



UNIVERSITA' POLITECNICA DELLE MARCHE
Facoltà di Medicina e Chirurgia

Corso di Laurea in Igiene Dentale
Presidente: Prof. A. Putignano

***White Spot Lesions: dall'analisi
spettroscopica ai possibili trattamenti
non invasivi***

Relatore: **Chiar.ma
Prof.ssa Giovanna Orsini**

Candidato:
Sara Baffo

Correlatore:
Dott.ssa Giulia Orilisi

Anno Accademico 2020-2021

INDICE

SOMMARIO	4
INTRODUZIONE	5
1 LO SMALTO DENTALE	8
2 WHITE SPOT LESIONS	9
2.1 Conformazione dello smalto nelle WSLs	10
2.2 Fattori che causano la formazione delle WSLs	12
2.2.1 <i>Difetto di maturazione dello smalto</i>	12
2.2.2 <i>Fluorosi</i>	14
2.2.3 <i>Trauma</i>	16
2.2.4 <i>Trattamento ortodontico</i>	17
2.3 Classificazione ICDAS	19
2.4 Diagnosi	22
2.4.1 <i>Esame clinico</i>	22
2.4.2 <i>Esame radiografico</i>	24
2.4.3 <i>Transilluminazione</i>	26
2.4.3.1 <i>Transilluminazione digitale: DIAGNOcam</i>	26
2.4.3.2 <i>Fluorescenza laser: DIAGNOdent</i>	27
2.5 Prevenzione	28
2.6 Trattamento	32
3 RESINE INFILTRANTI	33
3.1 Icon	33
4 PARTE SPERIMENTALE	36
4.1 Obiettivo	36
4.2 Materiali e metodi	36

4.3	Risultati	38
4.4	Discussione	40
4.5	Conclusioni.....	43
	BIBLIOGRAFIA	44

SOMMARIO

Lo scopo di questa tesi consiste nella caratterizzazione comparativa delle *white spot lesions* con lo smalto sano, attraverso l'analisi spettroscopica RAMAN. Viene proposto inoltre un protocollo di ricerca per l'analisi dell'efficacia di un trattamento di queste lesioni, quale l'infiltrazione di resina a bassa viscosità.

La tesi è strutturata in quattro parti. Nella prima parte vengono descritte le caratteristiche generali della struttura dello smalto dentale. La seconda parte è incentrata sulle *white spot lesions*, descrivendone la struttura macroscopica e microscopica, i fattori responsabili della loro formazione, la classificazione, le metodiche diagnostiche, la prevenzione e il loro trattamento. La terza parte, invece, descrive in modo dettagliato il loro trattamento con la resina infiltrante Icon (DMG America). Nella parte finale viene descritta la procedura sperimentale e discussi i risultati ottenuti, in modo da trarre conclusioni riguardo le differenze chimiche tra smalto sano e *white spot lesions*, così da proporre un protocollo di ricerca che valuti metodi minimamente invasivi per il loro trattamento.

INTRODUZIONE

La carie dentale rappresenta una delle più comuni patologie riscontrate in ambito odontoiatrico. Il processo di formazione della carie è costituito da cicli di remineralizzazione e demineralizzazione, in cui questi ultimi possono prevalere sui primi, passando da uno stadio di reversibilità della lesione ad uno stadio irreversibile [1]. Lesioni iniziali della carie, note come macchie bianche, sono la prima manifestazione della carie dello smalto. Clinicamente, la lesione attiva della carie iniziale appare come una macchia bianca, opaca e visibilmente distinta dallo smalto circostante a causa delle differenze nell'indice di rifrazione [2].

Queste lesioni vengono definite “*White spot lesions*” (WSLs) e sono lesioni cariose iniziali, piatte, non cavitate, date dalla riduzione della componente minerale in alcune aree dello smalto dentale. A causa di questa perdita, l'indice di rifrazione della luce dello smalto risulta alterato, e ciò porta la superficie del dente ad assumere un aspetto opaco e bianco [3]. Sono lesioni reversibili e le cause che portano alla loro formazione sono varie: (i) difetto di maturazione dello smalto; (ii) fluorosi; (iii) trauma; (iv) trattamento ortodontico [4].

Lo smalto è il tessuto più mineralizzato dell'organismo. Il 96% in peso della sua composizione è rappresentato da sostanza inorganica: idrossiapatite e fosfato tricalcico idrato, mentre il restante 4% è costituito dall'acqua e da una piccola parte di materiale organico. In presenza di WSL, la componente minerale si riduce e viene sostituita da fluidi organici [5]. Gli spazi tra i cristalli si allargano e penetrano composti organici, pigmenti e soprattutto acqua, che cambiando la rifrazione della luce determina il classico cambiamento di colore in bianco. Lo smalto sano, idratato dalla saliva, ha un indice di rifrazione pari a 1.62, mentre lo smalto demineralizzato ha un indice di rifrazione compreso tra 1.00 e 1.33. La lesione diventa clinicamente visibile quando il deficit minerale del corpo della lesione rispetto allo smalto sano raggiunge il 10%.

Le WSLs vengono classificate seguendo il metodo ICDAS (*International Caries Detection and Assessment System*). Questo sistema di classificazione visiva valuta le alterazioni della superficie esterna dello smalto che possono indicare lo sviluppo di

lesioni cariose nella loro fase iniziale [6]. Si tratta di una procedura che ha lo scopo di fare diagnosi di carie e conferire un livello di gravità alla lesione cariosa intercettata. Il requisito principale per l'applicazione del sistema ICDAS è l'esame dei denti puliti e asciutti. L'essiccazione della superficie del dente è la chiave per rilevare lesioni non cavitate, perché l'acqua normalmente ostruisce i pori nei denti cariati e, dal momento che l'indice di rifrazione del dente è simile a quello dell'acqua, oscura la rilevazione delle lesioni precoci di macchie bianche [7]. Nella prevenzione della carie un ruolo fondamentale è rivestito dalla diagnosi, attraverso la quale vengono valutate le condizioni dei tessuti dentali, la presenza o meno di lesioni cariose e l'entità delle stesse [8]. Da un punto di vista diagnostico, l'esame clinico e radiografico sono di fondamentale importanza e, negli ultimi anni, sono state introdotte nuove tecnologie per facilitare l'intercettazione delle lesioni cariose, specialmente agli stadi iniziali [9]. La progressione delle WSLs può essere limitata o anche arrestata mediante misure preventive come l'educazione all'igiene orale, una corretta alimentazione e tecniche di remineralizzazione [10].

Nel 2009 è stata introdotta la tecnica di infiltrazione di resina a bassa viscosità, che mira a riempire le microporosità nel corpo della lesione con un approccio minimamente invasivo. Inoltre, l'indice di rifrazione dell'infiltrante è simile a quello dello smalto sano, e ciò favorisce anche un mascheramento visivo della lesione [11]. Le resine infiltranti sono materiali che permettono di penetrare per capillarità lo smalto reso poroso dalla mordenzatura, col fine di rallentare o arrestare la progressione delle lesioni interprossimali non cavitate e di mascherare, a scopo estetico, le WSLs. Tali resine possono favorire il trattamento estetico minimamente invasivo delle discromie bianche [12].

La resina infiltrante ICON (DMG America; Ridge- field Park, NJ, USA) è considerata il *gold standard* per l'infiltrazione della lesione cariosa allo stato iniziale e studi recenti riportano la sua elevata efficacia nell'arrestare l'attività della carie e nel fornire un buon recupero estetico [13] [14]. ICON è un innovativo sistema di infiltrazione della carie, che rende la lesione cariosa invisibile e la allinea otticamente al resto della superficie sana dello smalto. È composto principalmente da trietilenglicole dimetacrilato fotopolimerizzabile (TEGDMA), che infila per capillarità all'interno delle WSLs a causa della sua bagnabilità e viscosità.

Questa tesi si prefigge lo scopo di caratterizzare, attraverso l'analisi spettroscopica RAMAN, le *WPLs*, paragonandole allo smalto dentale sano. Inoltre, viene proposto un protocollo di ricerca per l'analisi dell'efficacia del trattamento di queste lesioni con infiltrazione di resina Icon.

1 LO SMALTO DENTALE

Lo smalto è la sostanza più dura nel corpo umano in quanto contiene cristalliti meglio orientati rispetto a qualsiasi altro tessuto mineralizzato del corpo [15]. Lo smalto è prodotto da cellule di origine epiteliale, gli ameloblasti, che scompaiono in seguito all'eruzione dentale. È costituito da una matrice organica e da una prevalente sostanza inorganica, composta da fosfato di calcio cristallino altamente organizzato, noto come idrossiapatite, che occupa oltre il 96% di peso dello smalto. L'1% circa è rappresentato da materiale organico, costituito essenzialmente da proteine non collagene, mentre il restante 3% circa da acqua. La componente organica è formata dallo 0,6% di carboidrati, lipidi e citrati; dallo 0,4% di peptidi e proteine non collagene [16].

Lo smalto dentale maturo è caratterizzato da una struttura di base chiamata prisma (o bastoncino, in inglese "rod"). Ogni prisma contiene circa 1000 cristalli di idrossiapatite che vanno dalla giunzione smalto-dentale alla superficie dentale. La dimensione del prisma dello smalto è di circa 3-6 μm di diametro e 9 μm di altezza. Le zone interposte tra i prismi di smalto sono chiamate regioni interprismatiche. Esse sono composte da cristalliti disposti in una direzione diversa rispetto a quelli che si trovano all'interno dei prismi di smalto [17]. Ogni prisma è racchiuso da una guaina prismatica con uno spessore di 800 nm. Queste guaine prismatiche hanno un alto contenuto proteico e cristalliti a basso contenuto di minerali, che mostrano orientamenti diversi rispetto ai prismi. Lo smalto esterno ha un orientamento dei cristalli uniforme, mentre lo smalto interno presenta un orientamento non uniforme, e per questo lo smalto interno mostra una maggiore resistenza alla frattura rispetto allo smalto esterno [18]. La variazione nell'organizzazione dei prismi di smalto e nell'orientamento dei cristalliti all'interno del prisma crea una struttura eterogenea, dando luogo al tessuto più resistente e duro del corpo umano.

2 WHITE SPOT LESIONS

Il primo segno di carie dentale è rappresentato da lesioni bianche a livello dello smalto che vengono definite come “*White Spot Lesions*” (WSLs). Tali lesioni sono dovute ad una demineralizzazione della superficie dello smalto, sebbene possano essere revertite e non formare cavità [19].

Le WSLs sono caratterizzate da un aspetto bianco, opaco e gessoso e spesso sono localizzate nei solchi, nelle fosse e nella superficie liscia dei denti [1]. Le caratteristiche cliniche delle WSLs includono la perdita della normale traslucenza dello smalto, a causa di un'alterazione dell'indice di rifrazione. Infatti, lo smalto sano, idratato dalla saliva, ha un indice di rifrazione pari a 1.62, mentre lo smalto demineralizzato ha un indice di rifrazione compreso tra 1.00 e 1.33. L'aspetto bianco, quindi, è dovuto ad un fenomeno ottico causato dalla perdita della componente minerale all'interno dello smalto [20]. La dissoluzione dei cristalli dello smalto inizia da una demineralizzazione superficiale, creando pori tra i prismi dello smalto. L'alterazione dell'indice di rifrazione, quindi, è risultato sia della rugosità che della perdita di lucentezza della superficie e sia della alterazione della riflessione interna della luce [21]. Infatti, da un punto di vista clinico, quando la WSL viene asciugata con un getto d'aria, la lesione diventa più visibile a causa della sostituzione dell'acqua con aria negli spazi inter-cristallini; la sua apparenza, definita opaca o bianco gessosa, sembra essere legata non solo all'aumento interno della porosità dello smalto ma anche all'erosione di superficie che determina una più o meno ampia diffrazione della luce [22].

Le WSLs si distinguono in attive e non attive. Le lesioni attive appaiono gessose, opache, ruvide durante il sondaggio, vi è la presenza di placca e la gengiva intorno può risultare infiammata. D'altra parte, le lesioni inattive hanno un aspetto lucido, sono lisce durante il sondaggio, non presentano accumulo di placca e la gengiva attorno non è infiammata [23].

2.1 Conformazione dello smalto nelle WSLs

Nelle WSLs la porosità dello smalto aumenta. La porosità della WSL può aiutare a determinare la penetrazione della lesione nella superficie dello smalto. Se la lesione è visibile sulla superficie del dente asciutto, è più probabile che si trovi nello smalto esterno, mentre le lesioni che appaiono visibili sulle superfici dello smalto bagnato suggeriscono che la penetrazione è progredita attraverso lo smalto e potrebbe aver raggiunto la dentina [17].

Esaminando una WSL si distinguono quattro zone [24] (**Figura 1**): strato superficiale relativamente intatto, corpo della lesione (questa zona presenta una notevole perdita di minerali e mostra cambiamenti nella morfologia dei cristalliti), zona scura (mostra un allargamento dei pori e una perdita di minerali del 6%) e zona traslucida che rappresenta il fronte avanzato della lesione (è caratterizzata da perdita di proteine seguita dalla rimozione di sostanze inorganiche). [25] Lo strato superficiale sembra rimanere intatto a causa della presenza e del deposito di ioni calcio e fosfato dalla saliva.

