

Hipoplasia e traços de chumbo no esmalte dentário superficial: relato de 2 casos

Hypoplasia and traces of lead in surface dental enamel: report of 2 cases

Hipoplasia y trazas de plomo en el esmalte dental superficial: informe de 2 casos

Cristiane Sabino Vianna de Oliveira Domingues 

Maciel Santos Luz¹

Rodrigo Papai²

Melissa Thiemi Kato 

1 macielluz@ipt.br

2 rodrigopapai@ipt.br

Endereço para correspondência:

Cristiane Sabino Vianna de Oliveira Domingues

Rua Machado de Assis, 10-80

17014-038 - Bauru - São Paulo - Brasil

E-mail: cristianedeoliveira@alumni.usp.br

Recebido: 08.09.2020

Aceito: 28.09.2020

RESUMO

A presença do chumbo na composição química do esmalte dentário pode gerar hipoplasias, aumentar o risco de desmineralização e cárie. A partir de um grupo original de 17 participantes, foram determinados e comparados os resultados de níveis prévios de chumbo no esmalte dentário superficial saudável e no esmalte afetado por hipoplasia em 2 casos. Foram realizadas microbiópsias ácidas in vivo de esmalte dentário superficial, analisadas por espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES) para determinação do fósforo (P) e espectrometria de absorção atômica de forno de grafite (GF AAS) para determinação do chumbo (Pb). Caso 1: O teor de P na solução ácida referente ao esmalte saudável foi $25.200 \text{ mgP/L} \pm 0.200$ e na solução referente à hipoplasia foi $16.400 \text{ mgP/L} \pm 0.100$. O nível de chumbo na área de esmalte saudável foi de 20.02 ppm e 18.04 ppm na área de hipoplasia. Caso 2: O teor de P na solução ácida referente ao esmalte saudável foi $35.800 \text{ mgP/L} \pm 0.300$ e na solução referente à hipoplasia foi $2.720 \text{ mgP/L} \pm 0.030$. O nível de chumbo na área de esmalte saudável foi de 4.37 ppm e 236.69 ppm na área de hipoplasia. Houve diferença estatisticamente significativa em relação ao teor de fósforo e profundidade da biópsia na comparação das médias entre os dois casos de hipoplasia e esmalte saudável do grupo de origem dos casos.

PALAVRAS-CHAVE: Hipoplasia do esmalte dentário. Chumbo. Desmineralização.

ABSTRACT

The presence of lead in the dental enamel chemical composition can generate hypoplasias, increase the risk of demineralization

and caries. From an original group of 17 participants, the results of previous lead levels in healthy superface dental enamel and enamel affected by hypoplasia were determined and compared in 2 cases. In vivo superface dental enamel acid microbiopsies were performed, analyzed by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP OES) to determine phosphorus (P) and Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometer (GF AAS) to determine lead (Pb). Case 1: The P content in the acidic solution for healthy enamel was $25.200 \text{ mgP/L} \pm 0.200$ and in the solution for hypoplasia it was $16.400 \text{ mgP/L} \pm 0.100$. The lead level in the healthy enamel area was 20.02 ppm and 18.04 ppm in the hypoplasia área. Case 2: The P content in the acidic solution for healthy enamel was $35.800 \text{ mgP/L} \pm 0.300$ and in the solution for hypoplasia it was $2.720 \text{ mgP/L} \pm 0.030$. The level of lead in the healthy enamel area was 4.37 ppm and 236.69 ppm in the hypoplasia area. There was a statistically significant difference in relation to the phosphorus content and biopsy depth when comparing the means between the two cases of hypoplasia and healthy enamel in the origin group of the cases.

KEYWORDS: Dental enamel hypoplasia. Lead. Demineralization.

