

TARTU ÜLIKOOL

Loodus- ja täppisteaduste valdkond

Füüsika instituut

Jan Viilma

KAARIESE TUVASTAMINE FLUORESTSENTSIGA

Bakalaureusetöö (12 EAP)

Juhendajad:
Dmitri Lanevski
Koit Muring
Ants Lõhmus

Tartu 2017

Infoleht

Käesoleva bakalaureusetöö raames töötati välja tavainimesele kättesaadava ja üld-kasutatava kaariese tuvastamise meetodika ja ka esmane prototüüp. Prototüüp suudab vahet teha tervel ning kaariesega nakatunud hamba koel, on valmistatud üld-levinud komponentidest ja ohutu tervisele. Töös anti ülevaade kaariese leviku mehhanismist ja olemasolevatest tuvastamise meetoditest. Lisaks kirjeldati fluorestsentsi rakendamist bioloogilise aine tuvastamisel.

Märksõnad: kaaries, tuvastamine, fluorestsents, porfüriin

Abstract

With this thesis the methodology and a prototype were developed for a widespread and user-friendly caries detection device. The prototype is able to distinguish between healthy and caries infected dental tissue, is made of common components and is safe for the users health. An overview is given of the proliferation mechanism of caries and the existing methods for detecting it. In addition the implementation of fluorescence is described for the detection of a biological substance.

Keywords: caries, detection, fluorescence, porphyrine

Sisukord

Infoleht	2
Abstract	2
Töös kasutatud lühendid	5
Sissejuhatus	6
1 Kirjanduse ülevaade	8
1.1 Hammaste tervis ja ravi Eestis	8
1.2 Hambakaaries	9
1.2.1 Kaariese tuvastamine	9
1.3 Optilised seadmed ja meetodid, millel baseeruvad katsed	12
1.3.1 Spektromeeter	12
1.3.2 Spektromeeteri karakteristikud	13
1.4 Fluorestsents	14
1.4.1 Patoloogiliste kudede ja ainete tuvastamine fluorestsentsi abil	15
2 Eksperimentaalne osa	17
2.1 Kasutatud riist- ja tarkvara	17
2.2 Hamba terve koe ja kaariese kahjustuse fluorestsentsispektrid	18
2.2.1 Spektrite korrigeerimine	19
2.2.2 Spektrite mõõtmine	20
2.3 Kaariese tuvastamine fotodiodiga	21
2.3.1 Kasutajasõbraliku seadme esmase prototüübi väljatöötamine	22
2.4 RGB anduriga seadme väljatöötamine	23
2.4.1 Prototüübi ehitamine	24
2.4.2 RGB anduri lineaarsuse kontroll	26
2.4.3 Prototüübiga mõõdetud tulemused	27

Kokkuvõte	29
Tänuavaldus	30
Summary	31
Kirjandus	32
A Lisad	36
Lihtlitsents	37

Töös kasutatud lühendid

A/D - *analog-digital*, analoog-digitaal

CCD - *Charge-Coupled Device*, laengsidestusseadis

GPB - *General Purpose Interface Bus*, üld-otstarbeline kasutajaliidese siin

I²C - *Inter-Integrated Circuit*, kahejuhtmeliides

ICDAS - *International Caries Detection & Assessment System*, Rahvusvaheline kaariese detekteerimise ja hindamise süsteem

IR - *infrared*, infrapuna

KHN - *Knoop microhardness*, Knoop mikrokõvadus

LED - *light-emitting diode*, valgusdiiod

LF - *laser-induced fluorescence*, laser-indutseeritud fluorestsents

LLC - *Logic Level Converter*, loogika nivoo muundur

QLF - *Quantitative Light-Induced Fluorescence*, kvantitatiivne valgusindutseeritud fluorestsents