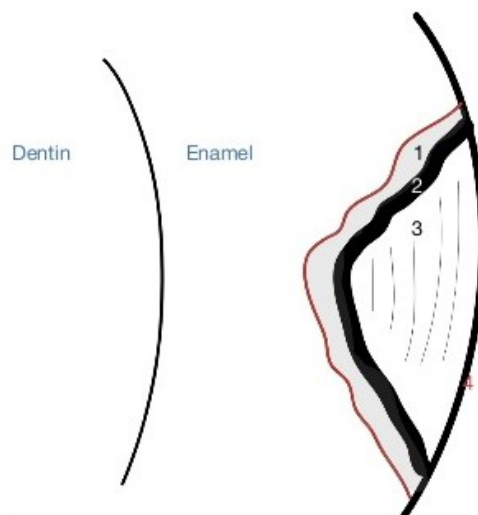


Figura 1 Rappresentazione schematica dello smalto dentale a livello della white spot: (1) zona traslucida; (2) zona scura; (3) corpo della lesione; (4) strato superficiale

La traslucenza dello smalto è un fenomeno ottico che dipende dalle dimensioni degli spazi inter-cristallini. Nelle fasi iniziali, la carie attiva richiede l'essiccazione all'aria

per essere visibile, poiché inizia il processo di dissoluzione dei cristalli sulla superficie esterna dello smalto. Un ulteriore allargamento degli spazi inter-cristallini si traduce in una macchia bianca visibile senza l'utilizzo dell'aria [26].

La traslucenza dello smalto dentale è influenzata dal suo grado di disidratazione. Questo potrebbe essere il risultato della sostituzione dell'acqua intorno ai prismi di smalto con l'aria. L'effetto dello scattering in un sistema eterogeneo, come i prismi di smalto circondati da un mezzo fluido (ad esempio, acqua), è una funzione della differenza negli indici di rifrazione delle due componenti [27]. L'indice di rifrazione dello smalto dentale è di circa 1,62. Poiché l'indice di rifrazione dell'acqua è 1,33 e quello dell'aria è 1,00, una differenza maggiore e una maggiore dispersione sono prodotte su un'interfaccia smalto-aria. Pertanto, lo smalto disidratato mostrerebbe una minore traslucenza [28].

2.2 Fattori che causano la formazione delle WSLs

2.2.1 Difetto di maturazione dello smalto

I difetti di sviluppo dello smalto si verificano a causa di squilibri biologici che caratterizzano le cellule coinvolte nella sua formazione e maturazione. Una delle patologie caratterizzata da difetti dello smalto su incisivi e molari, è la *Molar Incisor Hypomineralization* (MIH). È causata da un disturbo della mineralizzazione dello smalto insorto durante l'amelogenesi, durante la transizione degli ameloblasti dalla fase di secrezione della matrice alla fase di maturazione [29].

È identificata clinicamente dalla presenza di aree di smalto ipomineralizzato, di colore bianco/brunastro soprattutto a livello dei molari.

Queste macchie sono zone di smalto più fragile, con perdita della porzione minerale che rende il dente meno resistente all'aggressione acida. Infatti, lo smalto interessato è facilmente attaccabile dai batteri cariogeni [30].

Da un punto di vista diagnostico, tale difetto deve essere presente a livello dei molari e interessare almeno un incisivo centrale; inoltre, viene suddiviso in base al grado di severità (**Figura 2**):

- *MIH lieve*: sono presenti macchie di colore biancastro sullo smalto dei molari permanenti e almeno un incisivo permanente. Si tratta di smalto con una presenza di calcio e fosfato simile allo smalto normale, senza perdita di sostanza. È generalmente interessato solo lo strato superficiale dello smalto e il tessuto non è compromesso per quanto riguarda le proprietà meccaniche. Possono esistere problematiche di natura estetica nel caso in cui le macchie biancastre coinvolgano gli incisivi centrali mascellari e appaiano particolarmente estese [31].
- *MIH moderata*: sono presenti macchie di colore brunastro sullo smalto dei molari permanenti e almeno un incisivo permanente. Si tratta di smalto con notevole riduzione di porzione minerale di calcio e fosfato e microscopica o visibile perdita di sostanza dentale.

Lo smalto affetto evidenzia una riduzione delle sue normali proprietà meccaniche di resistenza.

- *MIH severa*: il quadro clinico si presenta con evidente e macroscopica perdita di smalto che provoca l'esposizione della dentina sottostante e, spesso, problemi di ipersensibilità agli stimoli evocativi e un maggior rischio di sviluppare processi cariosi. In questi casi si hanno importanti implicazioni cliniche come sensibilità termica dovuta all'aumentata permeabilità e suscettibilità alla carie [32].

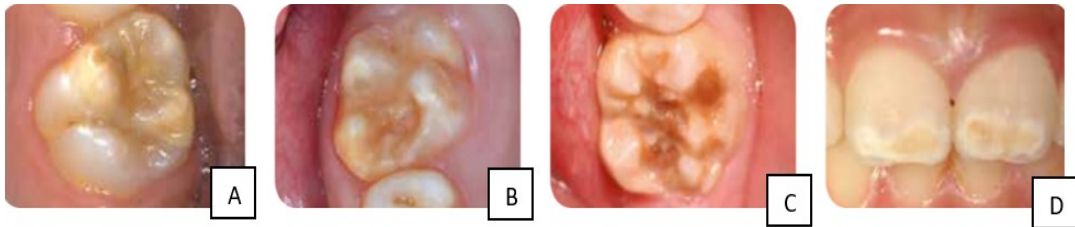


Figura 2 Classificazione MIH: A: lieve; B: moderata; C: grave; D: interessamento incisale

2.2.2 Fluorosi

Un fattore eziologico delle WSLs è rappresentato dalla fluorosi, che si verifica durante lo sviluppo dei denti a causa dell'ingestione cronica di quantità eccessive di fluoro. Clinicamente, lo smalto fluorurato è caratterizzato da opacità bianche che variano da piccole striature ad aree estese di smalto senza lucentezza, alla perdita dello strato superficiale di smalto [33]. Istologicamente, maggiori quantità di fluoruro causeranno ipomineralizzazione o porosità nello smalto. Con l'aumentare della gravità, lo smalto diventa sempre più poroso, la lesione si estende verso lo smalto interno e il contenuto di fluoro aumenta. Dopo l'eruzione, le aree opache possono diventare di colore giallo o marrone scuro, e le forme più gravi sono soggette ad una alterazione microstrutturale della superficie [34].

Molti studi epidemiologici sulla fluorosi dentale umana hanno dimostrato che i denti anteriori permanenti sono a maggior rischio di fluorosi durante un periodo che va dai 3 ai 6 anni [35]. I bambini di età inferiore ai sei anni deglutiscono piuttosto che espettorare gran parte del dentifricio e la maggior parte del fluoro ingerito può essere assorbito nel tratto gastrointestinale e per questo può essere considerato un possibile fattore di rischio della fluorosi dello smalto. L'integrazione di fluoro durante il terzo fino al sesto anno di vita è un fattore di rischio più importante dell'integrazione durante il primo anno di vita [36].

La fluorosi interessa spesso tutta la dentatura. Ha una localizzazione variabile e tende a manifestarsi nei gradi iniziali lungo le linee di accrescimento dello smalto. La fluorosi da lieve a moderata tipicamente risiede entro la metà esterna dello smalto. Man mano che diventa più grave diventa più profonda. Quando diventa ancora più grave nel dente si vengono a mostrare delle lacune che tendono a colorarsi di marrone all'interno. [5]

In base alla classificazione TSIF del 1984 (*tooth surface index of fluorosis*) si hanno **(Figura 3)**:

- Stadio 1: la fluorosi è limitata alle sommità cuspidali dei denti posteriori o i margini incisali dei denti anteriori e presenta solo una lieve variazione nella traslucenza;
- Stadio 2: trama bianca a pergamena, area bianca distribuita in modo irregolare sul dente e occupante meno dei 2/3 della superficie dello smalto;

- Stadio 3: la trama bianca a pergamena occupa almeno i 2/3 della superficie dello smalto;
- Stadio 4: le aree discromiche a chiazza da bianca possono anche colorarsi di marrone sulla superficie esterna;
- Stadio 5: in un contesto di smalto normocromico sono presenti delle lacune, con discromia nella parte più profonda (lo smalto non interessato conserva le normali caratteristiche ottiche);
- Stadio 6: tutto lo smalto è fluorotico, bianco opaco e ci sono delle lacune;
- Stadio 7: i crateri si uniscono tra loro a creare delle ampie zone marrone scuro, con parti in cui lo smalto è assente. [37]

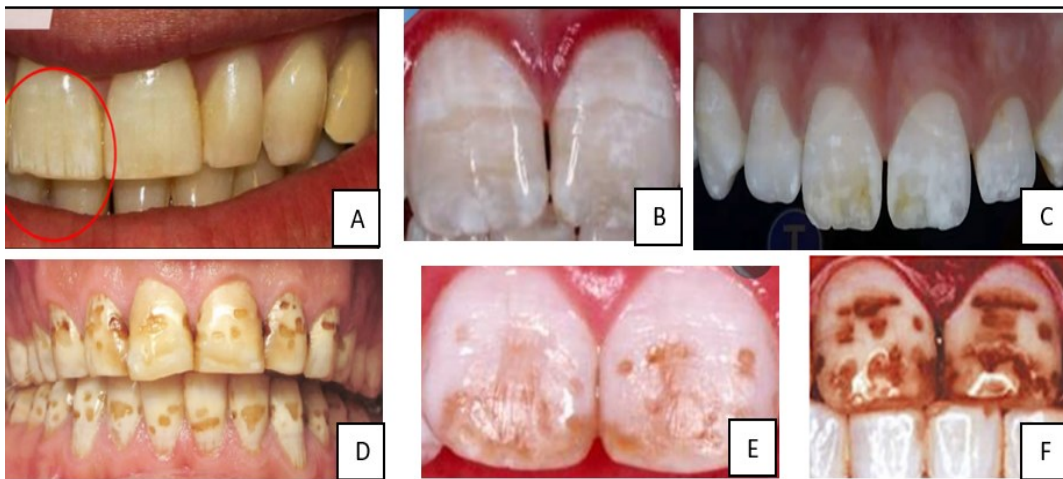


Figura 3 Classificazione TSIF: A) stadio 2; B) stadio 3; C) stadio 4; D) stadio 5; E) stadio 6; F) stadio 7

2.2.3 Trauma

Le macchie bianche possono essere causate anche da un trauma verificatosi durante l'odontogenesi. La prevalenza di queste lesioni è del 5,2%. [38]

Le WSLs di origine traumatica possono presentare una varietà di espressioni cliniche, che differiscono nella forma, localizzazione e anche colore. Sono generalmente lesioni puntiformi situate nel terzo incisale della corona dentale (**Figura 4**). Nella maggior parte dei casi, riguardano un unico dente [5]. Sono lesioni che colpiscono più comunemente gli incisivi mascellari [39]. Questa alterazione dello smalto si verifica perché l'apice della radice del dente deciduo, per intrusione, interferisce con gli ameloblasti durante la formazione della corona del dente permanente. A livello degli incisivi, i due tipi di dentatura sono separati solo da una sottile barriera ossea di spessore inferiore a 3 mm, o talvolta anche da semplice tessuto connettivo fibroso. Una leggera infiammazione periapicale può quindi disturbare la mineralizzazione del germe sottostante, a seconda del suo grado di formazione [5]. La discromia traumatica può interessare dalla superficie a tutto lo spessore dello smalto. Se il danno è causato nella fase iniziale della formazione dello smalto, la WSL è di notevole profondità. Se, invece, avviene nella fase finale viene alterato solo lo strato superficiale di smalto [40]. Una riparazione *ad integrum* di questa lesione non è apparentemente possibile e persiste una cavità esterna nella superficie dello smalto. Differentemente dalle altre forme discromiche, la forma traumatica tende ad approfondirsi in profondità. A seguito di infiltrazione resinosa, la resina riesce a penetrare gli strati più esterni ma non quelli interni. Quindi sarà visibile un alone bianco in profondità [41].

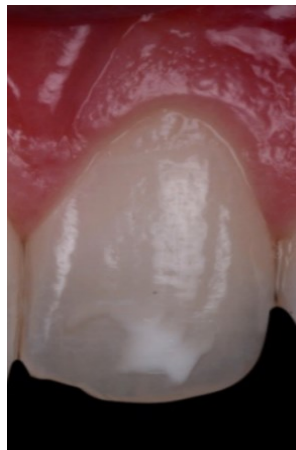


Figura 4 White spot traumatica

2.2.4 Trattamento ortodontico

Nella maggior parte dei casi la comparsa della WSL è legata al trattamento ortodontico. L'igiene orale nei pazienti sottoposti a trattamento ortodontico risulta sicuramente più difficoltosa per la presenza di brackets che favoriscono l'accumulo di placca e tartaro e la conseguente demineralizzazione dello smalto sottostante (**Figura 5**). L'accumulo di placca dentale attorno agli attacchi ortodontici è associato ad un aumentato rischio di lesioni demineralizzate che possono essere visibili entro 6 mesi [42].

