre outras, que podem aumentar a capacidade diagnóstica do profissional (WENZEL, 1993; VAN DER STELT, 2008). Apesar destas evidentes vantagens, não existe consenso na literatura sobre o impacto do uso da imagem digital na performance diagnóstica. Diversos estudos, em sua maioria *in vitro*, utilizando dentes extraídos e análise histológica como “padrão ouro”, avaliaram comparativamente a radiografia convencional e a radiografia digital para o diagnóstico de lesões cariosas. Embora a maioria tenha demonstrado não haver diferença entre as duas técnicas (de ARAÚJO *et al.*, 2005; FERREIRA *et al.*, 2006; ALKURT *et al.*, 2007; CASTRO *et al.*, 2007; ROCKENBACH; VEECK; da COSTA, 2008), alguns estudos observaram a superioridade da imagem digital (WENZEL *et al.*, 1990; BIN-SHUWAISH *et al.*, 2008).

A subtração digital (SD) de imagens radiográficas baseia-se na sobreposição de duas radiografias, sendo a segunda tomada após um período de tempo suficiente para que ocorram as alterações minerais investigadas. Quando as duas radiografias são ajustadas uma sobre a outra, todas as estruturas anatômicas idênticas que permaneceram inalteradas entre as duas tomadas são eliminadas e a região correspondente assumirá um tom de cinza homogêneo. Por definição, em uma subtração de imagens perfeita, estas regiões inalteradas apresentam uma média de tons de cinza igual a 128 (de 256 tons de cinza) em todos os *pixels*. Regiões que sofreram alteração no conteúdo mineral aparecerão como imagens escurecidas (média de tons de cinza < 128, indicando perda mineral) ou esbranquiçadas (média de tons de cinza > 128, indicando ganho mineral) na imagem subtraída (CHRISTGAU *et al.*, 1998).

Ruído na subtração radiográfica pode ser definido como fatores que mascaram os sinais em uma radiografia devido à sobreposição de estruturas anatômicas e aos artefatos da técnica radiográfica, sendo consideradas flutuações indesejáveis na intensidade dos *pixels* (SHROUT *et al.*, 1993). A SD é muito sensível a ruídos e todos os esforços possíveis devem ser direcionados para reduzi-los: (1) durante a tomada radiográfica – padronização das angulações vertical e horizontal (uso de posicionadores de filmes radiográficos), do tempo de exposição e dos procedimentos de processamento dos filmes radiográficos; (2) no tratamento das imagens digitalizadas – ajuste de contraste e brilho e alinhamento geométrico (por meio da definição de pontos de referência em ambas as imagens). Apesar de todos os esforços, a imagem de subtração digital mostra certo nível de ruído (WENZEL; SEWERIN, 1991), determinando variações numéricas na média de tons de cinza.

A avaliação de imagens de SD pode ser qualitativa ou quantitativa. A SD qualitativa baseia-se na avaliação visual de alterações dos tons de cinza, apresentando certo grau de subjetividade (CHRISTGAU *et al.*, 1998). A SD quantitativa compara numericamente a média de tons de cinza da área de interesse (denominada área teste) com áreas-controle – localizadas em regiões que certamente não sofreram alteração de conteúdo mineral entre as duas tomadas radiográficas. Embora a SD quantitativa seja considerada operador-independente por se basear em valores numéricos (CHRISTGAU *et al.*, 1998), ela também é dependente, em certo grau, do operador, por ser definida pela sobreposição das imagens radiográficas e pela demarcação das áreas de interesse.

Esta técnica tem sido amplamente utilizada para a avaliação de pequenas alterações no conteúdo mineral em diferentes situações clínicas, como lesões periapicais, lesões ósseas maxilares, reabsorção radicular externa, perda óssea alveolar e avaliação do tecido ósseo peri-implantar (HEO *et al.*, 2001; BITTAR-CORTEZ *et al.*, 2006; GOREN *et al.*, 2008; HWANG *et al.*, 2008). Diversos estudos avaliaram a acurácia do método da SD através da verificação da proporção de casos verdadeiros positivos. Os autores foram unânimes em relatar que a técnica da SD é mais sensível que o método radiográfico convencional para avaliar diferentes lesões dentárias e ósseas (GRÖNDAHL; GRÖNDAHL, 1983; KRAVITZ *et al.*, 1992; NUMMIKOSKI *et al.*, 1992; CHRISTGAU *et al.*, 1998).

Em relação à cárie dentária, alguns estudos *in vitro* (NUMMIKOSKI *et al.*, 1992; EBERHARD *et al.*, 2000; FERREIRA *et al.*, 2006) e *in vivo* (MALTZ *et al.*, 2002, 2007; OLIVEIRA *et al.*, 2006; MARTIGNON; EKSTRAND; ELLWOOD, 2006;

CARNEIRO *et al.*, 2009) utilizando a SD estão disponíveis na literatura. Ao avaliar a acurácia da SD no diagnóstico de lesões artificiais de cárie secundária, Nummikoski *et al.* (1992) demonstraram que a técnica apresentou desempenho superior à radiografia convencional, principalmente por reduzir o número de diagnósticos falso-positivos. Neste estudo, a SD foi mais sensível e mais específica do que a radiografia convencional. A superioridade da SD comparativamente a pares de radiografias convencionais, digitalizadas e digitais no diagnóstico da desmineralização do esmalte proximal foi observada por Ferreira *et al.* (2006). Em um estudo clínico, Martignon, Ekstrand e Ellwood (2006) utilizaram a técnica da SD para avaliar a eficácia do selamento de lesões cariosas incipientes em superfícies proximais. Comparativamente ao exame radiográfico convencional, a SD detectou uma maior porcentagem de lesões cariosas que progrediram ao longo do período experimental de 18 meses. Apesar deste trabalho não ser considerado um estudo de acurácia, por não apresentar um “padrão ouro”, os autores sugerem que a SD parece ser o método mais sensível para avaliar o comportamento de lesões cariosas. A SD quantitativa têm sido utilizada para avaliar a remineralização do esmalte dentário induzida por produtos fluoretados tanto *in vitro*, em lesões cariosas artificialmente desenvolvidas em dentes extraídos (EBERHARD *et al.*, 2000), quanto *in vivo*, em lesões cariosas naturais tratadas clinicamente (CARNEIRO *et al.*, 2009) e também em estudos clínicos que investigaram alterações do conteúdo mineral de lesões de cárie seladas sob restaurações (MALTZ *et al.*, 2002, 2007; OLIVEIRA *et al.*, 2006).

Além da maior sensibilidade, a técnica da SD apresenta a vantagem de reduzir a variabilidade intra-examinador. Wenzel, Anthonisen e Juul (2000) compararam a reprodutibilidade da radiografia convencional e da subtração radiográfica na avaliação da progressão de lesões cariosas. Após a análise de 97 pares de radiografias tomadas após um intervalo de 1-2 anos, observou-se que os valores de kappa intra-examinador foram estatisticamente superiores na análise de subtração (média = 0,875) do que na análise radiográfica convencional (média = 0,758) ($p < 0.05$).

Apesar das evidências descritas, ainda faltam estudos na literatura que avaliem longitudinalmente o selamento de dentina cariada em lesões profundas de cárie quanto a desfechos clínicos (vitalidade pulpar e longevidade das restaurações) e radiográficos (dentina terciária, profundidade da lesão cariada e densidade radiográfica da dentina cariada selada).

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Avaliar longitudinalmente o selamento de dentina cariada em lesões profundas de cárie em dentes permanentes.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar o selamento de dentina cariada em lesões profundas de cárie em dentes permanentes por 10 anos no que concerne à:

- (1) Vitalidade pulpar – Artigo 1
- (2) Longevidade das restaurações – Artigo 1
- (3) Deposição de dentina terciária – Artigo 2
- (4) Profundidade das lesões cariosas seladas – Artigo 2
- (5) Modificações do conteúdo mineral da dentina cariada remanescente – Artigo 2

**Prospective study on the sealing of deep caries lesions:
10-year clinical outcomes**

Prospective study on the sealing of deep caries lesions: 10-year clinical outcomes

L. S. Alves^(a), J. J. Jardim^(a), M. S. Moura^(a), E. F. Oliveira^(b), M. Maltz^(a)

^(a) Department of Social and Preventive Dentistry, Faculty of Odontology, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil.

^(b) Department of Restorative Dentistry, Faculty of Odontology, Federal University of Pelotas, Pelotas, Brazil.

Short title: Sealing of deep caries lesions: 10-year clinical outcomes

Corresponding author:

Marisa Maltz

Faculdade de Odontologia – UFRGS

Departamento de Odontologia Preventiva e Social

Ramiro Barcelos, 2492, Bom Fim 90035-003 (Brazil)

Tel. +55 51 330 851 93

Fax +55 51 330 852 47

E-mail: mmaltz@ufrgs.br

Abstract

Background/aims: Several studies have reported findings that indicate the arrestment of the carious process after sealing of decayed dentine, but patient's follow-up time is usually short. The aim of this prospective study was to follow up 31 teeth with deep caries lesion submitted to sealing of carious dentine over a 10-year period.

Methods: Clinical and radiographic assessments were conducted after 6-7 months, 1.5 year, 3 years, 5 years and 10 years. Therapy success rates concerning pulp sensitivity and restoration longevity according to the modified United States Public Health Service (USPHS) criteria were determined.

Results: Of the original 31 teeth, 5 were lost during the study period, 10 had therapy failure (5 restorations/tooth fractures and 5 necroses) and 16 had therapy success (both sensitivity to cold test and absence of radiographic alteration). Therapy survival rates were 97%, 90%, 82% and 63% at 1.5-year, 3-year, 5-year and 10-year follow-ups, respectively. Restoration survival rate was 79% after 10 years.

Conclusion: Partial carious dentine removal is an effective therapy for deep caries lesions on a long-term basis, preserving dental tissue and tooth vitality.

Introduction

Control of dental biofilm is essential to prevent the onset and development of caries lesion. Restorative treatment is indicated when cavity configuration hinders mechanical biofilm removal by oral hygiene procedures. Conventional restorative treatment requires the removal of all soft carious dentine, and, when the lesion floor is near the pulp chamber, there is a special concern about maintenance of tooth vitality. In this context, alternative approaches to the treatment of deep caries lesions have been proposed in order to prevent pulp exposure, such as indirect pulp treatment [King et al., 1965] and stepwise excavation [Magnusson and Sundell, 1977], in which incomplete caries removal is performed over the pulp and permanent or temporary sealing of decayed tissue is carried out.

There are two main considerations regarding the maintenance of soft carious dentine beneath the restoration. One aspect is concerned with the possibility of caries progression due to bacterial viability in the remaining carious dentine. Clinical, microhardness, microbiological and radiographic studies have demonstrated the effects of sealing decayed tissue. Clinically, carious dentine becomes harder, darker and drier after the sealing period [Bjørndal et al., 1997; Bjørndal and Thylstrup, 1998; Maltz et al., 2002; Pinto et al., 2006]; this clinical observation of a harder tissue has also been confirmed by microhardness measurements [Marchi et al., 2008; Franzon et al., 2009]. Microbiologically, despite the high bacterial counts observed immediately after the partial caries removal, isolation of the decayed tissue from the oral environment promotes an expressive decrease in the number of microorganisms [Bjørndal et al., 1997; Weerheijm et al., 1999; Maltz et al., 2002; Massara et al., 2002; Paddick et al., 2005; Pinto et al., 2006; Wambier et al., 2007]. Radiographic evaluations have shown an increase in radiopacity in the radiolucent zone beneath the restoration (corresponding to the decayed dentine within the cavity) after a 6-7-month period, suggesting mineral gain [Maltz et al., 2002]. This higher radiopacity has been maintained in later evaluations [Oliveira et al., 2006; Maltz et al., 2007]. Although these findings of lesion arrestment suggest that incomplete carious dentine removal can control caries progression, length of follow-up is often quite short. A possible reason may be that some studies have been conducted in primary dentition [Marchi et al., 2006; Franzon et al., 2007; Casagrande et al., 2008; 2009]. In permanent dentition, however, the longest

follow-up period published to date of incomplete carious dentine removal in deep caries lesions ranges from 3 to 4 years [Maltz et al., 2007].