RGB - *red; green; blue*, punane; roheline; sinine

SMD - *surface-mount device*, pindmontaaž seade

Sissejuhatus

Käesoleva bakalaureusetöö temaatika sai alguse töö juhendaja Dmitri Lanevski ja Tallinna hambaarsti Anneli Aleksiuuse pooljuhuslikust kohtumisest ühel innovatsioonile pühendatud üritusel, kus hambaarst otsis kontakti fluorestsentsdetekteerimise spetsialistiga. Vaja oli luua interdistsiplinaarne füüsikute-stomatoloogide töögrupp kaariese diagnostikaprobleemi lahendamiseks, mis meditsiini valdkonna spetsialistile jäi kaugeks kui mitte kättesaamatuks. Stomatoloogia kitsaskohtadele on Tartu Ülikooli füüsika instituudis varemgi tähelepanu pööratud. Hiljuti valmis sellel alal kaks bakalaureusetööd, ehkki pisut teise suunitlusega – pühendatud ravijärgsete tüsistuste vältimisele [1, 2].

Üks levinuim hammaste haigus on kaaries, mis kujutab endast bakterite elutegevusest lähtuva happe söövitust hambakoes. Kuna Eestis ning ka mujal riikides on hambaravi võrdlemisi kallis, lükatakse hambaarsti külastust nii palju edasi kui vähegi võimalik. Mida rohkem inimene aga hambakliiniku külastust edasi lükkab, seda hullemaks muutub hammaste tervis ning kasvab ravi keerukus ja kulu [3]. Et hambaravi pealt säästa ja tervist paremini hoida, oleks suureks abiks kõigile hõlpsasti kättesaadav meetod kaariese varajaseks tuvastamiseks.

Levinuimad meetodid kaariese haiguskolde detekteerimiseks on kuni tänapäevani nii visuaalne kui ka kompav kontroll, mida teostab hambaarst. Mõlemad meetodid on küll subjektiivsed, aga on siiski piisavalt informatiivsed ning võimaldavad kaariest piisava kindlusega avastada. Juhtudel, kus kahjustus on jõudnud sügavale hamba sisemusse, võetakse kasutusele objektiivsemad meetmed, nagu röntgenograafia. Paljud uuemad meetodid põhinevad luminescentsi kasutamisel kaariese avastamisel ja jälgimisel. Üldotstarbelisse ja laialdasse kasutusse pole need veel siiski jõudnud eelkõige kõrge hinna kui ka vähese praktiseerimise ja napi kogemuse tõttu [4]. Ka käesolevas töös rakendatakse kaariese diagnostikaks just luminescentsil põhinevaid meetodeid.

Ergastades lähis-ultravioletti (UV) valgusega nii kaariesest kahjustatud hammast kui ka tervet hammast, on nende fluorestsentsispektrites näha selgeid erinevusi. Luminescentsispektri

erisusi saab kasutada uurimaks kas hammas on terve või degradeerumas. Professionaalseid kaariese detekteerimise vahendeid, mis kasutavad florestsentsi, on juba kasutuses (VistaProof, DIAGNOdent, Soprolife [5, 6]). Sellised vahendid on aga suunitletud hambaarstidele – nad on väga kallid ning neid pole lihtne kasutada. Käesoleva bakalaureusetöö **eesmärgiks** on anda panus üld-kättesaadava kaariese tuvastamise meetodi ja vastava aparatuuri väljatöötamiseks. Töö **uudsus** seisneb selektiivsete spektri ribade suhte mõõtmises, mille tarvis käesolevas töös on püütud arendada sobivaid seadmeid.

Eesmärgi saavutamiseks on püstitatud järgmised ülesanded:

- selgitada kirjanduse alusel kaariese fluorestsentsi tuvastamise meetodi olemust ja selle kasutusvõimalusi;
- töötada välja katseseade kaariese fluorestsentsi tuvastamiseks;
- viia läbi eksperimendid kasutades eri tüüpi ergastus- ja valgusallikaid ning analüüsida saadud tulemusi;
- prognoosida väljatöötatud seadmete rakendusvõimalusi koos igapäevaste suuhügieeni tarvetega;

Eesmärgi püstitamisel ja selle saavutamise ülesannete valikul on silmas peetud, et potentsiaalne tulem sarnaneb pigem pilootprojektile (nii nagu katselendur ei võta reisijaid kaasa) kui lõplikule tööstusnäidisele.

