

LUCIANA FONSECA DE PÁDUA GONÇALVES TOURINO

**PREVALÊNCIA DE HIPOMINERALIZAÇÃO MOLAR-INCISIVO E
FATORES ASSOCIADOS EM ESCOLARES DE UM MUNICÍPIO DO
SUDESTE BRASILEIRO**

**Faculdade de Odontologia
Universidade Federal de Minas Gerais
Belo Horizonte
2015**

Luciana Fonseca de Pádua Gonçalves Tourino

**PREVALÊNCIA DE HIPOMINERALIZAÇÃO MOLAR-INCISIVO E
FATORES ASSOCIADOS EM ESCOLARES DE UM MUNICÍPIO DO
SUDESTE BRASILEIRO**

Tese apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Odontologia – área de concentração em Odontopediatria

Orientadora: Profa. Dra. Miriam Pimenta Parreira do Vale

Coorientadora: Profa. Dra. Patrícia Maria Pereira de Oliveira Zarzar

Faculdade de Odontologia - UFMG
Belo Horizonte
2015

FICHA CATALOGRÁFICA

T727p
2015
T

Tourino, Luciana Fonseca de Pádua Gonçalves
Prevalência de hipomineralização molar-incisivo e fatores associados em escolares de um município do sudeste brasileiro/
Luciana Fonseca de Pádua Gonçalves Tourino. – 2015.
103 f.: il.

Orientador (a): Míriam Pimenta Parreira do Vale
Co-orientador (a): Patrícia Maria Pereira de Oliveira Zarzar

Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Odontologia.

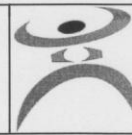
1. Esmalte dentário. 2. Cárie dentária. 3. Asma. 4. Criança.
I. Vale, Míriam Pimenta Parreira do. II. Zarzar, Patrícia Maria Pereirade Oliveira. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Odontologia. IV. Título.

BLACK D047



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA



FOLHA DE APROVAÇÃO

HIPOMINERALIZAÇÃO MOLAR-INCISIVO: ESTUDO DA PREVALÊNCIA E FATORES ASSOCIADOS EM ESCOLARES BRASILEIROS

LUCIANA FONSECA DE PADUA GONÇALVES TOURINO

Tese submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ODONTOLOGIA, como requisito para obtenção do grau de Doutor em ODONTOLOGIA, área de concentração ODONTOPEDIATRIA.

Aprovada em 29 de junho de 2015, pela banca constituída pelos membros:

Prof(a). Miriam Pimenta Parreira do Vale - Orientador
UFMG

Prof(a). Sheyla Marcia Auad
UFMG

Prof(a). Efigenia Ferreira e Ferreira
UFMG

Prof(a). Kelly Oliva Jorge
UNINCOR

Prof(a). Patricia Maria Pereira de Araujo Zarzar
UFMG

Prof(a). Maria José Lages de Oliveira
Universidade Estadual de Montes Claros

Belo Horizonte, 29 de junho de 2015.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA



ATA DA DEFESA DE TESE DA ALUNA LUCIANA FONSECA DE PADUA GONÇALVES

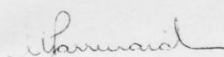
Realizou-se, no dia 29 de junho de 2015, às 14:00 horas, Faculdade de Odontologia, da Universidade Federal de Minas Gerais, a defesa de tese, intitulada *HIPOMINERALIZAÇÃO MOLAR-INCISIVO: ESTUDO DA PREVALÊNCIA E FATORES ASSOCIADOS EM ESCOLARES BRASILEIROS*, apresentada por LUCIANA FONSECA DE PADUA GONÇALVES TOURINO, número de registro 2011711953, graduada no curso de ODONTOLOGIA, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em ODONTOLOGIA, à seguinte Comissão Examinadora: Prof(a). Miriam Pimenta Parreira do Vale - Orientador (UFMG), Prof(a). Sheyla Marcia Auad (UFMG), Prof(a). Efigenia Ferreira e Ferreira (UFMG), Prof(a). Kelly Oliva Jorge (UNINCOR), Prof(a). Patricia Maria Pereira de Araujo Zarzar (UFMG), Prof(a). Maria José Lages de Oliveira (Universidade Estadual de Montes Claros).

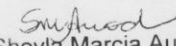
A Comissão considerou a tese:

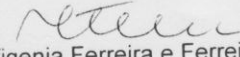
Aprovada

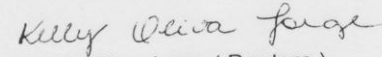
Reprovada

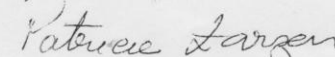
Finalizados os trabalhos, lavrei a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada por mim e pelos membros da Comissão.
Belo Horizonte, 29 de junho de 2015.

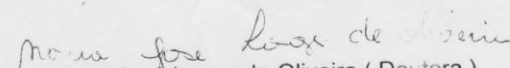

Prof(a). Miriam Pimenta Parreira do Vale (Doutora)


Prof(a). Sheyla Marcia Auad (Doutora)


Prof(a). Efigenia Ferreira e Ferreira (Doutora)


Prof(a). Kelly Oliva Jorge (Doutora)


Prof(a). Patricia Maria Pereira de Araujo Zarzar (Doutora)


Prof(a). Maria José Lages de Oliveira (Doutora)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu pai João Oscar, maior exemplo pessoal e profissional que um filho possa ter e à minha mãe Wanda, que tem estado sempre ao meu lado, participando de todas as minhas lutas.

Dedico também, aos meus dois grandes amores, Alessandro e Júlia, que souberam ser generosos e aceitar a minha ausência em função da realização deste sonho. À Júlia por ser também uma filha tão especial e a minha maior motivação.

AGRADECIMENTOS

Não foi nada fácil, mas não seria possível sem a ajuda de pessoas tão especiais que Deus colocou nessa minha trajetória.

À Profa. Miriam Pimenta Vale, minha orientadora e aliada nesta luta, agradeço a confiança, disponibilidade e motivação constante. Obrigada por ter sido tão autêntica e verdadeira! Você é um grande exemplo para mim.

À minha coorientadora, Profa. Patrícia Maria Zarzar, obrigada pela imensa colaboração, atenção e apoio constante durante a caminhada. Você se tornou muito querida ao longo da convivência!

À professora Raquel Conceição Ferreira pelo valioso trabalho com os dados estatísticos.

Agradeço aos professores Saul Martins Paiva, Ana Flávia Granville-Garcia e Fabian Fraiz pela grande colaboração na avaliação do questionário.

À professora Cristiane Bendo pela tradução inicial do questionário.

Agradeço à professora Carolina Martins por toda colaboração na calibração dos exames clínicos.

Agradeço as professoras Efigênia e Raquel por terem feito parte da banca de qualificação e por terem feito sugestões, que contribuíram muito para o avanço deste trabalho.

A todo corpo docente do Programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais, pelos conhecimentos transmitidos.

Ao UNILAVRAS, em especial ao coordenador Prof. Douglas Campidelli Fonseca pelo apoio e aos queridos colegas de trabalho Ísis Patto Carvalho e Ricardo Augusto Barbosa, pela compreensão, cumplicidade e motivação e por fazerem parte da minha caminhada desde o início da vida profissional.

À querida colega, Márcia de Fátima Soares, incentivadora e companheira de viagens.

Aos meus irmãos, grandes exemplos pra mim, que pacientes ouviram as minhas lamentações e me motivaram a vencer e a concluir este trabalho. Às minhas sobrinhas, Isabela e Luiza que me proporcionaram momentos de alegria em dias tão difíceis.

A todos os colegas de doutorado pelo apoio e amizade, em especial a Patrícia Corrêa-Faria, sempre disponível para responder meus inúmeros questionamentos.

A todas às mães e crianças que participaram da pesquisa, às Secretárias de Educação Estadual e Municipal de Lavras e todas as diretoras e professoras das 34 escolas, obrigada!

Às minhas cunhadas, a todos os meus amigos e familiares que me escutaram nos momentos difíceis e torceram por mim!

Prevalência de hipomineralização molar-incisivo e fatores associados em escolares de um município do sudeste brasileiro

RESUMO

Estudos no mundo todo têm investigado os potenciais fatores envolvidos na ocorrência da hipomineralização molar-incisivo (HMI), porém os resultados relatados são variados e inconclusivos. Desta forma, os objetivos deste estudo foram verificar a prevalência de HMI em um grupo de escolares de oito e nove anos de idade e investigar os possíveis fatores associados. Um estudo transversal foi realizado com uma amostra de base populacional. A amostra aleatória, estratificada entre escolas públicas e privadas, foi composta por 1.181 escolares residentes em Lavras, Minas Gerais, Brasil. Previamente ao estudo principal, um estudo piloto foi desenvolvido para testar a metodologia. Os dados foram coletados através de exame clínico e questionários autoaplicáveis respondidos pelas mães. As mães responderam a um questionário autoaplicável contendo questões abrangendo características pré-natais, perinatais e saúde da criança nos quatro primeiros anos de vida e a outro sobre características socioeconômicas e demográficas. A HMI foi diagnosticada a partir dos critérios da Academia Europeia de Odontopediatria. Por meio do exame bucal, avaliou-se também a cárie dentária nas dentições decídua e permanente, de acordo com as recomendações da Organização Mundial de Saúde (OMS) e os defeitos de desenvolvimento de esmalte (DDE) nos segundos molares decíduos utilizando o *Developmental Defects of enamel Index (DDE index)*. Os exames bucais foram realizados por um único examinador previamente calibrado. A análise estatística incluiu descrição dos dados, testes bivariados e modelos de regressão de Poisson com variância robusta ($p < 0.05$, IC95%). Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (CAAE 10659812.0.0000.5149). A prevalência de HMI foi de 20,4%. Observou-se maior frequência de HMI entre as crianças com cárie na dentição permanente (RP: 2,67; IC95%: 1,98-3,61), DDE nos segundos molares decíduos (RP: 2,54; IC95%: 1,87-3,45) e que tiveram asma e/ou bronquite até os quatro anos de idade (RP: 1,93; IC95%: 1,45-2,56). Conclui-se que a prevalência de HMI foi alta na amostra estudada. A HMI foi mais frequente em crianças com experiência de cárie na dentição permanente, com presença de DDE nos segundos molares decíduos e

naquelas que tiveram asma e/ou bronquite até os quatro anos de idade, mesmo após controle para os fatores potencialmente associados.

Palavras-chave: esmalte dentário; cárie dentária; asma; criança.

Prevalence of Molar incisor Hypomineralization and associated factors among schoolchildren from a city in southeastern Brazil

ABSTRACT

Although studies worldwide have investigated potential factors involved in the occurrence of molar incisor hypomineralization (MIH), the findings are varied and inconclusive. Thus, the aim of this study was to determine the prevalence and investigate the factors associated with the occurrence of molar incisor hypomineralization in a group of schoolchildren aged eight and nine years. A cross-sectional study was conducted with a population-based sample. The random sample, stratified between public and private schools, consisted of 1181 children residents in Lavras, Minas Gerais, Brazil. Prior to the main study, a pilot study was carried out to test the methodology. Data were collected via clinical examination and self-administered questionnaires completed by mothers. Mothers completed a self-administered questionnaire with questions on prenatal, perinatal and postnatal aspects, and another questionnaire on socioeconomic and demographic aspects. MIH was diagnosed using the criteria of the European Academy of Pediatric Dentistry. During the clinical examination, the presence of caries in permanent and primary dentitions, according to the recommendations of the World Health Organization (WHO) and developmental defects of enamel (DDE) in the second primary molars using the *Developmental Defects of enamel Index (DDE index)* also were evaluated. Oral examinations were performed by a single examiner who had undergone a training exercise. Data analysis involved descriptive statistics, bivariate tests and Poisson regression with robust variance ($p < 0.05$, IC95%). This study was approved by the Ethics Committee of the Federal University of Minas Gerais, Brazil (CAAE 10659812.0.0000.5149). The prevalence of MIH was 20.4%. MIH was more frequent among children with dental caries in permanent dentition (PR: 2,67; 95%CI: 1,98-3,61); those with DDE on the primary second molars (PR: 2,54; 95%CI: 1,87-3,45) and those who experienced asthma and/or bronchitis in the first 4 years of life (PR: 1,93; 95%CI: 1,45-2,56). In conclusion, the prevalence of MIH was high in the present sample. The occurrence of MIH was more frequent in children with caries experience in the permanent dentition, those with enamel defects on primary second

molars and those who had asthma experience in the first four years of life, even after controlling for potential confounding factors.

Keywords: dental enamel; dental caries; asthma; child.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABIS	<i>All Babies in Southeast Sweden</i>
Ceo-d	Cariados, Extraídos e Obturados, por Dente decíduo
COEP/MG	Comitê de Ética em Pesquisa/ Universidade Federal de Minas Gerais
CPOD	Cariados, Perdidos e Obturados, por Dente permanente
DDE	Defeitos de desenvolvimento de esmalte
mDDE	<i>modified Developmental defects of enamel</i>
EAPD	<i>European Academic of Pediatric Dentistry</i>
HMI	Hipomineralização molar-incisivo
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatísticas
IC	Intervalo de confiança
IDH	Índice de Desenvolvimento Humano
MG	Minas Gerais
OMS	Organização Mundial de Saúde
OR	<i>Odds ratio</i>
PCBs	Bifenilos policlorados
RP	Razão de prevalência
SEE-MG	Secretaria de Estado de Educação de Minas Gerais
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais

LISTA DE TABELAS

TABELA 1- Prevalência de hipomineralização molar-incisivo em alguns estudos epidemiológicos.....	24
TABELA 2- Cálculo da amostra (<i>n</i>) de acordo com as variáveis independentes.....	34
TABELA 3- Identificação e categorização das variáveis independentes.....	39

ARTIGO

TABELA 1- Frequency distribution of MIH and crude prevalence ratio according socioeconomic, demographic, prenatal, perinatal, postnatal and oral characteristics (<i>n</i> =1181).....	57
TABELA 2. Prevalence ratio and confidence interval for associations between MIH and independent variables (<i>n</i> =1181).....	58

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1- Critérios utilizados para diagnóstico de HMI.....37

QUADRO 2- Desmembramento e categorização da variável dependente HMI.....38

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1- Fluxograma do processo de adaptação transcultural e avaliação da reprodutibilidade do questionário.....	43
--	----

SUMÁRIO

1-INTRODUÇÃO	19
2-REVISÃO DE LITERATURA	21
2.1 Defeitos de esmalte	21
2.2 Prevalência de HMI	23
2.3 Fatores associados à ocorrência de HMI	24
3-OBJETIVOS	31
4-METODOLOGIA	32
4.1 Localização e delineamento do estudo.....	32
4.2 População de estudo	32
4.3 Cálculo amostral	33
4.4 Seleção dos participantes.....	34
4.5 Critérios de elegibilidade	35
4.5.1 Critérios de inclusão.....	35
4.5.2 Critérios de exclusão.....	36
4.6 Elenco de variáveis	36
4.6.1 Variável dependente	36
4.6.2 Variáveis independentes.....	36
4.7 Coleta de dados	40
4.7.1 Exame clínico.....	40
4.7.2 Questionário sobre história de saúde da criança	41

4.7.3 Questionário socioeconômico e demográfico.....	44
4.8 Calibração do examinador.....	44
4.9 Estudo piloto.....	45
4.10 Aspectos éticos	45
4.11 Análise estatística.....	45
5- ARTIGO CIENTÍFICO.....	47
6- CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	67
REFERÊNCIAS GERAIS.....	68
ANEXOS	75
APÊNDICES.....	97

1 INTRODUÇÃO

A hipomineralização molar-incisivo (HMI) é definida como defeito de desenvolvimento qualitativo do esmalte dentário e caracteriza-se por opacidades assimétricas de origem sistêmica que afetam de um a quatro primeiros molares permanentes e podem acometer também os incisivos permanentes (WEERHEIJM *et al.*, 2001; WEERHEIJM *et al.*, 2003). Clinicamente, os dentes apresentam opacidades demarcadas de cor branca, creme, amarelo ou marrom no esmalte, variando a extensão e gravidade. Em casos mais graves, o esmalte dos molares hipomineralizados é tão poroso que pode se romper após a irrupção devido às forças mastigatórias, deixando a dentina desprotegida (WEERHEIJM, 2004).

Segundo estudos epidemiológicos internacionais, a prevalência de HMI varia de 2,5% entre as crianças chinesas (CHO *et al.*, 2008) a 37,3% entre as dinamarquesas (WOGELIUS *et al.*, 2008). Entre as crianças brasileiras, os valores de prevalência variam de 12,3% em Araraquara (JEREMIAS *et al.*, 2013) a 40,2% no Rio de Janeiro (SOVIERO *et al.*, 2009).

A mineralização dos primeiros molares e incisivos permanentes se inicia no final da gestação e se completa ao longo dos primeiros quatro anos de vida da criança. Dessa forma, as intercorrências neste período podem estar associadas à ocorrência da HMI (BEENTJES *et al.*, 2002). Entre estas intercorrências estão prematuridade e baixo peso ao nascimento, (ARROW, 2009; BROGARDH-ROTH *et al.*, 2011; GHANIM *et al.*, 2012), doenças como a catapora (WHATLING; FEARNE, 2008), asma (GUERGOLETTE *et al.*, 2009; JÄLEVIK *et al.*, 2001b; PITIPHAT *et al.*, 2014), desordens metabólicas de cálcio e fosfato e episódios frequentes de febre na infância (GHANIM *et al.*, 2012; JONTELL; LINDE, 1986; WHATLING; FEARNE, 2008).

Estudos prévios têm enfatizado que a HMI pode acarretar uma série de problemas para os indivíduos. Os molares e incisivos acometidos estão sujeitos a fraturas pós-irruptivas do esmalte dentário que podem facilitar a progressão da cárie dentária (LYGIDAKIS *et al.*, 2010). Outro agravante da HMI é a maior sensibilidade dos dentes afetados às variações de temperatura, além do comprometimento

estético quando os incisivos são afetados (FAGRELL *et al.*, 2008). Dessa forma, os pacientes com HMI tem maior necessidade de intervenções clínicas (LEPPÄNIEMI *et al.*, 2001; COSTA-SILVA *et al.*, 2010). Estas intervenções podem representar um desafio para o cirurgião-dentista, visto as dificuldades encontradas para se propiciar um tratamento restaurador adequado para os dentes hipomineralizados (WEERHEIJM; MEJÀRE, 2003).

Desta forma, o conhecimento da distribuição destes defeitos e dos fatores associados é relevante à prática clínica atual e um importante marcador na definição de ações de saúde bucal, que envolvem principalmente a formulação de medidas preventivas e corretivas a fim de evitar perda de estrutura dental e minimizar possível desconforto nos casos mais graves.

Além disso, apesar da literatura apontar uma série de possíveis fatores etiológicos envolvidos com a HMI, estes não estão ainda bem estabelecidos, indicando a necessidade de novas investigações sobre o tema. No Brasil, estudos de base populacional referentes aos fatores associados à ocorrência da HMI são escassos (SOUZA *et al.*, 2012). Assim sendo, este estudo tem como objetivo descrever a prevalência e investigar os possíveis fatores que possam estar associados à HMI em um grupo de crianças brasileiras.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Defeitos de esmalte

O esmalte dentário é um tecido altamente mineralizado de origem ectodérmica e é caracterizado pela incapacidade de remodelação. Por isto, o esmalte é considerado uma estrutura bastante vulnerável às alterações estruturais, que passam a representar marcas permanentes na estrutura dentária, ou seja, os defeitos de desenvolvimento do esmalte (SUCKLING, 1989). O processo de formação do esmalte dentário é controlado geneticamente, mas sensível a distúrbios ambientais (SUGA, 1989). Alterações no aporte de oxigênio, cálcio e fosfato (VAN AMEROGEN; KREULEN, 1995), na temperatura (TUNG *et al.*, 2006) e na regulação do pH (LACRUZ *et al.*, 2010) podem interferir no processo normal da amelogênese.