Another aspect concerns with the longevity of restorations placed over decayed dentine, which might be affected by possible mechanical implications. With the increasing use of composite resins in the restoration of posterior teeth over the last decades, a wide range of studies have evaluated survival rates of resin restorations for variable follow-up periods, revealing survival rates between 72.4 and 92.5% after five years [Wassel et al., 2000; Köhler et al., 2000; Opdam et al., 2004], and between 50 and 78.6% after 10 years [Lundin and Koch, 1999; Raskin et al., 1999; Gaengler et al., 2001]. All of these studies assessed resin restorations placed in hard dentine, after complete removal of soft tissue according to hardness criteria. Only one study evaluated, over a 10-year period, the longevity of sealed composite restorations placed in carious dentine, showing a failure rate of 14% [Mertz-Fairhurst et al., 1998]. This study, however, comprised only caries lesions confined to the outer half of dentine. There is no long-term study evaluating the longevity of resin restorations placed over the decayed tissue of deep caries lesions.

The aim of the present study was to monitor longitudinally patients with deep caries lesion submitted to partial caries removal. At 5-year and 10-year follow-ups, therapy was clinically and radiographically assessed regarding tooth vitality and restoration longevity.

Subjects and methods

This single-arm clinical trial is the result of a prospective study conducted with patients treated by a conservative approach to deep caries lesions. The initial sample consisted of 32 permanent posterior teeth from 27 patients (12-23 years of age) with deep caries lesion. The inclusion criteria were risk of pulp exposure during carious tissue removal, positive response to the cold test with -20° refrigerated gas (Aerojet, Rio de Janeiro, RJ, Brazil), absence of pain or sensitivity during percussion test, and radiographic absence of a periapical lesion. The study was approved by the Ethics Committee of Federal University of Rio Grande do Sul, Brazil, and all patients or their legal guardians signed a free informed consent.

In 1998, patients were submitted to the following procedures: (1) complete removal of carious dentine from the surrounding cavity walls, according to clinical

hardness criteria; (2) removal of disorganized necrotic tissue from the pulpal wall, leaving a layer of soft dentine over the pulp; (3) capping with a calcium hydroxide cement (Dycal, Caulk/Dentsply, Rio de Janeiro, RJ, Brazil); and (4) sealing with a modified zinc oxide-eugenol cement (IRM, Caulk/Dentsply, Rio de Janeiro, RJ, Brazil). After 6-7 months, the temporary sealing was removed for methodological purposes (collection of a dentine sample for microbiological analysis and clinical assessment of the sealed tissue) [Maltz et al., 2002], the tooth was capped with a calcium hydroxide cement (Dycal, Caulk/Dentsply, Rio de Janeiro, RJ, Brazil) and filled with resin composite (Charisma, Kulzer, São Paulo, SP, Brazil) using Scotchbond adhesive system (3M ESPE, St. Paul, MN, USA). At these two sessions, all procedures were performed under rubber dam and by the same professional, who was trained and calibrated for the criteria used in the analyses. During months 14-18 and 36-45 (mean 1.5 year and 3 years, respectively), further clinical and radiographic evaluations were carried out. Pulp sensitivity was assessed by means of a cold test and patients were asked about the occurrence of pain or sensitivity during percussion. Periapical and bitewing radiographs were taken to analyze the integrity of the periapical region, the radiolucent zone beneath the restoration and the presence of recurrent caries. These findings were published elsewhere [Oliveira et al., 2006; Maltz et al., 2007]. Therapy was evaluated after 5 and 10 years using the same criteria. At the 10-year assessment, one examiner classified the restorations as clinically acceptable or unacceptable, according to the modified United States Public Health Service (USPHS) criteria concerning anatomical form, marginal integrity, marginal discoloration, and surface texture [Ryge, 1980].

Statistical analysis

Cohen's kappa was used to assess intra-examiner reproducibility of restoration analysis.

Survival analyses were performed to estimate therapy success rate at different time points (6-7-month, 1.5-year, 3-year, 5-year, and 10-year follow-ups). The time to failure was displayed through Kaplan-Meier survival curves.

Log-rank test was used to investigate possible associations between dichotomous outcome variable (success vs. failure) and independent variables: gender; arch of the tooth; number of restored surfaces (one vs. two or more); and dentine characteristics

assessed after the temporary sealing period, as follows: anaerobic growth (presence vs. absence), consistency (soft/leathery vs. hard), and color (light brown vs. dark brown).

Statistical analyses were conducted using the Statistical Package for Social Science (SPSS) software, version 13.0, for Windows.

Results

The number of assessable teeth, censored and outcomes are shown in Table 1. One tooth had its pulp exposed during temporary sealing removal and was excluded from the sample. A total of 10 therapeutic failures were observed: (a) one extraction for unknown reasons, which was considered as a necrosis case for analysis purposes; (b) four necroses; and (c) five endodontic treatments due to pulpal involvement after restoration/tooth fracture. At the 3-year recall, one restoration replacement was observed. In this case, the resin restoration was changed for amalgam at a health care center for an unknown reason. This tooth remained sensitive to the cold test at the 10-year follow-up. For analysis purposes, this tooth was considered censored for therapy success assessment and a failure for restoration longevity.

The cumulative drop-out rate was 16%.

The kappa value of the USPHS criteria was 0.79 or greater. Of the 20 resin restorations evaluated at the 10-year recall, 18 remained clinically acceptable (scores Alfa and Bravo) while two presented clinically unacceptable (scores Charlie or Delta), as shown in Table 2. Two teeth presented a caries lesion at the margin of the restoration, which required repair.

Therapy survival rates were 97%, 90%, 82% and 63% after 1.5-year, 3-year, 5-year and 10-year follow-ups, respectively (Figure 1a). The mean survival time of therapy was 8.8 years. Restoration survival rates were 100%, 90%, 86% and 79% after 1.5-year, 3-year, 5-year and 10-year follow-ups, respectively (Figure 1b). The mean survival time of restorations was 9 years.

Log-rank test showed a significant association between number of restored surfaces and failure (Table 3). All other possible associations were not confirmed in statistical analysis.

Discussion

In this long-term prospective study, carious dentine was sealed and patients were monitored for 10 years. A high drop-out rate is a factor that may compromise the reliability of longitudinal clinical studies and, thus, should be considered when interpreting results. The inclusion of patients who did not attend the follow-up recall session may have a negative impact on the analyses. The present study reported a low drop-out rate (16%) when compared with other long-term studies [Raskin et al., 1999; Gaengler et al., 2001; Mertz-Fairhurst et al., 1998].

The three clinical approaches mostly commonly used in the treatment of deep caries lesions are: complete removal of carious dentine, stepwise excavation and indirect pulp capping. Complete removal of decayed tissue (according to clinical hardness) may result in mechanical exposure of the pulp [Leksell et al., 1996]. The conventional conservative treatment of pulp exposure is the direct pulp capping, performed in order to maintain tooth vitality, protecting the pulpal tissue and stimulating defense mechanisms such as dentinal bridging by reparative dentine formation [King et al., 1965; Massler, 1978]. Retrospective studies on the outcomes of direct pulp capping with calcium hydroxide applied to carious-exposed pulps showed a success rate of 81.8% after 3 months [Matsuo et al., 1996], and 33.3% after 3 years [Al-Hiyasat et al., 2006]. The long-term retrospective study by Barthel et al. [2000] showed that 79.7% of the pulp-capped teeth presented necrosis and underwent either a postoperative root canal treatment or an extraction after 10 years, whereas 7.3% presented questionable conditions (absence of radiographic pathology, but with unclear clinical behavior). Only 13% of the evaluated teeth maintained pulp sensitivity after 10 years, in contrast to our data that showed a success rate of 63% at the same time interval. This finding suggests that leaving a layer of carious dentine over the pulp is more successful on a long-term basis than capping the exposed pulp. In stepwise excavation, caries removal is performed in two steps in order to allow pulp-dentin reactions. In this technique, soft dentine is left over the pulp and the cavity is reopened after a certain period of time for further excavation. Stepwise excavation performed in permanent dentition achieved a success rate of 92% at a 3-4 year recall [Bjørndal, 1999]. This result is similar to the survival rate of partial carious dentine removal (PCDR) observed in our study at a similar period of time (90%). It is worth mentioning that, differently from PCDR, stepwise excavation presents the risk of pulp exposure in the removal of temporary filling or during final excavation, requires two visits to the dentist and adds costs and discomfort to the patient. In the indirect pulp capping

technique, carious tissue is removed as much as possible, without compromising pulpal tissues, and a thin layer of carious dentine is left over the pulp in order to avoid mechanical injuries. Further excavation is not required. This technique is usually indicated for primary dentition. The study with the longest follow-up, available in the literature, of teeth treated by indirect pulp capping was performed in primary molars and showed a success rate of 88% after 5 years [Casagrande et al., 2009]. The success rate obtained in our study, performed in permanent teeth, was similar (82%) at the same time interval.

In the present study, we had nine cases of endodontic treatment due to necrosis (four cases) or restoration/tooth fracture (five cases), which accounted for therapy failures. Of the four necroses, one occurred during the 6- to 7-month interval and was probably caused by a degenerative process of the pulp that was not diagnosed during an initial examination. As stated by Bjørndal [2008], the clinician does not have any reliable or accurate clinical diagnostic device for monitoring the degree of pulpal inflammation and is forced to make a choice on the basis of indirect diagnostic methods. The other three necroses were recorded at the 5-year and 10-year recall, highlighting the need for continuous tooth monitoring on a long-term basis to obtain an actual therapy success. However, studies on the long-term longevity of teeth treated by stepwise excavation and indirect pulp capping are not available in the literature. These three cases of necrosis had clinically acceptable restorations, suggesting that the pulp necrosis was a biological outcome, independent of restoration condition.

Restorations placed over carious dentine of deep caries lesions showed survival rates of 86 and 79% at years 5 and 10, respectively. These results are in accordance with similar survival rates found when conventional restorations were performed after complete caries removal [Wassel et al., 2000; Köhler et al., 2000; Opdam et al., 2004; Lundin and Koch, 1999; Raskin et al., 1999; Gaengler et al., 2001]. Therefore, the sealing of decayed tissue beneath a restoration does not seem to compromise its clinical performance over time. The occurrence of secondary or recurrent caries is a common reason for replacement of direct resin restorations reported in the literature [Collins et al., 1998; Opdam et al., 2004; Bernardo et al., 2007]. We believe that the dynamics of the development of caries lesions around dental restorations is similar to that observed in dental tissues, being directly related to caries activity rather than to the presence or absence of restorative materials. We recorded two cases of caries lesion at restoration

margins; however, these cases were not recorded as failures because they required only a restoration repair rather than a replacement.

It was found a statistically significant association between number of restored surfaces and failure, which is consistent with findings from studies on the longevity of conventional resin-based restorations (after complete caries removal), as well as of resin-based restorations placed after conservative caries removal (partial removal of the decayed tissue). Brunthaler et al. [2003] reviewed 24 prospective studies on the clinical performance of conventional composite resins and showed that filling extension influenced failure rates, and class II fillings had higher failure rates than class I fillings. Other studies have revealed a relationship between cavity configuration and failure occurrence, reporting that survival rates of conventional resin-based restorations decrease as the number of restored surfaces increases [Opdam et al., 2004; Bernardo et al., 2007]. A recent systematic review evaluated four randomized controlled trials on the conservative removal of decayed tissue and reported that treatment decision may be influenced by whether the lesion is a Class I, with all cavity margins in low-risk plaque stagnation areas, or a Class II, with some margins in high-risk plaque stagnation areas [Ricketts et al., 2008]. These evidences suggest that cavity configuration may influence restoration survival regardless of the caries removal technique employed.