Töö algab kokkuvõtva infolehega ja sissejuhatusega, milles viiakse lugeja kurssi bakalaureusetöö probleemide ja otsitavate lahendustega. Järgnevas kirjanduse ülevaatest saab täpsemalt lugeda kaariesest ja selle tuvastamisest. Lisaks antakse ülevaade eksperimentaalses osas kasutatavatest võtetest. Edasi käsitletakse töö eksperimentaalses osas läbi viidud katseid ja nende tulemusi. Põhiosa tööst lõpeb kokkuvõtte ja järeldustega.

Peatükk 1

Kirjanduse ülevaade

Kirjanduse ülevaate koostamiseks kasutati otsingumootoreid ScienceDirect ja Google Scholar. Põhilised märksõnad mida otsingutes kasutati, olid kombinatsioonid „*fluorescence*“, „*cariese*“, „*detection*“. Seejuures pöörati enim tähelepanu viimasel kümnendil ilmunud publikatsioonidele. Patendiuuringud teostati Google Patent'iga.

1.1 Hammaste tervis ja ravi Eestis

Informatsiooni hambaarstide kohta leidub juba aastast 1930, mil Eestis oli üks hambaarst 5555 elaniku kohta. 2006. aastaks on hambaarstide arv üks 1000 elaniku kohta, seega tõusnud 5,5 korda. Hammaste tervise ja kaariese leviku kohta on usaldusväärseid andmeid aastast 1968. Trend sellest ajast näitab, et kaariesest haaratuse protsent 5-6 aastastel lasteaialastel on langenud, kuid siiski võrdlemisi suur. Põhjusteks on lastevanemate vähenenud huvi piimahammaste ravimisel ning ebapiisav riiklik profülaktiline ja sihipärane sekkumine rahva tervise parandmisel. Näiteks Soomes on ennetustegevuse eesmärgil keelatud maiustuste müük koolides ja teistes lasteasutustes. [7]

Lisaks kaariesele toimub hammaste tervise halvenemine hammaste kokkupuutel hapetega. Selle tagajärjeks on hammaste erosioon ehk toimub mineraalide kadu hammaste kõvakudedes. Erosioon on asümptomaatiline haigus, mistõttu on selle algfaas raskesti jälgitav. Happed, mis erosiooni põhjustavad, ei ole bakteriaalset päritolu. Kaaries ja erosioon ei avaldu pea kunagi üheaegselt, kuna põhilised kattu põhjustavad mikroorganismid, nagu *Streptococcus mutans*, lõpetavad 4,2 pH väärtuse juures oma tegevuse. Ravi siinkohal on pigem profülaktilise suunaga, mis tähendab erosiooni korral muudatusi elustiilis. Alles peale suukeskkonna happelisuse kontrolli alla saamist rakendatakse vajaduse korral taastav või proteetiline ravi. [8]

1.2 Hambakaaries

Kaaries on hammaste ümbruses olevast bakteriaalsest tegevusest tingitud haigus, mille tunnused jagunevad nelja staadiumi [9]. Selline kaariese staadiumite jaotus võib ka kirjanduses veidi varieeruda:

1. **Algav kaaries** - hambaemali piimjas karioosne laik ilma hambakoe defektita.
2. **Emailikaaries** - pindmine piimjasvalge, harvem pigmenteerunud kaaries.
3. **Dentiinikaaries** - keskmise ulatusega hambaluukaaries, mida ääristab kriitjasvalge või pruunikalt pigmenteerunud email.
4. **Sügav hambaluukaaries** ulatub hambasäsi lähedusse ja on kergesti märgatav, sest kahjustatud on suur osa hambakoest.