RESUMEN

La presencia de plomo en la composición química del esmalte dental puede generar hipoplasias, aumentar el riesgo de desmineralización y caries. Partiendo de un grupo original de 17 participantes, se determinaron los resultados de niveles previos de plomo en el esmalte dental superficial sano y el esmalte afectado por hipoplasia y se compararon en 2 casos. Se realizaron microbiopsias ácidas in vivo del esmalte dental superficial, analizadas por espectrometría de emisión óptica con plasma inductivamente acoplado (ICP OES) para determinar fósforo (P) y espectrometría de absorción atómica de horno de grafito (GF AAS) para determinar plomo (Pb). Caso 1: El contenido de P en la solución ácida para esmalte sano fue de $25.200 \text{ mgP/L} \pm 0.200$ y en la solución para hipoplasia fue de $16.400 \text{ mgP/L} \pm 0.100$. El nivel de plomo en el área de esmalte sano fue de 20.02 ppm y de 18.04 ppm en el área de hipoplasia. Caso 2: El contenido de P en la solución ácida para esmalte sano fue $35.800 \text{ mgP/L} \pm 0.300$ y en la solución para hipoplasia fue $2.720 \text{ mgP/L} \pm 0.030$. El nivel de plomo en el área del esmalte sano fue de 4.37 ppm y de 236.69 ppm en el área de hipoplasia. Hubo diferencia estadísticamente significativa en relación al contenido de fósforo y profundidad de la biopsia al comparar las medias entre los dos casos de hipoplasia y esmalte sano en el grupo de origen de los casos.

PALABRAS CLAVE: Hipoplasia del esmalte dental. Plomo. Desmineralización.

INTRODUÇÃO

Embora os usos do chumbo estejam atualmente restringidos, sua presença persiste em nosso ambiente, especialmente no solo e na água¹. A contaminação por chumbo ainda representa um dos perigos de saúde ambiental mais prevalentes e evitáveis que afetam as crianças².

A exposição humana ao chumbo pode ocorrer por inalação, ingestão e contato dérmico³. A intoxicação pode ser aguda ou crônica - neste caso a absorção é lenta e progressiva, uma vez que o processo é cumulativo⁴. Os processos fisiológicos de absorção, distribuição, armazenamento e eliminação do chumbo sofrem influência de fatores endógenos - como a constituição genética, estado de saúde, fatores antropométricos - e fatores exógenos, entre eles a exposição simultânea a outras substâncias⁵.

Variações de coloração⁶ ou hipoplasias⁷ são relatadas na associação entre a presença de chumbo no tecido dentário e alterações clínicas no esmalte, apesar de não haverem estudos que estabeleçam claramente esta relação⁸. Os ameloblastos são células sensíveis às alterações ambientais e a exposição ao chumbo durante a amelogênese pode causar alterações na ultraestrutura do esmalte⁹, associadas a modificações no comportamento físico-químico do mesmo¹⁰, o que pode torná-lo mais suscetível a desmineralização e, conseqüentemente, aumentar o risco de cárie⁸.

Esmalte Dentário Superficial

Os dentes são muito estáveis para fins de preservação e a deposição de elementos traço, como o chumbo, durante a sua mineralização indica que são importantes biomarcadores. Deste modo, constituem um indicador de exposição cumulativa ao chumbo, pois acumulam o metal a longo prazo¹¹⁻¹². Os dentes são compostos de vários tecidos distintos formados ao longo de vários anos, e diferentes partes do dente podem se ligar ao chumbo em diferentes estágios da vida do indivíduo¹³. Assim, a análise do tecido dentário humano é uma das formas de avaliação da exposição prévia ao chumbo. Os níveis de chumbo no esmalte dentário diminuem da camada superficial externa para a camada interna do esmalte dentário¹⁴⁻¹⁵.

O esmalte dentário maduro é um material cristalino formado por 1% de material orgânico, 3% de água e 96% de material inorgânico ou mineralizado. É constituído principalmente de hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), um mineral inorgânico que, puro, contém 39,68% em peso de cálcio e aproximadamente 18% de fósforo. Outros minerais estão presentes em menores quantidades, como carbonato, magnésio, potássio, sódio e flúor¹⁶⁻¹⁷.

A exposição prévia ao chumbo pode ser verificada in vivo por microbiópsias ácidas de superfície de esmalte dentário¹⁸⁻²², um procedimento rápido, seguro e indolor²².