O processo de formação do esmalte dentário compreende a fase de secreção e a fase de maturação da matriz orgânica do esmalte (SUGA, 1989). Na fase de secreção ocorre a deposição da matriz orgânica do esmalte. As alterações que acometem o esmalte durante este estágio resultam na redução da espessura ou quantidade de esmalte, ou seja, a hipoplasia (SEOW, 1997). Os dentes com hipoplasia de esmalte podem apresentar fóssulas, fissuras ou perda de grandes áreas de esmalte (WHO, 1997). Por outro lado, distúrbios durante a fase de maturação da matriz orgânica do esmalte, resultam no aumento da quantidade de matéria orgânica e menor resistência mecânica (PORTO *et al.*, 2009), configurando os defeitos qualitativos ou hipomineralizações, que são caracterizadas por mudanças na translucência ou opacidades. As opacidades, por sua vez, podem ser demarcadas ou difusas. Quando se observa translucidez de grau variável no esmalte, com limites nítidos e coloração bege, amarela ou marrom, ela é denominada opacidade demarcada; a opacidade difusa não apresenta limites nítidos (WHO, 1997).

Na literatura, várias denominações foram sugeridas para molares com opacidades demarcadas no esmalte, muitas vezes combinadas com a fratura do tecido após a irrupção do dente, tais como: hipomineralização idiopática em primeiros molares permanentes, opacidade de esmalte não relacionada ao flúor,

hipoplasia interna do esmalte, manchamento não endêmico do esmalte, opacidade de esmalte e molares de queijo (ALALUUSUA *et al.*, 1996a; JALEVIK; NORÉN, 2000; KOCH *et al.*, 1987; LEPPÄNIEMI *et al.*, 2001). No entanto, na Reunião da Academia Europeia de Odontopediatria (EAPD), no ano de 2003, foi constatado que os diferentes critérios para o diagnóstico desta alteração, dificultavam a comparação entre os estudos. O *modified Developmental defects of enamel index* (mDDE) (FDI, 1992) foi considerado inadequado, pois classifica os defeitos em opacidades demarcadas, difusas e hipoplasia e não havia uma classificação para as fraturas pós-irruptivas do esmalte. Assim, estas alterações foram agrupadas sob a denominação “Hipomineralização molar-incisivo” (HMI), proposta por Weerheijm *et al.*, em 2001. Nesta reunião foram discutidos e estabelecidos também os critérios para julgamento desta alteração.

Segundo os critérios da EAPD, os primeiros molares e incisivos permanentes deveriam ser classificados individualmente de acordo com os critérios: ausência ou presença de opacidades demarcadas, fratura pós-irruptiva do esmalte, restaurações atípicas, exodontias de molares devido à HMI ou não irrompidos. Nos casos de HMI, as opacidades demarcadas estão relacionadas com alterações na translucidez do esmalte, sem perda de estrutura dental, com superfície lisa que pode ser branca, amarelada ou marrom). A fratura pós-irruptiva de dentes com HMI está relacionada com a perda de esmalte superficial logo após o dente irromper na cavidade bucal, sendo esta perda mais comum nos molares do que nos incisivos (WEERHEIJM, 2004). Nestes casos, se difere da hipoplasia por ser um defeito qualitativo do esmalte que se apresenta macio e poroso, podendo se romper após a irrupção do dente, deixando bordas ásperas e irregulares. A hipoplasia, porém, é um defeito quantitativo onde há redução na espessura do esmalte (FDI, 1992; SEOW, 1997), sendo que as bordas com o esmalte adjacente normal são lisas e arredondadas (SUCKLING; THURLEY, 1984). Deve-se proceder ao diagnóstico diferencial com outras alterações no esmalte, como: amelogênese imperfeita, opacidades difusas, lesões de manchas brancas, manchas de tetraciclina, erosão e fluorose (WEERHEIJM *et al.*, 2003)

2.2 Prevalência de HMI

Muitos estudos sobre a prevalência de HMI foram desenvolvidos em diferentes países e uma grande variação na prevalência tem sido relatada. Segundo Jälevik (2010), apesar dos critérios estabelecidos pela EAPD em 2003, a comparação dos resultados destes vários estudos continua difícil por causa da utilização de diferentes índices e critérios de diagnóstico, variabilidade nos exames, métodos de registro e diferentes faixas etárias.

Antes da publicação dos critérios de julgamento para HMI compilado pela reunião da EAPD em 2003, alguns autores utilizaram diferentes critérios para avaliar HMI. Alguns estudos utilizaram o *modified Developmental Defects of Enamel Index* (mDDE) (FDI, 1992) e consideraram indivíduos com HMI aqueles que apresentavam opacidades demarcadas em pelo menos um primeiro molar permanente. A tabela 1 mostra a prevalência de HMI em estudos epidemiológicos realizados ao longo dos anos em alguns países.

TABELA 1

Prevalência de hipomineralização molar-incisivo em alguns estudos epidemiológicos.

Estudo e ano de publicação	País	Critério de diagnóstico	Estudo de base populacional?	Idade em anos	Tamanho da amostra	Prevalência de HMI
Jälevik et al. (2001)	Suécia	mDDE	Sim	8	519	18,4%
Dietrich et al. (2003)	Alemanha	mDDE	Não	10 a 17	2.408	5,6%
Balmer et al. (2005)	Reino Unido Austrália	mDDE	Não	8 a 16	25 25	40% 44%
Soviero et al. (2009)	Brasil (Rio de Janeiro, RJ)	EAPD 2003	Não	7 a 13	249	40,2%
Costa-Silva et al. (2010)	Brasil (Botelhos, MG)	EAPD 2003	Sim	6 a 12	918	19,8%
Ghanim et al. (2011)	Iraque	EAPD 2003	Sim	7 a 9	823	18,6%
Zawaideh et al. (2011)	Jordânia	EAPD 2003	Sim	7 a 9	2.671	17,6%
Jeremias et al. (2013)	Brasil (Araraquara, SP)	mDDE	Sim	6 a 12	1.157	12,3%
Garcia-Margarit et al. (2014)	Espanha	EAPD 2003	Sim	8	840	21,8%
Petrou et al. (2014)	Alemanha	EAPD 2003	Sim	7 a 10	2.395	10,1%

2.3 Fatores associados à ocorrência de HMI

Apesar de muitos estudos revelarem uma ampla variedade de fatores potencialmente envolvidos na etiologia da HMI, ainda há evidência científica insuficiente sobre o papel dos supostos fatores (ALALUUSUA, 2010; CROMBIE *et al.*, 2009).

A exposição a altos níveis de dioxinas ou bifenilos policlorados (PCBs) na infância tem sido associada à ocorrência de defeitos de esmalte, com o leite materno

sendo postulado como uma provável fonte de contaminação. Alguns estudos que investigam a exposição a PCB/dioxina relataram uma associação significativa com defeitos de esmalte (ALALUUSUA *et al.*, 1996b; ALALUUSUA *et al.*, 2004; JAN *et al.*, 2007; JAN; VRBIC, 2000).

Outros estudos relataram um aumento significativo na prevalência de defeitos de esmalte em associação com maior duração do aleitamento materno, no entanto, os níveis de dioxinas não foram determinados (ALALUUSUA *et al.*, 1996a; FAGRELL *et al.*, 2011). Em um estudo de coorte prospectivo com crianças finlandesas nascidas em 1987, no qual tanto a duração do aleitamento materno, quanto a exposição à dioxina foram avaliados, constatou-se que os níveis de dioxinas, mas não a duração do aleitamento materno, foram significativamente relacionados a defeitos no esmalte (ALALUUSUA *et al.*, 1996b). Posteriormente, um estudo conduzido com crianças finlandesas nascidas dez anos após a realização do estudo anterior, não encontrou associação entre exposição à dioxina e HMI (LAISI *et al.* 2008). Outro estudo também não encontrou diferenças estatisticamente significativas na prevalência de HMI entre crianças turcas que viviam em uma área urbana poluída por dioxinas e aquelas que viviam em uma área com baixa poluição (KUSCU *et al.* 2009).

Já em 2011, Fagrell *et al.* avaliaram 477 crianças com idades entre nove e 12 anos envolvidas no projeto ABIS (All Babies in Southeast Sweden), que consiste em um estudo prospectivo de todas as crianças nascidas em cinco municípios suecos entre outubro de 1997 e outubro de 1999. Foram acompanhadas aproximadamente 17.000 crianças desde o nascimento, com registros de dados sobre nutrição, doenças, infecções, medicações, fatores socioeconômicos, etc. O grupo caso foi composto por 224 crianças que apresentavam diagnóstico de HMI severa nos primeiros molares permanentes, ou seja, opacidade demarcada com fratura da superfície do esmalte, e o grupo controle por 253 que não apresentavam HMI. Os autores verificaram que a HMI apresentou uma associação positiva com o aleitamento materno por mais de seis meses e com a introdução de papas e de fórmula para infantes após os seis meses. A combinação destas três variáveis (aleitamento materno prolongado, introdução tardia de papas e introdução tardia de

fórmulas infantis) aumentou em mais de cinco vezes a chance de ter HMI (OR 5,1; 95% IC: 1,6-15,7).

Por outro lado, Ghanim *et al.* (2012) constataram que a extensão da amamentação por mais de dois anos teve um papel protetor contra a HMI (OR 0,44). Outros autores que realizaram estudos em populações de algumas regiões da Europa não relataram associação estatisticamente significativa entre aleitamento materno e defeitos de esmalte (DIETRICH *et al.*, 2003; JÄLEVIK *et al.*, 2001a; MURATBEGOVIC *et al.*, 2007; WHATLING; FEARNE, 2008).

Há evidências de que alguns fatores de natureza sistêmica ocorridos durante a gravidez ou nos primeiros anos de vida da criança possam contribuir para uma maior incidência de HMI (ALALUUSUA *et al.*, 2010; CROMBIE *et al.*, 2009).

Jälevik *et al.* (2001b) conduziram um estudo transversal visando identificar os possíveis fatores etiológicos envolvidos no desenvolvimento de defeitos de esmalte. Foram examinadas 516 crianças com oito anos de idade, utilizando-se o índice mDDE e um questionário foi enviado aos pais. As crianças que apresentaram opacidades demarcadas, especialmente os meninos, apresentaram mais problemas de saúde durante o primeiro ano de vida. O uso de antibióticos também foi associado aos defeitos de esmalte, mas houve uma forte correlação com a ocorrência de problemas de saúde e não foi possível distinguir se a associação foi devido à doença ou ao medicamento. Não houve associação estatisticamente significativa entre opacidades demarcadas e os problemas pré-natais, o uso de fluoretos e a duração do aleitamento materno. Concluíram que a etiologia desses defeitos de esmalte não está completamente compreendida, mas baseado nos resultados deste estudo retrospectivo, problemas de saúde na infância, especialmente doenças das vias respiratórias, parecem estar envolvidos.

Muratbegovic *et al.* (2007) utilizaram o mesmo questionário citado anteriormente em um estudo conduzido na Bósnia e Herzegovina. O estudo, de delineamento caso-controle, foi composto por 34 crianças com diagnóstico de HMI (grupo caso) e 41 crianças sem HMI (grupo controle). Assim como no estudo anterior, não encontraram associação estatisticamente significativa entre HMI e os problemas pré-natais, o uso de fluoretos e a duração do aleitamento materno.

Verificaram que o grupo HMI apresentou maior número de doenças nos três primeiros anos de vida, porém sem significância estatística. Apenas uma associação significativa foi demonstrada entre tonsilectomia e HMI ($p=0,02$).

Em 2008, Lygidakis *et al.* (2008) também realizaram um estudo de delineamento caso-controle na Grécia, no qual foram incluídas 360 crianças com diagnóstico de HMI no grupo caso e 360 crianças pareadas por gênero, idade, etnia e condições socioeconômicas no grupo controle. Avaliaram os fatores etiológicos através de registros do livro de seguro médico e de uma entrevista detalhada com os pais. Crianças com HMI apresentaram 68,9% mais frequência de problemas médicos do que os controles ($p<0,0001$). Destas crianças, 33,9% apresentaram problemas médicos no período pós-natal, 33,6% no período perinatal, 8,6% no período pré-natal e 11,7% das crianças apresentaram problemas médicos em mais de um período, sendo que estas também apresentaram maior número de dentes afetados.

Em outro estudo caso-controle, no qual participaram 109 crianças, cujas mães foram entrevistadas sobre a história médica do nascimento aos quatro anos de idade da criança, nenhuma associação significativa foi encontrada entre HMI e complicações no parto e nascimento, uso de fluoretos, aleitamento materno e história familiar de defeitos de esmalte. A HMI foi significativamente mais frequente entre crianças cujas mães tiveram problemas durante a gravidez ($p=0,025$), aquelas que tiveram catapora entre as idades de três e 3,99 anos ($p=0,047$), e crianças que receberam somente amoxicilina como antibiótico ($p=0,028$) (WHATLING; FEARNE, 2008).

No ano seguinte foi realizado um estudo na Austrália para avaliar os possíveis fatores de risco para defeitos de esmalte. Foi utilizado o índice mDDE e participaram 550 crianças. A análise bivariada indicou que cuidado médico ao nascimento ($p=0,009$), estado de saúde neonatal ($p=0,025$) e a localização da residência da criança ($p=0,02$) apresentaram associação com a ocorrência de defeitos de esmalte nos primeiros molares permanentes. Para defeitos de esmalte demarcados, a presença de infecção durante o período neonatal foi um fator estatisticamente significativo (OR 6,88; IC95%: 1,41-33,58). A associação entre defeitos de esmalte,

tipo de doença de infância e tipo de medicamento recebido até os três anos de idade não foram estatisticamente significantes (ARROW, 2009).

Um estudo sueco comparou um grupo de crianças prematuras, com idades entre nove e doze anos, a um grupo de crianças nascidas a termo, pareadas por sexo e idade e selecionadas do mesmo banco de dados (projeto ABIS). Informações sobre o tempo de gestação e o peso ao nascimento foram obtidas do Registro de Nascimento Médico Sueco. Foi aplicado um questionário aos pais com questões sobre saúde materna, complicações no parto e período perinatal que foram adotadas de Jälevik *et al.* (2001b), e questões referentes a hábitos dietéticos e higiene oral. Não foram encontradas associações entre HMI e doenças e medicamentos durante a gestação, tipo de parto, doenças e uso de antibiótico no primeiro ano de vida. Constatou-se que HMI foi mais de duas vezes mais frequente em crianças prematuras do que em crianças nascidas a termo e que o risco de desenvolver HMI diminuiu com o aumento da idade gestacional e peso ao nascer (BROGARDH-ROTH *et al.*, 2011).

Em 2012, Ghanim *et al.* estudaram os possíveis fatores associados com a presença de HMI entre um grupo de 823 crianças iraquianas de sete a nove anos de idade. Utilizaram um questionário para determinar os possíveis fatores de risco sistêmicos e constataram que as seguintes condições de saúde foram significativamente associadas com o desenvolvimento da HMI: doenças da gravidez, incluindo hipotensão relacionada à anemia (OR 2,50; IC95%: 1,30-4,81), estresse psicológico (OR 3,24; IC95%: 1,33-7,88) e problemas de saúde no último trimestre gestacional (OR 6,92; IC95%: 3,64-13,17), ultra-sonografias realizadas mais de três vezes durante o último trimestre (OR 2,51; IC95%: 1,34-4,70), baixo peso ao nascimento (OR 3,87; IC95%: 1,30-4,81), complicações no parto (incluindo hipóxia) (OR 4,27; IC95%: 1,30-4,81), angústia respiratória (OR 3,89; IC95%: 1,04-14,56) e hipocalcemia neonatal (OR 4,12; IC95%: 1,09-15,47). A HMI foi significativamente mais provável de acontecer na sequência dos seguintes problemas de saúde: infecções pulmonares excluindo pneumonia (OR 2,28; IC95%: 1,02-5,10), combinação de doenças, incluindo infecções do ouvido, infecção no peito e febre alta inexplicável (OR 3,27; IC95%: 1,09-9,82), amigdalite (OR 4,0; IC95%: 1,32-12,11), febre alta inexplicável (OR 5,91; IC95%: 2,14-16,33) e pneumonia (OR 9,37;

IC95%: 2,71-32,34). Além disso, aumentaram a chance de ocorrência dos defeitos os seguintes fatores: uso de antibióticos durante o primeiro ano de vida (OR 3,17; IC95%: 1,60-6,27) e ordem de nascimento, com a criança nascida após o terceiro irmão ou mais apresentando maior chance de ocorrência dos defeitos (OR 3,17; IC95%: 2,04-4,93). A extensão da amamentação por mais de dois anos mostrou ter um papel protetor contra a HMI (OR 0,44; IC95%: 0,20-0,95).

Em 2014, Pitiphat *et al.* também estudaram a associação entre HMI e os fatores pré, perinatais e pós-natais. O estudo transversal foi conduzido com 282 crianças de sete a oito anos de idade, na Tailândia. A análise de regressão logística múltipla mostrou uma associação estatisticamente significativa entre a ocorrência de HMI e parto cesariana (OR ajustado = 2,0; IC95% = 1,1-3,7), complicações durante o parto vaginal (OR ajustado = 4,5; IC95% = 1,9-11,0) e doença grave/crônica nos primeiros três anos de vida (OR ajustado = 2,9; IC95% = 1,6-5,0). Constataram que crianças com complicações durante o parto normal, nascidas por parto cesariana e aquelas que tiveram doença grave/crônica nos primeiros três anos de vida apresentaram maior chance de ter HMI.

Apesar da literatura apontar vários possíveis fatores sistêmicos que podem estar associados à etiologia da HMI, é difícil estabelecer a importância relativa de cada um deles, principalmente pelo fato da maioria destes fatores ocorrerem concomitantemente nos primeiros anos de vida da criança.

No que se refere aos fatores socioeconômicos, alguns estudos investigaram sua associação com a ocorrência de defeitos de esmalte (ARROW, 2009; CASANOVA-ROSADO *et al.*, 2011; JEREMIAS *et al.*, 2013; WUOLLET *et al.*, 2014). No entanto, são escassos os estudos que foram específicos para HMI (JEREMIAS *et al.*, 2013; WUOLLET *et al.*, 2014).

Arrow (2009) realizou um estudo com 515 crianças australianas e não encontrou associação estatisticamente significativa entre a presença de opacidades demarcadas em dentes permanentes e a escolaridade materna.

Em 2011, Casanova-Rosado *et al.* visaram investigar se a presença de defeitos de desenvolvimento de esmalte (DDE) na dentição decídua é um fator de risco para DDE na dentição permanente, bem como os fatores socioeconômicos e

demográficos. Participaram do estudo 1.296 crianças mexicanas e para o diagnóstico dos defeitos de esmalte foi utilizado o *mDDE index*. De acordo com os resultados, condição socioeconômica não mostrou associação com DDE. Nos estudos específicos para HMI, também não foram encontradas associações estatisticamente significativas entre HMI e fatores socioeconômicos. Em um estudo realizado na cidade de Araraquara, SP, as variáveis renda familiar e escolaridade materna não mostraram associação com HMI (JEREMIAS *et al.*, 2013). Outro estudo conduzido com 818 crianças filandesas, com idades entre sete e treze anos, também não entrou associação entre renda familiar e HMI, usando a regressão logística binária (WUOLLET *et al.*, 2014).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a prevalência de HMI entre escolares de oito e nove anos da rede pública e privada de ensino da cidade de Lavras, MG, Brasil, além de investigar os possíveis fatores associados a esta condição.