I batteri cariogeni presenti nella placca dentale trasformano lo zucchero nella dieta in acidi organici, che iniziano a danneggiare lo smalto dei denti. Una rimozione efficace della placca impedisce il verificarsi delle WSLs; tuttavia, la presenza di apparecchi ortodontici nella bocca e il dolore dentale associato, possono rendere più difficile per i pazienti pulire adeguatamente i denti e l'apparecchio [43].

Anche la flora orale dei pazienti ortodontici è stata correlata allo sviluppo della carie. Livelli più elevati di *Streptococcus mutans* e *Lactobacilli* aumentano il rischio di carie dentale. È stato scoperto che lo *S. mutans* è direttamente associato alla WSL a causa delle sue proprietà altamente cariogene. A seguito del trattamento ortodontico e della rimozione dei brackets, i valori di *S.mutans* tornano a livelli normali [44].

La revisione della letteratura indica una grande discrepanza nei risultati ottenuti da vari ricercatori. La frequenza di decalcificazione dello smalto nei pazienti ortodontici è stimata tra il 2 e il 96% [45]. Un sondaggio condotto da Hamdan et al. (2012) ha mostrato che secondo i dentisti il 20% dei pazienti in media presentava WSLs dopo il trattamento ortodontico, mentre secondo gli ortodontisti, circa il 10% dei pazienti presentava WSLs dopo il trattamento ortodontico [46]. Enaia M. et al. (2010) hanno studiato la WSL che si sviluppa sui denti anteriori mascellari durante il trattamento con dispositivi multibrackets. Il loro esame ha rivelato che l'incidenza delle WSLs durante la terapia ortodontica era del 60,9% dei pazienti [47]. Sagarika N. et al. (2012) hanno riscontrato un alto tasso di prevalenza della WSL nel 75,6% dei pazienti sottoposti a trattamento ortodontico [48]. Lo studio di Julien et al. (2013) ha rivelato che il 23,4% dei pazienti ha sviluppato almeno una WSL durante il corso del trattamento [49]. Richter et al. (2011) hanno riferito che il 72,9% dei pazienti aveva

almeno una WSL durante il trattamento ortodontico [50]. Hadler-Olsen et al. (2012) hanno mostrato la presenza di almeno una WSL nel 60% dei pazienti ortodontici [51] e Al Maaitah EF et al. (2011) hanno riscontrato la presenza delle WSLs nel 71,7% dei pazienti [52].

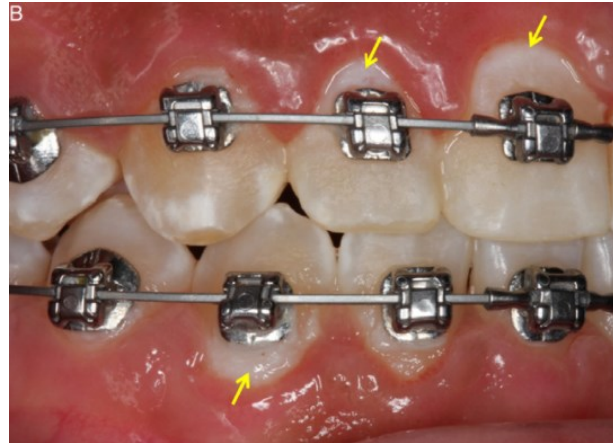


Figura 5 White spot causata da trattamento con brackets ortodontici

2.3 Classificazione ICDAS

Il metodo ICDAS (*International Caries Detection and Assessment System*), è un metodo visivo atto a valutare delle alterazioni della superficie esterna dello smalto occlusale che possono significare lo sviluppo di lesioni cariose nella loro fase iniziale. È una procedura diagnostica che ha lo scopo di fare una diagnosi di carie e conferire un livello di gravità alla lesione cariosa intercettata (**Figura 6**) [53].

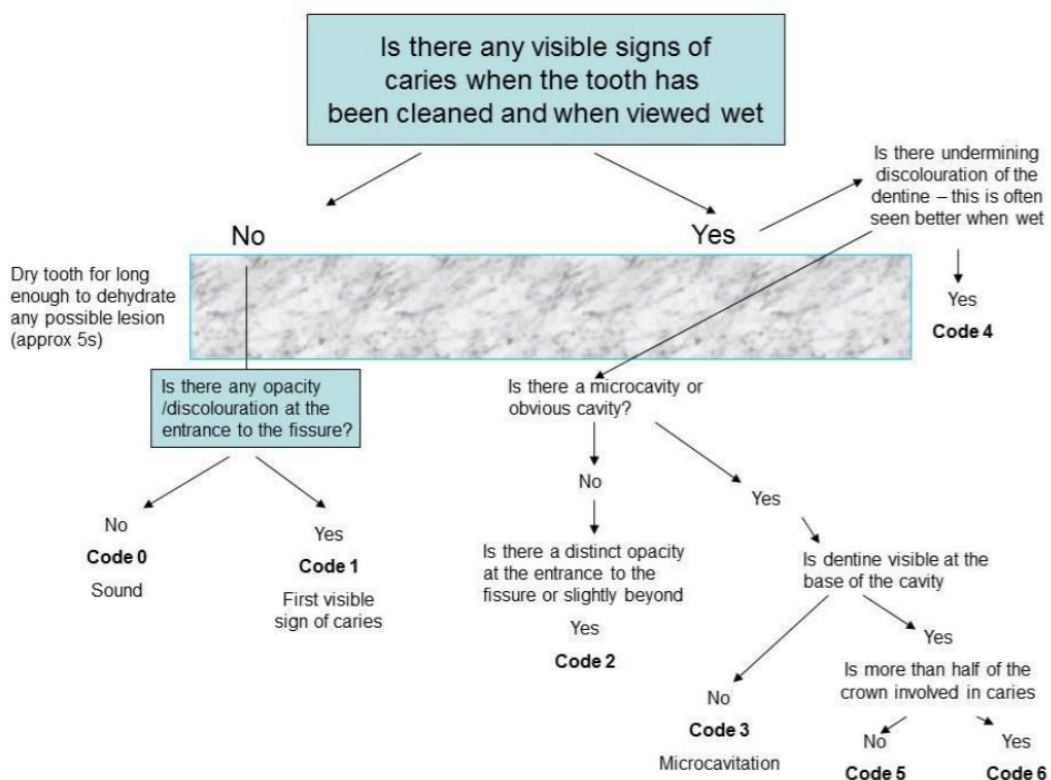


Figura 6 Grafico rappresentante il modo di agire a seconda dell'aspetto della white spot coronale e il rispettivo codice ICDAS

L'ICDAS I è stato sviluppato nel 2002 ed è stato successivamente modificato in ICDAS II nel 2005. Il requisito principale per l'applicazione del sistema ICDAS è l'esame dei denti puliti e asciutti. L'essiccazione della superficie del dente è la chiave per rilevare lesioni non cavitate perché l'acqua di solito ostruisce i pori nei denti cariati e l'indice di rifrazione simile del dente e dell'acqua oscura la rilevazione delle lesioni precoci di macchie bianche [54].

Il metodo ICDAS si basa sull'attribuzione di 6 punteggi allo smalto oclusale (**Figura 7**), che viene osservato previa asciugatura con getto d'aria, ed eventualmente ispezionato con una sonda.

- Valore 0: smalto sano e assenza totale di segni di carie dopo 5 secondi di asciugatura all'aria
- Valore 1: primo cambiamento visivo. Lo smalto evidenzia una iniziale demineralizzazione (maggiore opacità) dopo asciugatura della superficie con getto d'aria
- Valore 2: smalto con evidente alterazione del suo aspetto (opacità) anche senza asciugatura forzata. Cambiamento visivo nello smalto quando è bagnato e lesione visibile quando è asciutto. [55]
- Valore 3: smalto che presenta aree di disgregazione, osservabili da bagnate e dopo un'essiccazione prolungata
- Valore 4: smalto che presenta aree di disgregazione maggiori rispetto al livello 3 e che permette la visione in trasparenza della dentina sottostante, che appare come un'ombra grigia/marrone
- Valore 5: si evidenzia una cavità cariosa in smalto e dentina che interessa meno del 50% della superficie oclusale osservata
- Valore 6: si evidenzia una cavità cariosa in smalto e dentina che interessa più del 50% della superficie oclusale osservata [56]



Figura 7 Classificazione ICADS. Rappresentazione dei valori da 0 a 6

Esistono piccole variazioni tra i segni visivi associati a ciascun codice a seconda di una serie di fattori: se sono presenti denti adiacenti (superfici mesiali e distali) e se la carie è associata a un restauro o sigillante (CARS). Tuttavia, la base dei codici è essenzialmente la stessa.

Il colore della lesione può essere utilizzato anche per realizzare la distinzione tra arrestato e attivo, con lesioni arrestate che acquisiscono una pigmentazione marrone all'interno e una macchia superficiale, mentre le lesioni attive mantengono il loro aspetto bianco [57].

2.4 Diagnosi

Nella prevenzione della carie un ruolo fondamentale lo ha la diagnosi, attraverso la quale vengono valutate le condizioni dei tessuti dentali, la presenza o meno di lesioni cariose e l'attività delle stesse [58].

2.4.1 Esame clinico

L'esame clinico consiste nell'anamnesi, in un esame visivo e tattile. Oltre ad esaminare lo smalto e le superfici radicolari dei denti, il medico deve ispezionare i margini dei restauri e dei sigillanti e intorno agli attacchi e ad altri dispositivi applicati sui denti che ostacolano la rimozione della placca e rendono più probabile lo sviluppo della carie.

Generalmente un esame clinico prevede:

- Esame dei tessuti molli del cavo orale, per intercettare eventuali patologie del rivestimento mucoso della bocca: palato, guance, pavimento orale e lingua;
- Valutazione del livello di igiene orale;
- Indice di placca per valutare la quantità e la localizzazione di placca e tartaro. Vengono analizzate 4 superfici: vestibolare, linguale/palatale, mesiale e distale;
- Indice di sanguinamento (FMBS)
- Sondaggio parodontale con identificazione di eventuali tasche e recessioni
- PSR: lo stato di salute parodontale è stato rilevato tramite l'esecuzione del PSR (*Periodontal Screening and Recording*). L'esame viene effettuato a sestanti e a ognuno viene assegnato un codice da 0 a 4 [59]. Il codice 0 indica salute gengivale, il codice 1 la presenza di gengivite, il codice 2 la presenza di fattori ritentivi per la placca batterica, i codici 3 e 4 rispettivamente la presenza di tasche poco profonde (3,5-5,5 mm) e profonde (6 mm o più) [60].
- Calcolo dell'indice DMFT (*decayed, missing and filled teeth*) (**Tabella 1**)

L'indice DMFT misura la situazione passata e presente di esperienza di carie, sommando i denti cariati, mancati per problemi di carie ed otturati, sia in dentatura decidua (dmft) che in dentatura permanente [61]. È l'indice epidemiologico più usato

per determinare la presenza di carie sia passata che presente. Il massimo del valore del DMFT che comprende anche i denti del giudizio è 32, mentre è 28 se sono esclusi dalla conta. Gli strumenti che vengono utilizzati sono la sonda, lo specchietto e la siringa aria-acqua. Per i denti anteriori si calcolano le 4 superfici: vestibolare, mesiale, distale, linguale/palatale. Per i denti posteriori si calcolano invece 5 superfici: vestibolare, mesiale, distale, linguale/palatale e oclusale [62].

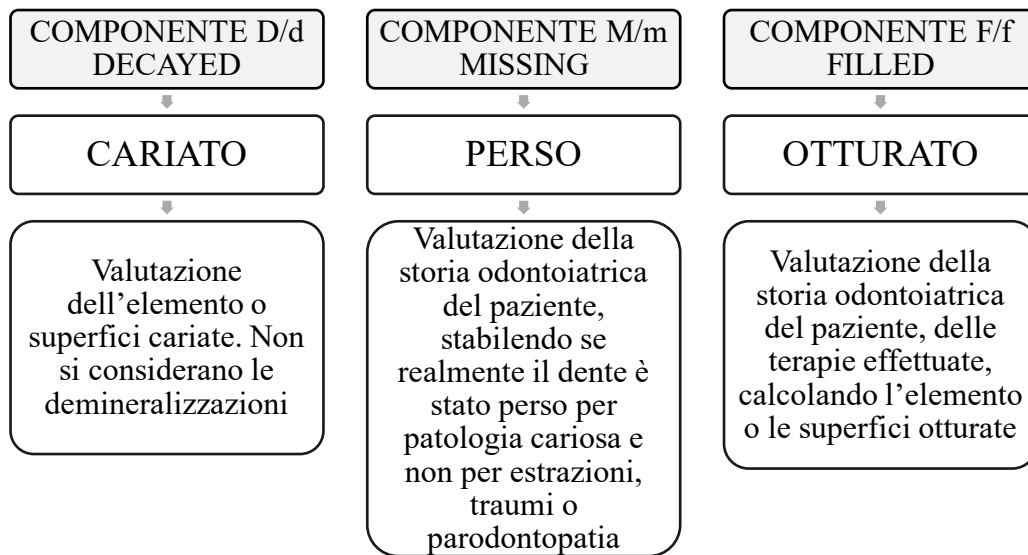


Tabella 1 Componenti da valutare per il calcolo dell'indice DMFT

2.4.2 Esame radiografico

L'esame radiografico viene generalmente eseguito dopo l'esame clinico. Infatti, la componente clinica della diagnosi serve ad identificare la sede specifica in cui eseguire l'esame radiografico [63]. Esistono varie tipologie di radiografie:

- Radiografia endorale periapicale (**Figura 8**): interessa solo alcuni elementi dentari e ci permette di vedere i denti in maniera completa e quindi la loro corona, radice completa e tessuti circostanti. Con questo tipo di radiografia possiamo individuare ascessi, cisti, carie, malattie parodontali e denti inclusi [64].