O objetivo deste estudo foi apresentar dois relatos de casos clínicos, comparando os resultados dos níveis de chumbo no esmalte dentário saudável com os resultados no esmalte afetado por hipoplasia.

RELATO DE CASOS

Este estudo foi derivado de um projeto submetido, apreciado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Faculdade de Odontologia de Bauru, da Universidade de São Paulo (CEP-FOB-USP) - CAAE 79194117.3.0000.541. Os voluntários selecionados participaram do estudo mediante a assinatura do Termo de Assentimento (TA) pelos voluntários e mediante assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) pelos responsáveis.

Participantes

Foram examinados 17 voluntários a fim de verificar se havia exposição prévia ao chumbo e determinar os níveis de chumbo no esmalte superficial dentário (dental enamel lead levels - DELL). Chamaram atenção 2 casos, devido às características clínicas de hipoplasia de esmalte sem histórico de trauma, portanto, foram selecionados os 2 voluntários para relatos de caso clínico de hipoplasia.

Crítérios de Inclusão para Relato de Caso

Voluntários participantes de estudos clínicos na FOB-USP, com TCLE e TA assinados, sem conhecimento de exposição prévia ao chumbo, cujos pais não exerciam atividade profissional catalogada como de risco para chumbo²³, originários de regiões não industriais nem de bairros cujas áreas não eram consideradas de risco para chumbo^{19,24}, prevalência de esmalte hígido e íntegro, porém presença de hipoplasia em pelo menos 1 dente incisivo central superior.

Crítérios de Exclusão para Relato de Caso

Usuários de aparelho ortodôntico (devido à ausência de área de esmalte dentário suficiente para a biópsia), escolares que não tiveram TCLE e TA assinados, prevalência de esmalte dentário comprometido/traumatizado, ausência de hipoplasia.



Figura 1 - Caso 1 - Matriz biológica: esmalte dentário superficial de participante com 11 anos de idade.



Figura 2 - Caso 2 - Matriz biológica: esmalte dentário superficial de participante com 10 anos de idade.

Coleta de Amostras

As biópsias foram realizadas no consultório odontológico da Clínica de Farmacologia da FOB-USP por cirurgiã-dentista (MTK) com uma assistente (CSVOD), ambas da equipe do projeto, seguindo medidas de esterilização e biossegurança e protocolo Olympio¹⁹, baseado em Brudevold⁸, atualizado por Olympio²²: Os dentes foram limpos com escova rotativa e pasta de pedrapomes, lavados e secos. O incisivo central superior direito ou esquerdo foi isolado com rolos de algodão antes da biópsia. Uma fita adesiva (Magic Tape, 810 Scotch-3M) contendo uma perfuração circular de 2.0 mm de diâmetro foi firmemente pressionada na superfície labial do dente com o auxílio de uma pinça de titânio, delimitando o local da biópsia. O volume de 5 µl de solução 1.6 mol/L de HCl em 70% (v/v) de glicerol foi aplicado com uma micropipeta na área de amostragem por 35 segundos. Depois deste período, esta solução de biópsia foi transferida para um tubo de centrífuga (Eppendorf Safe-Lock Tubes, Eppendorf Quality TM, incolor) previamente contendo 200 µL de água de alta pureza. Utilizando-se outra ponteira aplicada à micropipeta, durante 10 segundos a superfície foi lavada uma vez com 5 µL de água de alta pureza, a seguir transferida para o mesmo tubo de centrífuga, perfazendo um

volume final de 210 µL. Ao final, a fita foi removida, o dente lavado com água de alta pureza durante 30 segundos e seco a jato de ar. Cada voluntário recebeu a aplicação de fluoreto tópico. O processo foi repetido sobre a hipoplasia do incisivo central superior direito ou esquerdo em cada caso.

As análises elementares foram realizadas no Laboratório de Processos Metalúrgicos (LPM) do Centro de Tecnologia em Metalurgia e Materiais (CTMM) do IPT (Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo).