Hamba ümbruses olevad bakterid loovad toidujäänustest ja suhkrust happelise keskkonna, mis lõhub hamba pinda ehk toimub hamba demineralisatsioon. Uuringud näitavad, et juba 2 h kuni 4 h peale hambapesu, on 30% emaili pinnast kaetud bakteriga (*Streptococci*), mis põhilist hävitustööd põhjustab [10]. Juhul kui emaili pind süljes olevatest mineraalidest ei jõua piisavalt kiiresti taastuda, tekib kaaries. Sellise kaariese ravi tähendab haigestunud hambakoe eemaldamist ja tekkinud õõnsuse tehismaterjaliga plombeerimist.

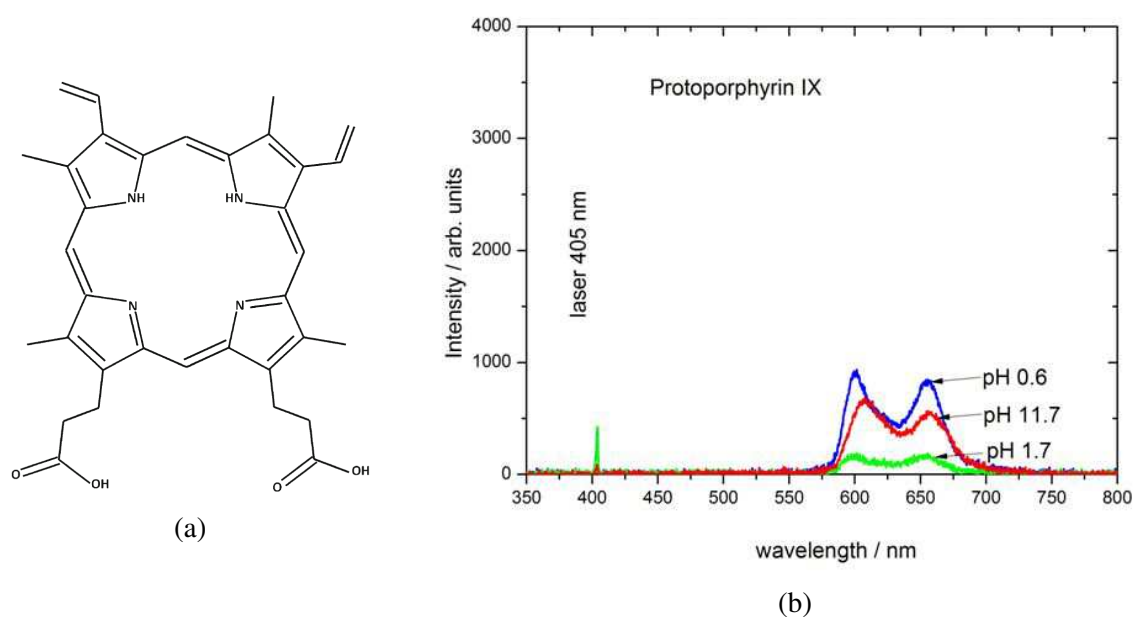
Kaariese leviku vältimisel patsiendi suus on väga oluline roll mineralsatsiooni tsüklil. Nii dentiinis kui ka emailil toimub mineralisatsioon erinevalt. Küll aga mängib mõlemal juhul olulist rolli kaltsiumi ja fosfaadi akumulatsioon hamba pinnal. Akumulatsioonidest kasvavad fluoriidi abil haiguskolde ümbruses uued happekindlad pinnad, mis on esialgselt mineraalidest raskemini lahustuvad [11]. Demineralisatsiooni tuvastamisel tema algfaasis on kaariese edasist arengut võimalik ära hoida mineralisatsiooni tsüklis remineralisatsiooni osakaalu suurendamisega [12].

1.2.1 Kaariese tuvastamine

Visuaalsel tuvastamisel on kaariese puhul näha emaili kareduse ja läbipaistmatuse suurenemist [8]. Vaatlus viiakse läbi heas valgustuses ja kuival pinnal. Lisaks kasutatakse parema ülevaate saamiseks kombitsat ja peeglit. Meetodi nõrkusteks on tema subjektiivsus ning risk, et kompides haigus levib. Hetkel on kasutuses üldlevinud visuaalse kaariese tuvastamise süsteem ICDAS, mis on kehtestatud rahvusvaheliste teadlaste grupi poolt.