3.2 Objetivos específicos

- Descrever a distribuição e a gravidade da HMI em primeiros molares e incisivos permanentes.
- Investigar a associação entre HMI e variáveis socioeconômicas e demográficas.
- Investigar a associação entre HMI e a presença de defeitos de esmalte no segundo molar decíduo.
- Investigar a associação entre HMI e a presença de cárie dentária nas dentições decídua e permanente.
- Investigar a associação entre HMI e a ocorrência de problemas de saúde pré-natais, perinatais e nos primeiros quatro anos de vida.
- Investigar a associação entre o tempo de aleitamento materno e HMI.

4 METODOLOGIA

4.1 Localização e delimitação do estudo

Foi realizado um estudo transversal na cidade de Lavras, localizada na região sudeste do Brasil, no sul do estado de Minas Gerais, no período de março a agosto de 2014. A população é de aproximadamente 92.171 habitantes e o Índice de Desenvolvimento Humano (IDH) é de 0,819 (IBGE, 2012).

4.2 População de estudo

A população do estudo foi composta por crianças de oito a nove anos de idade regularmente matriculadas no 3º e 4º anos do ensino fundamental nas escolas da rede pública e privada, das áreas urbana e rural de Lavras – MG. Na cidade, aproximadamente 99,6% das crianças de oito e nove anos estão matriculadas nos referidos anos (QEdu, 2013). O município de Lavras possui 34 escolas com ensino fundamental, sendo dez privadas e 24 públicas. Dentre as escolas públicas, cinco são estaduais, 14 municipais urbanas e cinco municipais rurais (SEE-MG, 2013). Segundo dados obtidos nas escolas da cidade, 2.329 alunos estavam regularmente matriculados no ano de 2014, sendo 1.770 (76%) e 559 (24%) nas redes pública e privada, respectivamente.

Inicialmente, a Secretaria Municipal de Educação do município, a Secretaria Estadual de Educação (SEE-MG) e todas as escolas privadas foram contatadas para esclarecimento e solicitação de autorização para realização da pesquisa (ANEXOS A-B). Após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos da Universidade Federal de Minas Gerais (COEP- UFMG) (ANEXO C), foram agendadas reuniões com a diretoria das escolas para explicar os objetivos da pesquisa e sua importância.

4.3 Cálculo amostral

O método utilizado para o cálculo amostral foi o de comparação entre duas proporções. Foram selecionadas as variáveis independentes que apresentavam maior associação com o defeito de esmalte, de acordo com a literatura consultada (ALALUUSUA, 2010; ARROW, 2009; BROGARDH-ROTH *et al.*, 2011; CROMBIE *et al.*, 2009; GHANIM *et al.*, 2012; GUERGOLETTE *et al.*, 2009; JALEVIK *et al.*, 2001b; WHATLING; FEARNE, 2008) e o cálculo amostral foi realizado separadamente para cada uma dessas variáveis (TAB. 2), usando o software Epi Info versão 6.0. A frequência da HMI nos expostos e não expostos foi obtida no estudo piloto, que precedeu o estudo principal. Utilizou-se o intervalo de confiança de 95% e poder de 80%. Após o cálculo, foi feita a correção para população finita e utilizado o n de maior valor ($n=1.157$).

TABELA 2

Cálculo da amostra (n) de acordo com as variáveis independentes.

Variáveis independentes	Prevalência nos Expostos (%)	Prevalência nos Não expostos (%)	Valor de n
Peso ao nascimento	44,5	21,1	125
Tratamento médico neonatal	14,3	25,4	791*
Aleitamento materno	34,8	5,9	192
Doenças na infância até os quatro anos	22,0	37,5	376
Pneumonia	45,5	21,8	234
Asma/bronquite	29,2	23,3	1118*
Uso de medicamentos	22,0	35,3	890
Uso de medicamento para Asma/bronquite	29,2	23,3	1118*
Histórico de internações	36,0	19,0	252
Internação por pneumonia	46,2	20,4	175
Febre alta (acima de 38.5° C)	27,1	21,1	1157*

*Com correção para população finita

O tamanho mínimo da amostra necessária para a pesquisa foi de 1.157 crianças. Com o objetivo de minimizar possíveis perdas durante o levantamento dos dados, o que poderia comprometer a representatividade, o tamanho da amostra foi aumentado em 20%. Deste modo, a amostra final foi:

$$n_{\text{final}} = 1.157 + 232 = 1.389$$

4.4 Seleção dos participantes

A seleção das crianças foi feita de forma aleatória estratificada, visando a obtenção de uma amostra representativa dos escolares na faixa etária entre oito e

nove anos, matriculados do 3º e 4º ano no ensino fundamental nas escolas da rede pública e privada de Lavras. A escolha da idade de oito e nove anos, quando geralmente todos os molares e incisivos estão erupcionados é considerada apropriada para esta avaliação. Além disso, nesta faixa etária há menor risco dos defeitos de esmalte ser mascarados por cáries ou restaurações (JÄLEVIK, 2010). Inicialmente foi calculada a distribuição percentual das crianças matriculadas nas escolas públicas e privadas, a fim de que o número de alunos avaliados fosse proporcional à população existente nestas redes de ensino, ou seja, 76% e 24% pertencessem a rede pública e privada, respectivamente.

Todas as escolas foram incluídas e as listas com os nomes dos alunos foram solicitadas em cada uma das turmas de 3º e 4º ano do ensino fundamental. Todos os alunos e suas respectivas mães foram convidados a participar da pesquisa. Para a aleatorização da amostra, cada aluno recebeu uma numeração e duas tabelas de números aleatórios, uma para escolas públicas e outra para escolas privadas, foram geradas utilizando-se o programa Epi Info versão 6.0. Os alunos que receberam um número correspondente àquele presente na tabela de números aleatórios foram avaliados de acordo com os critérios de elegibilidade do estudo e, se incluídos no estudo, foram examinados para diagnóstico de HMI, defeitos de esmalte no segundo molar decíduo e cárie dentária nas dentições decídua e permanente. Os demais alunos que não foram incluídos no estudo ou que não tinham um número correspondente ao gerado na lista também foram examinados para verificar a necessidade de tratamento odontológico e encaminhados aos serviços de saúde quando necessário.

Nos casos de questionários não respondidos ou incompletos e nos casos de ausência no dia do exame, foi feito sorteio com reposição, sendo sorteado outro aluno da mesma escola.

4.5 Critérios de elegibilidade

4.5.1 Critérios de inclusão

- Criança de oito e nove anos de idade, de ambos os sexos, matriculada no 3º ou 4º ano do ensino fundamental em escolas públicas e privadas de Lavras, MG;
- Criança com naturalidade lavrense e cuja gestação ocorreu em Lavras;
- Criança que apresentou todos os primeiros molares permanentes (4) e incisivos permanentes (8) totalmente irrompidos na cavidade bucal.

Foram considerados totalmente irrompidos os dentes que apresentaram a coroa totalmente visível no arco, livre de tecido gengival (EKSTRAND *et al.*, 2003).

4.5.2 Critérios de exclusão

- Criança com amelogênese imperfeita, dentinogênese imperfeita, manchas de tetraciclina, síndromes ligadas à má-formação de esmalte dentário;
- Criança com aparelhos ortodônticos fixos no momento do exame;

4.6 Elenco de variáveis

4.6.1 Variável dependente: Hipomineralização molar-incisivo.

Para o diagnóstico da HMI foram utilizados os critérios propostos pela Academia Europeia de Odontopediatria (EAPD) (WEERHEIJM *et al.*, 2003), expostos no QUADRO 1.

As crianças foram consideradas com a presença de HMI quando um ou mais primeiros molares permanentes, com ou sem o envolvimento dos incisivos, cumpriram os critérios de diagnóstico da EAPD (QUADRO 2).

QUADRO 1

Critérios utilizados para diagnóstico de HMI (WEERHEIJM *et al*, 2003)

Condição observada	Descrição
1. Opacidades demarcadas	Defeito demarcado envolvendo uma alteração na translucidez do esmalte, em graus variados. O esmalte defeituoso tem espessura normal, com superfície lisa e pode ser branco, amarelo ou marrom.
2. Fratura pós-irruptiva	Um defeito que indica perda do esmalte formado após a irrupção do dente. A perda é frequentemente associada a uma opacidade demarcada prévia.
3. Restauração atípica	O tamanho e a forma da restauração não são correspondentes a um preparo para remoção de cárie. Na maioria dos casos, molares tem restaurações estendidas para a superfície vestibular ou palatina. Nas margens das restaurações com frequência uma opacidade pode ser notada. Nos incisivos, uma restauração pode ser notada não relacionada a trauma.
4. Exodontia de molar por HMI	Suspeita-se de extração de um primeiro molar permanente (MP) devido à HMI quando: opacidades ou restaurações atípicas nos outros 1 ^{os} MPs combinadas com ausência de um 1 ^o MP; ausência de 1 ^o MP em uma dentição saudável em combinação com opacidades demarcadas nos incisivos. Não é comum encontrar incisivos extraídos devido à MIH.

QUADRO 2

Desmembramento e categorização da variável dependente HMI

Variável	Desmembramento	Categorização
Hipomineralização molar-incisivo	1.Opacidade demarcada 2.Fratura pós-irruptiva 3.Restauração atípica 4.Exodontia por HMI	a. Ausência de HMI; b. Presença de HMI (com opacidade demarcada, fratura pós-irruptiva, restauração atípica ou exodontia por HMI em pelo menos um 1º molar permanente).

4.6.2 Variáveis independentes

As variáveis independentes foram agrupadas de acordo com as características socioeconômicas e demográficas, fase de exposição a possíveis fatores associados (características pré-natais, perinatais e pós-natais) e características bucais (TAB.3).

TABELA 3

Identificação e categorização das variáveis independentes.

Variáveis independentes	Categorização
Características socioeconômicas demográficas	
Sexo da criança	1= masculino / 2= feminino
Idade da criança	1= 8 anos / 2= 9 anos
Escolaridade da mãe	1= > 8 anos de escolaridade / 2= ≤ 8 anos de escolaridade
Renda mensal familiar	1= Até 1 salário mínimo (SM) / 2= >1 SM a 2 SMs / 3= >2 SMs a 3 SMs / 4= > 3 SMs
Características pré-natais	
Pré-eclâmpsia	0= não / 1= sim
Uso de medicamento para evitar o parto prematuro	0= não / 1= sim
Uso de Paracetamol na gravidez	0= não / 1= sim
Características perinatais	
Prematuridade	0= não / 1= sim
Oxigenação sem entubação	0= não / 1= sim
Tempo de aleitamento materno	0= < 6 meses / 1= ≥ 6 meses
Características pós-natais (até os quatro anos de idade)	
Doenças	0= não / 1= sim
Pneumonia	0= não / 1= sim
Asma, bronquite	0= não / 1= sim
Uso de antibióticos	0= não / 1= sim
Uso de analgésicos	0= não / 1= sim
Uso de medicamentos para asma	0= não / 1= sim
Histórico de internação	0= não / 1= sim
Febre acima de 38,5 ^o C	0= não / 1= sim
Características bucais	
Cárie na dentição permanente	0= ausente (CPOD=0) / 1= presente (CPOD≥1)
Cárie na dentição decídua	0= ausente (ceod=0) / 1= presente (ceod≥1)
DDE nos 2 ^{os} molares decíduos	0= ausente / 1= presente (presença de opacidade difusa, opacidade demarcada ou hipoplasia em pelo menos um 2 ^o molar decíduo)

SM = salário mínimo, CPOD = dentes permanentes cariados, perdidos e obturados, ceod = dentes decíduos cariados, perdidos e obturados.

4.7 Coleta de dados

Foram enviadas às mães das crianças, cartas contendo o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (APÊNDICE A), para que as mesmas optassem livremente pela participação dela e de seu(a) filho(a) na pesquisa. O documento, no qual foi garantido o direito de não identificação dos participantes e de desistir a qualquer momento de participar do estudo, deveria ser assinado pelas mães e pelas crianças. Juntamente com o TCLE, foi enviado um questionário sobre história de saúde da criança (APÊNDICE B) e um questionário socioeconômico e demográfico (APÊNDICE C). Foram feitas três tentativas de coleta do TCLE e dos questionários nas escolas. A coleta de dados também incluiu o exame clínico bucal.

4.7.1 Exame Clínico

Os exames clínicos bucais foram conduzidos por um cirurgião-dentista previamente calibrado e seguindo os critérios da Organização Mundial de Saúde (OMS) para levantamentos epidemiológicos (WHO, 1997). Os exames foram conduzidos em ambiente escolar, estando os indivíduos sentados em uma cadeira, sob luz natural, utilizando-se gaze estéril, espátula de madeira, espelhos bucais, sonda periodontal “Ball point” e luvas descartáveis para cada examinado. Antes do exame, os dentes foram escovados pelas crianças com a supervisão do examinador e secos com gaze. O examinador ficou sentado de frente para o paciente, em posição ergonômica, de modo que tivesse visão direta de sua boca. Um assistente, previamente treinado, se posicionou ao lado do examinador e do paciente registrando na ficha clínica (APÊNDICE D) o que foi observado. Para o diagnóstico da HMI foram utilizados os critérios propostos pela Academia Europeia de Odontopediatria (EAPD) (WEERHEIJM *et al.*, 2003). Para classificar as crianças em portadoras ou não de HMI, foram consideradas as opacidades demarcadas maiores que, aproximadamente, 1,0mm de diâmetro (WHO,1997) e o diagnóstico diferencial entre opacidade e mancha branca de cárie foi baseado nos critérios de Seow (1997), ou seja, a lesão cariiosa sem cavitação é frequentemente associada à presença de placa bacteriana e localizada adjacente à margem gengival, se estendendo ao longo das superfícies vestibular ou lingual. As crianças foram

consideradas portadoras de HMI quando um ou mais primeiros molares permanentes, com ou sem o envolvimento dos incisivos, cumpriram os critérios de diagnóstico da EAPD.

As lesões foram subdivididas em brancas, amarelas e marrons (KOCH *et al.*, 1987). Em relação à gravidade de HMI, foi considerada com HMI leve aquela criança cujos dentes apresentavam somente opacidades demarcadas sem associação com necessidades de tratamento restaurador ou fratura de esmalte; com HMI moderada aquela com lesões ásperas e esmalte fraturado e com HMI grave as que apresentavam lesões rugosas de HMI com necessidades de tratamento atuais ou passadas, com perdas estruturais e restaurações atípicas (LEPPÄNIEMI *et al.*, 2001). Os segundos molares decíduos também foram examinados e os três tipos de defeitos de esmalte (opacidade difusa, opacidade demarcada e hipoplasia do esmalte) avaliados e classificados de acordo com os critérios do *modified Developmental Defects of Enamel Index* (mDDE) (FDI,1992) (ANEXO D). Além disso, as crianças também foram analisadas quanto às condições dentárias em ambas as dentições, de acordo com os códigos e os critérios da OMS (WHO, 1997). Estes dados foram registrados na ficha clínica (APÊNDICE D).

4.7.2 Questionário sobre história de saúde da criança (APÊNDICE B)

Um questionário autoaplicado foi enviado às mães por meio dos escolares, contendo questões sobre características pré-natais, perinatais e saúde da criança nos quatro primeiros anos de vida. O mesmo foi adaptado do questionário desenvolvido por Jalevik *et al.* (2001a) (ANEXO E). Como o mesmo foi desenvolvido na língua inglesa, suas medidas poderiam estar sujeitas à influência da cultura e dos conceitos de saúde prevalentes no país onde ele foi desenvolvido. Por isso, o questionário foi submetido à tradução e adaptação transcultural com base no protocolo proposto por Guillermin *et al.* (1993). O questionário foi inicialmente traduzido independentemente por dois tradutores, um brasileiro fluente na língua inglesa e um nativo da língua inglesa fluente em português, ambos com experiência em tradução de questionários de saúde. A versão em português do questionário foi modificada após avaliação do comitê de revisão composto por três especialistas em

Odontopediatria, com experiência em estudos epidemiológicos e validação de instrumentos/questionários relacionados à saúde bucal, fluentes em inglês e português. Além disso, a este questionário foram acrescentadas questões derivadas da literatura disponível sobre os supostos fatores etiológicos da HMI, como asma (GUERGOLETTE *et al.*, 2009) e febre alta (JONTELL; LINDE, 1986; WHATLING; FEARNE, 2008) nos quatro primeiros anos de vida da criança. A seguir, o questionário foi autoaplicado por 30 mães de crianças de oito a nove anos atendidas na Clínica Infantil do Centro Universitário de Lavras. As mesmas responderam o questionário pela segunda vez com intervalo de 15 dias, completando o primeiro teste-reteste. Para avaliar a reprodutibilidade foi utilizado o teste Kappa. Com base nos resultados, foram feitas adaptações em algumas perguntas do questionário, que não apresentaram reprodutibilidade satisfatória, de acordo com as sugestões do comitê de revisão. As adaptações foram feitas levando-se em consideração também as perguntas que as mães tiveram maior dificuldade para responder, ou perguntas e/ou palavras que causaram dúvidas no momento do preenchimento do questionário.

Após as adaptações, um segundo teste-reteste foi realizado da mesma forma que o primeiro, sendo que as 30 mães participantes desta etapa foram diferentes daquelas que participaram no primeiro momento. Após análise dos resultados, apenas uma questão foi modificada pelo comitê de revisão e o questionário chegou a sua versão final. Esta versão final foi testada no estudo piloto. As perguntas referentes ao uso de antibiótico (Kappa=0,56) e a ocorrência de gripes e resfriados nos primeiros quatro anos de vida (Kappa= 0,55) obtiveram valores de Kappa abaixo de 0,6. As demais perguntas obtiveram valores de Kappa de 0,62 a 1. Após análise do comitê de revisão decidiu-se que não havia necessidade de mais adaptações no questionário. Os passos deste processo estão apresentados no fluxograma (FIG.1).