Utilizou-se um espectrômetro de Absorção Atômica de Forno de Grafite (AA240FS, Varian Inc®) para efetuar análises quantitativas de chumbo em amostras aquosas²⁵ e um espectrômetro de emissão óptica por plasma indutivamente acoplado (ICP OES, iCap 7400 Duo, Thermo Scientific®) para a determinação de fósforo. Para todas as determinações foi realizado branco de método em triplicata (n = 3).

Sabendo-se que o fósforo representa 17.4% da massa do esmalte, calcula-se a massa total de esmalte e, sabendo-se que a densidade do esmalte é 2.95 µg/cm³, estima-se a profundidade da biópsia. O método usado para calcular a altura/profundidade da biópsia (h)²⁶ e é baseado na geometria do cilindro:

$$h = \text{massa do esmalte} / (\text{área da biópsia} \times 2.95)$$

ou

$$h = \text{massa esmalte} / [\pi \cdot r^2 \times \text{densidade do esmalte}]$$

Resultados

Os resultados da concentração de chumbo (Pb) e do teor de fósforo (P) determinados em cada solução ácida são apresentados na Tabela 1.

Os resultados calculados de níveis de chumbo no esmalte superficial dentário (DELL) e profundidade da biópsia (h) são apresentados na Tabela 2.

Tabela 1 - Resultados da concentração de Pb (µg/L) ± DP e teor de P (mg/L) ± DP na solução da biópsia.

Caso	µgPb/L solução ± DP	µgPb/L solução ± DP	mgP/L solução	mgP/L solução
	esmalte saudável	hipoplasia	esmalte saudável	hipoplasia
1	2.9 ± 0.1	1.7 ± 0.5	25.200 ± 0.200	16.400 ± 0.100
2	0.9 ± 0.6	3.7 ± 0.2	35.800 ± 0.300	2.720 ± 0.030

Tabela 2 - Resultados de DELL (ppm Pb) e profundidade da biópsia (h).

Caso	esmalte saudável	hipoplasia	esmalte saudável	hipoplasia
	ppm Pb	ppm Pb	h (µm)	h (µm)
1	20.02	18.04	3.28	2.14
2	4.37	236.69	4.66	0.35

Os dados foram analisados através do software Jamovi 1.2.24. O nível de significância de 5% foi adotado. O teste t aplicado não apontou diferença estatisticamente

significativa para comparação de médias do teor de fósforo (P) determinados nas soluções ácidas referentes aos casos de hipoplasia com as médias de esmalte saudável dos mesmos indivíduos ($p=0.137$), nem para a profundidade da biópsia ($p=0.137$), tampouco a comparação em relação aos níveis e chumbo no esmalte saudável (DELL) e na hipoplasia ($p=0.404$).

A comparação de médias do teor de fósforo (P) determinados nas soluções ácidas referentes aos casos de hipoplasia com as médias de esmalte saudável do grupo de origem ($n = 17$) revelou diferença estatisticamente significativa ($p = 0.032$), assim como a comparação da profundidade da biópsia ($p = 0.032$). Já a comparação em relação aos níveis e chumbo no esmalte saudável (DELL) e na hipoplasia não apresentou diferença estatisticamente significativa ($p = 0.085$) entre os casos de hipoplasia e o grupo de origem.

Na análise dos casos de hipoplasia e esmalte saudável dos mesmos indivíduos, a correlação entre DELL e profundidade da biópsia não resultou estatisticamente significativa ($p > 0.05$).

Na análise de todos os casos de esmalte saudável do grupo de origem ($n = 17$), a correlação entre DELL e profundidade da biópsia é forte ($r = -0.65$) e estatisticamente significativa ($p = 0.005$). Quando adicionamos na análise os casos de hipoplasia ($n = 19$), esses valores se tornam ainda mais relevantes ($r = -0.77$ e $p < 0.001$).

DISCUSSÃO

Ainda não se sabe quais níveis de chumbo estão relacionadas a riscos de defeitos no esmalte ou cárie dental^{8,27}, tampouco foram estabelecidos valores de referência na literatura internacional para níveis de chumbo populacionais no esmalte dentário.