Figura 8 Esempio di radiografia endorale periapicale

- Ortopantomografia: radiografia extraorale nella quale è possibile osservare in un'unica pellicola sia i denti superiori che inferiori, parte della mandibola e del mascellare superiore, e altre strutture ossee circostanti (**Figura 9**).



Figura 9 Esempio di ortopantomografia

- Radiografia *bitewing*: l'esame *bitewing*, se correttamente eseguito, rappresenta per semplicità e fedeltà d'immagine, l'esame radiografico preferenziale per compiere diagnosi di carie nei settori latero-posteriori e in particolare a livello interdentale. L'obiettivo è quello di poter visualizzare tutte le superfici interprossimali senza

sovrapposizioni [65]. Il ricorso a centratori dedicati, accompagnato dal loro corretto posizionamento intra-orale, faciliterà l'ottenimento di radiogrammi *bitewing* privi di sovrapposizioni (**Figura 10**).



Figura 10 Radiografia Bitewing con centratore

Le dosi di radiazioni che si ricevono durante una radiografia dentale sono normalmente molto basse, tali da non rappresentare un danno per il paziente [66]. Oggi esistono tecnologie come la radiografia digitale che assicurano elevati standard qualitativi dell'immagine con una minore dose di radiazioni rispetto agli esami tradizionali: con la radiografia digitale il paziente assorbe fino all'85% in meno di radiazioni [67]. I vantaggi di questo tipo di esame diagnostico sono essenzialmente:

- Ridotta quantità di emissione di raggi x.
- Elevata qualità delle immagini.
- Visualizzazione immediata dei risultati e di conseguenza la possibilità di ripetere eventualmente un esame eseguito in maniera non corretta.
- Archiviazione computerizzata e disponibilità nel tempo della radiografia.

2.4.3 Transilluminazione

La transilluminazione è una tecnica che prevede il passaggio della luce attraverso i tessuti dell'organismo ed attraverso la sua variazione di rifrazione nelle zone affette da carie, permettendone una precoce individuazione. Questa metodica richiede una luce ad alta intensità emessa da un puntale con un piccolo diametro [12]. Alla transilluminazione, le aree interessate dal processo carioso appaiono più scure, mentre i tessuti dentali sani vengono perfettamente attraversati dalla luce apparendo chiari. Se posizionando una fonte di luce palatale la macchia tende a illuminarsi in modo deciso, è molto probabile che si trovi nel primo spessore dello smalto, mentre una scarsa illuminazione generalmente indica una maggiore profondità [68].

2.4.3.1 Transilluminazione digitale: DIAGNOcam

Utilizza la tecnologia DIFOTI (transilluminazione con fibra ottica digitale). La tecnologia DIFOTI si basa sul principio che il tessuto dentale cariato assorbe più luce rispetto al tessuto sano circostante e appare come un'area più scura [69] (**Figura 11**). Consente di effettuare indagini diagnostiche senza emissione di radiazioni. L'interno del dente viene illuminato da due fasci di luce laser ad una lunghezza d'onda di 780nm. La videocamera digitale cattura l'immagine generata e la rende visibile sullo schermo di un computer. La sostanza dentale sana si limita ad illuminarsi. Al contrario, le aree che non trasmettono luce come le carie, risultano ben visibili sotto forma di macchie scure [70].



Figura 11 Transilluminazione digitale con DIAGNOcam

2.4.3.2 Fluorescenza laser: *DIAGNOdent*

Dipende dal principio che quando il laser a diodi con lunghezza d'onda di 655 nm viene irradiato sulla superficie dentale, viene assorbito dai metaboliti dei batteri intra-oral e questi metaboliti emettono una fluorescenza rossa [71]. Questa fluorescenza riflessa dalla superficie dentale viene visualizzata come un numero tra 0 e 99 sullo schermo del dispositivo (**Figura 12**). Un numero maggiore è segno di un'area di decadimento maggiore.



Figura 12 Fluorescenza laser con *DIAGNOdent*

Nelle lesioni con macchie bianche, i prodotti batterici come le porfirine rimangono intrappolati in aree di porosità sulla superficie. Quando tutto il biofilm della placca dentale sovrastante viene rimosso mediante pulizia professionale, i prodotti batterici trattenuti possono ancora essere rilevati [72]. Quando le letture di *DIAGNOdent* tendono al rialzo nel tempo, ciò è strettamente associato alle WSLs che alla fine si scompongono per formare una cavità. Al contrario, punteggi *DIAGNOdent* stabili per periodi di tempo prolungati sono associati alla stabilità e sono una caratteristica delle WSLs arrestate [73].

A differenza dell'esame radiografico, l'esame in fluorescenza non è pericoloso e può essere ripetuto tutte le volte che è necessario.

2.5 Prevenzione

La fluoroprofilassi rappresenta un mezzo fondamentale nella prevenzione della carie. Il fluoro può essere somministrato per via topica o sistemica (mediante l'assunzione costante e regolare per bocca) [74]. Mentre la fluorizzazione sistemica è ottenuta attraverso l'assunzione di acqua, latte, integratori, e risulta essere utile durante l'odontogenesi, i mezzi di fluoroprofilassi maggiormente utilizzati sono quelli per via topica (dentifrici, colluttori o gel); questa via di somministrazione, inoltre, è in grado di fornire concentrazioni molto più elevate di fluoro rispetto a quelle contenute, ad esempio, nell'acqua potabile [75]. Il dentifricio fluorato, quindi, rappresenta un mezzo di somministrazione di primaria importanza nella prevenzione della carie [76]. Le linee guida dell'OMS prevedono un programma di fluoroprofilassi dettagliato, descritto nelle **Tabella 2** e **Tabella 3** [77].

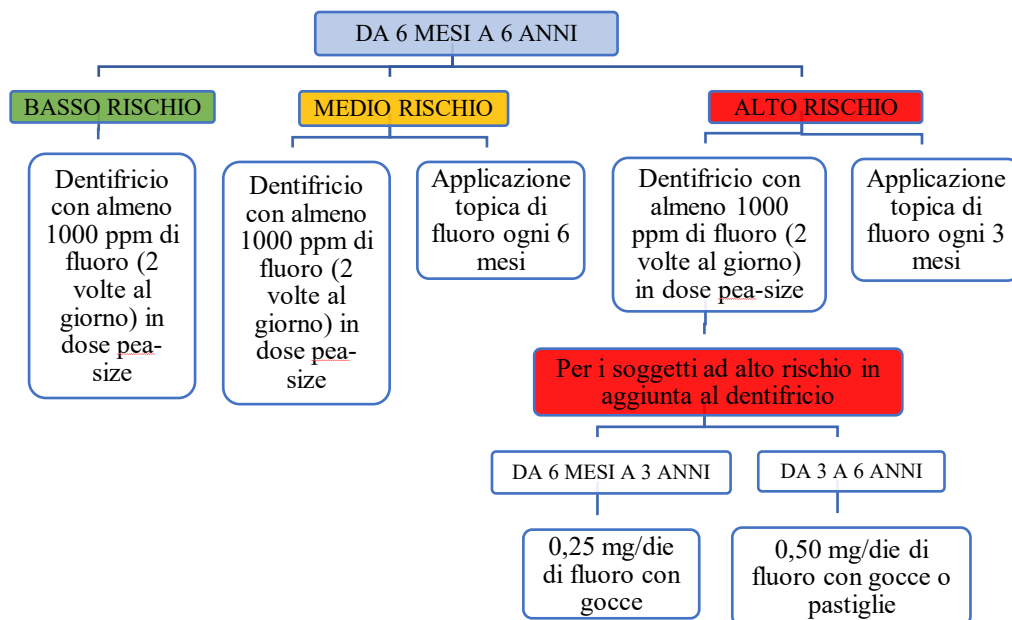


Tabella 2 Programma di fluoroprofilassi dai 6 mesi ai 6 anni

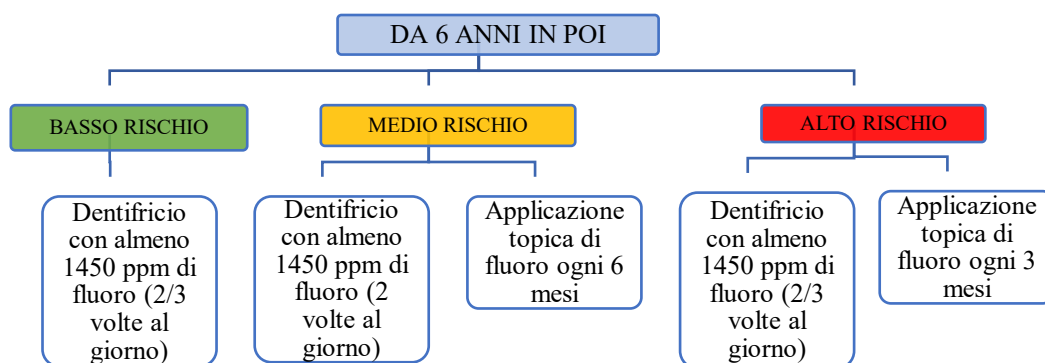


Tabella 3 Programma di fluoroprofilassi dai 6 anni in poi

Per tutti i soggetti per cui sia stato accertato un rischio di carie, da medio ad alto, sono necessarie misure preventive aggiuntive. È consigliabile, valutando l'età del soggetto e i possibili effetti indesiderati, prescrivere prodotti a base di fluoro per uso domiciliare, come integratori, gel e collutori; inoltre, può essere indicata l'applicazione professionale di vernici al fluoro [78]. I mezzi di fluoroprofilassi topica maggiormente utilizzati sono:

- **Collutorio al fluoro:** Molti ortodontisti raccomandano l'uso quotidiano di un collutorio al fluoro durante il trattamento ortodontico per prevenire le WSLs. Il fluoro presente nella bocca riduce lo sviluppo della carie attraverso tre meccanismi: inibizione della demineralizzazione dello smalto dentale, miglioramento della remineralizzazione dello smalto dentale producendo uno strato remineralizzato resistente all'attacco acido e inibizione degli enzimi batterici che producono l'acido [79].
- **Dentifrici al fluoro.** I dentifrici con concentrazioni di fluoro più elevate hanno dimostrato di avere una maggiore capacità di inibire la demineralizzazione e promuovere la remineralizzazione.
- **Vernice al fluoro.** È stato dimostrato che la vernice al fluoro posizionata attorno agli attacchi ortodontici durante il trattamento riduce l'incidenza e la prevalenza delle WSLs. Si raccomanda che i pazienti ad alto rischio abbiano l'applicazione topica di vernice al fluoro almeno intorno ai denti anteriori ad ogni appuntamento di aggiustamento ortodontico. Uno dei vantaggi della vernice al fluoro è che funziona in presenza di placca [80]. Le vernici al fluoro sono state sviluppate per

prolungare il tempo di contatto tra fluoro e smalto dentale. La componente resinosa della vernice previene la perdita immediata di fluoro dopo l'applicazione, fungendo così da serbatoio per un lento rilascio di fluoro che dura almeno per 12 ore. Nonostante l'elevata concentrazione di fluoro (da circa 7.000 ppm a circa 22.500 ppm), le vernici sono considerate sicure, in quanto la quantità di prodotto utilizzato per ogni applicazione è minima [81].

- **Chewing-gum.** Il chewing-gum non è un sistema di fluoroprofilassi, ma può in qualche modo promuovere la remineralizzazione. Infatti, gli effetti benefici sulla salute orale della masticazione di chewing-gum includono la rimozione dei residui di cibo e della placca dalle superfici dentali, la stimolazione del flusso salivare e l'incremento del pH della saliva e della placca [82]. La stimolazione salivare ottenuta utilizzando un chewing-gum dopo un pasto aumenta, inoltre, la concentrazione di ioni bicarbonato, causando un aumento del pH della placca batterica e migliorando la capacità tampone complessiva. La saliva stimolata, in più, si presenta in uno stato di sovra-saturazione minerale, promuovendo, quindi, il processo di remineralizzazione. Lo xilitolo, in particolare, presenta un'importante attività cario-preventiva, anche a lungo termine, che viene esplicata attraverso la riduzione della concentrazione degli Streptococchi del gruppo *Mutans* e una conseguente riduzione dei livelli di acido lattico prodotti [83]. Nonostante questo, i chewing-gum non devono essere intesi come sostituenti dello spazzolino.