Association between consistency or color of the remaining dentine and failure was not found in the present study, suggesting that clinical characteristics of the carious tissue did not interfere with therapy outcomes. Similarly, Matsuo et al. [1996] did not find any associations between clinical characteristics of the tissue (color and hardness) and failure in teeth submitted to direct pulp capping. Anaerobic count and failure did not show any association as well, demonstrating that maintenance of carious tissue did not provide conditions for caries progression. Despite the baseline bacterial count, isolation of microorganisms from the oral environment by means of cavity sealing ensured lesion arrestment. Other independent variables, such as operator experience, type of isolation (rubber dam vs. cotton rolls) or restorative materials commonly investigated by other authors, were not analyzed because all clinical procedures were performed using rubber dam isolation, by the same professional and using the same materials [Maltz et al., 2002], reducing the number of factors influencing the results.

Evidences from the literature suggest that complete removal of decayed tissue in deep caries lesions increases the risk of pulp exposure [Leksell et al., 1996; Ricketts et al., 2008]. Therefore, when conservative approaches are proposed as an option in the

treatment of deep lesions, we should question whether there is a real need to re-enter the cavity for further excavation of the sealed decayed tissue [Kidd, 2004]. Ricketts et al. [2008], comparing complete with minimal caries removal, reported that, while there is little evidence to know whether it is necessary to re-enter and excavate further in the stepwise excavation technique, the studies that did not re-enter reported no adverse consequences. In spite of their conclusions, the authors added that only four randomized clinical trials were reviewed and, due to a high risk of bias and differences in lesion severity between the studies, continued research efforts are needed in this field. A traditional review by Thompson et al [2008]., with the aim of including a greater number of studies and underscoring the importance of observational trials, analyzed 10 studies and concluded that there is considerable evidence that removing all vestiges of infected dentine from lesions approaching the pulp is not necessary for caries management. Our results corroborate these findings, showing that sealing of soft dentine is able to arrest the caries process. In conclusion, partial carious dentine removal is an effective therapy for deep caries lesions on a long-term basis, preserving dental tissue and tooth vitality.

Acknowledgements

We thank the support of the National Coordination of Post-graduate Education (CAPES), Kulzer (São Paulo, Brazil) and Jon (São Paulo, Brazil).

References

- Al-Hiyasat AS, Barrieshi-Nusair KM, Al-Omari MA. The radiographic outcomes of direct pulp-capping procedures performed by dental students: a retrospective study. *J Am Dent Assoc* 2006; 137:1699-1705.
- Barthel CR, Rosenkranz B, Leuenberg A, Roulet JF. Pulp capping of carious exposure: treatment outcome after 5 and 10 years: A retrospective study. *J Endod* 2000; 26:525-8.
- Bernardo M, Luis H, Martin MD, Leroux BG, Rue T, Leitão J, Derouen TA. Survival and reasons for failure of amalgam versus composite posterior restorations placed in a randomized clinical trial. *J Am Dent Assoc* 2007; 138:775-783.
- Bjørndal L, Larsen T, Thylstrup A. A clinical and microbiological study of deep carious lesions during stepwise excavation using long treatment intervals. *Caries Res* 1997; 31:411-17.
- Bjørndal L, Thylstrup A. A practice-based study on stepwise excavation of deep carious lesions in permanent teeth: a 1-year follow-up study. *Community Dent Oral Epidemiol* 1998; 26:122-8.
- Bjørndal L. A long-term follow-up study on stepwise excavation of deep carious lesions in permanent teeth. *Caries Res* 1999; 33:314. Abstr. 98.
- Bjørndal L. Indirect pulp therapy and stepwise excavation. *J Endod* 2008; 34 (suppl):S29-S33.
- Brunthaler A, König F, Lucas T, Sperr W, Schedle A. Longevity of direct resin composite restorations in posterior teeth. *Clin Oral Invest* 2003; 7:63-70.
- Casagrande L, Bento LW, Rerin SO, Lucas ER, Dalpian DM, Araújo FB. In vivo outcomes of indirect pulp treatment using a self-etching primer versus calcium hydroxide over the demineralized dentin in primary molars. *J Clin Pediatr Dent* 2008; 33(2):131-135.
- Casagrande L, Falster CA, Hipolito V, Goés MF, Straffon LH, Nör JE, Araújo FB. Effect of adhesive restorations over incomplete dentin caries removal: 5-year follow-up study in primary teeth. *J Dent Child* 2009; 76:74-79.
- Collins CJ, Bryant RW, Hodge KLV. A clinical evaluation of posterior composite resin restorations: 8-year findings. *J Dent* 1998; 26:311-317.
- Franzon R, Casagrande L, Pinto AS, García-Godoy F, Maltz M, Araújo FB. Clinical and radiographic evaluation of indirect pulp treatment in primary molars: 36-month follow-up. *Am J Dent* 2007; 20:189-92.

Franzon R, Pitoni CM, Gomes M, Bergmann CP, Araújo FB. Dentine rehardening after indirect pulp treatment in primary teeth. *J Dent Child* 2009; in press.

Gaengler P, Hoyer I, Montag R. Clinical evaluation of posterior composite restorations: the 10-year report. *J Adhesive Dent* 2001; 3:185-194.

Kidd EAM. How 'clean' must a cavity be before restoration? *Caries Res* 2004; 38:305-313.

King JB, Crawford JJ, Lindahl RL. Indirect pulp capping: a bacteriologic study of deep carious dentin in human teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1965; 20:663-671.

Köhler B, Rasmusson C-G, Ödman P. A five-year clinical evaluation of Class II composite resin restorations. *J Dent* 2000; 28:111-116.

Leksell E, Ridell K, Cvek ME, Mejare I. Pulp exposure after stepwise versus direct complete excavation of deep carious lesions in young posterior permanent teeth. *Endod Dent Traumatol* 1996; 12:192-6.

Lundin SA, Koch G. Class I and II posterior composite resin restorations after 5 and 10 years. *Swed Dent J* 1999; 23:165-171.

Magnusson BO, Sundell SO. Stepwise excavation of deep carious lesions in primary molars. *J Int Assoc Dent Child* 1977; 8:36-40.

Maltz M, Oliveira EF, Fontanella V, Bianchi R. A clinical, microbiologic, and radiographic study of deep lesions after incomplete caries removal. *Quintessence Int* 2002; 33:151-59.

Maltz M, Oliveira EF, Fontanella V, Carminatti G. Deep caries lesions after incomplete dentine caries removal: 40-month follow-up study. *Caries Res* 2007; 41:493-6.

Marchi JJ, Araújo FB, Fröner AM, Straffon LH, Nör JE. Indirect pulp capping in the primary dentition: a 4 year follow-up study. *J Clin Pediatr Dent* 2006; 31(2):68-71.

Marchi JJ, Froner AM, Araújo FB, Alves HLR, Bergmann CP. Analysis of primary tooth dentin after indirect pulp capping. *J Dent Child* 2008; 75:160-165.

Massara MLA, Alves JB, Brandão PRG. Atraumatic restorative treatment: clinical, ultrastructural and chemical analysis. *Caries Res* 2002; 36:430-6.

Massler M. Treatment of profound caries to prevent pulpal damage. *J Pedod* 1978; 2:99-105.

Matsuo T, Nakanishi T, Shimizu H, Ebisu S. A clinical study of direct pulp capping applied to carious-exposed pulps. *J Endod* 1996; 22:551-556.

Mertz-Fairhurst EJ, Curtis Jr JW, Ergle JW, Rueggeberg FA, Adair SM. Ultraconservative and cariostatic sealed restorations: Results at year 10. *J Am Dent Assoc* 1998; 129:55-66.

Oliveira EF, Carminatti G, Fontanella V, Maltz M. The monitoring of deep caries lesions after incomplete caries removal: results after 14-18 months. *Clin Oral Invest* 2006; 10:134-139.

Opdam NJM, Loomans BAC, Roeters FJM, Bronkhorst EM. Five-year clinical performance of posterior resin composite restorations placed by dental students. *J Dent* 2004; 32:379-383.

Paddick JS, Brailsford SR, Kidd EAM, Beighton D. Phenotypic and genotypic selection of microbiota surviving under dental restorations. *Appl Environ Microbiol* 2005; 71:2467-72.

Pinto AS, Araújo FB, Franzon R, Figueiredo MC, Henz S, García-Godoy F, Maltz M. Clinical and microbiological effect of calcium hydroxide protection in indirect pulp capping in primary teeth. *Am J Dent* 2006; 19:382-6.

Raskin A, Michotte-Theral B, Vrenen J, Wilson NHF. Clinical evaluation of a posterior composite 10-year report. *J Dent* 1999; 27:13-19.

Ricketts D, Kidd E, Innes NPT, Clarkson JE. Complete or ultraconservative removal of decayed tissue in unfilled teeth. *The Cochrane Library* 2008; 4 (issue). Oxford: Update Software.

Ryge G. Clinical criteria. *Int Dent J* 1980; 30(4):347-58.

Thompson V, Craig RG, Curro FA, Green WS, Ship JA. Treatment of deep carious lesions by complete excavation or partial removal: a critical review. *J Am Dent Assoc* 2008; 139:705-712.

Wambier DS, dos Santos FA, Guedes-Pinto AC, Jaeger RG, Simionato MR. Ultrastructural and microbiological analysis of the dentin layers affected by caries lesions in primary molars treated by minimal intervention. *Pediatric Dent* 2007; 29:228-234.

Wassel RW, Walls AWG, McCabe JF. Direct composite inlays versus conventional composite restorations. *J Dent* 2000; 28:375-382.

Weerheijm KL, Kreulen CM, de Soet JJ, Groen HJ, Van Amerongen WE. Bacterial counts in carious dentine under restorations: 2-year in vivo effects. *Caries Res* 1999; 33:130-4.

Tables

Table 1. Number of assessable teeth (n), censored and outcomes.

	n	Censored	Evaluated	Failures	Success
6-7 months	31		31	1 necrosis	30
1.5 year	30	1 drop-out	22		22
3 years	29	1 restoration replacement	27	2 restoration fractures	24
5 years	26	1 drop-out	19	1 necrosis 1 restoration fracture	17
10 years	23	2 drop-outs	21	2 necroses 2 restoration fractures 1 extraction	16

Table 2. Restoration analyses according to the modified USPHS criteria.

	Alfa	Bravo	Charlie	Delta	Total
Marginal integrity	13	5		2	20
Anatomical form	11	7	2	*	20
Marginal discoloration	8	10	2	*	20
Surface texture	6	12	2	*	20

* Not applicable.

Table 3. Status of the teeth according to demographic and clinical characteristics.

Variable		n	Success (%)	Failure (%)	p*
Gender	Male	13	8 (61.5)	5 (38.5)	0.65
	Female	18	13 (72.2)	5 (27.8)	
Arch of the tooth	Upper	8	6 (75)	2 (25)	0.49
	Lower	23	15 (65.2)	8 (34.8)	
Number of restored surfaces	One	17	15 (88.2)	2 (11.8)	<0.01
	Two or more	14	6 (42.9)	8 (57.1)	
Anaerobic growth	Presence	11	8 (72.7)	3 (27.3)	0.42
	Absence	20	13 (65)	7 (35)	
Dentine consistency	Leathery	6	4(66.7)	2 (33.3)	0.85
	Hard	25	17 (68)	8 (32)	
Dentine color	Light brown	5	3 (60)	2 (40)	0.86
	Dark brown	26	18 (69.2)	8 (30.8)	

*Log-rank test.