No estudo com 17 participantes²⁸ que deu origem a estes dois relatos de casos, a média de DELL foi $46.57 \mu\text{g Pb/g esmalte} \pm 47.09$, valores obtidos a partir de amostras coletadas de esmaltes íntegros, com a seguinte distribuição por quartis: $25^\circ = 16.16 \mu\text{g Pb/g esmalte}$, $50^\circ = 43.16 \mu\text{g Pb/g esmalte}$ e $75^\circ = 55.59 \mu\text{g Pb/g esmalte}$. Quanto à profundidade, a média do referido estudo foi de $3,01 \mu\text{m}$, com desvio padrão de 1,00. A distribuição da altura por quartis foi: $25^\circ = 2.64 \mu\text{m}$, $50^\circ = 3.28 \mu\text{m}$ e $75^\circ = 3.52 \mu\text{m}$.

Nota-se que no caso do participante 1 a diferença entre os níveis de chumbo no esmalte saudável e na área de hipoplasia é pequena, sendo até menor na área de hipoplasia (um decréscimo de 10% quando avaliamos os resultados da Tabela 2), mesmo apresentando teor de fósforo reduzido em 35% na hipoplasia (Tabela 1). Já no caso do participante 2, a diferença é substancial: a concentração de chumbo na solução da biópsia foi 4 vezes maior na área de hipoplasia e

o teor de fósforo é 13 vezes menor nesta área do que o teor no esmalte saudável (Tabela 1), o que resulta um índice de chumbo no esmalte 54 vezes maior na região de hipoplasia. No entanto, quando comparamos as médias dos níveis de chumbo dos casos de hipoplasia com as dos esmaltes saudáveis do grupo de origem, não houve diferença estatisticamente significativa.

Observa-se que a profundidade das biópsias de esmalte saudável em ambos os casos e da hipoplasia do participante 1 estão adequadas aos níveis verificados em outros estudos^{29,31}. A profundidade da biópsia é estimada em função do teor de fósforo determinado por ICP OES, através do qual se calcula a massa total de esmalte da amostra e, a seguir, sabendo-se a densidade do esmalte, aplicam-se os dados na equação de Cleymaet²⁶. Como o mesmo protocolo de coleta e análises elementares foram rigorosamente aplicados em ambos os casos, verifica-se que a profundidade da biópsia relativa à área de hipoplasia do caso 2, denota baixo teor de fósforo no esmalte, portanto, desmineralização acentuada.

Não foram encontrados outros estudos realizados com esmalte dentário de voluntários que apresentavam hipoplasia utilizando o mesmo protocolo de coleta, motivo pelo qual não foi considerado adequado comparar resultados com outros estudos. A escolha do protocolo de coleta do esmalte para este estudo se deve ao tempo de exposição à solução ácida, pois permite que a geometria da biópsia se aproxime mais à forma de cilindro, justificando a aplicação da fórmula de Cleymaet para a estimativa confiável da profundidade da biópsia²⁷. Entretanto, a título de registro, consideramos condizente destacar que encontraram⁸ em dentes decíduos de voluntários provenientes de região não industrial, 36% com presença de defeitos no esmalte (hipoplasia, opacidade demarcada, opacidade difusa) com DELL acima da mediana do estudo ($140 \mu\text{g Pb/g esmalte}$) e 47.2% com DELL abaixo ou igual à mediana. Considerando a média do estudo ($220 \mu\text{g Pb/g esmalte}$), 23.9% apresentaram DELL maior que a média e 59.4% abaixo ou igual. O estudo comparou resultados de região industrial com não industrial, porém não encontrou evidências estatísticas para associação entre concentração de chumbo e hipoplasia.

CONCLUSÃO

No caso do participante 2, seu teor de fósforo foi 13 vezes inferior ao determinado no esmalte saudável, evidenciando nível acentuado de desmineralização, e a concentração de chumbo na solução da biópsia da hipoplasia foi 4 vezes maior. A combinação de ambos os fatores resultou em um nível de chumbo na área hipoplásica 54 vezes superior em relação ao nível na área do esmalte

superficial saudável.