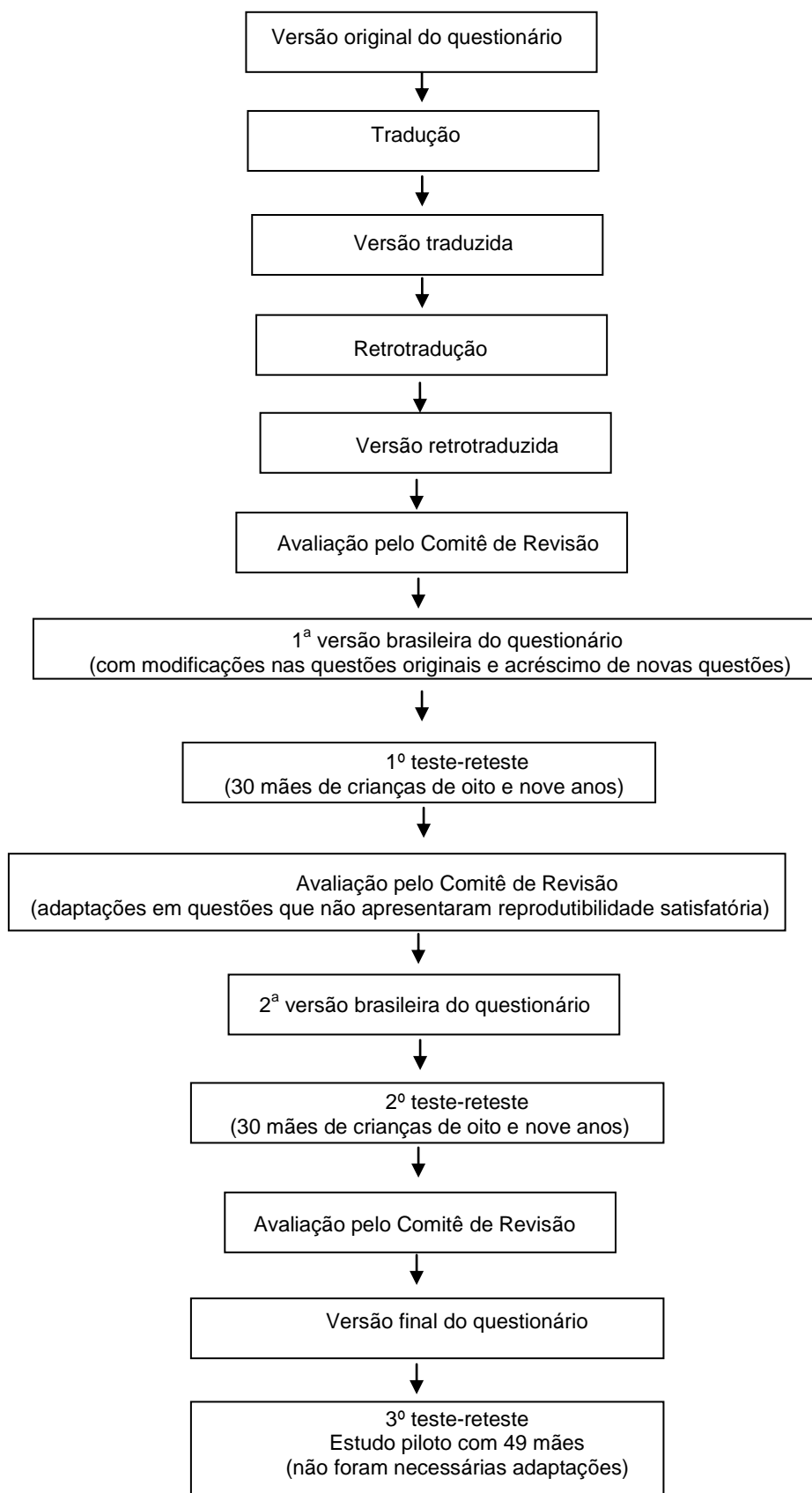


FIGURA 1- Fluxograma do processo de adaptação transcultural e avaliação da reprodutibilidade do questionário.

4.7.3. Questionário socioeconômico e demográfico

Os dados pessoais e socioeconômicos foram coletados através de um questionário que foi preenchido pelas mães (APÊNDICE C). Com o objetivo de categorizar a condição socioeconômica da população estudada, foi considerado o padrão das variáveis definido pela Pesquisa Nacional de Amostra de Domicílios (PNAD) (IBGE, 2006). Foram consideradas as seguintes variáveis: renda mensal familiar e escolaridade da mãe. A escolaridade da mãe foi avaliada por meio do número de anos de estudo e a renda familiar mensal foi obtida a partir da soma de todos os rendimentos informados de seus membros no mês de referência (o mês anterior ao preenchimento do questionário).

4.8 Calibração do examinador

Antes do exame, o único examinador (LFPGT) foi treinado, com o auxílio de um *expert* para identificar a HMI em dentes permanentes e os DDE em dentes decíduos.

A calibração foi realizada em três etapas: treinamento e discussão dos critérios de diagnóstico, avaliação de fotografias e exames clínicos. A etapa teórica envolveu a discussão dos critérios de diagnóstico utilizando-se fotografias clínicas com os defeitos de esmalte. A análise de fotografias foi feita em duas ocasiões, com um intervalo de duas semanas entre as sessões. Foram avaliadas fotografias clínicas de 183 dentes decíduos e permanentes que apresentavam defeitos de esmalte (FDI, 1992), abrangendo todos os graus de HMI, fluorose, hipoplasia e amelogenese e também dentes hígidos. As concordâncias intra- e interexaminador (entre o examinador e o *expert*) foram testadas obtendo-se valores de Kappa acima de 0,78 e 0,84 para DDE e HMI, respectivamente.

Em seguida, foi realizado o exame clínico de 30 crianças, de oito e nove anos de idade, atendidas na Clínica de Odontopediatria da UFMG, que foram examinadas em dois momentos com intervalo de 15 dias. O teste *Kappa* foi utilizado para verificar a concordância intra e interexaminadores (entre o examinador e o *expert*), mostrando valores de 0,85 a 0,93 para DDE e de 0,85 a 1,00 para HMI.

Além disso, o único examinador foi calibrado para avaliação das condições dentárias utilizando-se os índices CPOD (dentes permanentes cariados, perdidos e obturados) e ceod (dentes decíduos cariados, perdidos e obturados). A concordância intra-examinador foi avaliada, obtendo-se valores de Kappa de 0,94 e 0,96 para ceod e CPOD, respectivamente.

4.9 Estudo piloto

O estudo piloto foi conduzido em uma escola pública escolhida por conveniência para testar o método e os instrumentos para a coleta de dados. O estudo envolveu 67 crianças e suas mães, que não fizeram parte do estudo principal. As crianças foram submetidas a exame clínico bucal e as mães responderam a um questionário autoaplicável em duas ocasiões, com intervalo de 15 dias, para avaliação da confiabilidade teste-reteste através do teste Kappa.

4.10 Aspectos éticos

Conforme resolução do Conselho Nacional de Saúde (CNS), de 10 de outubro de 1996, o projeto de pesquisa foi submetido à análise e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Minas Gerais, sob o parecer nº 119.250. Após aprovação, procedeu-se a realização do estudo. Uma vez identificada necessidade de tratamento odontológico, os indivíduos foram encaminhados para o Centro Universitário de Lavras – UNILAVRAS ou para os Centros de Saúde Pública do município de Lavras, MG.

4.11 Análise estatística

A análise estatística foi conduzida utilizando-se o software STATA versão 12.0 (Stata Corporation, College Station, USA). A associação entre a variável dependente HMI e as variáveis independentes foi verificada a partir do teste qui-quadrado, considerando-se como significativos valores de $p < 0,05$.

A análise de regressão de Poisson com variância robusta foi feita para a análise dos fatores associados com HMI. A magnitude de cada associação foi avaliada utilizando-se a razão de prevalência não ajustada e ajustada (RP), respectivos intervalos de confiança (IC) de 95% e valor de p (Wald test). As variáveis independentes foram agrupadas de acordo com as características socioeconômicas e demográficas, fase cronológica de exposição a possíveis fatores associados (características pré-, perinatais e pós-natais) e características bucais (FIG. 2).

Inicialmente, foram realizadas regressões univariadas a fim de se verificar as medidas do efeito de cada uma das variáveis independentes em relação à presença de HMI com estimativa da RP bruta e IC de 95%. Para ajuste do modelo múltiplo final, foram incluídas as variáveis associadas com HMI com valor de $p \leq 0,20$ ou que apresentassem uma relevância teórica. No modelo final ajustado, permaneceram as variáveis associadas à HMI com valor de $p < 0,05$ e as variáveis que melhoraram o ajuste do modelo. Foram obtidos os valores das razões de prevalência (RP) e intervalos de confiança de 95%.

5 ARTIGO CIENTÍFICO*

Title

Association between Molar Incisor Hypomineralization in Schoolchildren and both Prenatal and Postnatal Factors: A Population-Based Study

Luciana Fonseca Pádua Gonçalves Tourino^{1*}, Patrícia Corrêa-Faria², Raquel Conceição Ferreira³, Cristiane Baccin Bendo Neves², Patrícia Maria Zarzar², Miriam Pimenta Vale²

¹Department of Pediatric Dentistry, Centro Universitário de Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil

²Department of Pediatric Dentistry and Orthodontics, School of Dentistry, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

³ Department of Public Oral Health, School of Dentistry, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

***Corresponding author:**

Luciana Fonseca Pádua Gonçalves Tourino

R. José dos Reis Vilela, 161, apto 301, Centro

CEP: 37200-000, Lavras, MG, Brazil.

Phone number: +55 35 38261445

E-mail: lucianapaduatourino@yahoo.com.br

* Artigo submetido ao periódico *PLOS ONE* (ANEXO F)

(Fator de impacto: 3,234, Qualis CAPES: A1)

Abstract

Background: Although studies throughout the world have investigated potential factors involved in the occurrence of molar incisor hypomineralization (MIH), the findings are varied and inconclusive.

Objective: The aim of the present study was to evaluate the prevalence of MIH and identify associated prenatal, perinatal and postnatal factors among Brazilian schoolchildren aged eight and nine years.

Methods: A cross-sectional study was conducted with a randomly selected population-based sample of 1181 schoolchildren. Information on demographic and socioeconomic characteristics as well as prenatal, perinatal and postnatal aspects was obtained through questionnaires. The clinical examination included the investigation of MIH based on the criteria of the European Academy of Paediatric Dentistry. Dental caries in the permanent dentition and developmental defects of enamel (DDE) on the primary second molars were also recorded. Data analysis involved descriptive statistics, bivariate tests and Poisson regression with robust variance.

Results: The prevalence of MIH was 20.4%. MIH was more frequent among children with dental caries in the permanent dentition (PR: 2.67; 95% CI: 1.98-3.61), those with DDE on the primary second molars (PR: 2.54; 95% CI: 1.87-3.45) and those who experienced asthma/bronchitis in the first four years of life (PR: 1.93; 95% CI: 1.45-2.56).

Conclusions: The prevalence of MIH was high and associated with the experience of asthma/bronchitis in early life, the presence of DDE on primary second molars and dental caries. These findings could be useful in the identification of children in need

of shorter recall intervals to prevent the consequences of MIH, such as enamel breakdown and dental caries.

Introduction

Molar incisor hypomineralization (MIH) is characterized by asymmetric opacities of a systemic origin that affect one to four permanent first molars and can affect the permanent incisors [1]. Affected teeth exhibit well-defined, white, cream-colored, yellow or brown opacities on the enamel, varying in extent and severity. In more severe cases, the enamel of the molars undergoes post-eruptive breakdown, which facilitates the development of dental caries [2].

According to epidemiological studies, the prevalence of MIH ranges from 2.5% among Chinese children [3] to 37.3% among Danish children [4], depending on the country and the age of the subjects. Among Brazilian children, the prevalence rate of MIH ranges from 12.3% to 40.2% [5-7].

The etiology of MIH is related to complications during the mineralization period of the permanent first molars and incisors. The mineralization of these teeth begins at the end of the gestation period and is completed throughout the first four years of life. Thus, abnormalities in this period are related to the occurrence of MIH [8]. Such abnormalities include premature birth and low birth weight [9-11], hypocalcaemia [11] and diseases such as chicken pox [12] and asthma [13] as well as frequent episodes of fever in early childhood [11].

Although many studies around the world have investigated potential factors involved in the occurrence of MIH, the findings have been varied and inconclusive [8-15]. This is due to the fact that the many factors are highly correlated and the majority of studies fail to control for confounding variables in the statistical analyses [8, 10, 12, 13, 15]. Moreover, previous studies have emphasized that MIH can lead to a set of

problems, such as post-eruptive enamel breakdown, rendering the tooth susceptible to caries [2], extreme hypersensitivity that often results in severe discomfort [16] and aesthetic concerns when the incisors are affected [2]. Thus, such patients have a greater need for clinical interventions [5] and dentists face considerable challenges providing restorative treatment for hypomineralized molars [17].

Knowledge on factors associated with the etiology of MIH can contribute to the identification of children who are more prone to this condition as well as the establishment of preventive measures and specific treatment. However, few population-based studies have addressed prenatal, perinatal and postnatal factors associated with the occurrence of MIH in Brazilian children [18]. Thus, the aim of the present study was to describe the prevalence of MIH among Brazilian children aged eight and nine years and investigate potential associated prenatal, perinatal and postnatal factors.

Material and Methods

Study area and design

A population-based, cross-sectional study was conducted from March to September 2014 with a representative sample of schoolchildren aged eight and nine years in the city of Lavras, which is located in the state of Minas Gerais (southeast Brazil). This city has 92,171 inhabitants and the Human Development Index is 0.819 [19]. The natural level of fluoride in the rural community water is below 0.1 ppm/F and the ion concentration in the urban community water after fluoridation is 0.7 ppm/F.

Sampling procedure

Participants were selected from children attending the 3rd and 4th grades at 10 private and 24 public primary schools in both urban and rural areas of Lavras. The method used to calculate the sample size was the comparison of two proportions, with

correction for a finite population. A pilot study was conducted to determine the frequency of MIH between exposed and unexposed individuals. The sample size was calculated for each of the key independent variables (birth weight, neonatal medical care, breastfeeding duration, illnesses, pneumonia, asthma/bronchitis, use of medication, history of hospitalization and fever higher than 38.5 °C in the first four years of life), considering an 80% test power and 5% significance level. The largest n value was used (n = 1157). Thus, the minimum sample size was estimated to be 1157 children, to which 20% was added (n = 1389) to compensate for possible dropouts.

The selection of children was randomized and stratified by type of school (public or private) to ensure the representativeness of the sample. The Epi Info program (version 6.0) was used for the randomization procedure. In cases of refusals to participate, incomplete questionnaires and absence from school on the day of the exam, a replacement randomization procedure was performed. For such, a child from the same classroom was randomly selected.

The inclusion criteria were children eight and nine years who were lifelong residents of the city of Lavras and had all permanent incisors and first molars fully erupted. Children with syndromes connected to enamel malformations, those with amelogenesis imperfecta and children wearing fixed orthodontic appliances were excluded.

Calibration of the examiner

Prior to the clinical examination, the single examiner (LFPGT) was trained by an experienced pediatric dentist (gold standard) to identify MIH in the permanent dentition and developmental defects of enamel (DDE) in the primary dentition. The training and calibration exercise consisted of three stages. The theoretical step

involved a discussion of the criteria for the diagnosis of the enamel defects investigated [1, 20]. The second stage involved the analysis of photographs on two occasions with a two-week interval between sessions. Clinical photographs of 183 primary and permanent teeth with enamel defects covering all degrees of MIH, fluorosis, hypoplasia and amelogenesis were evaluated, along with sound teeth. Data analysis involved the calculation of Kappa coefficients. Inter-examiner (between examiner and gold standard) and intra-examiner agreement was tested (Kappa = 0.78 to 0.97 and 0.84 to 1.00 for DDE and MIH, respectively).

Clinical examinations were performed on 30 children aged eight and nine years on two occasions with a two-week interval between examinations. The intra-examiner and inter-examiner Kappa coefficients were 0.85 to 1.00 and 0.80 for MIH, respectively, and 0.86 to 1.00 and 0.97 for DDE, respectively. Moreover, the single examiner was trained and calibrated for the diagnosis of dental caries in the permanent dentition using the criteria of the World Health Organization (WHO) [21]. For such, intra-examiner agreement was determined (Kappa = 0.96).

Clinical oral examination

The children were examined in the school setting following the WHO guidelines [21] under natural light outdoors by a single calibrated examiner and a trained assistant, who recorded the observations. Prior to the exam, the teeth were brushed by the children under the supervision of the examiner. The teeth were dried with sterile gauze and the clinical examination was performed with disposable tongue depressors, standard mouth mirrors and probes. During the exam, the child remained seated in front of the examiner.

The criteria proposed by the European Academy of Paediatric Dentistry (EAPD) [1] were used for the diagnosis of MIH, which include the presence of

demarcated opacities, post-eruptive enamel breakdown, atypical restorations and extraction due to MIH in at least one first permanent molar. Demarcated opacities with a diameter of < 1 mm were not considered in the analysis [21].

The primary second molars were also examined for three types of enamel defects (demarcated opacities, diffuse opacities and hypoplasia) and were classified based on the criteria of the modified Index of Developmental Defects of Enamel [20]. Teeth with up to two thirds of the crown restored and those with deep caries or fractures were not considered and received a classification of “not recorded”. DDE was recorded if the child had at least one primary second molar with an enamel defect.

Dental caries experience was recorded using the WHO criteria for diagnosis of decayed, missing and filled teeth (DMFT Index) [21]. The examination for dental caries included all permanent teeth.

Questionnaires

A self-administered questionnaire adapted from Jälevik *et al.* [15] was sent to the mothers and addressed questions regarding prenatal, perinatal and health characteristics of the child in the first four years of life. As the questionnaire was originally drafted in English, it was submitted to translation and cross-cultural adaptation based on the protocol proposed by Guillermin *et al.* [22]. The Portuguese version of the questionnaire was modified after the evaluation of a review board. Moreover, questions derived from the available literature on supposed etiological factors of MIH, such as asthma [13] and high fever [11] in the first four years of the child's life, were added to the questionnaire. The questionnaire was then self-administered by 30 mothers who accompanied their children during routine visits to the dental office. The same mothers answered the questionnaire a second time after

a 15-day interval (first test-retest). Test-retest reliability was determined using the Kappa coefficient. Based on the findings, the review board made changes to some of the questions that did not demonstrate satisfactory reproducibility and those the mothers had difficulties answering. After these changes, a second test-retest was performed in the same way as the first, but with 30 mothers who did not participate in the first test-retest. After an analysis of the findings, only one question was changed by the review board and the final version of the questionnaire was tested in a pilot study.

A questionnaire addressing socioeconomic indicators (monthly household income and mothers' schooling), child's sex and age was also sent to the mothers.

Independent variables were grouped according to socioeconomic and demographic characteristics, chronological phase of exposure to possible associated factors (prenatal, perinatal and postnatal characteristics) and oral characteristics (Table 1).

Pilot study

The study methods, dental examinations, administration of the questionnaire and preparation of the examiner were tested in a pilot study with a convenience sample of 67 children and their mothers who were not included in the main study. Among these 67 mothers, 49 completed the questionnaire on two occasions with a two-week interval between sessions. Test-retest reliability of the questionnaire was determined using the Kappa coefficient. Questions addressing the use of antibiotics (Kappa = 0.56) and the occurrence of influenza and colds in the first four years of life (Kappa = 0.55) achieved Kappa coefficients below 0.6. All other questions achieved Kappa coefficients ranging from 0.62 to 1.00. Following the analysis of the review

board, there was no need for further changes to the questionnaire. Moreover, no changes to the assessment tools or proposed methodology were deemed necessary.

Ethics statement

This study was approved by the Human Research Ethics Committee of the Federal University of Minas Gerais, Brazil (reg. nº 10659812.0.0000.5149). Written statements of consent were read and signed by mothers and children prior to their participation in the study.

Data analysis

Statistical analysis was performed using the STATA program version 12.0 (Stata Corporation, College Station, USA). The chi-square test was used to determine associations between the dependent variable (MIH) and the independent variables ($p < 0.05$). Poisson regression with robust variance was performed for the analysis of factors associated with MIH. The magnitude of each association was assessed using crude and adjusted prevalence ratios (PRs), respective 95% confidence intervals (CIs) and p-values (Wald test). Univariate regressions were first performed to determine the effect measure of each of the independent variables in the presence of MIH. For the adjustment of the final multiple model, variables were introduced into the model based on their statistical significance ($P \leq 0.20$) and/or clinical epidemiological importance. In the adjusted final model, variables associated with MIH ($P < 0.05$) and those that improved the fit of the model were considered significantly associated with the outcome and remained in the model. PRs and respective 95% CIs were calculated. Ratio ratios (PRs) and 95% confidence intervals (CIs) were calculated.