Figure

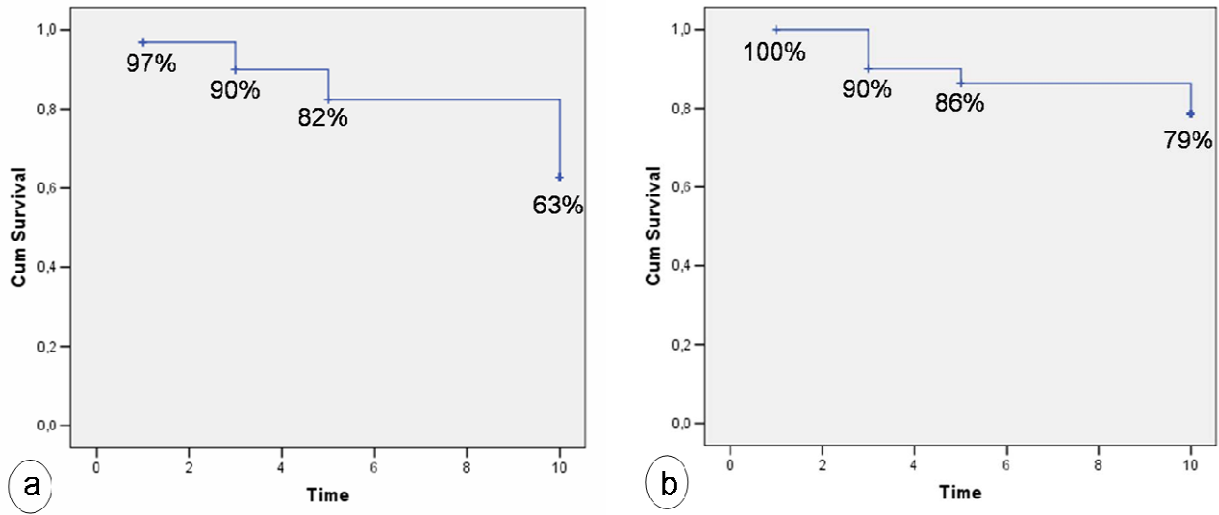


Figure 1. Therapy survival rates (a) and restoration survival rates (b).

**Qualitative and quantitative radiographic assessment of
sealed carious dentine: a 10-year prospective study**

Qualitative and quantitative radiographic assessment of sealed carious dentine: a 10-year prospective study

Luana Severo Alves^(a), Vania Fontanella^(b), Alessandra Cristina Damo^(c), Elenara Ferreira de Oliveira^(d), Marisa Maltz^(e)

^(a)Postgraduate fellow - Department of Social and Preventive Dentistry, Faculty of Odontology, Federal University of Rio Grande do Sul, Brazil.

^(b)PhD, Associate Professor - Department of Radiology, Faculty of Odontology, Federal University of Rio Grande do Sul, Brazil.

^(c)Undergraduate fellow - Department of Social and Preventive Dentistry, Faculty of Odontology, Federal University of Rio Grande do Sul, Brazil.

^(d)PhD, Associate Professor - Department of Restorative Dentistry, Faculty of Odontology, Federal University of Pelotas, Brazil.

^(e)Odontology Doctor, Professor - Department of Social and Preventive Dentistry, Faculty of Odontology, Federal University of Rio Grande do Sul, Brazil.

Corresponding author:

Marisa Maltz

Faculdade de Odontologia – UFRGS

Departamento de Odontologia Preventiva e Social

Ramiro Barcelos, 2492, Bom Fim 90035-003 (Brazil)

Tel. +55 51 330 851 93

Fax +55 51 330 852 47

E-mail: mmaltz@ufrgs.br

Abstract

Objective: To assess radiographic outcomes after partial carious dentine removal performed in deep caries lesions over a 10-year period. **Study design:** Baseline image was compared to 3 follow-up radiographs (at 6-7 months, 3 years and 10 years). Tertiary dentine deposition and lesion depth were qualitatively assessed. Radiographic density changes in the radiolucent zone (RZ) beneath the restoration were quantitatively compared to the control areas (CA) using digital subtraction radiography (Friedman repeated-measures analysis of variance). **Results:** A total of 13 teeth were evaluated. In most cases, lesion depth remained unchanged or decreased (12/13) and tertiary dentine formation was observed (10/13) after the 10-year follow-up. Differences between RZ and CA at the 6-7-month and 3-year follow-up periods were similar but significantly lower than those at the 10-year assessment. **Conclusions:** Sealing of carious dentine arrested the caries process, promoted deposition of tertiary dentine and induced mineral gain in the radiolucent zone.

Introduction

Indirect pulp capping (IPC)¹ is a conservative approach in the treatment of deep caries lesion. This technique has traditionally involved complete removal of decayed tissue from the surrounding cavity walls, leaving a layer of soft dentine over the pulp to prevent its mechanical exposure. Long-term evaluation of this treatment includes clinical testing of sensitivity to cold and percussion and radiographic assessment, mainly using periapical radiographs to analyze the integrity of the interradicular and periapical regions²⁻⁸. In addition to maintenance of tooth vitality, there is a special concern about the fate of the remaining caries lesion. Two issues are of major interest: risk of lesion progression beneath the sealing material and changes in the mineral content of the remaining decayed dentine.

Radiography has been the imaging method of choice for assessment of lesion progression. However, visual evaluation of radiographic image pairs (baseline and final images) is subjective³ and discrepancies may occur in clinical practice. Mertz-Fairhurst et al.⁹ evaluated the reliability of interpretation of changes in cavity depth based on standardized radiographs by comparing radiographic diagnosis with clinical measurements of lesion depth. Changes > 360 µm were correctly ranked by evaluators, whereas lower changes were difficult to determine. The reliability of studies of changes in lesion depth relies on the reproducibility of the evaluation method, but many studies do not report reproducibility data^{3,9,10}.

Remineralization of sealed carious dentine has been demonstrated clinically^{2,6,11,12} and by microhardness measurements^{13,14}, but these methods require either cavity reopening or tooth destruction. Digital subtraction radiography (DSR) allows noninvasive assessment of changes in mineral content over a given period of

time without compromising the structure of the tooth or requiring any clinical intervention. The technique, developed in the 1980s¹⁵, is based on pairs of radiographs taken over a time interval. After overlapping the two images, the radiographic density of the region of interest can be qualitatively and quantitatively evaluated. DSR can detect mineral changes in hard tissues earlier than conventional radiographic techniques. Several laboratory studies have evaluated the accuracy of DSR, reporting that this technique was more sensitive than conventional radiography in the assessment of periodontal bone lesions¹⁶, external root resorptive defects¹⁷, artificial¹⁸ and natural¹⁹ caries lesions, and bone lesions²⁰. The difficulty in creating a meaningful subtraction image is that the imaging geometry of the radiographs must be identical. Although mechanical devices, such as occlusal stents and cephalostats, have been used to standardize the position and direction of the exposure, the computerized alignment of digital images is another way to reproduce imaging geometry²¹. This technique can be used to establish correspondence between pairs of images taken at different projection angles, replacing the use of occlusal stents²¹.

The aim of the present study was to assess radiographic outcomes of partial carious dentine removal on a long-term basis. Using systematized radiographic methodologies and observing principles of scientific research, such as standardization, blinding and reproducibility assessment, qualitative and quantitative analysis of follow-up bitewing radiographs was performed.

Methods

This study was approved by the Ethics Committee of Federal University of Rio Grande do Sul, Brazil, and written informed consent was obtained from all patients.

Sample and study design

The sample consisted of posterior permanent teeth with lesion depth $> 2/3$ of dentine thickness (radiographically assessed), positive response to the cold test, absence of spontaneous pain or sensitivity to percussion, and risk of pulp exposure if complete caries removal was achieved in a single session. In 1998, 32 molars and premolars with deep caries lesion from 27 patients, aged 12-23 years, were treated by partial carious dentine removal (PCDR). Treatment consisted of complete removal of decayed tissue from the surrounding cavity walls, PCDR from the pulpal wall (i.e., removal of disorganized necrotic dentine), capping with a calcium hydroxide cement (Dycal, Caulk/Dentsply, Rio de Janeiro, RJ, Brazil), and sealing with a modified zinc oxide-eugenol cement (IRM, Caulk/Dentsply, Rio de Janeiro, RJ, Brazil). After 6-7 months, cavities were reopened for the purpose of assessing clinical characteristics and collecting a sample of the remaining carious dentine for microbiological analysis², and teeth were filled (Scotchbond adhesive system – 3M ESPE, St. Paul, MN, USA; Charisma – Kulzer, São Paulo, SP, Brazil). Clinical and radiographic (periapical and bitewing) follow-ups were conducted over a 10-year period.

Radiographs

Standardized bitewing radiographs were taken with the help of a device made of self-cured acrylic resin placed on the film holder (Jon, São Paulo, Brazil) at baseline, 6-7 months and 3-year follow-ups and with film holders (Jon, São Paulo, Brazil) at the 10-year assessment. Ektaspeed Plus #2 film (Eastman Kodak, Rochester, NY, USA) was

used, and exposure was made at 50 kV, 10 mA, 0.6 seconds (Spectro II, Dabi Atlante, Ribeirão Preto, SP, Brazil). Film processing was carried out under standard conditions using an automatic film processor (Dent-X Film Processor Model 9000 - Dent-X, Elmsford, NY, USA) and fresh solutions (Eastman Kodak, Rochester, NY, USA). The radiographs were digitized into a personal computer using a scanner with transparency module (Colorpage-HR7X Slim, Genius, Taiwan) with a resolution of 600 dpi and 8-bit gray scale. The images were stored as a maximum-quality JPEG file.

Radiographic analysis included DSR and qualitative analysis of radiographic image pairs as described below.

Radiographic examination

Prior to subtraction, due to small differences in projection angles during exposure, geometric alignment of the images was performed using the Regeemy software (Image Registration and Mosaicking, v0.2.43; Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, São José dos Campos, SP, Brazil). For this purpose, reference points positioned on clearly distinguishable structures, such as the cemento-enamel junction and cusps, were defined as landmarks in both images. The follow-up image was then warped, based on the landmarks, into the geometric registration as the baseline image, which was kept in its original format. Geometric alignment allows for a better superimposition of the images.

After geometric alignment, 6-7-month, 3-year and 10-year follow-up radiographs were subtracted from the baseline image using Adobe Photoshop CS2 (v. 9.0, Adobe Systems Inc, San Jose, CA, USA). The baseline image was projected onto the follow-up image, had its transparency adjusted to 50% and its grayscale inverted,

and was adjusted to the background image by rotation and vertical/horizontal movements. By definition, all unchanged anatomical background structures are cancelled in a perfect subtraction image²⁰. These unchanged areas are displayed in a neutral gray shade in the subtraction image (gray level = 128, of 256 shades of gray), whereas regions that have changed between the two radiographic examinations are displayed in darker (gray level < 128, representing areas of mineral loss) or lighter (grey level > 128, representing areas of mineral gain) shades of gray²⁰. For the quantitative analysis (DSR), the radiolucent zone (RZ, corresponding to the amount of carious dentine beneath the restoration) and two control areas (CA, at adjacent healthy dentine, mesial and distal) were demarcated on a layer, which was projected on the subtracted image in all experimental periods in order to standardize the subtracted areas (Figure 1). Using the histogram function of the same software, mean gray level and standard deviation of the three areas were obtained and recorded.

For qualitative analysis of lesion depth and tertiary dentine deposition, the radiographic image pairs (baseline vs. 6-7-month, 3-year or 10-year radiographs) were displayed side by side on the monitor screen. The examiner compared the image pairs visually and was blinded to which experimental follow-up period each image belonged and which image was the baseline or the follow-up in each pair of radiographs. Lesion depth was classified as ‘unchanged’, ‘decreased’ or ‘increased’, and tertiary dentine deposition was classified as ‘present’ or ‘absent’. In dubious cases, lesion depth was recorded as ‘unchanged’ and tertiary dentine deposition as ‘absent’.

Reproducibility

Quantitative DRS and qualitative analyses for the three follow-up periods were performed by the same operator (LSA) in 2008. The quantitative analysis was repeated three times for each tooth, and the value for each area was considered as the mean of the three measurements. All the analyses were repeated after a 7-day interval in order to assess reproducibility.