A comparação de médias do teor de fósforo determinados nas soluções ácidas referentes aos casos de hipoplasia com as médias de esmalte saudável dos mesmos indivíduos ou a comparação da profundidade da biópsia não apresentaram diferenças estatisticamente significativas, tampouco a comparação em relação aos níveis e chumbo no esmalte saudável (DELL) e hipoplasia, porém verificou-se diferença estatisticamente significativa na comparação do teor de fósforo e da profundidade da biópsia entre os casos de hipoplasia e esmalte saudável do grupo de origem.

Observamos a necessidade de realização de mais estudos sobre este tema, inclusão da determinação de cálcio, devido a sua participação na massa de esmalte dentário, e a presença de outros profissionais da saúde para compor a equipe, a fim de avaliar fatores endógenos, exógenos e sociais dos participantes. Ressalta-se a importância de investigar as vias de exposição ao chumbo a fim de fomentar a promoção de medidas de prevenção de impactos na saúde bucal e geral da população.

AGRADECIMENTOS

Profa. Dra. A. Costa, Profa. Dra. P. A. P. Crenitte, Profa. Dra. M. A. R. Buzalaf, IPT, aos voluntários e seus pais e à empresa Nova Analítica pela gentil cessão do instrumento ICPOES (iCAP 7400) para uso neste trabalho.

REFERÊNCIAS

- Roy NM, DeWolf S, Schutt A, Wright A, Steele L. Neural alterations from lead exposure in zebrafish. *Neuro Teratol*. 2014;46:40-8.
- Hamp N, Zimmerman A, Hoffen J. Advocating for automatic eligibility for early intervention services for children exposed to lead. *Pediatr Ann*. 2018;47(10):e413-8.
- Olympio KPK, Gonçalves C, Günther WMR, Bechara EJJ. Neurotoxicity and aggressiveness triggered by low-level lead in children: a review. *Pan Am J Public Health*. 2009;26(3):266-75.
- Calabuig G. *Medicina legal y toxicología*. 6 ed. Barcelona: Villanueva Cañadas; 2004.
- Moreira FR, Moreira JC. A cinética do chumbo no organismo humano e sua importância para a saúde. *Cienc Saude Colet*. 2004;9(1):167-81.
- Gil F, Facio A, Villanueva E, Pe'rez ML, Tojo R, Gil A. The association of tooth lead content with dental health factors. *Sci Total Environ* 1996;192:183-91.
- Brook AH, Fearn JM, Smith JM. *Environmental causes of enamel defects*. New York: John Wiley & Sons; 1997.
- Gomes VE, Wada RS, Cury JA, Sousa MLR. Concentração de chumbo, defeitos de esmalte e cárie em dentes decíduos. *Rev Saude Publ*. 2004;38(5):716-22.
- Gerlach RF, Souza AP, Cury JA, Line SR. Effect of lead, cadmium and zinc on the activity of enamel matrix proteinases in vitro. *Eur J Oral Sci*. 2000;108(4):327-34.
- Simons TJ. Cellular interactions between lead and calcium. *Br Med Bull*. 1986;42(4):431-4.
- Manekrichten M et al. Comparative increases of lead and barium with age in human tooth enamel, rib and ulna. *Sci Total Environ*. 1991;107:179-203.
- Tvinnerreim HM, Eide R, Riise T. Heavy metals in human primary teeth: some factors influencing the metal concentrations. *Sci Total Environ*. 2000;255:21-7.
- Gulson BL. Tooth analyses of sources and intensity of lead exposure in children. *Environ Health Perspect*. 1996;104(3):306-12.
- Dean MC, Scandrett AE. The relation between long-period incremental markings in dentine and daily cross-striations in enamel in human teeth. *Arch Oral Biol*. 1996;41(3):233-41.
- Renz H, Schaefer V, Duschner H. Incremental lines in root cementum of human teeth: an approach to their ultrastructural nature by microscopy. *Adv Dent Res*. 1997;11(4):472-7.
- Bath-Balog M, Fehrenbach MJ. *Illustrated dental embryology, histology, and anatomy*. 3rd ed. London: Elsevier Health Sciences; 2014.
- Habibah TU, Salisbury HG. *Dental material, hydroxyapatite*. Treasure Island: Stat Pearls; 2018.
- Brudevold F, Reda A, Aasenden R, Bakhos Y. Determination of trace elements in surface enamel of human teeth by a new biopsy procedure. *Arch Oral Biol*. 1975;20(10):667-73.
- Olympio KPK, Oliveira P, Naozuka J, Cardoso M, Marques A, Günther W, et al. Surface dental enamel lead levels and antisocial behavior in Brazilian adolescents. *Neurotoxicol Teratol*. 2010;32(2):273-9.
- Olympio KPK, Naozuka J, Magalhães AC, Garcia MVP, Oliveira PV, Buzalaf MAR, et al. Microbiopsies of surface dental enamel as a tool to measure body lead burden. *J Toxicol Environ Health*. 2010;73(9):62736, 2010.
- Olympio KPK, Naozuka J, Oliveira PV, Cardoso MRA, Bechara EJJ, Günther WMR. Association of dental enamel lead levels with risk factors for environmental exposure. *Rev Saude Publ*. 2010;44(5):851-8.
- Olympio KPK, Hubila M, Cardoso C, Ferreira AP, Ortiz A, Toma H, et al. Can in vivo surface dental enamel microbiopsies be used to measure remote lead exposure? *Environ Sci Poll Res*. 2018;25(10):9322-9.
- Brasil. Ministério da Saúde. *Atenção à saúde dos trabalhadores expostos ao chumbo metálico*. Brasília: Ministério da Saúde; 2006.
- Padula NAM, Abreu MA, Miyazaki LC, Tomita NE, Grupo de Estudo e Pesquisa da Intoxicação por Chumbo em Crianças de Bauru. *Intoxicação por chumbo e saúde infantil: ações intersectoriais para o enfrentamento da questão*. *Cad Saude Publ*. 2006;22(1):163-71.
- Luz MS, Nascimento N, Oliveira P. Fast emulsion-based method for