Results

A total of 1181 children participated in the study (response rate: 85.0%). Two hundred and forty one children (20.4%) were affected with MIH. The male-to-female ratio was 1:1.03. Nearly half of the children (47.1%) lived in families with a household income greater than two times the Brazilian monthly minimum wage, which corresponded to nearly US\$ 252 at the time of the data collection. Table 1 displays the results of the associations between MIH and demographic, socioeconomic, prenatal, perinatal, postnatal and oral health variables in the univariate regression models. MIH was significantly associated with oxygenation without intubation at birth ($p = 0.009$) as well as the occurrence of illnesses ($p = 0.008$), pneumonia ($p = 0.006$), asthma and/or bronchitis ($p < 0.001$), hospitalization ($p = 0.029$) and the use of antibiotics ($p = 0.025$) in the first four years of life. Caries experience in the permanent dentition ($p < 0.001$) and DDE on primary second molars ($p < 0.001$) were associated with MIH. No significant associations were found between MIH and household income or mother's schooling.

Table 1. Frequency distribution of MIH and crude prevalence ratio according socioeconomic, demographic, prenatal, perinatal, postnatal and oral characteristics ($n=1181$).

	Absence of MIH n (%)	Presence of MIH n (%)	Crude PR (95% IC)	<i>p</i> -value
Socioeconomic and demographic characteristics				
Child's sex			1	
Male	466 (80,1%)	116 (19,9%)		
Female	474 (79,1%)	125 (20,9%)	1.04 (0.81-1.35)	0.722*
Mother's schooling ^a				
>8 years	436 (77,6%)	126 (22,4%)	1	
≤8 years	448 (82,9%)	98 (17,9%)	0.80 (0.61-1.04)	0.099*
Monthly household income ^b				
Up to minimum wage	159 (79,9%)	40 (20,1%)	1	
>1 to 2 times minimum wage	274 (79,4%)	71 (20,6%)	1.02 (0.69-1.51)	0.905*
>2 to 3 times minimum wage	210 (79,2%)	55 (20,8%)	1.03 (0.69-1.55)	0.878*
>3 times minimum wage	175 (79,5%)	45 (20,5%)	1.02 (0.66-1.56)	0.936*
Prenatal characteristics				
*Pre-eclampsia ^c				
No	903 (79,9%)	227 (20,1%)	1	
Yes	33 (71,7%)	13 (28,3%)	1.41 (0.80-2.46)	0.231*
*Use of medication to avoid premature birth ^c				
No	878 (80,3%)	215 (19,7%)	1	
Yes	49 (70,0%)	21 (30,0%)	1.53 (0.97- 2.39)	0,065*
*Use of paracetamol ^c				
No	868 (80,4%)	212 (19,6%)	1	
Yes	59 (71,1%)	24 (28,9%)	1.47 (0.97-2.25)	0,072*
Perinatal characteristics				
Premature birth ^c				
No	865 (80,4%)	211 (19,6%)	1	
Yes	72 (71,3%)	29 (28,7%)	1.46 (0.99-2.16)	0.054*
Oxygenation without intubation ^c				
No	927 (79,5%)	229 (19,9%)	1	
Yes	13 (86,7%)	12 (42,9%)	2.16 (1.21-3.86)	0.009*
Postnatal characteristics				
Breastfeeding duration ^c				
<6 months	372 (77,0%)	111 (23,0%)	1	
≥6 months	568 (81,4%)	130 (18,6%)	0.81 (0.60-1.04)	0,068*
Illnesses up to 4 years of age ^c				
No	278 (85,3%)	48 (14,7%)	1	
Yes	660 (77,4%)	193 (22,6%)	1.54 (1.12-2.11)	0.008*
Pneumonia ^c				
No	824 (81,0%)	193 (19,0%)	1	
Yes	114 (70,4%)	48 (29,6%)	1.56 (1.14-2.14)	0.006*
Asthma/bronchitis ^c				
No	665 (84,3%)	124 (15,7%)	1	
Yes	271 (69,8%)	117 (30,2%)	1.92 (1.49-2.47)	<0.001*
Use of antibiotics ^c				
No	425 (83,0%)	87 (17,0%)	1	
Yes	514 (77,1%)	153 (22,9%)	1.35 (1.04-1.76)	0.025*
Use of analgesics ^c				
No	459 (82,1%)	100 (17,9%)	1	
Yes	480 (77,4%)	140 (22,6%)	1.26 (0.98-1.63)	0.075*
Use of medication for asthma ^c				
No	663 (84,0%)	126 (16,0%)	1	
Yes	274 (70,4%)	115 (29,6%)	1.85 (1.44-2.38)	<0.001*
History of hospitalization				
No	701 (81,42%)	160 (18,6%)	1	
Yes	236 (74,9%)	79 (25,1%)	1.35 (1.03-1.77)	0.029*
Fever higher than 38.5 ^o C				
No	334 (82,1%)	73 (17,9%)	1	
Yes	592 (78,5%)	162 (21,5%)	1,20 (0.91-1.58)	0.200*
Oral characteristics				
Carries experience in permanent dentition (DMFT≥1)				
No	746 (87,8%)	104 (12,2%)	1	
Yes	194 (58,6%)	137 (41,4%)	3.38 (2.62-4.36)	<0.001*
DDE in 2 nd primary molars ^d				
No	648 (89,4%)	77 (10,6%)	1	
Yes	244 (61,3%)	154 (38,7%)	3.64 (2.77-4.79)	<0.001*

PR, prevalence ratio; CI, confidence interval. Bold type denotes statistically significant difference ($P<0.05$)

Table 1. Continuation.

*Chi-square test ($P,0.05$)^aMother's schooling: data missing from 73 subjects (6,18%).^bHousehold income: data missing from 152 subjects (12,87%).^cNumber differs from total subjects due to some mothers had marked "unknown" option in the questionnaire question.^dDDE in second primary molars: data missing from 58 subjects due to this children had received the classification of "not recorded" or "missing" for all these teeth.

After adjusting the model for child's sex, household income, mother's schooling and oxygenation without intubation, the following variables remained associated with MIH: caries in the permanent dentition (PR: 2.67; 95%CI: 1.98 to 3.61), DDE on the primary second molars (PR: 2.54; 95%CI: 1.87 to 3.45) and the experience of asthma and/or bronchitis in the first four years of age (PR: 1.93; 95%CI: 1.45 to 2.56) (Table 2).

Table 2. Prevalence ratio and confidence interval for associations between MIH and independent variables (n = 1181)

	Crude PR	95%CI	p	Adjusted PR *	95%CI	p
<i>Caries in permanent dentition</i>						
No	1	-		1	-	
Yes	3.38	2.62-4.36	<0.001	2.67	1.98-3.61	<0.001
<i>DDE on primary 2nd molars</i>						
No	1	-		1	-	
Yes	3.64	2.77-4.79	<0.001	2.54	1.87-3.45	<0.001
<i>Asthma and/or bronchitis up to 4 years of age</i>						
No	1	-		1	-	
Yes	1.92	1.49-2.47	<0.001	1.93	1.45-2.56	<0.001

Model adjusted for sex, household income, mother's schooling and oxygenation without intubation

* Poisson regression

Discussion

The prevalence of MIH in the present study was 20.4%, which is comparable to rates reported in recent studies conducted in Iraq [11] and Spain [23], but higher than rates reported in studies involving Chinese and German children [3, 24]. These variations can be explained by ethnic differences and difference in the age of the children. In Brazil, the first study on MIH conducted with children aged seven to 13 years reported a prevalence rate of 40.2% [7]. Two previous studies from Brazil [5-6] were conducted with children aged six to 12 years and have reported prevalence rates of 19.8% and 12.3%, respectively. In the present study, the choice of age group (eight and nine years), when all molars and incisors are generally erupted, is considered appropriate for the evaluation of MIH [25] because this age group diminishes the risk of enamel defects being masked by dental caries or restorations. To ensure consistency in the evaluation of MIH, the examinations were performed by a single examiner who had undergone a training and calibration exercise. Moreover, the children randomly selected, with the inclusion of both types of schools (public and private) in both urban and rural areas, which ensured the representativeness of the sample.

No statistically significant associations were found between the occurrence of MIH and mother's schooling or household income (socioeconomic indicators), which is in agreement with data described in previous studies [6, 9, 26]. According to a Finnish birth cohort study, mother's socioeconomic status had no significant direct impact on the prevalence of asthma [27], which was associated with the occurrence of MIH in the present study. The finding that asthma and/or bronchitis in early childhood are associated with the occurrence of MIH in the permanent dentition is in agreement with data described in previous studies [13-15]. A case-control study involving 136 Brazilian children and adolescents (68 asthma patients and 68

controls) aged five to 15 years demonstrated that asthma patients had a greater chance of having enamel defects than those without asthma and the enamel defects were not associated with the onset of treatment or the frequency of medication use [13]. However another investigation reported no association between MIH and asthma [12], which may be explained by the smaller sample size in the study. The process of enamel formation is genetically controlled, but sensitive to environmental disturbances [28]. A shortage in the supply of calcium phosphate and oxygen [29] as well as sustained fever [30] can disrupt the normal process of amelogenesis. Thus, one may put forth the hypothesis that previous episodes of oxygen deprivation could have occurred in children with asthma and/or bronchitis, which could have had detrimental effects on amelogenesis. Thus, enamel defects may be associated to the condition itself rather than its treatment [13].

The use of medication to avoid a premature birth, the use of paracetamol/acetaminophen during pregnancy, premature birth and oxygenation without intubation at birth were not associated with MIH. These findings differ from data reported in previous studies, which found that prenatal [11] and perinatal health conditions [11, 14] were significantly more likely to be associated with the development of MIH. Such divergences may have occurred due to the fact that premature infants may be more likely to require intubation and have asthma than full-term infants [31].

In the present study, MIH in children with dental caries experience in the permanent dentition was more than twice as frequent in comparison to those without dental caries, which is in agreement with findings described in previous studies [5, 14, 24]. This may at least partially be explained by the fact that hypomineralized molars can undergo post-eruptive enamel breakdown, which can result in atypical

cavities, requiring extensive restorative treatment or rendering the tooth susceptible to caries. Moreover, such children may be reluctant to perform effective oral hygiene due to hypersensitivity [2].

An association was found between MIH in the permanent dentition and DDE on the primary second molars, which is consistent with data described in previous studies [24, 26]. In a study involving 809 Iraqi children aged seven to nine years, 53 subjects (6.6%) were diagnosed with at least one hypomineralized primary second molar. Among these 53 subjects, 21 (39.6%) also had hypomineralized permanent first molars, although the association did not achieve statistical significance, most likely due to the small sample size used for demarcated lesions. This Iraqi study used criteria adapted from the EAPD for diagnosing MIH in the primary dentition [32].

The present findings should be evaluated with caution. The cross-sectional design only allows the determination of factors associated with MIH and does not permit the establishment of causality. Furthermore, this study was limited by the retrospective collection of exposure information. Although mothers pay considerable attention to their children in the first years of life, it can be difficult for them to remember health problems that affected their children eight and nine years earlier. Attempts were made to minimize recall bias using several methods: the mothers were unaware of the diagnosis of MIH when they completed the questionnaire; the questionnaire had been cross-culturally adapted and the test-retest reliability had been evaluated prior to the study; and the examiner was unaware of the medical history of the children at the time of the dental examination.

The association between MIH and asthma experience in the first four years of life underscores the importance of a multidisciplinary approach. Pediatricians should be aware that children with asthma are more prone to MIH and alert parents to the

need for greater oral health care for such children. Pediatric dentists should also have knowledge regarding the general health of their patients to prevent and control possible future threats to the dentition of children with asthma. Moreover, the identification of the association between MIH and enamel defects on primary second molars could contribute to the control of MIH. From the diagnosis of enamel defects on primary second molars, dentists could establish smaller recall intervals. This approach would enable treatment in the early stages of the disease, thereby minimizing future sensitivity and discomfort, assisting in the establishment of oral hygiene measures and controlling for other factors associated with dental caries, as this study has shown that MIH is associated with a higher prevalence rate of dental caries. Nonetheless, prospective studies are needed to assist in clarifying risk factors for the occurrence of MIH, which, in turn, could provide better estimates of the associations.

Conclusions

The prevalence of MIH was high in the present sample. The occurrence of MIH was more frequent in children who had asthma experience in the first four years of life, those with enamel defects on primary second molars and those with caries experience in the permanent dentition, even after controlling for potential confounding factors. Smaller recall intervals should be established for children with asthma experience in the first four years of life and enamel defects on primary second molars to prevent the consequences of MIH, such enamel breakdown and dental caries.

Acknowledgements

We should like to acknowledge Dr. Jälevik's contribution by send us the questionnaire medical health used in the Swedish study.

References

- 1 Weerheijm KL, Duggal M, Mejàre I, Papagiannoulis L, Koch G, Martens LC et al. Judgement criteria for molar incisor hypomineralization (MIH) in epidemiologic studies: a summary of the European meeting on MIH held in Athens, 2003. *Eur J Paediatr Dent*. 2003; 4: 110–113.
- 2 Weerheijm, KL. Molar incisor hypomineralization (MIH): clinical presentation, aetiology and management. *Dent Update*. 2004; 31: 9–12.
- 3 Cho SY, Ki Y, Chu V. Molar incisor hypomineralization in Hong Kong Chinese children. *Int J Paediatr Dent*. 2008; 18: 348–352.
- 4 Wogelius P, Haubek, D.; Poulsen, S. Prevalence and distribution of demarcated opacities in permanent 1st molars and incisors in 6 to 8-year-old Danish children. *Acta Odontol Scand*. 2008;66: 58-64.
- 5 Costa-Silva CM, Jeremias F, de Souza JF, Cordeiro RDCL, Santos-Pinto L, Zuanon ACC. Molar incisor hypomineralization: prevalence, severity and clinical consequences in Brazilian children. *Int J Paediatr Dent*. 2010; 20: 426–434.
- 6 Jeremias F, de Souza JF, Silva CM, Cordeiro RC, Zuanon AC, Santos-Pinto L. Dental caries experience and Molar-Incisor Hypomineralization. *Acta Odontol Scand*. 2013; 71: 870–876.
- 7 Soviero V, Haubek D, Trindade C, da Matta T, Poulsen S. Prevalence and distribution of demarcated opacities and their sequelae in permanent 1st molars and incisors in 7 to 13-year-old Brazilian children. *Acta Odontol Scand*. 2009; 67: 170–175.
- 8 Beentjes VE, Weerheijm KL, Groen HJ. Factors involved in the aetiology of molar-incisor hypomineralisation (MIH). *Eur J Paediatr Dent* 2002; 3: 9–13.

- 9 Arrow P. Risk factors in the occurrence of enamel defects of the first permanent molars among schoolchildren in Western Australia. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2009; 37: 405–415.
- 10 Brogardh-Roth S, Matsson L, Klingberg G. Molar-incisor hypomineralization and oral hygiene in 10- to- 12-yr-old Swedish children born preterm. *Eur J Oral Sci.* 2011; 119: 33-39.
- 11 Ghanim A, Manton D, Bailey D, Mariño R, Morgan M. Risk factors in the occurrence of molar–incisor hypomineralization amongst a group of Iraqi children *Int J Paediatr Dent.* 2012; 23: 197–206.
- 12 Whatling R, Fearne JM. Molar incisor hypomineralization: a study of aetiological factors in a group of UK children. *Int J Paediatr Dent.* 2008; 18: 155–62.
- 13 Guergolette RP, Dezan CC, Frossard WTG, Ferreira FBA, Cerci Neto A, Fernandes KBP. Prevalência de defeitos do desenvolvimento do esmalte dentário em crianças e adolescentes com asma. *J Bras Pneumol.* 2009; 35: 295–300.
- 14 Pitiphat W, Luangchaichaweng S, Pungchanchaikul P, Angwaravong O, Chansamak N. Factors associated with molar incisor hypomineralization in Thai children. *Eur J Oral Sci.* 2014; 122: 265–270.
- 15 Jälevik B, Norén JG, Klingberg G, Barregård L. Etiologic factors influencing the prevalence of demarcated opacities in permanent first molars in a group of Swedish children. *Eur J Oral Sci.* 2001; 109: 230–234.
- 16 Fagrell TG, Lingström P, Olsson S, Steiniger F, Nören, JG. Bacterial invasion of dentinal tubules beneath apparently intact but hypomineralized enamel in molar teeth with molar incisor hypomineralization. *Int J Paediatr Dent.* 2008; 18: 333–340.

- 17 Weerheijm K, Mejàre I. Molar incisor hypomineralization: a questionnaire inventory of its occurrence in member countries of the European Academy of Paediatric Dentistry (EAPD). *Int J Paediatr Dent* 2003; 13: 411–416.
- 18 Souza JF, Costa-Silva CM, Jeremias F, Santos-Pinto L, Zuanon ACC, Cordeiro RCL. Molar incisor hypomineralisation: possible aetiological factors in children from urban and rural areas. *Eur Arch Paediatr Dent*. 2012;13: 164–170.
- 19 Brazilian Institute of Geography and Statistics [Internet]. Brasília, DF: IBGE, 2010. Available: <http://www.cidades.ibge.gov.br/painel/painel.php?lang=&codmun=313820&search=|lavras> [accessed 03 May 2013].
- 20 Federation Dentaire Internationale. Commission on Oral Health Research and Epidemiology. A review of the developmental defects of dental index (DDE index). *Int Dent J*. 1992; 42: 411–426.
- 21 World Health Organization (WHO). *Oral Health Survey: Basic Methods*. 4th edn. Geneva: World Health Organization; 1997.
- 22 Guillermin F, Bombardier C, Beaton D. Cross-cultural adaptation of health-related quality of life measures: literature review and proposed guidelines. *J Clin Epidemiol*. 1993; 46: 1417–1432.
- 23 Garcia-Margarit M, Catalá-Pizarro M, Montiel-Company JM, Almerich-Silla JM. Epidemiologic study of molar-incisor hypomineralization in 8-year-old Spanish children. *Int J Paediatr Dent*. 2014; 24:14–22.
- 24 Petrou MA, Giraki M, Bissar AR, Basner R, Wempe C, Alterabulsi MB et al. Prevalence of Molar-Incisor-Hypomineralisation among school children in four German cities. *Int J Paediatr Dent*. 2014; 24: 434-440.
- 25 Jälevik B. Prevalence and Diagnosis of Molar-Incisor- Hypomineralisation (MIH): A systematic review. *Eur Arch Paediatr Dent*. 2010; 11: 59–64.

- 26 Casanova-Rosado AJ, Medina-Solís CE, Casanova-Rosado JF, Vallejos-Sánchez AA, Martínez-Mier EA, Loyola-Rodríguez JP et al. Association between developmental enamel defects in the primary and permanent dentitions. *Eur J Paediatr Dent.* 2011; 12: 155–158.
- 27 Harju M, Keski-Nisula L, Georgiadis L, Raatikainen K, Räisänen S, Heinonen S. Maternal socioeconomic status and the risk of asthma among offspring. *BMC Public Health.* 2015; 28: 15-27.
- 28 Suga S. Enamel hypomineralisation viewed from pattern of progressive mineralisation of human and monkey developing enamel. *Adv Dent Res.* 1989; 3: 188–198.
- 29 Van Amerongen W, Kreulen C. Chesse molars: a pilot study of the etiology of hypocalcifications in first permanente molars. *J Dent Children.* 1995; 62: 266–269.
- 30 Tung K, Fujita H, Yamashita Y, Takagi Y. Effect of turpentine-induced fever during the enamel formation of rat incisor. *Arch Oral Biol.* 2006; 51: 464–470.
- 31 Sonnenschein-van der Voort AM, Arends LR, de Jongste JC, Annesi-Maesano I, Arsdad SH, Barros H et al. Preterm birth, infant weight gain, and childhood asthma risk: A meta-analysis of 147.000 European children. *J Allergy Clin Immunol.* 2014; 133:1317–1329.
- 32 Ghanim A, Manton D, Mariño R, Morgan M, Bailey D. Prevalence of demarcated hypomineralisation defects in second primary molars in Iraqi children. *Int J Paediatr Dent.* 2013; 23: 48-55.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os resultados deste estudo, 20,4% das crianças com oito e nove anos idade da cidade de Lavras-MG apresentam HMI. Considerando que estudos prévios têm enfatizado que a HMI pode acarretar uma série de problemas para os pacientes, como fraturas pós-irruptivas que podem facilitar a progressão da cárie dentária (LYGIDAKIS *et al.*, 2010), sensibilidade dos dentes afetados às variações de temperatura e comprometimento estético (FAGRELL *et al.*, 2008), é importante que esta alteração bucal seja melhor compreendida e avaliada, inclusive no inquérito nacional de saúde bucal. Esta alta prevalência também nos leva a acreditar que os cirurgiões-dentistas encontrarão crianças com HMI frequentemente e por isso eles devem estar atentos à HMI e suas consequências, uma vez que foi encontrada uma associação entre HMI e presença de cárie dentária no presente estudo.