Data analysis

Cohen's kappa was used to assess intra-examiner reproducibility of qualitative evaluations, and the intraclass correlation coefficient to analyze the reproducibility of DSR data. Instead of adjusting gray level histograms, which could result in lower-quality images, a correction factor was used to standardize CA as a gray level = 128 and proportionally transform the corresponding RZ. Friedman repeated-measures analysis of variance on ranks was used to compare variations of RZ – CA within time. The significance level was set at 5%.

Results

Of the original 32 teeth, one had its pulp exposed during temporary filling removal and was excluded from the sample. Five teeth were lost during the 10-year follow-up period (16%). Of the remaining 26 teeth, 10 had therapy failure (restoration/tooth fracture or necrosis) and 16 had therapy success (both sensitivity to cold and absence of radiographic alteration). Three teeth were excluded from the radiographic analysis due to the impossibility to visualize the RZ beneath the restoration

(restoration in the buccal surface or orthodontic bands). The final sample consisted of 13 teeth. Figure 2 shows intraoral radiographs of one case followed up for 10 years.

The reproducibility of qualitative analysis in our study was almost perfect²². Intra-examiner kappa score for lesion depth was 0.84 and, for tertiary dentine deposition, 0.88. The intraclass correlation coefficients for quantitative DSR were 0.99 for CA₁, 0.98 for CA₂ and 0.99 for RZ.

Qualitative analysis (Table 1). At the 6-7-month and 3-year follow-ups, none of the cases showed increased RZ depth, whereas, at the 10-year recall, one of the 13 cases showed increased RZ depth. In this case, a caries lesion was observed beneath the approximal box of the occlusal-approximal restoration. The number of cases with tertiary dentine deposition increased during the experimental period: at the 10-year examination, 10 of the 13 cases presented tertiary dentine formation.

Quantitative analysis (Table 2). Differences between RZ and CA at the 6-7-month and 3-year follow-ups were similar, but significantly lower than those observed at the 10-year assessment.

Discussion

In order to provide information about the fate of carious dentine sealed beneath restorations on a long-term basis, this study prospectively followed up 27 patients (32 teeth) submitted to partial carious dentine removal over a 10-year period. Recall rate in long-term prospective studies is usually low²³⁻²⁵ due to patient attrition and loss of contact. In the present study, recall rate was higher (84%) than that usually observed for similar investigations; however, radiographic analysis was performed only in 13 teeth due to additional losses resulting from impaired radiographic visualization of the

experimental site and therapy failures. Nevertheless, this study provides meaningful long-term longitudinal data on the sealing of decayed tissue in deep caries lesions which were not found in the existing literature.

It is well-known that only a substantial mineral loss can be imaged in radiographs²⁶, hence the need to develop methods for measuring mineral content with an accuracy greater than that of conventional techniques. Therefore, digital subtraction radiography is considered a more sensitive technique in the assessment of changes in mineral content¹⁶⁻²⁰. This method allowed us to detect a radiographic density in the RZ, at the 10-year follow-up assessment, significantly higher than that observed at the 6-7-month and 3-year examinations, suggesting mineral gain in this region. These findings are consistent with clinical^{2,6,11,12} and laboratory^{13,14} data which have previously described rehardening of softened tissue after sealing of carious dentine. However, the underlying cause of this enhanced mineral uptake remains unclear.

Interference with the cariogenic environment, via removal of necrotic dentine and cavity sealing, promotes favorable conditions and enhances defensive responses of the pulp-dentine complex by hard tissue formation^{27,28}. Such responses are often seen as focal deposition of tertiary dentine at injury sites, resulting in an increase in the distance between the injurious challenge and the pulpal cells²⁸. Tertiary dentine deposition was observed in 10 cases at the 10-year follow-up (77%), compared to five and seven cases at the 6-7-month and 3-year examinations, respectively. These data show that dentine reaction to injuries is a slow but chronic process, which might take years to become radiographically evident. Although dentine formation is an age-related physiologic process, dental caries leads to inflammatory events that stimulate this defense mechanism. It has been suggested that bioactive molecules, especially growth factors TGF- β s, in the dentine matrix signal the differentiation of odontoblast-like cells in order

to replace the lost odontoblasts and regulate reparative dentinogenesis. Pulp-dentine reactions of teeth with deep caries lesions may have promoted the increased mineral content observed in our study, allowing maintenance of pulp vitality, the ultimate goal of vital pulp therapy.

Sealing of carious dentine does not seem to affect the patient in terms of caries progression or pulpal symptoms, such as pulpitis or pulp death^{29,30}. The presence of microorganism invasion in the dentine of arrested non-cavitated lesions has been reported in the literature³¹, demonstrating that the presence of bacteria inside the dental tissue does not impede caries arrestment. Despite the great level of contamination of cavitated lesions, it is possible to inactivate both coronal^{32,33} and root³⁴ cavities by means of mechanical disturbance of biofilm, disarranging its mature and organized structure. Caries progression may also be controlled by restriction of nutrients for bacterial metabolism inside the lesion through cavity sealing. These findings corroborate the statement that, once acid production by the microbial metabolism is controlled, the caries process is controlled as well, regardless of the presence of bacteria in the dental tissue^{2,25}. Our study showed that isolation of microorganisms from the oral environment by cavity sealing is enough to prevent lesion progression. The lesion that showed caries progression (increased in the RZ – Table 1) presented a radiolucent area beneath the gingival wall of the approximal box. The reason for lesion progression in this case might have been the lack of sealing due to approximal caries, allowing nutrients and bacteria to penetrate the lesion.

A prerequisite for digital subtraction radiography is that projection geometry is accurately reproduced so that all unchanged background structures will be eliminated in the subtraction image³⁵. For serial recordings, film holders either with impressions of the occlusal surfaces³⁶⁻³⁸ or without occlusal registration have been used³⁹⁻⁴¹. Even

though a relatively reproducible relationship can be established between the X-ray tube, object and film, projection distortions may be unavoidable in clinical trials³⁵. The great advantage of the digital image lies in the possibility to manipulate radiographic images after acquisition, such as the re-projection of the final image according to the projection direction of the baseline image⁴². In the present study, film holders with occlusal registrations were used at baseline, 6-7 months and 3-year follow-ups. At the 10-year recall, we used film holders (Jon, São Paulo, Brazil) without occlusal registration due to changes in tooth position and distortion of resin. Small differences in projection geometry were corrected by computer-aided image manipulation of radiographs in all follow-up images. This procedure did not decrease the reliability of our data, since Dunn et al.²¹ showed that the geometric alignment of radiographs taken freehand presented a better standardization than that taken with occlusal stents.

Intra- and inter-examiner disagreement is a well-known fact in radiographic caries diagnosis⁴³⁻⁴⁵. Most studies analyzing the progression of caries lesions do not report reproducibility data^{3,9,10}, thus compromising the interpretation of the results. In our study, intensive training was conducted prior to the performance of the qualitative analysis of lesion depth and tertiary dentine formation. The intra-examiner reproducibility data obtained for these analyses were considered almost perfect according the grading scale for the interpretation of kappa values proposed by Landis and Koch²². In order to assess whether DSR could reduce intra- and inter-examiner disagreement, Wenzel et al.³⁹ compared reproducibility in the qualitative assessment of caries lesion behavior in digital subtraction images and conventional radiographs. The authors found that intra-examiner DSR was more reproducible than conventional evaluations ($p < 0.05$). Moreover, quantitative DSR is known to provide continuous numerical measurements of radiographic density, allowing a comparison between

different experimental periods. In addition, quantitative DSR is more observer-independent than the qualitative assessment, which is based on the visual analysis of dichotomous or categorical variables. Using the intraclass correlation coefficient for continuous data, we found a high reproducibility rate for quantitative DSR, supporting the reliability of this method for measuring changes in mineral content.

In this long-term prospective radiographic study, we observed that the sealing of carious dentine: (1) arrested the caries process, demonstrated by unchanged or decreased lesion depth; (2) promoted deposition of tertiary dentine; and (3) induced mineral gain in the radiolucent zone.

References

1. King JB, Crawford JJ, Lindahl RL. Indirect pulp capping: a bacteriologic study of deep carious dentine in human teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1965; 20:663-669.
2. Maltz M, Oliveira EF, Fontanella V, Bianchi R. A clinical, microbiologic, and radiographic study of deep lesions, after incomplete caries removal. *Quintessence Int* 2002; 33(2):151-159.
3. Ribeiro CCC, Baratieri LN, Perdigão J, Baratieri NMM, Ritter AV. A clinical, radiographic, and scanning electron microscopic evaluation of adhesive restorations on carious dentin in primary teeth. *Quintessence Int* 1999; 30(9):591-599.
4. Falster CA, Araújo FB, Straffon LH, Nör JE. Indirect pulp treatment: In vivo outcomes of an adhesive resin system vs calcium hydroxide for protection of the dentin-pulp complex. *Pediatric Dent* 2002; 24(3):241-248.
5. Oliveira EF, Carminatti G, Fontanella V, Maltz M. The monitoring of deep caries lesions after incomplete caries removal: results after 14-18 months. *Clin Oral Invest* 2006; 10:134-139.
6. Pinto AS, de Araújo FB, Franzon R, Figueiredo MC, Henz S, García-Godoy F, Maltz M. Clinical and microbiological effect of calcium hydroxide protection in indirect pulp capping in primary teeth. *Am J Dent* 2006; 19(6):382-386.
7. Maltz M, Oliveira EF, Fontanella V, Carminatti G. Deep Caries Lesions after Incomplete Dentine Caries Removal: 40-Month Follow-Up Study. *Caries Res* 2007; 41:493-496.
8. Franzon R, Casagrande L, Pinto AS, García-Godoy F, Maltz M, Araújo, FB. Clinical and radiographic evaluation of indirect pulp treatment in primary molars: 36-month follow-up. *Am J Dent* 2007; 20(3):189-192.

9. Mertz-Fairhurst EJ, Schuster GS, Williams JE, Fairhurst CW. Clinical progress of sealed and unsealed caries. Part II: Standardized radiographs and clinical observations. *J Prosthet Dent.* 1979;42(6):633-637.
10. Handelman SL, Leverett DH, Solomon ES, Brenner CM. Use of adhesive sealants over occlusal carious lesions: radiographic evaluation. *Community Dent Oral Epidemiol* 1981; 9:256-259.
11. Bjørndal L, Larsen T, Thylstrup A. A clinical and microbiological study of deep carious lesions during stepwise excavation using long treatment intervals. *Caries Res* 1997; 31(6):411-417.
12. Bjørndal L, Thylstrup A. A Practice-Based Study on Stepwise Excavation of Deep Carious Lesions in Permanent Teeth: A 1-Year Follow-Up Study. *Community Dent Oral Epidemiol* 1998; 26(2):122-128.
13. Marchi JJ, Froner AM, Araújo FB, Alves HLR, Bergmann CP. Analysis of primary tooth dentin after indirect pulp capping. *J Dent Child* 2008; 75(3):160-165.
14. Franzon R, Pitoni CM, Gomes M, Bergmann CP, Araujo FB. Dentine rehardening after indirect pulp treatment in primary teeth. *J Dent Child* 2009. In press.
15. Gröndahl HG, Gröndahl K, Webber RL. A digital subtraction technique for dental radiography. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1983; 55: 96–102.
16. Gröndahl HG, Gröndahl K. Subtraction radiography for the diagnosis of periodontal bone lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1983; 55:208-213.
17. Kravitz LH, Tyndall DA, Bagnell CP, Dove SB. Assessment of external root resorption using digital subtraction radiography. *J Endod* 1992, 18(6):275-284.
18. Nummikoski PV, Martinez TS, Matteson SR, McDavid WD, Dove SB. Digital subtraction radiography in artificial recurrent caries detection. *Dentomaxillofac Radiol* 1992; 21:59-64.