- simultaneous determination of Co, Cu, Pb and Se in crude oil, gasoline and diesel by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Talanta*. 2013;115(15):409-13.
26. Cleymaet R, Quartier E, Slop D, Retief DH, Smeyers-Verbeke J, Coomans D. Model for assessment of lead content in human surface enamel. *J Toxicol Environ Health*. 1991;32(2):111-27.
 27. Paoliello MB, Gutierrez P, Turini CA, Matsuo T, Mezzaroba L, Barbosa DS, et al. Valores de referência para plumbemia em uma população urbana do Sul do Brasil. *Rev Panam Salud Publ*. 2001;9(5):315-9.
 28. Oliveira CSV, Olympio KPK, Kato MT, Luz MS, Souza RP, Buzalaf MAR, et al. Exposição precoce ao chumbo em escolares com dificuldades de aprendizagem. *Anais do 26º Congresso Fonoaudiológico de Bauru*; 2019. Bauru: FOB-USP, 2019.
 29. Almeida G, Saraiva M, Barbosa Jr F, Kru, F, Cury J, Sousa M, et al. Lead contents in the surface enamel of deciduous teeth sampled in vivo from children in uncontaminated and in lead-contaminated areas. *Environ Res*. 2007;104(3):337-45.
 30. Almeida G, Guerra C, Tanus-Santos J, Barbosa Jr F, Gerlach R. A plateau detected in lead accumulation in subsurface deciduous enamel from individuals exposed to lead may be useful to identify children and regions exposed to higher levels of lead. *Environ Res*. 2008;107(2):264-70.
 31. Oliveira V, Gerlach R, Martins L, Guerra C, Frazão P, Braga A, et al. Dental enamel as biomarker for environmental contaminants in relevant industrialized estuary areas in São Paulo, Brazil. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2017;24(16):14080-90.