Anche una valutazione nutrizionale può giocare un ruolo nell'identificazione di pazienti ad alto rischio di sviluppare WSLs. La dieta ha forti ripercussioni sulla salute orale e in particolare dentale, perché concorre alla patogenesi di varie forme morbose quali displasie, carie ed erosioni da acidi [84]. L'assunzione di zuccheri semplici (mono- e disaccaridi) rappresenta un fattore critico nello sviluppo di carie. Il rischio è maggiore se tali zuccheri sono consumati con alta frequenza e in una forma facilmente distribuita a tutto il cavo orale, come i liquidi, o che rimane in bocca per tempi prolungati, come i cibi molli e appiccicosi (ad es., le merendine preconfezionate) [85]. Se un cibo o una bevanda viene sgranocchiato o sorseggiato ripetutamente durante l'arco della giornata, i sistemi di difesa umani, primo fra tutti la saliva con i sistemi tampone, non hanno la possibilità di controllare l'omeostasi del sistema

(demineralizzazione e remineralizzazione), portando al disequilibrio che darà l'avvio al processo carioso [86].

È stato dimostrato che la demineralizzazione dello smalto inizia a verificarsi quando il pH scende al di sotto di 5.5, e il pH di alcune bevande analcoliche e sportive è compreso tra 2 e 3. La combinazione di alto contenuto di zucchero e basso pH è estremamente sfavorevole per l'ambiente orale per quanto riguarda il potenziale di sviluppo delle WSLs [45]. Tra i carboidrati fermentabili, sembra che il saccarosio sia il più problematico per quanto riguarda la sua capacità di influire negativamente sul biofilm dentale. È stato dimostrato che i biofilm formati in presenza di saccarosio hanno concentrazioni inferiori di calcio, fosforo e fluoro, tutti ioni importanti per la remineralizzazione dello smalto [87].

Si può quindi consigliare al paziente di ridurre il consumo di zucchero, evitare cibi dolci fra i pasti o prima di andare a letto, preferire cibi che necessitino una più lunga masticazione, cibi ricchi di fibre e poco elaborati e lavare, se possibile, i denti dopo la loro assunzione.

La prevenzione della carie non si basa esclusivamente sull'igiene orale, ma è un insieme complesso tra stili di vita e interventi preventivi mirati [85]. L'igienista dentale svolge un ruolo fondamentale in ambito preventivo, non soltanto motivando il paziente a un'igiene orale corretta, ma anche promuovendo stili di vita e metodiche di prevenzione efficaci.

2.6 Trattamento

La progressione delle WSLs può essere limitata o meglio arrestata mediante misure preventive come l'educazione all'igiene orale, il controllo dietetico e tecniche di remineralizzazione [88]. Queste ultime sono efficaci ma l'effetto estetico può essere inferiore perché la remineralizzazione è spesso limitata alla superficie della lesione. Inoltre, richiede tempo e deve essere implementato nelle primissime fasi dello sviluppo della lesione. La remineralizzazione è un processo costruttivo, non c'è invasività. La remineralizzazione è un processo che avviene naturalmente [89]. Noi possiamo solo creare i presupposti affinché ciò avvenga somministrando dentifricio o calcio fosfato per far sì che si acceleri questo fenomeno. Ci sono poi altre tecniche come la microabrasione e le faccette in composito o porcellana, che però richiedono una riduzione, anche se minima, dello strato superficiale dello smalto.

In seguito al trattamento ortodontico i pazienti presentano valori ICDAS di 0,1,2,3. Per lesioni con valori ICDAS di 0 e 1, lo smalto può tornare ad avere un aspetto "normale" con trattamenti a base di fluoro o CPP-ACP [90]. Per punteggi ICDAS di 2 e 3, i trattamenti di remineralizzazione non possono garantire la scomparsa di questi difetti nello smalto. Oggi l'unico trattamento minimamente invasivo per lesioni con punteggio di 2 è l'infiltrazione di resina.

3 RESINE INFILTRANTI

Nel 2009 è stata introdotta la tecnica di infiltrazione di resina a bassa viscosità, che mira a riempire le microporosità nel corpo della lesione iniziale dello smalto, con un approccio minimamente invasivo. Inoltre, l'indice di rifrazione dell'infiltrante è definito simile allo smalto sano, e questo fornisce anche il mascheramento visivo della lesione [91]. Le resine infiltranti sono materiali che permettono di infiltrare per capillarità lo smalto, reso poroso da una sovrarmordenzatura, col fine di rallentare o arrestare la progressione delle lesioni interprossimali non cavitate e di mascherare, a scopo estetico, le WSLs [92]. Tali resine, grazie alle caratteristiche ottiche di rifrazione simili a quelle dello smalto, possono favorire il trattamento estetico minimamente invasivo delle discromie bianche. Infatti, lo smalto sano ha un indice di rifrazione pari a 1.62, quello dello smalto demineralizzato è compreso tra 1.00 e 1.33, mentre lo stesso difetto trattato mediante infiltrazione resinosa acquisisce un indice di rifrazione pari a 1.52 e quindi molto vicino a quello dello smalto sano [93].

3.1 Icon

Icon è un innovativo sistema di infiltrazione della carie, che rende la lesione cariosa invisibile, allineandola otticamente al resto della superficie sana dello smalto. È composto principalmente da trietilenglicole dimetacrilato fotopolimerizzabile (TEGDMA), che filtra per capillarità all'interno delle WSLs a causa della sua bagnabilità e viscosità [94]. È una tecnologia microinvasiva che riempie, rinforza e stabilizza lo smalto demineralizzato, senza perforare o sacrificare la struttura sana del dente (**Figura 13**) [95].

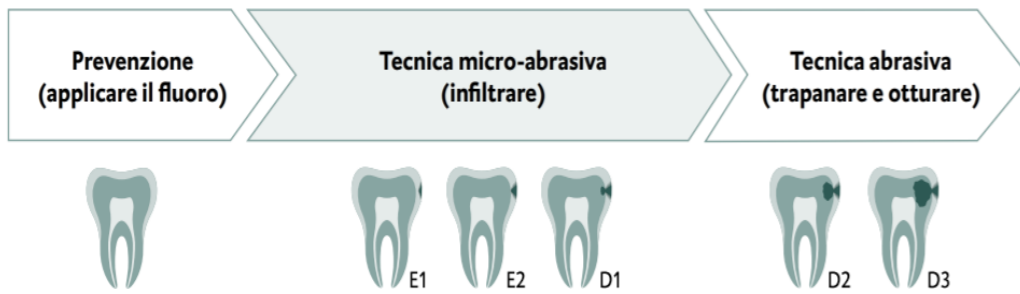


Figura 13 Icon può colmare il divario tra prevenzione e otturazione

Il trattamento di infiltrazione della carie è costituito da tre passaggi: mordenzatura, asciugatura, infiltrazione. Prima del trattamento i denti devono essere puliti e deve essere applicata una diga liquida o di gomma per proteggere le gengive.

1. *Icon-Etch* mordenzante prepara il dente per essere infiltrato. Il gel di acido cloridrico viene applicato sulla zona da trattare per 2 minuti. Solo dopo la sua rimozione l'infiltrante può penetrare nel sistema poroso del dente. Dopo l'applicazione di *Icon Etch* il dente viene risciacquato con acqua per 30 secondi e asciugato all'aria.
2. *Icon-Dry* è una soluzione a base di etanolo 99% che viene applicata per 30 secondi e permette di asciugare la lesione. Se la decolorazione bianca scompare nel giro di qualche secondo dopo l'applicazione dell'etanolo, allora la mordenzatura è stata sufficiente. Se la decolorazione opaca persiste, il processo di mordenzatura deve essere ripetuto. Per trattare una lesione sono possibili fino a tre applicazioni di acido da due minuti di durata ciascuno.
3. *Icon-Infiltrante* è la resina estremamente fluida che viene applicata per 3 minuti e penetra in profondità nello smalto per azione capillare, riempiendo la lesione. Infine, viene fotopolimerizzata per 40 secondi.

I vantaggi della procedura sopradescritta sono i seguenti:

- Risultati estetici soddisfacenti.
- Arresto dell'evoluzione della carie in stadio iniziale.
- Preservazione della sostanza sana del dente.

è indolore e si effettua senza anestesia e senza utilizzo di manipoli, migliorando così l'accettazione da parte del paziente [94].

Anche difetti dello smalto causati da un trauma possono essere migliorati esteticamente dall'Icon. Il successo del trattamento dipende in questo caso da quanto profonda sia l'alterazione della sostanza dentale. Tanto più l'alterazione è prossima alla superficie del dente quanto più visibile sarà il miglioramento estetico.

4 PARTE SPERIMENTALE

4.1 Obiettivo

Lo studio sperimentale condotto per questa tesi si pone i seguenti obiettivi: (1) caratterizzare dal punto di vista chimico, attraverso l'analisi spettroscopica Raman, lo smalto dentale a livello delle WSLs, confrontandolo con lo smalto sano; (2) proporre un progetto di ricerca per valutare e confrontare, attraverso un approccio multidisciplinare, gli effetti di vari agenti terapeutici sulle WSLs.

4.2 Materiali e metodi

Le analisi sono state eseguite su tre molari estratti permanenti e intatti con WSLs a livello prossimale o vestibolare, raccolti presso la Sezione di Odontostomatologia dell'Università Politecnica delle Marche. Secondo le linee guida del Comitato Etico Locale e la Dichiarazione di Helsinki del 2018 [96], da ogni partecipante è stato ottenuto il consenso informato.

Dopo l'estrazione chirurgica, i denti sono stati lavati in una vasca ad ultrasuoni con acqua distillata per 2 minuti, al fine di rimuovere sangue e residui biologici, e, quindi, esaminati attentamente per escludere la presenza di lesioni cariose non incipienti e crepe: i denti che hanno presentato una di queste caratteristiche sono stati esclusi. I campioni sono stati conservati in saliva artificiale (Biotène Oral Balance, Biopharm Sas, Peschiera Borromeo, Italia), cambiata giornalmente.

Per ciascun campione sono state selezionate due aree, comprendenti una porzione di smalto sano e una porzione di WSL (**Figura 14**). L'area è stata analizzata attraverso la micro-spettroscopia Raman (RMS) per la caratterizzazione chimica. Le analisi sono state condotte in collaborazione con il Dipartimento DISVA dell'Università Politecnica delle Marche.

È stato utilizzato il micro-spettrometro Horiba Jobin-Yvon XploRA Nano Raman, dotato di un laser a diodo da 785 nm. Tutte le misurazioni sono state acquisite utilizzando un obiettivo 5x (Olympus, Tokyo, Giappone). Lo spettrometro è stato calibrato sulla linea di silicio da 520.7 cm^{-1} prima dell'acquisizione spettrale. È stato scelto l'intervallo spettrale da 650 a 1800 cm^{-1} e gli spettri sono stati acquisiti tramite la somma di 3 accumulazioni di 10 secondi su ciascun punto. Su ogni mappa Raman sono stati calcolati i seguenti valori:

- l'area della banda centrata a 1660 cm^{-1} , chiamata Ammide I (A1660), che rappresenta le proteine del campione;
- l'area della banda centrata a 960 cm^{-1} assegnata al gruppo PO_4^{3-} dell'idrossiapatite;
- l'ampiezza di metà banda con centro a 960 cm^{-1} (FWHM960);
- l'intensità della banda centrata a 1070 cm^{-1} , assegnata al gruppo CO_3^{2-} .

Questi valori sono stati utilizzati per creare immagini a falsi colori che mostrano la distribuzione spaziale delle seguenti caratteristiche spettrali: ratio *Mineral/Matrix* (A960/A1660), Cristallinità (inversamente proporzionale a FWHM960) e rapporto Carbonati/Fosfati (C/P, I1070/I960).

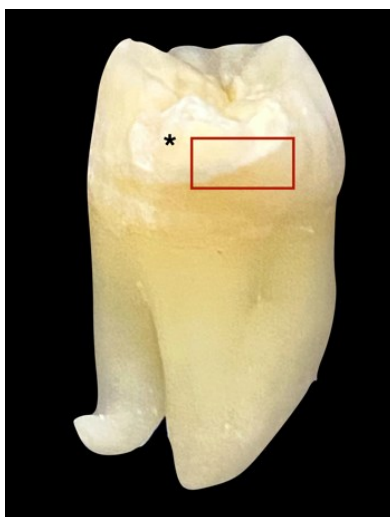


Figura 14 Dente analizzato con WSL (*). Il rettangolo rosso indica l'area analizzata, comprendente una porzione di WSL e una porzione di smalto sano

Da ogni area della mappa Raman, sono stati infine estratti gli spettri, che sono successivamente stati elaborati.

4.3 Risultati

Dall'analisi degli spettri Raman sono stati evidenziati i seguenti picchi principali:

- 1660 cm^{-1} (picco ammidi I delle proteine);
- 1070 cm^{-1} (gruppi CO_3^{2-});
- 960 cm^{-1} (PO_4^{3-} gruppi di HA).

Analizzando il singolo spettro (**Figura 15B**), per quanto riguarda il gruppo fosfato dell'idrossiapatite, sono stati riscontrati valori più alti nello smalto sano rispetto allo smalto con WSL. Inoltre, l'intensità della banda relativa all'ammide I risulta essere maggiore nella WSL, mentre l'intensità della banda relativa al carbonato appare leggermente minore, rispetto allo smalto sano.