Radiograafias rakendatakse fakti, et mineraalide vähenemisel hambas väheneb ka röntgenkiire sumbumine. See ilmneb radiograafilise tiheduse suurenemisena. Täpseima tulemuse saamiseks rakendatakse radiograafiat, visuaalset meetodit ning kompamist korraga. Radiograafia on eriti tänuväärne just sügavama kaariese tuvastamisel.

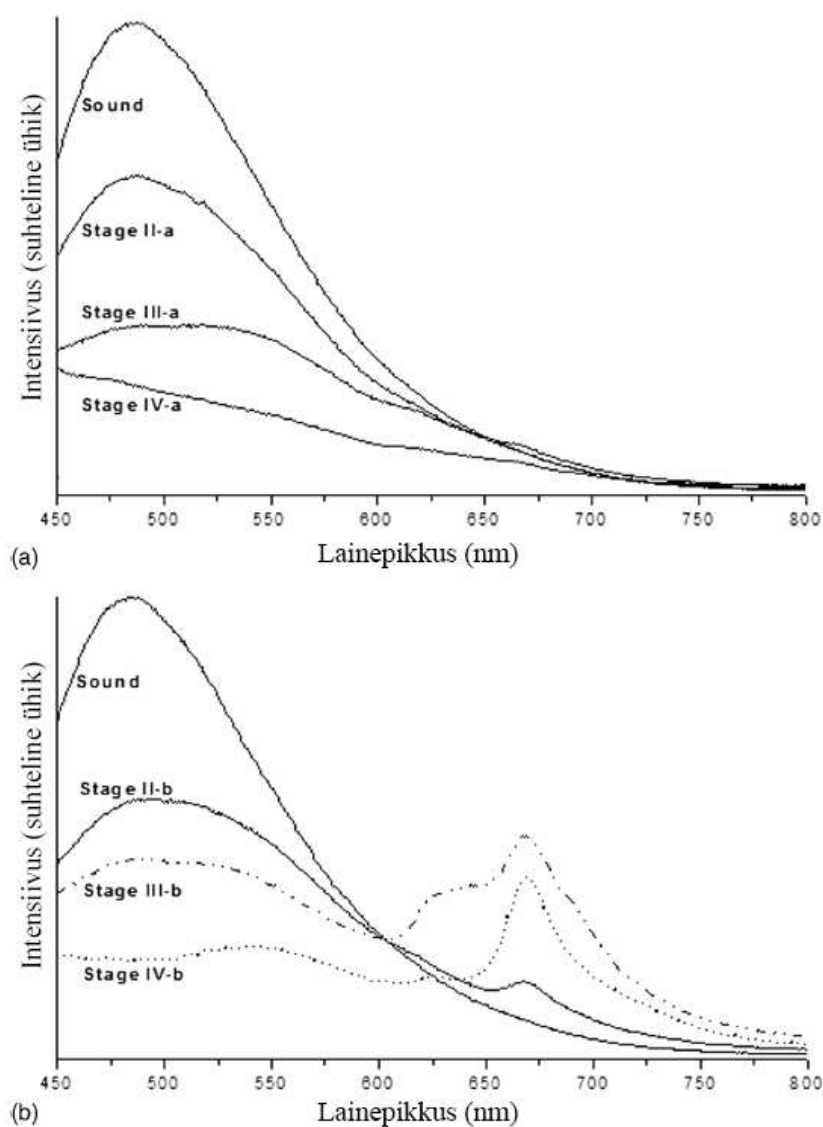
Esmaste emaili demineralisatsioon juhtub bakteriaalsest biosünteesist, mille käigus tekib erinevaid porfüriine, peamiselt protoporfüriin IX (joonis 1.1a) [13]. Protoporfüriinile ja bakteritele, mis kaariest põhjustavad [14], on omane punane fluorestsents (joonis 1.1b), mille tuvastamine võiks järelkult viidata kaariese tekkele. Sellist esmast kaariese tekke alget on nii visuaalselt kui ka radiograafiaga raske tuvastada. Oraalse biofilmi olemasolu ja kaariese tekke vahel on seos kinnitatud ka kromatograafiaga [15]. Väga detailne seos mineraalide vähenemise, biokeemilise koostise ja hamba pinna kõvaduse vahel on näidatud Raman ja fluorestsents spektrograafia ning Knoop mikrokõvaduse (KHN) testiga [16].