A identificação da associação entre HMI e defeito de esmalte nos segundos molares decíduos pode contribuir para o controle da HMI, pois a partir do diagnóstico do defeito de esmalte no dente decíduo, o odontopediatra poderia estabelecer intervalos menores entre os retornos periódicos. Esta conduta possibilitaria o tratamento em estágios iniciais da doença, minimizando sensibilidade e desconforto futuros, bem como o estabelecimento de medidas de higiene bucal e controle dos demais fatores associados à cárie dentária.

Os resultados encontrados nesse estudo no que se refere à associação entre HMI e experiência de asma e/ou bronquite nos quatro primeiros anos de vida ressalta a importância de uma abordagem multidisciplinar da criança. Os pediatras devem ter conhecimento de que as crianças com asma são mais propensas à HMI, para que possam alertar os pais sobre a necessidade de maior atenção à saúde bucal destas crianças. Os odontopediatras também devem ter conhecimento da saúde geral da criança para prevenir e controlar possíveis futuras ameaças para a dentição das crianças com asma. Além disso, o conhecimento desta associação, que tem sido pouco estudada, pode motivar o desenvolvimento de novos estudos prospectivos no intuito de fornecer melhores estimativas desta associação.

REFERÊNCIAS GERAIS

- 1- Alaluusua, S. Aetiology of Molar-incisor hypomineralization: a systematic review. *Eur Arch Paediatr Dent.* 2010;11:53-58.
- 2- Alaluusua S, Calderara P, Gerthoux PM, Lukinmaa PL, Kovero O, Needham L et al. Developmental dental aberrations after the dioxin accident in Seveso. *Environ Health Perspec.* 2004;112:1313-18.
- 3- Alaluusua S, Lukinmaa PL, Koskimies M, Pirinen S, Hölttä P, Kallio M et al. Developmental dental defects associated with long breast feeding. *Eur J Oral Sci.* 1996a;104:493-97.
- 4- Alaluusua S, Lukinmaa PL, Vartiainen T, Partanen AM, Torppa J, Tuomisto J. Polychlorinated dibenzo-pdioxins and dibenzofurans via mother's milk may cause developmental defects in the child's teeth. *Environ Toxicol Pharmacol.* 1996b;1:193-7.
- 5- Arrow P. Risk factors in the occurrence of enamel defects of the first permanent molars among schoolchildren in Western Australia. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2009;37:405-15.
- 6- Balmer RC, Laskey D, Mahoney E, Toumba KJ. Prevalence of enamel defects and MIH in non-fluoridated and fluoridated communities. *Eur J Paediatr Dent.* 2005;6:209-12.
- 7- Beentjes VE, Weerheijm KL, Groen HJ. Factors involved in the aetiology of molar-incisor hypomineralisation (MIH). *Eur J Paediatr Dent.* 2002;3:913.
- 8- Brogardh-Roth, S, Matsson L, Klingberg, G. Molar-incisor hypomineralization and oral hygiene in 10- to-12-yr-old Swedish children born preterm. *Eur J Oral Sci.* 2011;119:33-39.
- 9- Casanova-Rosado AJ, Medina-Solís JF, Casanova-Rosado JF, Vallejos-Sánchez AA, Martínez-Mier EA, Loyola-Rodríguez JP et al. Association between developmental enamel defects in the primary and permanent dentitions. *Eur J Paediatr Dent.* 2011 Sep;12(3):155-8.

- 10- Cho SY, Ki Y, Chu V. Molar incisor hypomineralization in Hong Kong Chinese children. *Int J Paediatr Dent*. 2008 Sep; 18(5):348-52.
- 11- Costa-Silva CM, Jeremias F, de Souza JF, Cordeiro RDCL, Santos-Pinto L, Zuanon ACC. Molar incisor hypomineralization: prevalence, severity and clinical consequences in Brazilian children. *Int J Paediatr Dent*. 2010;20:426-34.
- 12- Crombie F, Manton D, Kilpatrick N. Aetiology of molar incisor hypomineralization: a critical review. *Int J Paediatr Dent*. 2009;19:73-83.
- 13- Dietrich G, Sperling S, Hetzer G. Molar Incisor Hypomineralisation in a group of children and adolescents living in Dresden (Germany). *Eur J Paediatr Dent*. 2003;4:133-37.
- 14- Ekstrand KR, Christiansen J, Christiansen, MEC. Time and duration of eruption of first and second permanent molars: a longitudinal investigation. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2003 Oct;31(5):344-50.
- 15- Fagrell TG, Lingström P, Olsson S, Steiniger F, Nören, JG. Bacterial invasion of dentinal tubules beneath apparently intact but hypomineralized enamel in molar teeth with molar incisor hypomineralization. *Int J Paediatr Dent*. 2008;18:333-340.
- 16- Fagrell TG, Ludvigsson J; Ullbro C; Lundin SA; Koch G. Aetiology of severe demarcated enamel opacities – an evaluation based on prospective medical and social data from 17.000 crianças. *Swed Dent J*. 2011;35(2):57-67.
- 17- Federation Dentaire Internationale. Commission on Oral Health Research and Epidemiology. A review of the developmental defects of dental index (DDE index). *Int Dent J* 1992;42(6):411-426.
- 18- Garcia-Margarit M, Catalá-Pizarro M, Montiel-Company JM, Almerich-Silla JM. Epidemiologic study of molar-incisor hypomineralization in 8-year-old Spanish children. *Int J Paediatr Dent*. 2014;24:14-22.
- 19- Ghanim A, Bagheri R, Golkari A, Manton D. Molar-incisor hypomineralisation: prevalence and defect characteristics in Iraqi children. *Int J Paediatr Dent*. 2011 Nov;21(6):413-21.

- 20- Ghanim A; Manton D; Bailey D; Mariño R; Morgan M. Risk factors in the occurrence of molar–incisor hypomineralization amongst a group of Iraqi children. *Int J Paediatr Dent*. 2012 May;23(3):197-206.
- 21- Ghanim A; Manton D; Mariño R; Morgan M; Bailey D. Prevalence of demarcated hypomineralisation defects in second primary molars in Iraqi children. *Int J Paediatr Dent*. 2013 Jan;23:48-55.
- 22- Guergolette RP, Dezan CC, Frossard WT, Ferreira FB, Cerci Neto A, Fernandes KB. Prevalência de defeitos do desenvolvimento do esmalte dentário em crianças e adolescentes com asma. *J Bras Pneumol*. 2009;35(4):295-300.
- 23- Guillermin F, Bombardier C, Beaton D. Cross-cultural adaptation of health-related quality of life measures: literature review and proposed guidelines. *J Clin Epidemiol*. 1993;46(12):1417-32.
- 24- Harju M, Keski-Nisula L, Georgiadis L, Raatikainen K, Räisänen S, Heinonen S. Maternal socioeconomic status and the risk of asthma among offspring. *BMC Public Health* 2015;28:15-27.
- 25- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. IBGE Cidades [homepage]. Brasília. [acesso em maio 2012]. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/cidadesat/link.php?codmun=313820>.
- 26- IIBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Diretoria de Pesquisas. Coordenação de Trabalho e Rendimento. Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios. PNAD 2006. Disponível em <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/trabalhoerendimento>> Acesso em: 12 maio 2012.
- 27- Jälevik B, Klingberg G, Barregård L, Norén JG. The prevalence of demarcated opacities in permanent first molars in a group of Swedish children. *Acta Odontol Scand*. 2001a;59:255-260.
- 28- Jälevik B, Norén JG. Enamel hypomineralization of permanente first molars: a morphological study and survey of possible aetiological factors. *Int J Paediatr Dent*. 2000 Dec;10(4):278-89.

- 29- Jälevik B, Norén JG, Klingberg G,; Barregård L. Etiologic factors influencing the prevalence of demarcated opacities in permanent first molars in a group of Swedish children. *Eur J Oral Sci.* 2001b Aug;109(4):230-4.
- 30- Jälevik B .Prevalence and Diagnosis of Molar-Incisor- Hypomineralisation (MIH): A systematic review. *Eur Arch Paediatr Dent.* 2010;11(2):59–64
- 31- Jan J, Sovcikova E, Kocan A, Wsolova L, Trnovec T. Developmental dental defects in children exposed to PCBs in eastern Slovakia. *Chemosphere.* 2007 Jan;67:350-4.
- 32- Jan J, Vrbic V. Polychlorinated biphenyls cause developmental enamel defects in children. *Caries Res.* 2000 Nov-Dec;34:469-73.
- 33- Jeremias F, de Souza JF, Silva CM, Cordeiro RC, Zuanon AC, Santos-Pinto L. Dental caries experience and Molar-Incisor Hypomineralization. *Acta Odontol Scand.* May-July 2013;71(3-4):870-6.
- 34- Jontell M, Linde A. Nutritional aspects on tooth formation. *World Rev Nutr Diet.* 1986;48:114-36.
- 35- Koch G, Hallonsten AL, Ludvigsson N, Hansson BO, Holst A, Ullbro C. Epidemiologic study of idiopathic enamel hypomineralization in permanent teeth of swedish children. *Community Dent Oral Epidemiol.* 1987;15:279-285.
- 36- Kuscu OO, Sandalli N, Dikmen S, et al. The prevalence of molar incisor hypomineralisation (MIH) in a group of children in a highly polluted urban region and a windfarm-green energy island. *Int J Paediatr Dent.* 2009;19:176-185.
- 37- Lacruz RS, Nanci A, Kurtz I, Wright JT, Paine ML. Regulation of pH during amelogenesis. *Calcif. Tissue Int.* 2010 Feb;86(2):91-103.
- 38- Laisi S, Kiviranta H, Lukinmaa PL, Vartiainen T, Alaluusua S. Molar-Incisor-Hypomineralisation and dioxins: New findings. *Eur Arch Paediatr Dent.* 2008 Dec;9(4):224-7.

- 39- Leppäniemi A, Lukinmaa PL, Alaluusua S. Nonfluoride hypomineralizations in the permanent first molars and their impact on the treatment need. *Caries Res.* 2001;35:36-40.
- 40- Lygidakis NA, Dimou G, Marinou D. Molar-Incisor-Hypomineralisation (MIH).A retrospective clinical study in Greek children II. Possible medical aetiological factors. *Eur Arch Paediatr Dent.* 2008;9(4):207-17.
- 41- Lygidakis NA, Wong B, Jälevik B, Vierrou AM, Alaluusua S, Espelid I. Best Clinical Practice Guidance for clinicians dealing with children presenting with Molar-incisor hypomineralisation (MIH): An EAPD policy document. *Eur Arch Paediatr Dent.* 2010 Apr;11(2):75-81.
- 42- Muratbegovic A, Markovic N, Ganibegovic Selimovic M. Molar-Incisor hypomineralisation in Bosnia and Herzegovina: prevalence, Aetiology and clinical consequences in medium caries activity population. *Eur Arch Paediatr Dent.* 2007;8(4):189-94.
- 43- Petrou MA, Giraki M, Bissar AR, Basner R, Wempe C, Alterabulsi MB et al. Prevalence of Molar-Incisor-Hypomineralisation among school children in four German cities. *Int J Paediatr Dent.* 2014;434-40.
- 44- Pitiphat W, Luangchaichaweng S, Pungchanchaikul P, Angwaravong O, Chansamak N. Factors associated with molar incisor hypomineralization in Thai children. *Eur J Oral Sci.* 2014;122:265-70.
- 45- Porto IM, Merzel J, Sousa FB, Bachmann L, Cury JA, Line SRP, Gerlach RF. Enamel mineralization in the absence of maturation stage ameloblasts. *Archives Oral Biol.* 2009;54:313-21.
- 46- QEdu. Taxas de rendimento escolar 2013. Lavras. [acesso em abril 2015]. Disponível em: <http://www.qedu.org.br/cidade/2192-lavras/taxas-rendimento/rede-municipal/urbana>
- 47- SSE-MG/Lista das escolas públicas e privadas de Minas Gerais [Internet]. Brasília. [acesso em 03 dezembro 2013]. Disponível em: <https://www.educacao.mg.gov.br>.

- 48- Seow WK. Clinical diagnosis of enamel defects: pitfalls and practical guidelines. *Int Dent J.* 1997;47:173-182.
- 49- Sonnenschein-van der Voort AM, Arends LR, de Jongste JC, Annesi-Maesano I, Arsdad SH, Barros H et al. Preterm birth, infant weight gain, and childhood asthma risk: A meta-analysis of 147.000 European children. *J Allergy Clin Immunol.* 2014 May;133(5):1317-29.
- 50- Souza JF, Costa-Silva CM, Jeremias F, Santos-Pinto L, Zuanon ACC, Cordeiro RCL. Molar incisor hypomineralisation: possible aetiological factors in children from urban and rural areas. *Eur Arch Paediatr Dent.* 2012;13(4):164-70.
- 51- Soviero V; Haubek D; Trindade C; da Matta T; Poulsen S. Prevalence and distribution of demarcated opacities and their sequelae in permanent 1st molars and incisors in 7 to 13-year-old Brazilian children. *Acta Odontol Scand.* 2009;67:170-5.
- 52- Suckling GW. Developmental defects of enamel-historical and present-day perspectives of their pathogenesis. *Adv Dent Res.* 1989;3:87-94.
- 53- Suckling GW, Thurley DC. Histological, macroscopic and microhardness observations of fluoride-induced changes in the enamel organ and enamel of sheep incisor teeth. *Archives of Oral Biology.* 1984;29:165-77.
- 54- Suga S. Enamel hypomineralisation viewed from pattern of progressive mineralisation of human and monkey developing enamel. *Adv Dent Res.* 1989 Sep;3(2):188-98.
- 55- Tung K; Fujita H; Yamashita Y; Takagi Y. Effect of turpentine-induced fever during the enamel formation of rat incisor. *Arch Oral Biol.* 2006 Jun;51(6):464-70.
- 56- Van Amerongen W, Kreulen C. Chesse molars: a pilot study of the etiology of hypocalcifications in first permanente molars. *J Dent Children.* 1995 Jul-Aug;62(4): 266-9.
- 57- Weerheijm K, Mejàre I. Molar incisor hypomineralization: a questionnaire inventory of its occurrence in member countries of the European Academy of Paediatric Dentistry (EAPD). *Int J Paediatr Dent.* 2003;13:411-6.

- 58- Weerheijm KL, Jalevik B, Alaluusua S. Molar-incisor hypomineralization. *Caries Res.* 2001;35:390-1.
- 59- Weerheijm KL, Duggal M, Mejàre I, Papagiannoulis L, Koch G, Martens LC et al. Judgement criteria for molar incisor hypomineralization (MIH) in epidemiologic studies: a summary of the European meeting on MIH held in Athens, 2003. *Eur J Paediatr Dent.* 2003 Sep;4(3):110-13.
- 60- Weerheijm, KL. Molar incisor hypomineralization (MIH): clinical presentation, aetiology and management. *Dent Update.* 2004 Feb;31:9-12.
- 61- Whatling R, Fearn JM. Molar incisor hypomineralization: a study of aetiological factors in a group of UK children. *Int J Paed Dent.* 2008;18:155-62.
- 62- Wogelius P, Haubek D, Poulsen S. Prevalence and distribution of demarcated opacities in permanent 1st molars and incisors in 6 to 8-year-old Danish children. *Acta Odontol Scand.* 2008;66:58-64.
- 63- Wogelius P, Haubek D, Nechifor A, Nørgaard M, Tvedebrink T, Poulsen S. Association between use of asthma drugs and prevalence of demarcated opacities in permanent first molars in 6-to-8-year-old Danish children. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2010; 38:145–151.
- 64- Wuollet E, Laisi S, Salmela E, Ess A, Alaluusua S. Background factors of molar-incisor hypomineralization in a group of Finnish children. *Acta Odontol Scand.* 2014 Nov; 72(8):963-969.
- 65- World Health Organization (WHO). *Oral Health Survey: basic methods.* 4th ed. Geneva: WHO; 1997.
- 66- Zawaideh FI, Al-Jundi SH, Al-Jaljoli MH. Molar Incisor Hypomineralisation: prevalence in Jordanian children and clinical characteristics. *Eur Arch Paediatr Dent.* 2011;12:31-6.

ANEXOS

ANEXO A

Lavras, 19 de novembro de 2012.

A Sra. Anália Maria Moreira Pereira da Silva
Secretária de Educação e Cultura do município de Lavras

Eu, Luciana Fonseca Pádua Gonçalves Tourino, aluna de doutorado do Programa de pós-graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), gostaria de solicitar autorização para realizar coleta de dados nas escolas municipais da cidade de Lavras a fim de desenvolver minha tese de doutorado intitulada: "HIPOMINERALIZAÇÃO MOLAR-INCISIVO: ESTUDO DA PREVALÊNCIA E FATORES PREDISPOONENTES EM ESCOLARES DA CIDADE DE LAVRAS, MINAS GERAIS, BRASIL".

O objetivo da pesquisa é avaliar a prevalência de HMI entre escolares de sete a nove anos da rede pública e privada de Lavras, MG, Brasil, além de investigar os possíveis fatores associados a esta condição na referida população. A coleta de dados será realizada por meio de questionários aplicados aos pais e às crianças e exame clínico bucal das crianças.

Desde já agradeço a atenção e comprometo-me a cumprir todas as exigências para não interferir na rotina e funcionamento das instituições de ensino.

Firmo também através desta, o compromisso de cumprir todas as regras com relação à bioética conforme regulamentação de pesquisa que envolve seres humanos e/ou qualquer outra recomendação feita por parte das instituições.



Luciana Fonseca Pádua Gonçalves Tourino

Autorizo o desenvolvimento da pesquisa,



Anália Maria Moreira P. Silva
Secretária Munic. de Educação e Cultura
Prefeitura Municipal de Lavras

ANEXO B



SECRETARIA DE ESTADO DE EDUCAÇÃO DE MINAS GERAIS
Subsecretaria de Desenvolvimento da Educação Básica
Comissão de Ética

TERMO DE AUTORIZAÇÃO

PROJETO DE PESQUISA: "HIPOMINERALIZAÇÃO MOLAR-INCISIVO: ESTUDO DA PREVALÊNCIA E FATORES PREDISPOÑENTES EM ESCOLARES DA CIDADE DE LAVRAS, MINAS GERAIS, BRASIL".

INTERESSADO (A): Luciana Fonseca Pádua Gonçalves Tourino, aluna de Doutorado do Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG.