Nella Figura 15A sono riportate le mappe Raman, relative all'area selezionata, riguardanti l'intensità della banda centrata a 960 cm^{-1} , *Mineral/Matrix* (A_{960} / A_{1660}), Cristallinità (inversamente proporzionale a FWHM_{960}) e C/P (carbonati/fosfati, I_{1070} / I_{960}). Come si può notare, vi è una evidente differenza tra la composizione chimica dello smalto sano e quello della WSL. Infatti, per quanto riguarda i rapporti di banda, la *Mineral/Matrix* indica la frazione volumetrica minerale rispetto alla quantità di collagene; la Cristallinità indica il grado di ordine dei cristalli dell'idrossiapatite all'interno della componente minerale ed è direttamente proporzionale all'inverso di FWHM ; C/P indica la quantità di carbonato incorporato nell'idrossiapatite. Come visibile in **Figura 15C**, lo smalto sano mostra valori più alti di *Mineral/Matrix* rispetto a quello della WSL; dall'altra parte, C/P risulta maggiore nella WSL rispetto allo smalto sano. Per quanto riguarda la Cristallinità, sono stati evidenziati valori leggermente inferiori nella WSL rispetto allo smalto sano.

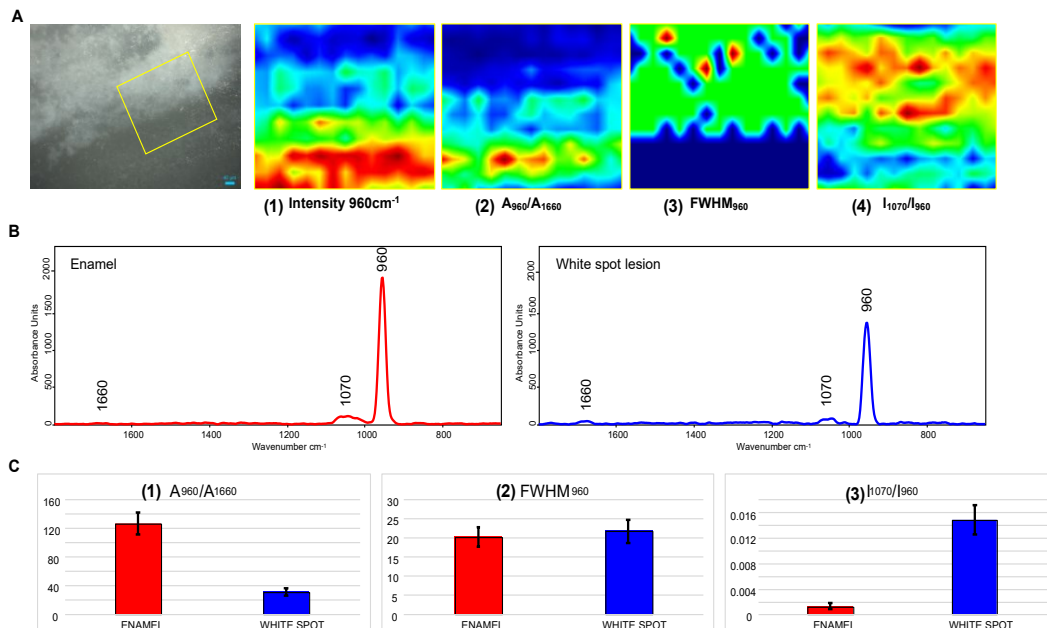


Figura 15. Analisi della mappatura Raman di un'area rappresentativa all'interfaccia smalto sano/ WSL. (A) Microfotografia che riporta l'area selezionata (rettangolo giallo, 241,5 mm 167 mm) e le corrispondenti immagini in falsi colori (241,5 mm 167 mm) che mostrano la distribuzione topografica delle caratteristiche spettrali di (1) intensità del gruppo fosfato (960 cm⁻¹), (2) Mineral/Matrix (A_{960}/A_{1660}); (3) FWHM₉₆₀; (4) C/P (carbonati/fosfati, I_{1070}/I_{960}). Diverse scale di colore sono state utilizzate per una migliore interpretazione dei dati: il colore nero/blu corrisponde ai valori più bassi, verde intermedio e rosso/rosso scuro a quelli più alti. (B) Spettri Raman dello smalto sano (sinistra) e della WSL (destra). (C) Analisi statistica della variazione numerica dei valori calcolati di (a) Mineral/Matrix, (b) Cristallinità e (c) C/P. I dati sono presentati come media ± DS.

Sulla base dei risultati ottenuti, sarà proposto un protocollo di ricerca per la valutazione di diversi trattamenti clinici utilizzati nelle WSLs. Tale studio permetterà di valutare l'efficacia dei trattamenti sia da un punto di vista microscopico e chimico che da un punto di vista estetico.

Le lesioni, infatti, verranno successivamente trattate con:

- Resina infiltrante Icon, seguendo le linee guida della casa produttrice;
- Agente remineralizzante (contenente fluoruro di sodio), seguendo le linee guida della casa produttrice;
- Agente remineralizzante e successivamente con resina infiltrante, seguendo le linee guida delle case produttrici.

4.4 Discussione

Il primo stadio clinicamente visibile della malattia cariosa è caratterizzato dalla demineralizzazione dello smalto senza cavitazione ed è noto come lesione a macchie bianche (WSL).

Nel presente studio è stata valutata la composizione chimica dello smalto a livello delle WSLs, confrontandola con quella dello smalto sano.

Dai risultati ottenuti, si può dedurre che nello smalto sano il gruppo fosfato dell'idrossiapatite è maggiore rispetto a quello della WSL. Ciò deriva dal fatto che lo smalto a livello della WSL presenta zone di demineralizzazione. Per quanto riguarda il carbonato, anche questo risulta più basso nello smalto con WSL rispetto allo smalto sano. Quindi nella WSL si riducono sia il gruppo fosfato sia il gruppo carbonato, mentre il picco 1660 dell'ammide I del collagene è più alto nella WSL.

Per quanto riguarda i rapporti di banda, nel rapporto *Mineral/Matrix* sono stati evidenziati valori maggiori nello smalto sano rispetto alla WSL. Questo è dovuto al fatto che nello smalto è presente un valore maggiore del gruppo fosfato, mentre, nella WSL, si ha una riduzione del gruppo fosfato e un aumento dell'ammide I. Quindi, nella WSL lo smalto diventa meno compatto a causa dell'aumento dei vuoti interprismatici e meno mineralizzato a causa della diminuzione della densità minerale e dell'aumento del contenuto di matrice organica [24].

Per quanto riguarda la Cristallinità, la FWHM è più alta nello smalto con WSL rispetto allo smalto sano. Perciò, la cristallinità essendo l'inverso sarà maggiore nello smalto sano rispetto allo smalto con WSL. I cristalli nello smalto sano, quindi, risultano più ordinati rispetto allo smalto con WSL. La cristallinità è correlata al grado di ordine all'interno dei cristalli e rappresenta una componente critica dell'idrossiapatite (HA), poiché la sostituzione degli ioni può introdurre distorsioni strutturali. Il carbonato è un sostituito significativo nella struttura cristallina dell'HA biologico, occupando la posizione o dei gruppi ossidrilici (OH⁻) (tipo A carbonato HA) o dei gruppi fosfato (PO₄³⁻) (tipo B carbonato HA). Uno studio precedente ha riportato che, sebbene gli ioni carbonato possano causare una distorsione del reticolo cristallino dell'apatite in entrambe le posizioni, è meno strettamente legato nel tipo A, contribuendo a una maggiore solubilità dello smalto [97].

Per quanto riguarda il rapporto C/P, sono stati riscontrati valori inferiori nello smalto sano dovuti ad un alto quantitativo del gruppo fosfato e ad una bassa presenza del gruppo carbonato. Al contrario, nello smalto con WSL, il carbonato è maggiore e il fosfato è minore e quindi il valore C/P risulta maggiore.

Durante la demineralizzazione è stata riscontrata una correlazione non lineare tra il rapporto di banda *Mineral/Matrix* e la Cristallinità: *Mineral/Matrix* diminuisce con la potenza quadrata di FWHM [98].

I risultati ottenuti in questo studio sono in linea con quelli riportati in un recente studio, in cui la mappatura chimica dello smalto dentale è stata effettuata su sezioni trasversali di campioni con WSL sviluppati naturalmente e artificialmente [24]. Gli autori hanno riportato una grave deplezione del picco (PO_4^{3-}) nell'area corrispondente al corpo della lesione, mentre a distanze maggiori nello smalto, l'intensità del picco di fosfato converge a quella dello smalto sano, segnalando la fine della WSL. La cristallinità diminuisce bruscamente nella zona della lesione, mentre inizia ad aumentare gradualmente nella zona intermedia prima di raggiungere il suo valore massimo nello smalto sano. Questo fatto è legato all'alterazione delle dimensioni e della forma dei cristalli dell'idrossiapatite e di conseguenza alla ridotta perfezione dell'apatite del prisma dello smalto.

Anche studi precedenti hanno portato agli stessi risultati. Lo studio di Fraser et al. ha dimostrato che lo smalto sano presenta la banda dei fosfati più intensa rispetto a quella riportata dalla WSL [99]. Le WSLs tendono ad avere un rapporto ammidio I/fosfato leggermente più alto rispetto allo smalto sano, indicando livelli ridotti di fosfato o livelli elevati di proteine. Lo studio di Natarajan et al. ha dimostrato che la banda dei fosfati era più bassa nello smalto con WSL rispetto allo smalto sano [100]. Zavala-Alonso et al. hanno studiato la struttura molecolare dello smalto umano affetto da fluorosi [101]. Hanno studiato casi lievi, moderati e gravi di fluorosi utilizzando l'RMS e confrontato la differenza strutturale nei picchi di fosfato (960 cm^{-1}) e carbonato di tipo B (1070 cm^{-1}) con smalto sano. Sebbene il loro studio non abbia trovato una differenza significativa nei picchi degli ioni fosfato, c'era una differenza significativa nei picchi del carbonato di tipo B del gruppo fluorosi rispetto allo smalto sano, suggerendo che gli ioni carbonato si dissolvono facilmente in presenza di fluoruro.

Il riconoscimento precoce del processo carioso è molto importante dal punto di vista dell'intervento medico [102]. La spettroscopia Raman è una tecnica proposta per il rilevamento della carie, di difetti dello smalto, e offre la possibilità di ottenere informazioni sull'organizzazione strutturale dello smalto. L'RMS rappresenta una procedura non distruttiva che consente di raccogliere sullo stesso campione informazioni chimiche e strutturali affidabili e oggettive, semplificando l'acquisizione dei dati e riducendo i tempi di analisi [103]. L'RMS potrebbe essere proposto come metodo innovativo per diagnosticare la carie dentale precoce e altri difetti di sviluppo che interessano smalto e dentina e per identificare il grado di mineralizzazione dei denti al fine di scegliere il miglior trattamento [104]. Una conoscenza più approfondita della composizione chimica dentale è necessaria per sviluppare nuove strategie terapeutiche. Dallo studio di Natarajan et al. emerge il potenziale della spettroscopia Raman per monitorare i trattamenti dentali e i loro effetti sulla struttura del dente [100]. La spettroscopia Raman è stata utilizzata per rilevare la profondità di infiltrazione della resina nelle lesioni ipomineralizzate, per monitorare come i vari pre-trattamenti diversi influenzino questa profondità di infiltrazione.

Conoscere l'estensione e la gravità delle lesioni fornisce preziose informazioni per le procedure di trattamento. Recentemente, sono state introdotte strategie innovative minimamente invasive, che includono l'utilizzo di resine a bassa viscosità in grado di infiltrare la WSL, bloccando la demineralizzazione dello smalto e correggendo l'inestetismo. Purtroppo, a causa delle caratteristiche intrinseche di questa resina, non avviene la remineralizzazione a livello della lesione e, quindi, sarebbe auspicabile che ad essa si associasse un agente remineralizzante. A questo proposito, i risultati ottenuti rappresentano il punto di partenza per un protocollo di ricerca che verrà proposto al fine di valutare e confrontare, attraverso un approccio multidisciplinare, gli effetti di vari agenti terapeutici sulle WSLs. Questo progetto di ricerca permetterà di approfondire le conoscenze sulla cura di tali lesioni, attraverso specifiche ricerche basate sull'analisi dettagliata degli effetti che i trattamenti proposti possano avere sulla struttura dei tessuti duri dentali.