19. Martignon S, Ekstrand KR, Ellwood R. Efficacy of sealing proximal early active lesions: an 18-month clinical study evaluated by conventional and subtraction radiography. *Caries Res* 2006; 40:382-388.
20. Christgau M, Hiller K-A, Schmalz G, Kolbeck C, Wenzel A: Quantitative digital subtraction radiography for the determination of small changes in bone thickness: an in vitro study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998; 85: 462–472.
21. Dunn SM, van der Stelt PF, Ponce A, Fenesy K, Shah S. A comparison of two registration techniques for digital subtraction radiography. *Dentomaxillofacial Radiol* 1993; 22:77-80.
22. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 1977; 33:159-174.
23. Raskin A, Michotte-Theral B, Vrenen J, Wilson NHF. Clinical evaluation of a posterior composite 10-year resport. *J Dent* 1999; 27:13-19.
24. Gaengler P, Hoyer I, Montag R. Clinical evaluation of posterior composite restorations: the 10-year report. *J Adhesive Dent* 2001; 3(2):185-194.
25. Mertz-Fairhurst EJ, Curtis Jr, JW, Ergle JW, Rueggeberg FA, Adair SM. Ultraconservative and cariostatic sealed restorations: Results at year 10. *J Am Dent Assoc* 1998; 129:55-66.
26. Wenzel A, Fejerskov O, Kidd E, Joyston-Bechal S, Groeneveld A. Depth of occlusal caries assessed clinically, by conventional film radiographs, and by digitized, processed radiographs. *Caries Res* 1990; 24:327-333.
27. Bjørndal L, Mjör IA. Pulp-dentin biology in restorative dentistry. Part 4: Dental caries – Characteristics of lesions and pulpal reactions. *Quintessence Int* 2001; 32:717-736.

28. Tziafas D, Smith AJ, Lesot H. Designing new treatment strategies in vital pulp therapy. *Journal of Dentistry* 2000; 28:77-92.
29. Kidd EAM. How 'clean' must a cavity be before restoration? *Caries Res* 2004; 38:305-313.
30. Ricketts DNJ, Kidd EAM, Innes N, Clakson J. Complete or ultraconservative removal of decayed tissue in unfilled teeth (Cochrane Review). In: *The Cochrane Library*, Issue 1, 2007. Oxford: Update software.
31. Parolo CCF, Maltz M. Microbial contamination of noncavitated caries lesions: a scanning electron microscopic study. *Caries Res* 2006; 40:536-541.
32. Anderson BG. Clinical Study of Arresting Dental Caries. *J Dent Res* 1938; 17(6):443-452.
33. Carvalho JC, Nieuwenhuysen JPV, Maltz M. Traitement non opératoire de la carie dentaire. *Realites cliniques* 2004; 15(3):235-248.
34. Nyvad B, Fejerskov O. Active root surface caries converted into inactive caries as a response to oral hygiene. *Scand J Dent Res* 1986; 94:281-284
35. Wenzel A. Computer-aided image manipulation of intraoral radiographs to enhance diagnosis in dental practice: a review. *Int Dent J* 1993; 43:99-108.
36. Janssen PTM, van Palenstein Helderma WH, van Aken J. The effect of in-vivo-occurring errors in the reproducibility of radiographs on the use of the subtraction technique. *J Clin Periodontol* 1989; 16:53-58.
37. Okano T, Mera T, Ohki M, Ishikawa I, Yamada N. Digital subtraction of radiograph in evaluating alveolar bone changes after initial periodontal therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1990; 69:258-262.

38. Carneiro LS, Nunes CA, Silva MA, Leles CR, Mendonça EF. *In vivo* study of pixel grey-measurement in digital subtraction radiography for monitoring caries remineralization. *Dentomaxillofacial Radiology* 2009, 38(2):73-78.
39. Wenzel A; Anthonisen PN; Juul MB. Reproducibility in the assessment of caries lesion behaviour: a comparison between conventional film and subtraction radiography. *Caries Res* 2000;34:214-218.
40. Goren AD; Dunn SM; Wolff M; van der Stelt PF; Colosi DC; Golub LM. Pilot study: digital subtraction radiography as a tool to assess alveolar bone changes in periodontitis patients under treatment with subantimicrobial doses of doxycycline. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008;106(4):e40-5.
41. Hwang YJ, Fien MJ, Lee SS, Kim TI, Seol YJ, Lee YM, Ku Y, Rhyu IC, Chung CP, Han SB. Effect of scaling and root planing on alveolar bone as measured by subtraction radiography. *J Periodontol* 2008; 79(9):1663-1669.
42. van der Stelt PF. Better imaging. The advantages of digital radiography. *J Am Dent Assoc* 2008;139:7S-13S.
43. Espelid I, Tveit AB, Fjelltveit A. Variations among dentists in radiographic detection of occlusal caries. *Caries Res*1994a; 28(3):169-175.
44. Espelid I, Tveit AB, Riordan PJ. Radiographic caries diagnosis by clinicians in Norway and Western Australia. *Community Dent Oral Epidemiol* 1994b; 22(4):214-219.
45. Lazarchik DA, Firestone AR, Heaven TJ, Filler SJ, Lussi A. Radiographic evaluation of occlusal caries: effect of training and experience. *Caries Res* 1995;29(5):355-358.

Tables

Table 1. Qualitative analysis of the radiographic pairs concerning lesion depth and deposition of tertiary dentine.

Period	Depth			Tertiary dentine		Total
	unchanged	decreased	increased	present	absent	
6-7 months	6	7	0	5	8	13
3 years	6	7	0	7	6	13
10 years	5	7	1	10	3	13

Table 2. Median and interquartile of differences in radiographic subtraction density between radiolucent zone and control areas.

	6-7 months	3 years	10 years
RZ – CA	1.73 (0.09, 4.82) ^a	3.33 (0.77, 4.70) ^a	5.65 (2.70, 13.06) ^b

Statistical difference is expressed by different lower-case letters (Friedman repeated measures analysis of variance on ranks).

Figures

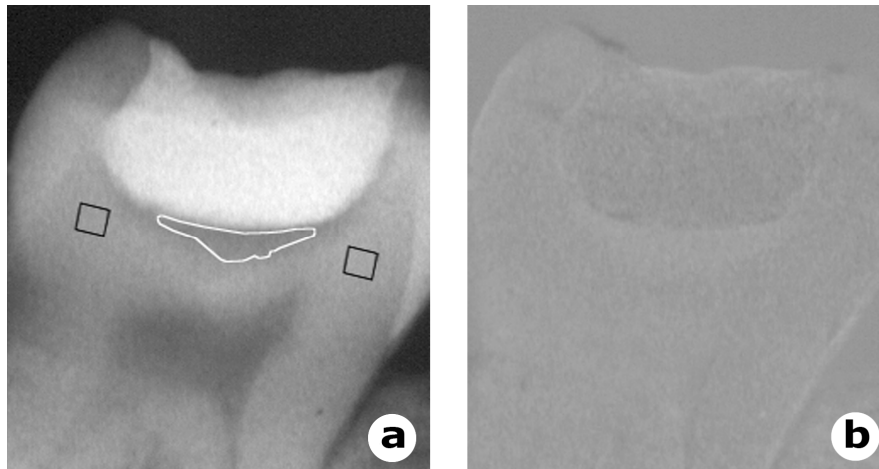


Figure 1. Radiolucent zone and control areas demarcated on a layer over the conventional radiograph (a) and the subtraction image of the 6-7-month follow-up period.

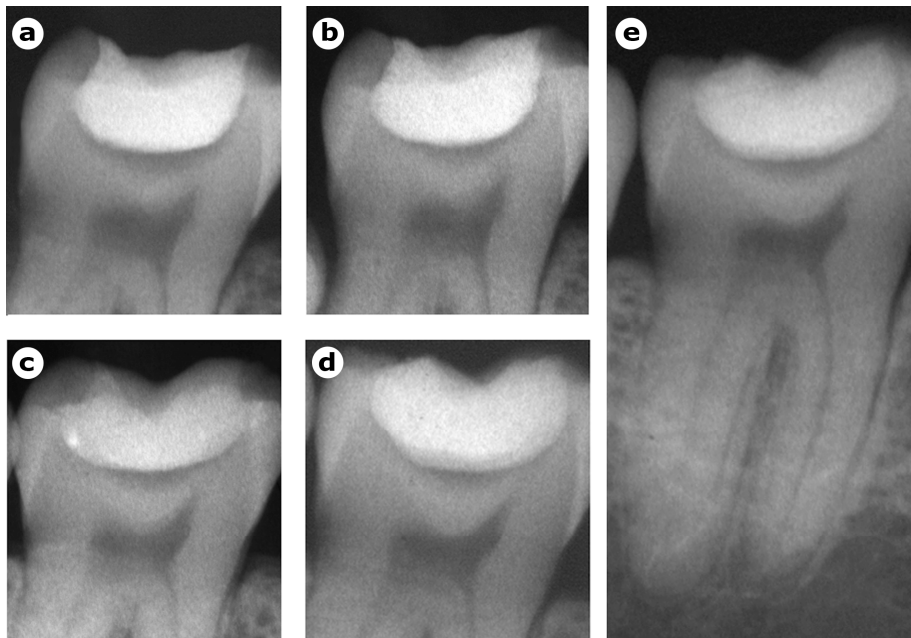


Figure 2. Bitewing radiographs taken at baseline (a) and after 6-7 months (b), 3 years (c), and 10 years (d). The 10-year follow-up periapical radiograph shows a normal periapical area (e).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estudos longitudinais prospectivos com longos períodos de acompanhamento apresentam algumas limitações inerentes ao seu delineamento experimental, como a taxa de *drop-out* e a manutenção dos critérios de avaliação ao longo do tempo. A taxa de *drop-out* de 16%, resultado da falta de interesse alguns pacientes em comparecer às consultas de retorno, pode ser considerada baixa no presente estudo, tendo em vista a extensão do período de acompanhamento. Outro estudo que acompanhou por 10 anos pacientes submetidos ao selamento de dentina cariada obteve uma taxa de *drop-out* significativamente maior (46%) (MERTZ-FAIRHURST *et al.*, 1998). Quando um mesmo examinador realiza as análises correspondentes a todos os períodos experimentais em um único momento, pode-se garantir que os critérios de avaliação foram preservados. Esta padronização pode ser facilmente obtida através da utilização de registros arquivados, como imagens radiográficas. No presente estudo, a reavaliação das radiografias de todos os períodos experimentais ao final dos 10 anos de acompanhamento assegura a padronização dos critérios utilizados para as análises radiográficas quantitativas e qualitativas.

Estudos prévios têm demonstrado a manutenção da vitalidade pulpar na maioria dos dentes com lesões profundas de cárie submetidos ao selamento de dentina cariada após um ano (RIBEIRO *et al.*, 1999), dois anos (FALSTER *et al.*, 2002; CASAGRANDE *et al.*, 2008), três anos (FRANZON *et al.*, 2007) e quatro anos de acompanhamento (MARCHI *et al.*, 2006). Todos estes trabalhos foram conduzidos em dentes decíduos, nos quais o ciclo biológico reduzido impossibilita e dispensa acompanhamentos mais longos. Na dentição permanente, entretanto, o sucesso de um dado tratamento a longo prazo é um fator importante. A avaliação de dentes permanentes submetidos ao selamento de tecido cariado após um longo período de acompanhamento era um dado até então inexistente na literatura, sendo este o diferencial da presente pesquisa.

A alternativa conservadora convencional para o tratamento de lesões profundas de cárie é o tratamento expectante, no qual a dentina cariada é removida em duas sessões a fim de reduzir o risco de exposição pulpar e permitir as reações do complexo dentino-pulpar (MAGNUSSON; SUNDELL, 1977). A necessidade de uma segunda sessão clínica acarreta algumas desvantagens, como risco de perda do material

provisório e conseqüente contaminação da cavidade, risco de exposição pulpar durante a remoção do material provisório, maior tempo e custo necessários ao tratamento e desconforto adicional ao paciente. Não existem evidências que justifiquem a necessidade desta segunda sessão, com reabertura da cavidade para escavação final do tecido cariado (RICKETTS *et al.*, 2008). No presente estudo, os dentes foram reabertos apenas por finalidades metodológicas, mas não foi realizada nova remoção de dentina cariada.