Joonis 1.1: (a) Protoporfüriin IX struktuur [15]. (b) Protoporfüriin IX fluorestsentsi spekter [17].

Levinuimad optilised meetodid kaariese tuvastamiseks on kvantitatiivne valgusindutseeritud fluorestsents (QLF), laser-indutseeritud fluorestsents (LF) ja transilluminatsioon lähis-infrapuna valgusega [18]. QLF puhul hamba karioosse haiguskolde pindmise poorse struktuuri tõttu valgus hajub tugevamalt ning hamba loomulik roheline fluorestsents kahaneb (joonis 1.2). Fluorestsents indutseeritakse lähis-UV valgusega lainepikkusel 290 nm kuni 450 nm. QLF teooriat on detailselt lahatud erinevates publikatsioonides [19, 20, 21]. LF puhul ergastatakse hammast punase laseriga lainepikkusel 655 nm. Kaariese korral teatud orgaanilised molekulid, peamiselt protoporfüriin IX, fluorestseeruvad lähis-IR piirkonnas, mille

intensiivsust on võimalik mõõta. Seda meetodit rakendab näiteks kommertsiaalselt kättesaadav *DIAGNOdent* [22]. Transilluminatsiooni puhul mõõdetakse emaili läbilaskvust lähis-infrapuna valgusega. Valguskiir lainepikkusel 1,3 μm hajub mineraale kaotanud emailil tugevamalt kui tervel hambal [23, 24].



Joonis 1.2: Hamba fluorestsentsispektrid kaariese erinevates staadiumites. Maksimumid spektri punases osas joonisel (b) tulenevad protoporfüriin IX akumulatsioonist, mida joonisel (a) näha pole [25, 26].

Kirjandusest leitava info põhjal on kõige efektiivsem kaariest avastada, ergastades fluorestsentsi lähis-UV valgusega 400 nm ümbruses [27]. On näidatud, et 337 nm kuni 515 nm ergastusvalgusel on võimalik karioosse ja terve hamba koe fluorestsentsispektreid eristada [28], mis on tingitud porfüriinide neeldumisspektrist samas spektripiirkonnas [17]. Nagu joonis 1.2 (a) osa näitab, võib karioosse hamba spekter väljenduda ainult rohelse spektri

piirkonna nõrgenemisest. See tähendab et ei pruugi piisata ainult porfüriini punase fluorestsentsi mõõtmisest, vaid tuleks mõõta punase ja rohelise piirkonna suhe. Ergastades lähis-UV valgusega võib kaariese tekkimisel näha porfüriinide punast fluorestsentsi (joonis 1.2 (b)) bakteriaalse tegevuse tõttu, mida on ka eksperimentidega korduvalt näidatud [29, 30]. Kaariese fluorestsentsispektrit mõjutab ka suu pH tase, kuna pH mõjutab porfüriinide fluorestsentsi omadusi [17, 31]. Viimane väljendub porfüriini fluorestsentsi spektri ribade nihkumises kuni 10 nm võrra suuremate lainepikkuste poole pH taseme alanemisel.