4.5 Conclusioni

Questo studio ha permesso di valutare le differenze a livello della caratterizzazione chimica tra smalto con WSL e smalto sano. È stato dimostrato che nello smalto a livello della WSL si ha una riduzione del gruppo fosfato e carbonato, mentre il picco 1660 dell'ammide I del collagene aumenta. Quindi si può concludere che lo smalto con WSL è meno compatto, con i cristalli disposti in maniera più disordinata ed è meno mineralizzato. L'unione e la correlazione dei risultati ottenuti amplieranno le conoscenze riguardo i trattamenti delle WSLs, offrendo l'opportunità di trasferire la ricerca di base in ambito clinico. La realizzazione di questa ricerca aprirà la strada allo sviluppo di trattamenti innovativi e altamente conservativi, che porteranno a prevenire, ad arrestare ed a rendere estetiche le lesioni cariose incipienti.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Aykut-Yetkiner A, Kara N, Ateş M, Ersin N, Ertuğrul F. Does casein phosphopeptid amorphous calcium phosphate provide remineralization on white spot lesions and inhibition of *Streptococcus mutans*? *J Clin Pediatr Dent* 2014; 38:302–6. <https://doi.org/10.17796/jcpd.38.4.b4q401v6m4818215>.
- [2] Yuan H, Li J, Chen L, Cheng L, Cannon RD, Mei L. Esthetic comparison of white-spot lesion treatment modalities using spectrometry and fluorescence. *Angle Orthod* 2014; 84:343–9. <https://doi.org/10.2319/032113-232.1>.
- [3] Hariri I, Sadr A, Nakashima S, Shimada Y, Tagami J, Sumi Y. Estimation of the enamel and dentin mineral content from the refractive index. *Caries Res* 2013; 47:18–26. <https://doi.org/10.1159/000342416>.
- [4] Atlan A, Denis M, Tirlet G, Attal J-P. Orthodontics and enamel spots. Benefits of a minimally invasive approach, guidelines for the orthodontist. *Journal of Dentofacial Anomalies and Orthodontics* 2017; 20:302. <https://doi.org/10.1051/odfen/2018125>.
- [5] Denis M, Atlan A, Vennat E, Tirlet G, Attal J-P. White defects on enamel: diagnosis and anatomopathology: two essential factors for proper treatment (part 1). *Int Orthod* 2013; 11:139–65. <https://doi.org/10.1016/j.ortho.2013.02.014>.
- [6] Young DA, Nový BB, Zeller GG, Hale R, Hart TC, Truelove EL, et al. The American Dental Association Caries Classification System for clinical practice: a report of the American Dental Association Council on Scientific Affairs. *J Am Dent Assoc* 2015; 146:79–86. <https://doi.org/10.1016/j.adaj.2014.11.018>.
- [7] Shivakumar K, Prasad S, Chandu G. International Caries Detection and Assessment System: A new paradigm in detection of dental caries. *J Conserv Dent* 2009; 12:10–6. <https://doi.org/10.4103/0972-0707.53335>.
- [8] Giani S, Piccinelli S, Dalla diagnosi della lesione cariosa al mantenimento dei restauri: piani di trattamento in odontoiatria conservativa e restaurativa, AIC 2018
- [9] Pretty IA. Caries detection and diagnosis: novel technologies. *J Dent* 2006; 34:727–39. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2006.06.001>.

- [10] Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries. *Lancet* 2007; 369:51–9. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)60031-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60031-2).
- [11] Sezici YL, Çınarcık H, Yetkiner E, Attın R. Low-Viscosity Resin Infiltration Efficacy on Postorthodontic White Spot Lesions: A Quantitative Light-Induced Fluorescence Evaluation. *Turk J Orthod* 2020; 33:92–7. <https://doi.org/10.5152/TurkJOrthod.2020.19088>.
- [12] Sammarco G, Libero A, Le nuove tecnologie in odontoiatria, AIC 2017 http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:5fAXm5fBU4J:cicweb.askleprio.it/files/2017/01/Modulo-1_AIC.pdf+&cd=11&hl=it&ct=clnk&gl=it
- [13] Doméjean S, Ducamp R, Léger S, Holmgren C. Resin infiltration of non-cavitated caries lesions: a systematic review. *Med Princ Pract* 2015; 24:216–21. <https://doi.org/10.1159/000371709>.
- [14] Höchli D, Hersberger-Zurfluh M, Papageorgiou SN, Eliades T. Interventions for orthodontically induced white spot lesions: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Orthod* 2017; 39:122–33. <https://doi.org/10.1093/ejo/cjw065>.
- [15] Lacruz RS, Habelitz S, Wright JT, Paine ML. Dental Enamel Formation and Implications for Oral Health and Disease. *Physiol Rev* 2017; 97:939–93. <https://doi.org/10.1152/physrev.00030.2016>.
- [16] Puja A, Calabrese C, Lo smalto e la reazione di acidificazione, *Attualità Odontostomatologiche* 2,17-23 (2008) <https://art.torvergata.it/handle/2108/105953#.YUs70LgzY2w>
- [17] Sarkhouh SM. Investigating the ultrastructure of enamel white spot lesions (WSL) using Optical Coherence Tomography at different length scales. Doctoral. UCL (University College London), 2017.
- [18] He LH, Swain MV. Understanding the mechanical behaviour of human enamel from its structural and compositional characteristics. *J Mech Behav Biomed Mater* 2008;1:18–29. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2007.05.001>.
- [19] Bergstrand F, Twetman S. A review on prevention and treatment of post-orthodontic white spot lesions evidence-based methods and emerging technologies. *Open Dent J* 2011; 5:158–62. <https://doi.org/10.2174/1874210601105010158>

- [20] Sudjalim TR, Woods MG, Manton DJ. Prevention of white spot lesions in orthodontic practice: a contemporary review. *Aust Dent J* 2006;51:284–9; quiz 347. <https://doi.org/10.1111/j.1834-7819.2006.tb00445.x>.
- [21] Tüfekçi E, Pennella DR, Mitchell JC, Best AM, Lindauer SJ. Efficacy of a fluoride-releasing orthodontic primer in reducing demineralization around brackets: an in-vivo study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2014;146:207–14. <https://doi.org/10.1016/j.ajodo.2014.05.016>.
- [22] Deveci C, Çınar Ç, Tiralı RE. Management of White Spot Lesions. In: Akarslan Z, editor. *Dental Caries - Diagnosis, Prevention and Management*, InTech; 2018. <https://doi.org/10.5772/intechopen.75312>.
- [23] Paula ABP, Fernandes AR, Coelho AS, Marto CM, Ferreira MM, Caramelo F, et al. Therapies for White Spot Lesions-A Systematic Review. *J Evid Based Dent Pract* 2017; 17:23–38. <https://doi.org/10.1016/j.jebdp.2016.10.003>.
- [24] Al-Obaidi R, Salehi H, Desoutter A, Bonnet L, Etienne P, Terrer E, et al. Chemical & Nano-mechanical Study of Artificial Human Enamel Subsurface Lesions. *Sci Rep* 2018; 8:4047. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-22459-7>.
- [25] Gorelick L, Geiger AM, Gwinnett AJ. Incidence of white spot formation after bonding and banding. *Am J Orthod* 1982; 81:93–8. [https://doi.org/10.1016/0002-9416\(82\)90032-x](https://doi.org/10.1016/0002-9416(82)90032-x).
- [26] Wang XJ, Milner TE, de Boer JF, Zhang Y, Pashley DH, Nelson JS. Characterization of dentin and enamel by use of optical coherence tomography. *Applied Optics* 1999; 38:2092–6. <https://doi.org/10.1364/ao.38.002092>.
- [27] Caneppele TM, Borges AB, Torres CR. Effects of dental bleaching on the color, translucency and fluorescence properties of enamel and dentin. *Eur J Esthet Dent* 2013; 8:200–12.
- [28] Brodbelt RH, O'Brien WJ, Fan PL, Frazer-Dib JG, Yu R. Translucency of human dental enamel. *J Dent Res* 1981; 60:1749–53. <https://doi.org/10.1177/00220345810600100401>.
- [29] Janković S, Ivanović M, Davidović B, Lecić J. Distribution and characteristics of molar-incisor hypomineralization. *Vojnosanit Pregl* 2014; 71:730–4. <https://doi.org/10.2298/vsp1408730j>.

- [30] Jeremias F, de Souza JF, Silva CM da C, Cordeiro R de CL, Zuanon ACC, Santos-Pinto L. Dental caries experience and Molar-Incisor Hypomineralization. *Acta Odontol Scand* 2013; 71:870–6. <https://doi.org/10.3109/00016357.2012.734412>.
- [31] Bozal CB, Kaplan A, Ortolani A, Cortese SG, Biondi AM. Ultrastructure of the surface of dental enamel with molar incisor hypomineralization (MIH) with and without acid etching. *Acta Odontol Latinoam* 2015; 28:192–8. <https://doi.org/10.1590/S1852-48342015000200016>.
- [32] Jälevik B, Norén JG. Enamel hypomineralization of permanent first molars: a morphological study and survey of possible aetiological factors. *Int J Paediatr Dent* 2000; 10:278–89. <https://doi.org/10.1046/j.1365-263x.2000.00210.x>.
- [33] Cavalheiro J, Bussaneli D, Restrepo M, Fragelli C, Cordeiro R, Rojas A, et al. Clinical aspects of dental fluorosis according to histological features: a Thylstrup Fejerskov Index review. *CES Odontología* 2017; 30:41–50. <https://doi.org/10.21615/cesodon.30.1.4>.
- [34] DenBesten P, Li W. Chronic fluoride toxicity: dental fluorosis. *Monogr Oral Sci* 2011; 22:81–96. <https://doi.org/10.1159/000327028>.
- [35] Aoba T, Fejerskov O. Dental fluorosis: chemistry and biology. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002; 13:155–70. <https://doi.org/10.1177/154411130201300206>.
- [36] Pendrys Dg, Katz Rv. Risk of enamel fluorosis associated with fluoride supplementation, infant formula and fluoride dentifrice use. *American Journal of Epidemiology* 1989; 130:1199–208. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a115448>.
- [37] Horowitz HS, Driscoll WS, Meyers RJ, Heifetz SB, Kingman A. A new method for assessing the prevalence of dental fluorosis—the Tooth Surface Index of Fluorosis. *The Journal of the American Dental Association* 1984; 109:37–41. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.1984.0268>.
- [38] Altun C, Cehreli ZC, Güven G, Acikel C. Traumatic intrusion of primary teeth and its effects on the permanent successors: a clinical follow-up study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009; 107:493–8. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2008.10.016>.

- [39] Andreasen JO, Sundström B, Ravn JJ. The effect of traumatic injuries to primary teeth on their permanent successors. I. A clinical and histologic study of 117 injured permanent teeth. *Scand J Dent Res* 1971; 79:219–83. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.1971.tb02013.x>.
- [40] Lambrechts P, Mattar D, De Munck J, Bergmans L, Peumans M, Vanherle G, et al. Air-abrasion enamel microsurgery to treat enamel white spot lesions of traumatic origin. *J Esthet Restor Dent* 2002; 14:167–87. <https://doi.org/10.1111/j.1708-8240.2002.tb00517.x>.
- [41] Andreasen JO. The influence of traumatic intrusion of primary teeth on their permanent successors. A radiographic and histologic study in monkeys. *Int J Oral Surg* 1976; 5:207–19. [https://doi.org/10.1016/s0300-9785\(76\)80016-6](https://doi.org/10.1016/s0300-9785(76)80016-6).
- [42] Kozak U, Sękowska A, Chałas R. The Effect of Regime Oral-Hygiene Intervention on the Incidence of New White Spot Lesions in Teenagers Treated with Fixed Orthodontic Appliances. *Int J Environ Res Public Health* 2020; 17:E9460. <https://doi.org/10.3390/ijerph17249460>.
- [43] Srivastava K, Tikku T, Khanna R, Sachan K. Risk factors and management of white spot lesions in orthodontics. *J Orthod Sci* 2013; 2:43–9. <https://doi.org/10.4103/2278-0203.115081>.
- [44] Leeper DK, Noureldin A, Julien K, Campbell PM, Buschang PH. Risk assessments in orthodontic patients developing white spot lesions. *J Investig Clin Dent* 2019; 10:e12470. <https://doi.org/10.1111/jicd.12470>.
- [45] Heymann GC, Grauer D. A contemporary review of white spot lesions in orthodontics. *J Esthet Restor Dent* 2013; 25:85–95. <https://doi.org/10.1111/jerd.12013>.
- [46] Hamdan AM, Maxfield BJ, Tüfekçi E, Shroff B, Lindauer SJ. Preventing and treating white-spot lesions associated with orthodontic treatment: a survey of general dentists and orthodontists. *J Am Dent Assoc* 2012; 143:777–83. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.2012.0267>.
- [47] Enaia M, Bock N, Ruf S. White-spot lesions during multibracket appliance treatment: A challenge for clinical excellence. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2011; 140:e17-24. <https://doi.org/10.1016/j.ajodo.2010.12.016>.