A Subsecretaria de Desenvolvimento da Educação Básica e a Comissão de Ética da Secretaria de Estado de Educação de Minas Gerais/ SEE/MG, após análise do Projeto de Pesquisa, proposto pela doutoranda Luciana Fonseca Pádua Gonçalves Tourino – UFMG, são de parecer favorável à realização da pesquisa "Hipomineralização molar-incisivo: estudo da prevalência e fatores predisponentes em escolares da cidade de Lavras, Minas Gerais, Brasil", nas escolas estaduais da cidade de Lavras/MG.

Ressaltamos que os procedimentos de pesquisa devem obedecer, criteriosamente, às orientações da Resolução 196/96 do Conselho Nacional da Saúde que estabelece as Diretrizes e Normas Regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos e que, em nenhuma hipótese, a pesquisa poderá interferir no desenvolvimento das atividades pedagógicas das escolas no cumprimento de seu Calendário Escolar.

Ressaltamos ainda, que a participação na pesquisa será voluntária e a identidade das pessoas envolvidas deverá ser mantida em sigilo.

As instituições e os participantes não terão ônus com a pesquisa.

Belo Horizonte, 26 de novembro de 2012.

Raquel Elizabete de Souza Santos
Subsecretária de Desenvolvimento da Educação Básica/SEE-MG

ANEXO C



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Faculdade de Odontologia
Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Odontologia
Av. Pres. Antônio Carlos, 6627 – Pampulha
Belo Horizonte – MG – 31.270-901 – Brasil
Tel. (31) 3409-2470 Fax: (31) 3409-2472
Site: www.odonto.ufmg.br – posgrad@odonto.ufmg.br




Ref. Projeto de Pesquisa-aprovação final

Em 05 de novembro de 2012.

Prezado(a) Professor(a),

Vimos por meio desta, informar a V. Sa. que o projeto de Tese intitulado **“Hipomineralização molar-incisivo: estudo da prevalência e fatores etiológicos em escolares da cidade de Lavras, Minas Gerais, Brasil”**, apresentado pelo(a) aluno(a) **Luciana Fonseca Pádua Gonçalves Tourino** do Curso de **Doutorado**, área de concentração em **Odontopediatria**, sob sua orientação, foi apreciado e aprovado pelo CPGO em **01 de novembro de 2012**.

Atenciosamente,


Prof. Dr. Saul Mendes de Paiva
Coordenador do Colegiado do
Programa de Pós-Graduação em Odontologia

À Professora
Miriam Pimenta Parreira do Vale
OPO - FAO/UFMG

ANEXO D

Developmental Defects of Enamel Index (DDE)

Índice de defeitos de desenvolvimento de esmalte (FDI, 1992)

Condição observada	Descrição
0. Normal	
1. Opacidades demarcadas	Defeito demarcado envolvendo uma alteração na translucidez do esmalte, em graus variados. O esmalte defeituoso tem espessura normal, com limites nítidos e claros e pode ter coloração branco, bege, amarelo ou marrom.
2. Opacidade difusa	Defeito na translucidez do esmalte, em graus variados. O esmalte defeituoso tem espessura normal e não existe limite claro entre o mesmo e o esmalte adjacente. Pode ser linear ou em placas ou ter uma distribuição confluyente.
3. Hipoplasia	Defeito na superfície do esmalte e associado a uma redução localizada na espessura do esmalte. Pode ocorrer na forma de fóssulas únicas ou múltiplas, rasas ou profundas, difusas ou alinhadas, dispostas horizontalmente na superfície do dente; sulcos únicos ou múltiplos, estreitos ou amplos (máximo de 2mm; ausência parcial ou total de esmalte sobre uma área considerável de dentina.
9. Não registrado	

ANEXO E

PARENTAL QUESTIONNAIRE RELATING TO THE STUDY OF CHILDREN'S
PERMANENT FIRST MOLARS

Name of the child:.....

Name of the mother (or father):.....

Birth weight of the child?.....

In which gestational week was the child born?.....

Unknown:

(a normal gestational period is 40 weeks)

During the last two months of gestation, did the mother have?:Proteinuria? Yes NoHigh blood pressure? Yes NoGlycosuria? Yes NoOther serious diseases? Yes No Which?.....Drugs? Yes No Which?.....Unknown: Delivery:Vaginal with head presentation? Yes NoVaginal with breech presentation? Yes NoPlanned Caesarian section? Yes NoAcute Caesarian section? Yes NoUnknown: Did your child receive any special neonatal care or medicine? Yes No UnknownWas your child ill during the first year? Did your child receive antibiotics or other drugs? Yes No Unknown

Which illness/illnesses?

1)Illness.....Drug
.....Aged.....month(s)2)Illness.....Drug
.....Aged.....month(s)3)Illness.....Drug
.....Aged.....month(s)For how long was your child breast fed?

Entirely on mother's milk:.....month(s)

Mother's milk supplemented with formula or other food:.....month(s)

Was your child ill during the second and third year? Did your child receive antibiotics or other drugs?

Yes No Unknown

Which illness/illnesses?

- a) Illness.....Drug
.....Aged.....years
- b) Illness.....Drug
.....Aged..... years
- c) Illness.....Drug
.....Aged..... years

Which type of water supply was used for drinking and cooking during the first three years of your child's life?

Municipal Own well Unknown

Did your child receive any fluoride products?

Fluoride supplements Dentifrice Unknown

Did your child spend the first three years mainly in Mölndal or Göteborg?

Yes

No Where did your child live?.....

Does your child have any relatives with enamel defects in their molars?

Yes Relationship to the child?.....

No

Unknown

ANEXO F

Normas para publicação do periódico PLOS ONE

Submission Guidelines

Style and Format

File format	<p>Manuscript files can be in the following formats: DOC, DOCX, RTF, or PDF. Microsoft Word documents should not be locked or protected.</p> <p>LaTeX manuscripts must be submitted as PDFs. Read the LaTeX guidelines.</p>
Length	<p>Manuscripts can be any length. There are no restrictions on word count, number of figures, or amount of supporting information.</p> <p>We encourage you to present and discuss your findings concisely.</p>
Font	Use any standard font and a standard font size.
Headings	Limit manuscript sections and sub-sections to 3 heading levels. Make sure heading levels are clearly indicated in the manuscript text.
Layout	<p>Manuscript text should be double-spaced.</p> <p>Do not format text in multiple columns.</p>
Page and line numbers	Include page numbers and line numbers in the manuscript file.
Footnotes	Footnotes are not permitted. If your manuscript contains footnotes, move the information into the main text or the reference list, depending on the content.
Language	<p>Manuscripts must be submitted in English.</p> <p>You may submit translations of the manuscript or abstract as supporting information. Read the supporting information guidelines.</p>
Abbreviations	<p>Define abbreviations upon first appearance in the text.</p> <p>Do not use non-standard abbreviations unless they appear at least three times in the text.</p> <p>Keep abbreviations to a minimum.</p>
Reference style	<p>PLOS uses “Vancouver” style, as outlined in the ICMJE sample references.</p> <p>See reference formatting examples and additional instructions below.</p>
Equations	We recommend using MathType for display and inline equations, as it will provide the most reliable outcome. If this is not possible, Equation

Editor is acceptable.

Avoid using MathType or Equation Editor to insert single variables (e.g., “ $a^2 + b^2 = c^2$ ”), Greek or other symbols (e.g., β , Δ , or ' [prime]), or mathematical operators (e.g., \times , \geq , or \pm) in running text. Wherever possible, insert single symbols as normal text with the correct Unicode (hex) values.

Do not use MathType or Equation Editor for only a portion of an equation. Rather, ensure that the entire equation is included. Avoid “hybrid” inline or display equations, in which part is text and part is MathType, or part is MathType and part is Equation Editor.

Nomenclature Use correct and established nomenclature wherever possible.

<i>Units of measurement</i>	Use SI units. If you do not use these exclusively, provide the SI value in parentheses after each value. Read more about SI units.
<i>Drugs</i>	Provide the Recommended International Non-Proprietary Name (rINN).
<i>Species names</i>	Write in italics (e.g., <i>Homo sapiens</i>). Write out in full the genus and species, both in the title of the manuscript and at the first mention of an organism in a paper. After first mention, the first letter of the genus name followed by the full species name may be used (e.g., <i>H. sapiens</i>).
<i>Genes, mutations, genotypes, and alleles</i>	Write in italics. Use the recommended name by consulting the appropriate genetic nomenclature database (e.g., HUGO for human genes). It is sometimes advisable to indicate the synonyms for the gene the first time it appears in the text. Gene prefixes such as those used for oncogenes or cellular localization should be shown in roman typeface (e.g., v-fes, c-MYC).

Copyediting manuscripts

Prior to submission, authors who believe their manuscripts would benefit from professional editing are encouraged to use language-editing and copyediting services. Obtaining this service is the responsibility of the author, and should be done before initial submission. These services can be found on the web using search terms like “scientific editing service” or “manuscript editing service.”

Submissions are not copyedited before publication.

Submissions that do not meet the [PLOS ONE publication criterion for language standards](#) may be rejected.

Manuscript Organization

Manuscripts should be organized as follows. Instructions for each element appear below the list.

Beginning section	<p><i>The following elements are required, in order:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Title page: List title, authors, and affiliations as first page of manuscript • Abstract • Introduction
Middle section	<p><i>The following elements can be renamed as needed and presented in any order:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Materials and Methods • Results • Discussion • Conclusions (optional)
Ending section	<p><i>The following elements are required, in order:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Acknowledgments • References • Supporting information captions (if applicable)
Other elements	<ul style="list-style-type: none"> • Figure captions are inserted immediately after the first paragraph in which the figure is cited. Figure files are uploaded separately. • Tables are inserted immediately after the first paragraph in which they are cited. • Supporting information files are uploaded separately.

Please refer to our downloadable sample files to make sure that your submission meets our formatting requirements:

- [Download sample title, author list, and affiliations page \(PDF\)](#)
- [Download full manuscript sample \(PDF\)](#)

Parts of a Submission

Title

Include a full title and a short title for the manuscript.

Title	Length	Guidelines	Examples
Full title	250 characters	Specific, descriptive, concise, and comprehensible to readers outside	Impact of Cigarette Smoke Exposure on Innate Immunity:

	the field		A <i>Caenorhabditis elegans</i> Model
			Solar Drinking Water Disinfection (SODIS) to Reduce Childhood Diarrhoea in Rural Bolivia: A Cluster-Randomized, Controlled Trial
Short title	70 characters	State the topic of the study	Cigarette Smoke Exposure and Innate Immunity
			SODIS and Childhood Diarrhoea

Titles should be written in title case (all words capitalized except articles, prepositions, and conjunctions). Avoid specialist abbreviations if possible. For clinical trials, systematic reviews, or meta-analyses, the subtitle should include the study design.

Author List

Who belongs on the author list

All authors must meet the criteria for authorship as outlined in the authorship policy. [Read the policy.](#)

Those who contributed to the work but do not meet the criteria for authorship can be mentioned in the Acknowledgments. [Read more about Acknowledgments.](#)

Author names and affiliations

Enter author names on the title page of the manuscript and in the online submission system.

On the title page, write author names in the following order:

- First name (or initials, if used)
- Middle name (or initials, if used)
- Last name (surname, family name)

Each author on the list must have an affiliation. The affiliation includes department, university, or organizational affiliation and its location, including city, state/province (if applicable), and country.

If an author has multiple affiliations, enter all affiliations on the title page only. In the submission system, enter only the preferred or primary affiliation.

Author names will be published exactly as they appear in the manuscript file. Please double-check the information carefully to make sure it is correct.

Corresponding author

One corresponding author should be designated in the submission system as well as on the title page.

One corresponding author should be designated in the submission system. However, this does not restrict the number of corresponding authors that may be listed on the article in the event of publication. Whoever is designated as a corresponding author on the title page of the manuscript file will be listed as such upon publication.

Include an email address for each corresponding author listed on the title page of the manuscript.

Consortia and group authorship

If a manuscript is submitted on behalf of a consortium or group, include the consortium or group name in the author list, and include the full list of members in the Acknowledgments or in a supporting information file. [Read the group authorship policy.](#)

Author Contributions

The contributions of all authors must be described according to the CRediT Taxonomy of author roles. [Read the policy.](#)

The submitting author is responsible for completing this information at submission, and it is expected that all authors will have reviewed, discussed, and agreed to their individual contributions ahead of this time.

Enter all author contributions in the submission system at submission.

Contributions will be published with the final article, and they should accurately reflect contributions to the work.

The corresponding author is responsible for making sure all authors approve the final manuscript before submission. *PLOS ONE* will contact all authors by email at submission to ensure that they are aware of the submission

Cover letter

Upload a cover letter as a separate file in the online system. The length limit is 1 page.

The cover letter should include the following information:

- Summarize the study's contribution to the scientific literature
- Relate the study to previously published work
- Specify the type of article (for example, research article, systematic review, meta-analysis, clinical trial)
- Describe any prior interactions with PLOS regarding the submitted manuscript
- Suggest appropriate Academic Editors to handle your manuscript ([see the full list of Academic Editors](#))
- List any opposed reviewers

IMPORTANT: Do not include requests to reduce or waive publication fees in the cover letter. This information will be entered separately in the online submission system.

[Read about publication fee assistance.](#)

Title page

The title, authors, and affiliations should all be included on a title page as the first page of the manuscript file.

[Download sample title, author list, and affiliations page \(PDF\)](#)

Abstract

The Abstract comes after the title page in the manuscript file. The abstract text is also entered in a separate field in the submission system.

The Abstract should:

- Describe the main objective(s) of the study
- Explain how the study was done, including any model organisms used, without methodological detail
- Summarize the most important results and their significance
- Not exceed 300 words

Abstracts should not include:

- Citations
- Abbreviations, if possible

Introduction

The introduction should:

- Provide background that puts the manuscript into context and allows readers outside the field to understand the purpose and significance of the study
- Define the problem addressed and why it is important
- Include a brief review of the key literature
- Note any relevant controversies or disagreements in the field
- Conclude with a brief statement of the overall aim of the work and a comment about whether that aim was achieved

Materials and Methods

The Materials and Methods section should provide enough detail to allow suitably skilled investigators to fully replicate your study. Specific information and/or protocols for new methods should be included in detail. If materials, methods, and protocols are well established, authors may cite articles where those protocols are described in detail, but the

submission should include sufficient information to be understood independent of these references.

We encourage authors to submit detailed protocols for newer or less well-established methods as supporting information. [Read the supporting information guidelines.](#)

Human or animal subjects and/or tissue or field sampling

Methods sections describing research using human or animal subjects and/or tissue or field sampling must include required ethics statements. [See the reporting guidelines for human research, clinical trials, animal research, and observational and field studies for more information.](#)

Data

PLOS journals require authors to make all data underlying the findings described in their manuscript fully available without restriction, with rare exception.

Large data sets, including raw data, may be deposited in an appropriate public repository. [See our list of recommended repositories.](#)

For smaller data sets and certain data types, authors may provide their data within [supporting information files](#) accompanying the manuscript. Authors should take care to maximize the accessibility and reusability of the data by selecting a file format from which data can be efficiently extracted (for example, spreadsheets or flat files should be provided rather than PDFs when providing tabulated data).

For more information on how best to provide data, read our [policy on data availability](#). PLOS does not accept references to “data not shown.”

Cell lines

Methods sections describing research using cell lines must state the origin of the cell lines used. [See the reporting guidelines for cell line research for more information.](#)

New taxon names

Methods sections of manuscripts adding new taxon names to the literature must follow the [reporting guidelines below for a new zoological taxon, botanical taxon, or fungal taxon.](#)

Results, Discussion, Conclusions

These sections may all be separate, or may be combined to create a mixed Results/Discussion section (commonly labeled “Results and Discussion”) or a mixed Discussion/Conclusions section (commonly labeled “Discussion”). These sections may be further divided into subsections, each with a concise subheading, as appropriate. These sections have no word limit, but the language should be clear and concise.

Together, these sections should describe the results of the experiments, the interpretation of these results, and the conclusions that can be drawn.

Authors should explain how the results relate to the hypothesis presented as the basis of the study and provide a succinct explanation of the implications of the findings, particularly in relation to previous related studies and potential future directions for research.

PLOS ONE editorial decisions do not rely on perceived significance or impact, so authors should avoid overstating their conclusions. See the [PLOS ONE Criteria for Publication](#) for more information.

Acknowledgments

Those who contributed to the work but do not meet our authorship criteria should be listed in the Acknowledgments with a description of the contribution.

Authors are responsible for ensuring that anyone named in the Acknowledgments agrees to be named.

Do not include funding sources in the Acknowledgments or anywhere else in the manuscript file. Funding information should only be entered in the financial disclosure section of the submission system.

References

Any and all available works can be cited in the reference list. Acceptable sources include:

- Published or accepted manuscripts
- Manuscripts on preprint servers, if the manuscript is submitted to a journal and also publicly available as a preprint

Do not cite the following sources in the reference list:

- Unavailable and unpublished work, including manuscripts that have been submitted but not yet accepted (e.g., “unpublished work,” “data not shown”). Instead, include those data as supplementary material or deposit the data in a publicly available database.
- Personal communications (these should be supported by a letter from the relevant authors but not included in the reference list)

References are listed at the end of the manuscript and numbered in the order that they appear in the text. In the text, cite the reference number in square brackets (e.g., “We used the techniques developed by our colleagues [19] to analyze the data”). PLOS uses the numbered citation (citation-sequence) method and first six authors, et al.

Do not include citations in abstracts or author summaries.

Make sure the parts of the manuscript are in the correct order *before* ordering the citations.

Formatting references

Because all references will be linked electronically as much as possible to the papers they cite, proper formatting of the references is crucial.

PLOS uses the reference style outlined by the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), also referred to as the “Vancouver” style. Example formats are listed below. Additional examples are in the [ICMJE sample references](#).

A reference management tool, EndNote, offers a current [style file](#) that can assist you with the formatting of your references. If you have problems with any reference management program, please contact the source company's technical support.

Journal name abbreviations should be those found in the [National Center for Biotechnology Information \(NCBI\) databases](#).

Supporting Information

Authors can submit essential supporting files and multimedia files along with their manuscripts. All supporting information will be subject to peer review. All file types can be submitted, but files must be smaller than 10 MB in size.

Authors may use almost any description as the item name for a supporting information file as long as it contains an “S” and number. For example, “S1 Appendix” and “S2 Appendix,” “S1 Table” and “S2 Table,” and so forth.

Supporting information files are published exactly as provided, and are not copyedited.

Supporting information captions

List supporting information captions at the end of the manuscript file. Do not submit captions in a separate file.

The file number and name are required in a caption, and we highly recommend including a one-line title as well. You may also include a legend in your caption, but it is not required.

Example caption

S1 Text. Title is strongly recommended. Legend is optional.

In-text citations

We recommend that you cite supporting information in the manuscript text, but this is not a requirement. If you cite supporting information in the text, citations do not need to be in numerical order.

Read the [supporting information guidelines](#) for more details about submitting supporting information and multimedia files.

Figures and Tables

Figures

Do not include figures in the main manuscript file. Each figure must be prepared and submitted as an individual file.

Cite figures in ascending numeric order upon first appearance in the manuscript file.

[Read the guidelines for figures.](#)

Figure captions

Figure captions must be inserted in the text of the manuscript, immediately following the paragraph in which the figure is first cited (read order). Do not include captions as part of the figure files themselves or submit them in a separate document.

At a minimum, include the following in your figure captions:

- A figure label with Arabic numerals, and “Figure” abbreviated to “Fig” (e.g. Fig 1, Fig 2, Fig 3, etc). Match the label of your figure with the name of the file uploaded at submission (e.g. a figure citation of “Fig 1” must refer to a figure file named “Fig1.tif”).
- A concise, descriptive title

The caption may also include a legend as needed.

[Read more about figure captions.](#)

Tables

Cite tables in ascending numeric order upon first appearance in the manuscript file.