Os resultados deste trabalho de acompanhamento de pacientes submetidos ao selamento de tecido cariado em lesões profundas de cárie, com uma taxa de sucesso de 63% após 10 anos, contribuem para que a remoção parcial de dentina cariada e restauração sejam consolidadas como uma abordagem de sessão única. As evidentes reações pulpares observadas demonstram que a remoção superficial da dentina necrótica associada ao adequado selamento da cavidade são suficientes para modificar o ambiente cariogênico no sentido da paralisação do processo cariioso.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALKURT, M.T.; PEKER, I.; BALA, O.; ALTUNKAYNAK, B. In vitro comparison of four different dental x-ray films and direct digital radiography for proximal caries detection. **Operative Dentistry**, v. 32, n. 5, p. 504-509, 2007.

ANSARI, G.; BEELEY, J.A.; REID, J.S.; FOYE, R.H. Caries detector dyes – an *in vitro* assessment of some new compounds. **Journal of Oral Rehabilitation**, v. 26, p. 453-458, 1999.

BAELUM, V.; HEIDMANN, J.; NYVAD, B. Dental caries paradigms in diagnosis and diagnostic research. **European Journal of Oral Sciences**, v. 114, p. 263–277, 2006.

BAELUM, V.; LUAN, W. M.; CHEN, X.; FEJERSKOV, O. Predictors of tooth loss over 10 years in adult and elderly Chinese. **Community Dentistry and Oral Epidemiology**, v. 25, p.204-210, 1997.

BARMES, D.E. A global view of oral diseases: today and tomorrow. **Community Dentistry and Oral Epidemiology**, v. 27, p. 2-7, 1999.

BARTHEL CR, ROSENKRANZ B, LEUENBERG A, ROULET JF. Pulp capping of carious exposure: treatment outcome after 5 and 10 years: A retrospective study. **Journal of Endodontics**, v. 26, p. 525-528, 2000.

BESIC, F.C. The fate of bacteria sealed in dental cavities. **Journal of Dental Research**, v. 22, n. 5, p. 349-354, 1943.

BIN-SHUWAISH, M.; DENNISON, J.B.; YAMAN, P.; NEIVA, G. Estimation of clinical axial extension of class ii caries lesions with ultraspeed and digital radiographs: an in-vivo study. **Operative Dentistry**, v. 33, n. 6, p. 613-621, 2008.

BITTAR-CORTEZ, J.A.; PASSERI, L.A.; de ALMEIDA, S.M.; HAITER-NETO, F. Comparison of peri-implant bone level assessment in digitized conventional radiographs and digital subtraction images. **Dentomaxillofacial Radiology**, v. 35, p. 258-262, 2006.

BJØRNDAL, L.; DARVANN, T. A light microscopic study of odontoblastic and non-odontoblastic cells involved in tertiary dentinogenesis in well-defined cavitated carious lesions. **Caries Research**, v. 33, p. 50-60, 1999.

BJØRNDAL, L.; DARVANN, T.; THYLSTRUP, A. A quantitative light microscopic study of the odontoblast and subodontoblastic reactions to active and arrested enamel caries without cavitation. **Caries Research**, v. 32, p. 59-69, 1998.

BJØRNDAL, L.; LARSEN, T.. Changes in the cultivable flora in deep carious lesions following a stepwise excavation procedure. **Caries Research**, v. 34, p. 502-508, 2000.

BJØRNDAL, L.; LARSEN, T.; THYLSTRUP, A. A clinical and microbiological study of deep carious lesions during stepwise excavation using long treatment intervals. **Caries Research**, v. 31, n. 6, p. 411-417, 1997.

BJØRNDAL, L.; MJÖR, I.A. Pulp-dentin biology in restorative dentistry. Part 4: Dental caries – Characteristics of lesions and pulp reactions. **Quintessence International**, v. 32, p. 717-736, 2001.

BJØRNDAL, L.; THYLSTRUP, A. A practice-based study on stepwise excavation of deep carious lesions in permanent teeth: a 1-year follow-up study. **Community Dentistry and Oral Epidemiology**, v. 26, n. 2, p. 122-128, 1998.

BJØRNDAL, L.; THYLSTRUP, A. A structural analysis of approximal enamel caries lesions and subjacent dentin reactions. **European Journal of Oral Sciences**, v. 103, p. 25-31, 1995.

BLACK, G.V. **Operative dentistry**. Chicago: Medico dental; 1908.

BOSTON, D.W.; GRAVER, H.T. Histobacteriological analysis of acid red dye-stainable dentin found beneath intact amalgam restorations. **Operative Dentistry**, v. 19, p. 65-69, 1994.

BRESSANI, A. **Avaliação da coloração, consistência e contaminação da dentina de dentes decíduos submetidos ao capeamento pulpar indireto com remoção parcial de tecido cariado**. Dissertação (Mestrado em Clínica Odontológica) – Programa de Pós-Graduação em Odontologia, UFRGS; Porto Alegre, 2003.

CARNEIRO, L.S.; NUNES, C.A.; SILVA, M.A.; LELES, C.R.; MENDONÇA, E.F. *In vivo* study of pixel grey-measurement in digital subtraction radiography for monitoring caries remineralization. **Dentomaxillofacial Radiology**, v. 38, n. 2, p. 73-78, 2009.

CASAGRANDE, L.; BENTO, L.W.; RERIN, S.O.; LUCAS, E. de R.; DALPIAN, D.M.; de ARAÚJO, F.B. In vivo outcomes of indirect pulp treatment using a self-etching primer versus calcium hydroxide over the demineralized dentin in primary molars. **Journal of Clinical Pediatric Dentistry**, v. 33, n. 2, p. 131-135, 2008.

CASTRO, V.M.; KATZ, J.O.; HARDMAN, P.K.; GLAROS, A.G.; SPENCER, P. In vitro comparison of conventional film and direct digital imaging in the detection of approximal caries. **Dentomaxillofacial Radiology**;v. 36, n. 3, p. 138-142, 2007.

CHRISTGAU, M.; HILLER, K.A.; SCHMALZ, G.; KOLBECK, C.; WENZEL, A: Quantitative digital subtraction radiography for the determination of small changes in

bone thickness: an in vitro study. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology**, v. 85, p. 462–472, 1998.

CONSOLARO, A. **Cárie dentária: Histopatologia e correlação clínico-radiográficas**. São Paulo: Consolaro, 1996.

CORRALO, D.J. **Efeito de diferentes materiais forradores sobre o comportamento biológico da dentina cariada e presença bacteriana**. Dissertação (Mestrado em Clínica Odontológica) – Programa de Pós-Graduação em Odontologia, UFRGS; Porto Alegre, 2003.

de ARAÚJO, E.A.; CASTILHO, J.C.; MEDICI-FILHO, E.; de MORAES, M.E. Comparison of direct digital and conventional imaging with Ekta Speed Plus and insight films for the detection of approximal caries. **American Journal of Dentistry**, v. 18, n. 4, p. 241-244, 2005.

EBERHARD, J.; HARTMAN, B.; LENHARD, M.; MAYER, T.; KOCHER, T.; EICKHOLZ, P. Digital subtraction radiography for monitoring dental demineralization. An in vitro study. **Caries Research**, v. 34, n. 3, p. 219-224, 2000.

EIDELMAN, E.; FINN, B.; KOULOURIDES, T. Remineralization of carious dentin treated with calcium hydroxide. **Journal of Dentistry for Children**, v. 32, p. 218-225, 1965.

ESPELID, I.; TVEIT, A.B.; FJELLTVEIT, A. Variations among dentists in radiographic detection of occlusal caries. **Caries Research**, v. 28, n. 3, p. 169-75, 1994.

ESPELID, I.; TVEIT, A.B.; RIORDAN, P.J. Radiographic caries diagnosis by clinicians in Norway and Western Australia. **Community Dentistry and Oral Epidemiology**, v. 22, n. 4, p. 214-219, 1994.

FALSTER, C.A.; de ARAÚJO, F.B.; STRAFFON, L.H.; NÖR, J.E. Indirect pulp treatment: In vivo outcomes of an adhesive resin system vs calcium hydroxide for protection of the dentin-pulp complex. **Pediatric Dentistry**, v. 24, n. 3, p. 241-248, 2002.

FERREIRA, R.I.; HAITER-NETO, F.; TABCHOURY, C.P.; de PAIVA, G.A.; BÓSCOLO, F.N. Assessment of enamel demineralization using conventional, digital, and digitized radiography. **Brazilian Oral Research**, v. 20, n. 2, p. 114-119, 2006.

FISHER, F.J. The viability of micro-organisms in carious dentine beneath amalgam restorations. **British Dental Journal**, v. 121, n. 9, p. 413-416, 1966.

FISHER, F.J. The viability of micro-organisms in carious dentine beneath amalgam restorations. An appendix. **British Dental Journal**, v. 126, n. 8, p. 355-356, 1969.

FRANZON, R.; CASAGRANDE, L.; PINTO, A.S.; GARCÍA-GODOY, F.; MALTZ, M.; de ARAÚJO, F.B. Clinical and radiographic evaluation of indirect pulp treatment in primary molars: 36-month follow-up. **American Journal of Dentistry**, v. 20, n. 3, p. 189-92, 2007.

FRANZON, R.; PITONI, C.M.; GOMES, M.; BERGMANN, C.P.; de ARAÚJO, F.B. Dentine rehardening after indirect pulp treatment in primary teeth. **Journal of Dentistry for Children**, 2009. In press.

FUSAYAMA, T. Two layers of carious dentin: diagnosis and treatment. **Operative Dentistry**, v. 4, p. 63-70, 1979.

FUSAYAMA, T.; TERASHIMA, S. Differentiation of two layers of carious dentin by staining. **Tokio Medical and Dental University**, v.19, p. 83-92, 1972.

GOING, R.E.; LOESCHE, W.J.; GRAINGER, D.A.; SYED, S.A. The viability of microorganisms in carious lesions five years after covering with a fissure sealants. **Journal of the American Dental Association**, v. 97, p. 455-462, 1978.

GOREN, A.D.; DUNN, S.M.; WOLFF, M.; VAN DER STELT, P.F.; COLOSI, D.C.; GOLUB, L.M. Pilot study: digital subtraction radiography as a tool to assess alveolar bone changes in periodontitis patients under treatment with subantimicrobial doses of doxycycline. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology**, v. 106, n. 4, p. 40-5, 2008.

GRÖNDAHL, H.G.; GRÖNDAHL, K. Subtraction radiography for the diagnosis of periodontal bone lesions. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology**, v. 55, p. 208-213, 1983.

GRÖNDAHL, H.G.; GRÖNDAHL, K.; WEBBER, R.L. A digital subtraction technique for dental radiography. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology**, v. 55, p. 96–102, 1983.

GWINNETT, A.J. A comparison of proximal carious lesions as seen in clinical radiography, contact microradiography, and light microscopy. **Journal of the American Dental Association**, v. 83, p. 1078-1080, 1971.

HENZ, S.L. **Avaliação morfológica, ultra-estrutural e microbiológica da efetividade do corante vermelho-ácido a 1% na identificação da dentina cariada**. Dissertação (Mestrado em Clínica Odontológica) – Programa de Pós-Graduação em Odontologia, UFRGS; Porto Alegre, 1997.

HEO, M.S.; LEE, S.S.; LEE, K.H.; CHOI, H.M.; CHOI, S.C.; PARK, T.W. Quantitative analysis of apical root resorption by means of digital subtraction

radiography. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology**, v. 91, p. 369–373, 2001.