- [48] Sagarika N, Suchindran S, Loganathan S, Gopikrishna V. Prevalence of white spot lesion in a section of Indian population undergoing fixed orthodontic treatment: An in vivo assessment using the visual International Caries Detection and Assessment System II criteria. *J Conserv Dent* 2012; 15:104–8. <https://doi.org/10.4103/0972-0707.94572>.
- [49] Julien KC, Buschang PH, Campbell PM. Prevalence of white spot lesion formation during orthodontic treatment. *Angle Orthod* 2013; 83:641–7. <https://doi.org/10.2319/071712-584.1>.
- [50] Richter AE, Arruda AO, Peters MC, Sohn W. Incidence of caries lesions among patients treated with comprehensive orthodontics. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2011; 139:657–64. <https://doi.org/10.1016/j.ajodo.2009.06.037>.
- [51] Hadler-Olsen S, Sandvik K, El-Agroudi MA, Øgaard B. The incidence of caries and white spot lesions in orthodontically treated adolescents with a comprehensive caries prophylactic regimen--a prospective study. *Eur J Orthod* 2012; 34:633–9. <https://doi.org/10.1093/ejo/cjr068>.
- [52] Al Maaitah EF, Adeyemi AA, Higham SM, Pender N, Harrison JE. Factors affecting demineralization during orthodontic treatment: a post-hoc analysis of RCT recruits. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2011; 139:181–91. <https://doi.org/10.1016/j.ajodo.2009.08.028>.
- [53] Daniele S, Diagnosi visiva della carie: sensibilità e specificità del metodo Icdas. *DentalAcademy* 2019. <https://www.dentaljournal.it/diagnosi-visiva-carie-metodo-icdas/>
- [54] Gugnani N, Pandit I, Srivastava N, Gupta M, Sharma M. International Caries Detection and Assessment System (ICDAS): A New Concept. *Int J Clin Pediatr Dent* 2011; 4:93–100. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10005-1089>.
- [55] Banting D, Eggertsson H, Zandoná A, Ismail A, Longbottom C, Pitts N, et al. Rationale and Evidence for the International Caries Detection and Assessment System (ICDAS II) Author: International Caries Detection and Assessment System Coordinating Committee. Undefined 2012.
- [56] Ismail AI, Sohn W, Tellez M, Amaya A, Sen A, Hasson H, et al. The International Caries Detection and Assessment System (ICDAS): an integrated

- system for measuring dental caries. *Community Dent Oral Epidemiol* 2007; 35:170–8. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0528.2007.00347.x>.
- [57] Pitts N. “ICDAS” - An international system for caries detection and assessment being developed to facilitate caries epidemiology, research and appropriate clinical management. *Community Dental Health* 2004; 21:193–8.
- [58] Lee Y. Diagnosis and Prevention Strategies for Dental Caries. *J Lifestyle Med* 2013 ;3:107–9.
- [59] Landry RG, Jean M. Periodontal Screening and Recording (PSR) Index: precursors, utility and limitations in a clinical setting. *Int Dent J* 2002; 52:35–40. <https://doi.org/10.1111/j.1875-595x.2002.tb00595.x>.
- [60] Severin A, Russi E, Relazione tra salute orale e aprassia costruttiva in pazienti anziani ospedalizzati: studio osservazionale. *Rivista Italiana Igiene Dentale* 2016. <https://www.rivistaitalianaigienedentale.it/relazione-salute-orale-aprassia-costruttiva-pazienti-anziani-ospedalizzati-studio-osservazionale/>
- [61] Bisacchi F, Chiesa A, Valutazione degli indici epidemiologici orali in relazione alle caratteristiche della saliva. *Rivista Italiana Igiene Dentale* 2017. <https://www.rivistaitalianaigienedentale.it/valutazione-degli-indici-epidemiologici-orali-relazione-alle-caratteristiche-della-saliva/>
- [62] Genovesi, *Manuale Pratico Per L’igienista Dentale*. SEE Editrice Firenze 2004
- [63] Carrotte P. Endodontics: Part 2 Diagnosis and treatment planning. *Br Dent J* 2004; 197:231–8. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.4811612>.
- [64] Sherwood IA. Pre-operative diagnostic radiograph interpretation by general dental practitioners for root canal treatment. *Dentomaxillofac Radiol* 2012; 41:43–54. <https://doi.org/10.1259/dmfr/26466415>.
- [65] Chan M, Dadul T, Langlais R, Russell D, Ahmad M. Accuracy of extraoral bite-wing radiography in detecting proximal caries and crestal bone loss. *J Am Dent Assoc* 2018; 149:51–8. <https://doi.org/10.1016/j.adaj.2017.08.032>.
- [66] Horner K, Eaton KA, Royal College of Surgeons of England, Faculty of General Dental Practice (UK). Selection criteria for dental radiography. 2018.
- [67] Benassi E. Indagini con differenti tecnologie RX. Dose per paziente. triennale. 2012.

- [68] Daniele S, Risolvere i difetti di white spot attraverso infiltrazione resinosa, *Odontoiatria* 33 2018 <http://www.odontoiatria33.it//conservativa/16924/risolvere-i-difetti-di-white-spot-attraverso-infiltrazione-resinosa.html>
- [69] Marmaneu-Menero A, Iranzo-Cortés JE, Almerich-Torres T, Ortolá-Síscar JC, Montiel-Company JM, Almerich-Silla JM. Diagnostic Validity of Digital Imaging Fiber-Optic Transillumination (DIFOTI) and Near-Infrared Light Transillumination (NILT) for Caries in Dentine. *J Clin Med* 2020; 9:420. <https://doi.org/10.3390/jcm9020420>.
- [70] Alamoudi NM, Khan JA, El-Ashiry EA, Felemban OM, Bagher SM, Al-Tuwirqi AA. Accuracy of the DIAGNOcam and bitewing radiographs in the diagnosis of cavitated proximal carious lesions in primary molars. *Niger J Clin Pract* 2019; 22:1576–82. https://doi.org/10.4103/njcp.njcp_237_19.
- [71] Daniele S, Carie iniziali: fluorescenza per ridurre i falsi positivi. DentalAcademy 2020. <https://www.dentaljournal.it/carie-iniziali-fluorescenza-riduce-falsi-positivi/>
- [72] Gomez J. Detection and diagnosis of the early caries lesion. *BMC Oral Health* 2015; 15 Suppl 1:S3. <https://doi.org/10.1186/1472-6831-15-S1-S3>.
- [73] Walsh L. Caries Diagnosis Aided by Fluorescence, 2018. <https://doi.org/10.5772/intechopen.75459>.
- [74] Marinho VCC, Higgins JPT, Sheiham A, Logan S. Combinations of topical fluoride (toothpastes, mouthrinses, gels, varnishes) versus single topical fluoride for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev* 2004:CD002781. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD002781.pub2>.
- [75] Tubert-Jeannin S, Auclair C, Amsallem E, Tramini P, Gerbaud L, Ruffieux C, et al. Fluoride supplements (tablets, drops, lozenges or chewing gums) for preventing dental caries in children. *Cochrane Database Syst Rev* 2011:CD007592. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD007592.pub2>.
- [76] Walsh T, Worthington HV, Glenny A-M, Appelbe P, Marinho VC, Shi X. Fluoride toothpastes of different concentrations for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev* 2010 :CD007868. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD007868.pub2>.

- [77] Ministero della Salute, Linee guida nazionali per la promozione della salute orale e la prevenzione delle patologie orali in età evolutiva 2013.
https://www.salute.gov.it/portale/documentazione/p6_2_2_1.jsp?lingua=italiano&id=2073
- [78] Chou R, Cantor A, Zakher B, Mitchell JP, Pappas M. Preventing dental caries in children <5 years: systematic review updating USPSTF recommendation. *Pediatrics* 2013 ;132:332–50. <https://doi.org/10.1542/peds.2013-1469>.
- [79] Benson PE, Parkin N, Dyer F, Millett DT, Furness S, Germain P. Fluorides for the prevention of early tooth decay (demineralised white lesions) during fixed brace treatment. *Cochrane Database Syst Rev* 2013 :CD003809.
<https://doi.org/10.1002/14651858.CD003809.pub3>.
- [80] Sonesson M, Brechter A, Abdulraheem S, Lindman R, Twetman S. Fluoride varnish for the prevention of white spot lesions during orthodontic treatment with fixed appliances: a randomized controlled trial. *Eur J Orthod* 2020 ;42:326–30.
<https://doi.org/10.1093/ejo/cjz045>.
- [81] Marinho VCC, Worthington HV, Walsh T, Clarkson JE. Fluoride varnishes for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev* 2013:CD002279. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD002279.pub2>.
- [82] Ly KA, Milgrom P, Rothen M. The potential of dental-protective chewing gum in oral health interventions. *J Am Dent Assoc* 2008 ;139:553–63.
<https://doi.org/10.14219/jada.archive.2008.0215>.
- [83] Milgrom P, Ly KA, Tut OK, Mancl L, Roberts MC, Briand K, et al. Xylitol pediatric topical oral syrup to prevent dental caries: a double-blind randomized clinical trial of efficacy. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2009 ;163:601–7.
<https://doi.org/10.1001/archpediatrics.2009.77>.
- [84] Moynihan P, Petersen PE. Diet, nutrition and the prevention of dental diseases. *Public Health Nutr* 2004 ;7:201–26. <https://doi.org/10.1079/phn2003589>.
- [85] Mastroberardino S, Cagetti MG, Campus G, Strohmenger L. Prevenzione della carie: ruolo dell'alimentazione e della fluoroprofilassi. *Prevenzione & Assistenza Dentale* 2012 ;38:111–6. <https://doi.org/10.1016/j.pad.2012.07.001>.
- [86] Dawes C. Salivary flow patterns and the health of hard and soft oral tissues. *J Am Dent Assoc* 2008; 139 Suppl:18S-24S.

- <https://doi.org/10.14219/jada.archive.2008.0351>.
- [87] Paes Leme AF, Koo H, Bellato CM, Bedi G, Cury JA. The role of sucrose in cariogenic dental biofilm formation--new insight. *J Dent Res* 2006; 85:878–87. <https://doi.org/10.1177/154405910608501002>.
- [88] Khoroushi M, Kachuie M. Prevention and Treatment of White Spot Lesions in Orthodontic Patients. *Contemp Clin Dent* 2017; 8:11–9. https://doi.org/10.4103/ccd.ccd_216_17.
- [89] Philip N. State of the Art Enamel Remineralization Systems: The Next Frontier in Caries Management. *Caries Res* 2019; 53:284–95. <https://doi.org/10.1159/000493031>.
- [90] Basso M, Baysan A, Blique M, Domejean S, Gatton P, Gurgan S, et al. Carie dentaria e interventi altamente conservativi: la Minimum Intervention Dentistry (MID). *Dental Cadmos* 2018; 86:25. <https://doi.org/10.19256/d.cadmos.01.2018.05>.
- [91] Paris S, Meyer-Lueckel H. Masking of labial enamel white spot lesions by resin infiltration--a clinical report. *Quintessence Int* 2009; 40:713–8.
- [92] Paris S, Schwendicke F, Keltsch J, Dörfer C, Meyer-Lueckel H. Masking of white spot lesions by resin infiltration in vitro. *J Dent* 2013; 41 Suppl 5:e28-34. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2013.04.003>.
- [93] Muthuvel P, Ganapathy A, Subramaniam MK, Revankar VD. Erosion Infiltration Technique’: A Novel Alternative for Masking Enamel White Spot Lesion. *J Pharm Bioallied Sci* 2017; 9:S289–91. https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_150_17.
- [94] Paris S, Meyer-Lueckel H, Kielbassa AM. Resin infiltration of natural caries lesions. *J Dent Res* 2007; 86:662–6. <https://doi.org/10.1177/154405910708600715>.
- [95] Subramaniam P, Girish Babu KL, Lakhota D. Evaluation of penetration depth of a commercially available resin infiltrate into artificially created enamel lesions: An in vitro study. *J Conserv Dent* 2014; 17:146–9. <https://doi.org/10.4103/0972-0707.128054>.
- [96] WMA - The World Medical Association-WMA Declaration of Helsinki – Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects n.d.

<https://www.wma.net/policies-post/wma-declaration-of-helsinki-ethical-principles-for-medical-research-involving-human-subjects/>

- [97] Schaffner M, Lussi A. Developmental and Histological Aspects of Deciduous and Young Permanent Teeth. In: Neuhaus KW, Lussi A, editors. *Management of Dental Emergencies in Children and Adolescents*. 1st ed., Wiley; 2019, p. 1–12. <https://doi.org/10.1002/9781119372684.ch1.1>.
- [98] Marin E, Hiraishi N, Honma T, Boschetto F, Zanocco M, Zhu W, et al. Raman spectroscopy for early detection and monitoring of dentin demineralization. *Dent Mater* 2020;36:1635–44. <https://doi.org/10.1016/j.dental.2020.10.005>.
- [99] Fraser SJ, Natarajan AK, Clark ASS, Drummond BK, Gordon KC. A Raman spectroscopic study of teeth affected with molar–incisor hypomineralisation. *Journal of Raman Spectroscopy* 2015; 46:202–10. <https://doi.org/10.1002/jrs.4635>.
- [100] Natarajan AK, Fraser SJ, Swain MV, Drummond BK, Gordon KC. Raman spectroscopic characterisation of resin-infiltrated hypomineralised enamel. *Anal Bioanal Chem* 2015;407:5661–71. <https://doi.org/10.1007/s00216-015-8742-y>.
- [101] Zavala-Alonso V, Loyola-Rodríguez JP, Terrones H, Patiño-Marín N, Martínez-Castañón GA, Anusavice K. Analysis of the molecular structure of human enamel with fluorosis using micro-Raman spectroscopy. *J Oral Sci* 2012; 54:93–8. <https://doi.org/10.2334/josnusd.54.93>.
- [102] Núñez DP, Bacallao LG. Bioquímica de la caries dental. *Revista Habanera de Ciencias Médicas* 2010; 9:156–66.
- [103] Krafft C, Sergo V. Biomedical applications of Raman and infrared spectroscopy to diagnose tissues. *Spectroscopy* 2006; 20:195–218. <https://doi.org/10.1155/2006/738186>.
- [104] Ramakrishnaiah R, Rehman G ur, Basavarajappa S, Al Khuraif AA, Durgesh BH, Khan AS, et al. Applications of Raman Spectroscopy in Dentistry: Analysis of Tooth Structure. *Applied Spectroscopy Reviews* 2015; 50:332–50. <https://doi.org/10.1080/05704928.2014.986734>.