Place each table in your manuscript file directly after the paragraph in which it is first cited (read order). Do not submit your tables in separate files.

Tables require a label (e.g., “Table 1”) and brief descriptive title to be placed above the table. Place legends, footnotes, and other text below the table.

[Read the guidelines for tables.](#)

Data reporting

All data and related metadata underlying the findings reported in a submitted manuscript should be deposited in an appropriate public repository, unless already provided as part of the submitted article.

[Read our policy on data availability.](#)

Repositories may be either subject-specific (where these exist) and accept specific types of structured data, or generalist repositories that accept multiple data types. We recommend that

authors select repositories appropriate to their field. Repositories may be subject-specific (e.g., GenBank for sequences and PDB for structures), general, or institutional, as long as DOIs or accession numbers are provided and the data are at least as open as CC BY. Authors are encouraged to select repositories that meet accepted criteria as trustworthy digital repositories, such as criteria of the Centre for Research Libraries or Data Seal of Approval. Large, international databases are more likely to persist than small, local ones.

[See our list of recommended repositories.](#)

To support data sharing and author compliance of the PLOS data policy, we have integrated our submission process with a select set of data repositories. The list is neither representative nor exhaustive of the suitable repositories available to authors. Current repository integration partners include [Dryad](#) and [FlowRepository](#). Please contact data@plos.org to make recommendations for further partnerships.

Instructions for PLOS submissions with data deposited in an integration partner repository:

- Deposit data in the integrated repository of choice.
- Once deposition is final and complete, the repository will provide you with a dataset DOI (provisional) and private URL for reviewers to gain access to the data.
- Enter the given data DOI into the full Data Availability Statement, which is requested in the Additional Information section of the PLOS submission form. Then provide the URL passcode in the Attach Files section.

If you have any questions, please [email us](#).

Accession numbers

All appropriate data sets, images, and information should be deposited in an appropriate public repository. [See our list of recommended repositories.](#)

Accession numbers (and version numbers, if appropriate) should be provided in the Data Availability Statement. Accession numbers or a citation to the DOI should also be provided when the data set is mentioned within the manuscript.

In some cases authors may not be able to obtain accession numbers of DOIs until the manuscript is accepted; in these cases, the authors must provide these numbers at acceptance. In all other cases, these numbers must be provided at submission.

Identifiers

As much as possible, please provide accession numbers or identifiers for all entities such as genes, proteins, mutants, diseases, etc., for which there is an entry in a public database, for example:

- [Ensembl](#)
- [Entrez Gene](#)
- [FlyBase](#)
- [InterPro](#)

- [Mouse Genome Database \(MGD\)](#)
- [Online Mendelian Inheritance in Man \(OMIM\)](#)
- [PubChem](#)

Identifiers should be provided in parentheses after the entity on first use.

Striking image

You can choose to upload a “Striking Image” that we may use to represent your article online in places like the journal homepage or in search results.

The striking image must be derived from a figure or supporting information file from the submission, i.e., a cropped portion of an image or the entire image. Striking images should ideally be high resolution, eye-catching, single panel images, and should ideally avoid containing added details such as text, scale bars, and arrows.

If no striking image is uploaded, we will designate a figure from the submission as the striking image.

Striking images should not contain potentially identifying images of people. [Read our policy on identifying information.](#)

The PLOS content license also applies to striking images. [Read more about the content license.](#)

Additional Information Requested at Submission

Competing interests

This information should not be in your manuscript file; you will provide it via our submission system.

All potential competing interests must be declared in full. If the submission is related to any patents, patent applications, or products in development or for market, these details, including patent numbers and titles, must be disclosed in full.

[Read our policy on competing interests.](#)

Funding statement

This information should not be in your manuscript file; you will provide it via our submission system.

This information will be published with the final manuscript, if accepted, so please make sure that this is accurate and as detailed as possible. You should not include this information in your manuscript file, but it is important to gather it prior to submission, because your financial disclosure statement cannot be changed after initial submission.

Your statement should include relevant grant numbers and the URL of any funder's web site. Please also state whether any individuals employed or contracted by the funders (other than the named authors) played any role in: study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript. If so, please name the individual and describe their role.

[Read our policy on disclosure of funding sources.](#)

Manuscripts disputing published work

For manuscripts disputing previously published work, it is *PLOS ONE* policy to invite input from the disputed author during the peer review process. This procedure is aimed at ensuring a thorough, transparent, and productive review process.

If the disputed author chooses to submit a review, it must be returned in a timely fashion and contain a full declaration of all competing interests. The Academic Editor will consider any such reviews in light of the competing interest.

Authors submitting manuscripts disputing previous work should explain the relationship between the manuscripts in their cover letter, and will be required to confirm that they accept the conditions of this review policy before the manuscript is considered further.

Related manuscripts

Upon submission, authors must confirm that the manuscript, or any related manuscript, is not currently under consideration or accepted elsewhere. If related work has been submitted to *PLOS ONE* or elsewhere, authors must include a copy with the submitted article. Reviewers will be asked to comment on the overlap between related submissions.

We strongly discourage the unnecessary division of related work into separate manuscripts, and we will not consider manuscripts that are divided into “parts.” Each submission to *PLOS ONE* must be written as an independent unit and should not rely on any work that has not already been accepted for publication. If related manuscripts are submitted to *PLOS ONE*, the authors may be advised to combine them into a single manuscript at the editor's discretion.

Guidelines for Specific Study Types

Human subjects research

All research involving human participants must have been approved by the authors' Institutional Review Board (IRB) or by equivalent ethics committee(s), and must have been conducted according to the principles expressed in the [Declaration of Helsinki](#). Authors should be able to submit, upon request, a statement from the IRB or ethics committee indicating approval of the research. We reserve the right to reject work that we believe has not been conducted to a high ethical standard, even when formal approval has been obtained.

Subjects must have been properly instructed and have indicated that they consent to participate by signing the appropriate informed consent paperwork. Authors may be asked to submit a blank, sample copy of a subject consent form. If consent was verbal instead of written, or if consent could not be obtained, the authors must explain the reason in the manuscript, and the use of verbal consent or the lack of consent must have been approved by the IRB or ethics committee.

All efforts should be made to protect patient privacy and anonymity. Identifying information, including photos, should not be included in the manuscript unless the information is crucial and the individual has provided written consent by completing the [Consent Form for Publication in a PLOS Journal \(PDF\)](#). More information about patient privacy, anonymity, and informed consent can be found in the [International Committee of Medical Journal Editors \(ICMJE\) Privacy and Confidentiality guidelines](#).

Manuscripts should conform to the following reporting guidelines:

- Studies of diagnostic accuracy: [STARD](#)
- Observational studies: [STROBE](#)
- Microarray experiments: [MIAME](#)
- Other types of health-related research: Consult the [EQUATOR](#) web site for appropriate reporting guidelines

Methods sections of papers on research using human subjects or samples must include ethics statements that specify:

- **The name of the approving institutional review board or equivalent committee(s).** If approval was not obtained, the authors must provide a detailed statement explaining why it was not needed
- **Whether informed consent was written or oral.** If informed consent was oral, it must be stated in the manuscript:
 - Why written consent could not be obtained
 - That the Institutional Review Board (IRB) approved use of oral consent
 - How oral consent was documented

For studies involving humans categorized by race/ethnicity, age, disease/disabilities, religion, sex/gender, sexual orientation, or other socially constructed groupings, authors should:

- Explicitly describe their methods of categorizing human populations
- Define categories in as much detail as the study protocol allows
- Justify their choices of definitions and categories, including for example whether any rules of human categorization were required by their funding agency
- Explain whether (and if so, how) they controlled for confounding variables such as socioeconomic status, nutrition, environmental exposures, or similar factors in their analysis

In addition, outmoded terms and potentially stigmatizing labels should be changed to more current, acceptable terminology. Examples: “Caucasian” should be changed to “white” or “of [Western] European descent” (as appropriate); “cancer victims” should be changed to “patients with cancer.”

For papers that include identifying, or potentially identifying, information, authors must download the [Consent Form for Publication in a PLOS Journal \(PDF\)](#), which the individual, parent, or guardian must sign once they have read the paper and been informed about the terms of PLOS open-access license. The signed consent form should not be submitted with the manuscript, but authors should securely file it in the individual's case notes and the methods section of the manuscript should explicitly state that consent authorization for publication is on file, using wording like:

The individual in this manuscript has given written informed consent (as outlined in PLOS consent form) to publish these case details.

For more information about *PLOS ONE* policies regarding human subjects research, see the [Publication Criteria](#) and [Editorial Policies](#).

Observational and field studies

Methods sections for submissions reporting on any type of field study must include ethics statements that specify:

- Permits and approvals obtained for the work, including the full name of the authority that approved the study; if none were required, authors should explain why
- Whether the land accessed is privately owned or protected
- Whether any protected species were sampled
- Full details of animal husbandry, experimentation, and care/welfare, where relevant

APÊNDICES

APÊNDICE A
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezada mãe,

Sou Luciana Fonseca Pádua Gonçalves Tourino, aluna de doutorado do Programa de Pós-graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Estou desenvolvendo um estudo sobre os fatores predisponentes e a prevalência de Hipomineralização molar-incisivo, ou seja, um tipo de defeito de esmalte do dente, entre escolares de oito e nove anos da rede pública e privada de Lavras.

Gostaria de convidá-la a participar desta pesquisa que será realizada na escola que seu filho(a) está matriculado e constará de entrega de um questionário sobre o tema que deverá ser respondido por você e outro com perguntas relacionadas a qualidade de vida que deverá ser respondido pela criança. Além disso, será feita uma avaliação da condição bucal que seu filho(a) apresenta, sendo essa avaliação feita uma única vez. Esse exame é indolor e não há desconforto. No momento do exame, estarei usando luvas descartáveis e todo o material de proteção individual como avental, gorro, óculos e máscara descartável.

Gostaria de esclarecer que você tem o direito de participar ou não, podendo desistir a qualquer momento, sem qualquer tipo de cobrança monetária. Não haverá nenhum custo financeiro, remuneração, ressarcimento ou indenização para os participantes da pesquisa. Garantimos ainda a não identificação dos participantes.

Caso seu(a) filho(a) apresente necessidade de tratamento, ele será encaminhado à Clínica de Odontologia do UNILAVRAS ou para os Centros de Saúde Pública de Lavras para atendimento odontológico. Informamos ainda que serão realizadas palestras educativas aos pais e às crianças abrangendo os temas desenvolvidos nesse estudo.

Eu, _____, responsável por _____, de _____ anos de idade, declaro ter sido devidamente informada sobre a pesquisa e concordo em participar e autorizo a participação de meu filho(a) neste estudo.

Lavras, _____ de _____ de _____

Assinatura da mãe

Assinatura da criança

Luciana Fonseca P. G. Tourino
Aluna de doutorado

Miriam Pimenta Parreira do Vale
Professora orientadora

Em caso de dúvidas, entre em contato com:

Pesquisadoras: Luciana Fonseca Pádua Gonçalves Tourino (pesquisadora). Endereço: Rua José dos Reis Vilela, 161 apto 301 Centro – Lavras – MG - telefone: (35) 99866899 - e-mail: lucianapaduatourino@yahoo.com.br ou Miriam Pimenta Parreira do Vale (professora orientadora)- telefone: (31) 93310080

Em caso de dúvidas com respeito aos aspectos éticos deste estudo, entre em contato com:

Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 – Unidade Administrativa II – 2º andar – Sala 2005 – Cep31270-901 – Belo Horizonte – MG - telefone 31-34094592 – e-mail: coep@prpq.ufmg.br).

APÊNDICE B

QUESTIONÁRIO ÀS MÃES RELATIVO AO ESTUDO DOS PRIMEIROS MOLARES PERMANENTES DE CRIANÇAS

Obrigado por participar do nosso estudo!

Sua participação vai nos ajudar a obter um melhor entendimento do que faz com que alguns dentes nasçam malformados em algumas crianças. Algumas perguntas são sobre a saúde do seu filho, do nascimento aos quatro anos de idade e outras sobre a saúde da mãe durante a gravidez. Por favor, pense cuidadosamente e tente responder da melhor forma que puder.

Nome da criança:.....

Nome da mãe:.....

1. Qual foi o peso do seu(a) filho(a) quando nasceu?

- Menos de 1,5 kg
 De 1,5 kg a 2,49 kg
 Mais de 2,5 kg
 Não sei

2. Seu(a) filho(a) nasceu prematuro?

- Sim
 Não
 Não sei

Se você respondeu sim, com quantas semanas ele(a) nasceu?

- menos de 28 semanas
 De 28 a menos de 32 semanas
 De 32 a menos de 37
 Não sei

3. Durante os dois últimos meses de gravidez, você teve:

- Proteinúria (perda de proteína pela urina)? Sim Não Não sei
 Glicosúria (perda de glicose/açúcar pela urina)? Sim Não Não sei
 Pressão alta? Sim Não Não sei
 Pré-eclâmpsia? Sim Não Não sei
 Outras doenças graves? Sim Não Não sei

Se você respondeu sim, quais foram as doenças graves?.....

.....

4. Durante os dois últimos meses de gravidez, você usou algum medicamento?

- Sim
 Não
 Não sei

Se você respondeu sim, marque com um X o medicamento usado:

- medicamento para pressão alta (ex.: Aldomet, etc)
 medicamento para “segurar” o bebê (ex.: Inibina, etc)
 Paracetamol
 Outro(s).

Qual(is)?.....

5. Como foi o parto do seu(a) filho(a)?

- Natural
 Cesárea programada
 Cesárea de urgência
 Não sei

6. Logo após o nascimento, seu(a) filho(a) precisou ser encaminhado para a UTI neonatal?

- Sim
 Não
 Não sei

7. Logo após o nascimento, seu(a) filho(a) precisou de algum tratamento médico especial?

- Sim
 Não
 Não sei

Se você respondeu sim, marque com um X o tratamento médico especial:

- Preciso de tratamento para icterícia (“amarelão”)
 Preciso de oxigênio com entubação
 Preciso de oxigênio sem entubação
 Outro. Qual?.....

Do nascimento até os 4 anos de idade

8. Seu(a) filho(a) mamou no peito?

- Sim
 Não
 Não sei

Se você respondeu sim, por quanto tempo?

- Por menos de 6 meses
 Por 6 meses ou mais tempo
 Não sei

9. Seu(a) filho(a) usou mamadeira com leite?

- Sim
 Não
 Não sei

Se você respondeu sim, responda:

- Por quanto tempo? Por menos de 6 meses
 De 6 meses a 1 ano
 Por mais de 1 ano
 Não sei

O leite era aquecido? Sim

- Não
 Não sei

Como o leite era aquecido?

- No micro-ondas, dentro da mamadeira de plástico ou vasilha de plástico
 No micro-ondas dentro de mamadeira de vidro ou vasilha de vidro
 No fogão, em banho-maria, usando uma panela
 No fogão, direto na panela

10. Seu(a) filho(a) ficou doente do nascimento até os 4 anos de idade?

- Sim
 Não
 Não sei

Se você respondeu sim, marque com um X as doenças que seu(a) filho(a) teve:

- gripes ou resfriados
 Pneumonia
 Infecções respiratórias (sinusite, infecção de garganta, faringite, etc.)
 Infecção de ouvido (otite)
 Outra (s). Qual(is)?.....

11. Seu(a) filho(a) usou medicamentos do nascimento até os 4 anos de idade?

- Sim
 Não
 Não sei

Se você respondeu sim, marque com um X os medicamentos que seu(a) filho(a) usou:

- Antibiótico (Amoxicilina, Clavulin, Amoxil, etc.)
 Analgésico/anti-térmico (Paracetamol, Dipirona, Melhoral, etc)
 Anti-inflamatórios (Nimesulida, Cataflan)
 Anti-alérgicos ou medicamentos para rinite
 Outro(s). Qual(is)?.....

12. Seu(a) filho(a) foi internado em hospital do nascimento até os 4 anos de idade?

- Sim
 Não
 Não sei

Se você respondeu sim, marque com um X o motivo da internação:

- Pneumonia
 Refluxo
 Intoxicação com medicamento
 Cirurgia
 Outro(s). Qual(is)?.....

13. Seu(a) filho(a) apresentou febre alta (igual ou maior do que 38,5°C) do nascimento até os 4 anos de idade?

- Sim
 Não
 Não sei

14. Seu(a) filho(a) teve asma ou bronquite do nascimento até os 4 anos de idade?

- Sim
 Não
 Não sei

Se você respondeu sim, seu(a) filho(a) usou medicamentos? Sim

Não

Não sei

Se você respondeu sim, marque com um X o(s) medicamento (s) que seu(a) filho(a) usou:

- Berotec
 Sabutamol ou aerolin
 Prednisolona ou predsim
 Acebrofilina
 Outro(s). Qual(is)?.....

15. Seu(a) filho(a) tem algum parente com dentes que nasceram manchados?

- Sim
 Não
 Não sei

Se você respondeu sim, qual o parentesco com a criança?.....

16. Seu(a) filho(a) nasceu em Lavras?

- Sim
 Não
 Não sei

17. Seu(a) filho(a) morou em Lavras do nascimento até os 4 anos de idade?

- Sim
 Não
 Não sei

APÊNDICE C

Questionário socioeconômico e demográfico

Nome da criança _____
Data de nascimento: ____/____/____ Gênero: () Masculino () Feminino
Nome da Mãe: _____
Endereço: _____
Bairro: _____ Cidade: _____
Tel. _____

1- Estado civil da mãe:

Solteira; Casada; Divorciada; Outro

2- Até que série a mãe da criança estudou? _____ série

3- Até que série o pai da criança estudou? _____ série

4- Qual é a renda mensal de seu grupo familiar? R\$ _____

Mais de 3 salários mínimos;

5- Quantas pessoas, incluindo você próprio, vivem da renda mensal do seu grupo familiar?

Duas;

Três;

Quatro;

Cinco;

Seis

Sete ou mais. Coloque o número de pessoas: _____

6- Número de filhos

Um; Dois; Três; Quatro; Cinco; Mais de cinco

7. Seu(a) filho(a) tem quantos irmãos mais velhos do que ele?

Nenhum

Um

Dois

Três

Quatro ou mais

APÊNDICE D- Ficha de levantamento de dados

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MINAS GERAIS

Ficha de levantamento de dados - Exame Clínico

Escola: _____ série: _____ data: _____

Nome: _____ Idade: _____ gênero: _____

16	12	11	21	22	26
46	42	41	31	32	36

HMI

1. Opacidades demarcadas {
 1. Branca
 2. Amarela
 3. Marrom
 2. Fratura pós-irruptiva
 3. Restauração atípica |

Gravidade

1. HMI leve ()
 2. HMI moderada (..)
 3. HMI severa (..)

Defeitos de Esmalte na dentição decidua

55	65
85	75

- 0- Normal
 1- Opacidade demarcada
 2- Opacidade difusa
 3- Hipoplasia
 4- Não registrado

HMI () sim =1
 () não =2

DDE () sim =1
 () não =2

Fluorose () sim =1
 () não =2

Exp de cárie CPOD () sim =1
 () não =2

CPOD = _____

Experiência de cárie ceod () sim =1
 () não =2

ceod = _____

Índices CPO-D e Ceod

16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26
46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36

CPOD / ceod

- 0= hígido
 1= cariado
 2= restaurado, com cárie
 3= restaurado, sem cárie
 4= perdido devido a cárie
 5= perdido por outras razões
 6= selante
 7= apoio de ponte ou coroa
 (8/-) = não-erupcionado
 (T/-) = trauma (fratura)
 (9/-) = dente excluído

55	54	53	63	64	65
85	84	83	73	74	75