HOLST, D.; SCHULLER, A.A.; ALEKSEJUNIENÉ, J.; ERIKSEN, H.M. Caries in populations – a theoretical, causal approach. **European Journal of Oral Sciences**, v. 109, p. 143-148, 2001.

HWANG, Y.J.; FIEN, M.J.; LEE, S.S.; KIM, T.I.; SEOL, Y.J.; LEE, Y.M.; KU, Y.; RHYU, I.C.; CHUNG, C.P.; HAN, S.B. Effect of scaling and root planing on alveolar bone as measured by subtraction radiography. **Journal of Periodontology**, v. 79, n. 9, p. 1663-1669, 2008.

JENSEN, O.E.; HANDELMAN, S.L. Effect of an autopolymerizing sealant on viability of microflora in occlusal dental caries. **Scandinavian Journal of Dental Research**, v. 88, n. 5, p. 382-388, 1980.

KHADEMI, J.A. Digital images & sound. **Journal of Dental Education**, v. 60, n. 1, p. 41-46, 1996.

KIDD, E.A.; JOYSTON-BECHAL, S.; BEIGHTON, D. The use of a caries detector dye during cavity preparation: a microbiological assessment. **British Dental Journal**, v. 174, p. 245-248, 1993.

KRASSE, B. The caries decline: is the effect of fluoride toothpaste overrated? **European Journal of Oral Sciences**, v. 104, p. 426-429, 1996.

KRAVITZ, L.H.; TYNDALL, D.A.; BAGNELL, C.P.; DOVE, S.B. Assessment of external root resorption using digital subtraction radiography. **Journal of Endodontics**, v. 18, n. 6, p. 275-284, 1992.

KREULEN, C.M.; de SOET, J.J.; WEERHEIJM, K.L.; VAN AMERONGEN, W.E. In vivo cariostatic effect of a resin modified glass ionomer cement and amalgam on dentine. **Caries Research**, v. 31, n. 5, p. 384-389, 1997.

LAZARCHIK, D.A.; FIRESTONE, A.R.; HEAVEN, T.J.; FILLER, S.J.; LUSSI, A. Radiographic evaluation of occlusal caries: effect of training and experience. **Caries Research**, v. 29, n. 5, p. 355-358, 1995.

LOPES, C.M.; RODRIGUES, H.H.; VONO, R.M.; PELÁ, C.A. Remoção da dentina cariada. Avaliação quantitativa e histobacteriológica “in vitro”. **Revista Gaúcha de Odontologia**, v. 35, n. 2, p. 138-147, 1987.

LUNDIN, S.A.; KOCH, G. Class I and II posterior composite resin restorations after 5 and 10 years. **Swedish Dental Journal**, v. 23, p. 165-171, 1999.

MACGREGOR, A., MARSLAND, E.A.; BATTY, I. Experimental studies of dental caries. I. The relation of bacterial invasion to softening of the dentin. **British Dental Journal**, v. 101, n. 7, p. 230-235, 1956.

MAGNUSSON, B.O.; SUNDELL, S.O. Stepwise excavation of deep carious lesions in primary molars. **Journal of the International Association of Dentistry for Children**, v. 8, n. 2, p. 36-40, 1977.

MALTZ, M.; OLIVEIRA, E.F.; FONTANELLA, V.; BIANCHI, R. A clinical, microbiologic, and radiographic study of deep lesions, after incomplete caries removal. **Quintessence International**, v. 33, n. 2, p. 151-59, 2002.

MALTZ, M.; OLIVEIRA, E.F.; FONTANELLA, V.; CARMINATTI, G. Deep caries lesions after incomplete dentine caries removal: 40-month follow-up study. **Caries Research**, v. 41, p. 493-496, 2007.

MARCHI JJ; DE ARAUJO FB; FRÖNER AM; STRAFFON LH; NÖR JE. Indirect pulp capping in the primary dentition: a 4 year follow-up study. **Journal of Clinical Pediatric Dentistry**, v. 31, n. 2, p. 68-71, 2006.

MARCHI, J.J.; FRONER, A.M.; de ARAÚJO, F.B.; ALVES, H.L.R.; BERGMANN, C.P. Analysis of primary tooth dentin after indirect pulp capping. **Journal of Dentistry for Children**, v. 75, n. 3, p. 160-165, 2008.

MARTIGNON, S.; EKSTRAND, K.R.; ELLWOOD, R. Efficacy of sealing proximal early caries lesions: an 18-month clinical study evaluated by conventional and subtraction radiography. **Caries Research**, v. 40, p. 382-388, 2006.

MASSARA, M.L.A.; ALVES, J.B.; BRANDÃO, P.R.G. Atraumatic restorative treatment: clinical, ultrastructural and chemical analysis. **Caries Research**, v. 36, p. 430-436, 2002.

MERTZ-FAIRHURST, E.J.; CURTIS JR, J.W.; ERGLE, J.W.; RUEGGERBERG, F.A.; ADAIR, S.M. Ultraconservative and cariostatic sealed restorations: Results at year 10. **Journal of the American Dental Association**, v. 129, p. 55-66, 1998.

MERTZ-FAIRHURST, E.J.; SCHUSTER, G.S.; FAIRHURST, C.W. Arresting caries by sealants: results of a clinical study. **Journal of the American Dental Association**, v. 112, p. 194-197, 1986.

MERTZ-FAIRHURST, E.J.; SCHUSTER, G.S.; WILLIAMS, J.E.; FAIRHURST, C.W. Clinical progress of sealed and unsealed caries. Part I: Depth changes and bacterial counts. **Journal of Prosthetic Dentistry**, v. 42, n. 5, p. 521-526, 1979a.

MERTZ-FAIRHURST, E.J.; SCHUSTER, G.S.; WILLIAMS, J.E.; FAIRHURST, C.W. Clinical progress of sealed and unsealed caries. Part II: Standardized radiographs and clinical observations. **Journal of Prosthetic Dentistry**, v. 42, n. 6, p. 633-637, 1979b.

NUMMIKOSKI, P.V.; MARTINEZ, T.S.; MATTESON, S.R.; MCDAVID, W.D.; DOVE, S.B. Digital subtraction radiography in artificial recurrent caries detection. **Dentomaxillofacial Radiology**, v. 21, p. 59-64, 1992.

OLIVEIRA, E.F.; CARMINATTI, G.; FONTANELLA, V.; MALTZ M. The monitoring of deep caries lesions after incomplete caries removal: results after 14-18 months. **Clinical Oral Investigation**, v. 101, p. 34-39, 2006.

ORHAN, A.I.; OZ, F.T.; OZCELIK, B.; ORHAN, K. A clinical and microbiological comparative study of deep carious lesion treatment in deciduous and young permanent molars. **Clinical Oral Investigations**, v. 12, p. 369-378, 2008.

OSTROM, C.A. Cariologia clínica. In: MENAKER, L. **Cáries dentárias**. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 1984. p. 219-30

PADDICK, J.S.; BRAILSFORD, S.R.; KIDD, E.A.M.; BEIGHTON, D. Phenotypic and genotypic selection of microbiota surviving under dental restorations. **Applied Environmental Microbiology**, v. 71, n. 5, p. 2467-2472, 2005.

PINTO, A.S.; de ARAÚJO, F.B.; FRANZON, R.; FIGUEIREDO, M.C.; HENZ, S.; GARCÍA-GODOY, F.; MALTZ, M. Clinical and microbiological effect of calcium hydroxide protection in indirect pulp capping in primary teeth. **American Journal of Dentistry**, v. 19, n. 6, p. 382-386, 2006.

PITTS, N.B. Monitoring of caries progression in permanent and primary posterior approximal enamel by bitewing radiography. **Community Dentistry and Oral Epidemiology**, v. 11, p. 228-235, 1983.

RIBEIRO, C.C.; BARATIERI, L.N.; PERDIGÃO, J.; BARATIERI, N.M.; RITTER, A.V. A clinical, radiographic, and scanning electron microscopic evaluation of adhesive restorations on carious dentin in primary teeth. **Quintessence International**, v. 30, n. 9, p. 591-599, 1999.

RICKETTS, D.; KIDD, E.A.; INNES, N.P.T.; CLARKSON, J.E. Complete or ultraconservative removal of decayed tissue in unfilled teeth. **The Cochrane Library**, issue 4, 2008. Oxford: Update Software.

ROCKENBACH, M.I.; VEECK, E.B.; da COSTA, N.P. Detection of proximal caries in conventional and digital radiographs: an in vitro study. **Stomatologija**, v. 10, n. 4, p. 115-120, 2008.

SATO Y.; FUSAYAMA, T. Removal of dentin by fuchsin staining. **Journal of Dental Research**, v. 55, n. 4, p. 678-683, 1976.

SHOVELTON, D.S. A study of deep carious dentine. **International Dental Journal**, v. 18, n. 2, p. 392-405, 1968.

SHROUT, M.K.; POTTER, B.J.; YURGALAVAGE, H.M.; HILDEBOLT, C.F.; VANNIER, M.W. 35-mm film scanner as an intraoral dental radiograph digitizer. I: A quantitative evaluation. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology**, v. 76, n. 4, p. 502-509, 1993.

THEILADE, E.; FEJERSKOV, O.; MIGASENA, K.; PRACHYABRUEDT, W. Effect of fissure sealing on the microflora in occlusal fissures on human teeth. **Archives of Oral Biology**, v. 22, p. 251-259, 1977.

TOMES, J. **A system of dental surgery**. London: Churchill, 1859.

TZIAFAS, D. The future role of a molecular approach to pulp-dentin regeneration. **Caries Research**, v. 38, p. 314-320, 2004.

TZIAFAS, D.; SMITH, A.J.; LESOT, H. Designing new treatment strategies in vital pulp therapy. **Journal of Dentistry**, v. 28, p. 77-92, 2000.

VAN DER STELT PF. Better imaging. The advantages of digital radiography. **Journal of the American Dental Association**, v. 139, p. 7S-13S, 2008.

WAMBIER, D.S.; dos SANTOS, F.A.; GUEDES-PINTO, A.C.; JAEGER, R.G.; SIMIONATO, M.R. Ultrastructural and microbiological analysis of the dentin layers affected by caries lesions in primary molars treated by minimal intervention. **Pediatric Dentistry**, v. 29, n. 3, p. 228-234, 2007.

WEERHEIJM, K.L.; de SOET, J.J.; VAN AMERONGEN, W.E.; de GRAAFF, J. Sealing of occlusal hidden caries lesions: An alternative for curative treatment? **Journal of Dentistry for Children**, v. 59, p. 263-268; 1992.

WEERHEIJM, K.L.; KREULEN, C.M.; de SOET, J.J.; GROEN, H.J.; VAN AMERONGEN, W.E. Bacterial counts in carious dentine under restorations: 2-year in vivo effects. **Caries Research**, v. 33, p. 130-134, 1999.

WENZEL, A. Computer-aided image manipulation of intraoral radiographs to enhance diagnosis in dental practice: a review. **International Dental Journal**, v. 43, p. 99-108, 1993.

WENZEL, A.; ANTHONISEN, P.N.; JUUL, M.B. Reproducibility in the assessment of caries lesion behaviour: a comparison between conventional film and subtraction radiography. **Caries Research**, v. 34, n. 3, p. 214-218, 2000.

WENZEL, A.; FEJERSKOV, O.; KIDD, E.A.; JOYSTON-BECHAL, S.; GROENEVELD, A. Depth of occlusal caries assessed clinically, by conventional film radiographs, and by digitized, processed radiographs. **Caries Research**, v. 24, p. 327-333, 1990.

WENZEL, A.; SEWERIN, I. Sources of noise in digital subtraction radiography. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology**, v. 71, p. 503-508, 1991.

WHITEHEAD, F.I.; MACGREGOR, A.B.; MARSLAND, E.A. Experimental studies of dental caries: II. The relation of bacterial invasion to softening of the dentine in permanent and deciduous teeth. **British Dental Journal**, v. 108, n. 7, p. 261-265, 1960.