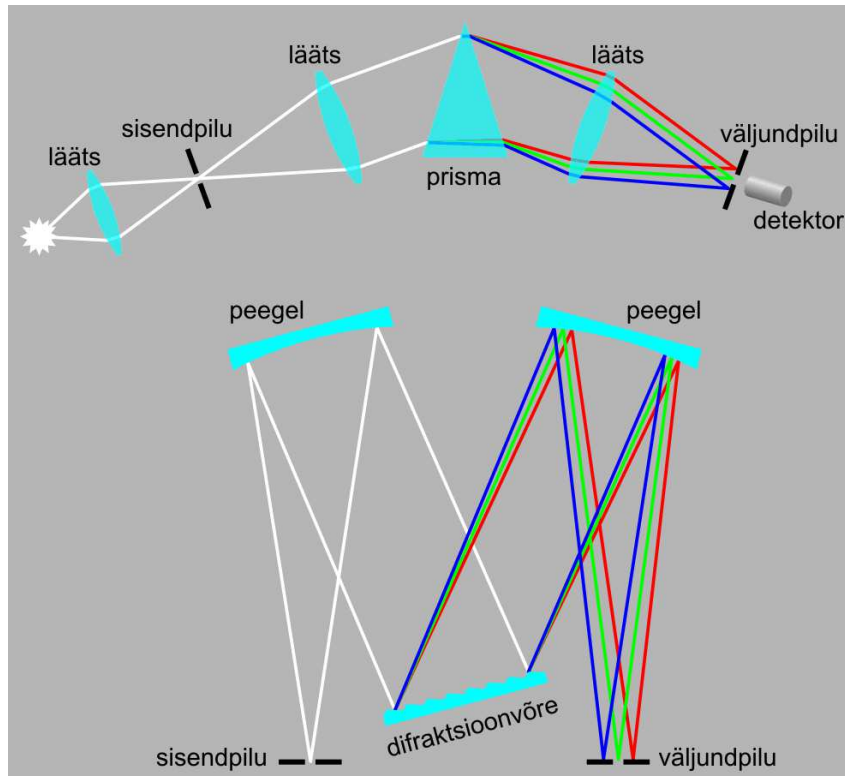
Võrreldes visuaalset kontrolli, radiograafiat ning valgusdiod (LED) ja laser ergastusega fluorestsentsseadmete võimekust kaariest tuvastada, jäävad oma täpsusega mõlemad fluorestsentsseadmed peale. Tuleb siiski mainida, et nii LED kui ka laser fluorestsentsseadmetega esineb rohkem I tüüpi vigu (*false positive*) tervete hammaste korral. [32].

1.3 Optilised seadmed ja meetodid, millel baseeruvad katsed

Katsetes kasutatakse kaariese tuvastamiseks fluorestsentsi, mis on luminescentsi alaliik. Fluorestsentsispektrite mõõtmiseks kasutati erinevaid spektromeetreid.

1.3.1 Spektromeeter

Spektromeeter on seade, mis võimaldab selektiivselt mõõta seadmesse siseneva valguse intensiivsust erinevatel lainepikkustel. Lainepikkuste eraldamiseks suunatakse kollimeeritud valgus disperseerivale elemendile, milleks on kas prisma või difraktsioonivõre. Disperseeritud valgus fokuseeritakse kas kitsale väljundpilule või fokaaltasandil asetsevale CCD kaamerale. Seda, mis lainepikkusega valgus väljundpilule täpselt satub, on võimalik reguleerida. Kui väljundpiluga on eraldatud lainepikkused väga kitsas vahemikus (~1 nm), nimetatakse sellist seadet monokromaatoriks. Skaneerival monokromaatoril võib spektri mõõtmiseks kasutada tavalist fotodiodi, laviin-fotodiodi või fotokordistit. Vastavad seadmed on kujutatud joonisel 1.3.



Joonis 1.3: Valguse disperseerimine monokromaatoris prismaga (ülemine) ja difraktsioonivõre (alumine) [33].

1.3.2 Spektromeeteri karakteristikud

Joonisel 1.3 allosas kujutatud skeemi üks põhilistest karakteristikutest on disperseeriva elemendi (difraktsioonivõre) lainepikkuste ruumilise eraldamise võimekus. Selle kirjeldamiseks on võetud kasutusele lineaarne dispersioon D_l , mis näitab kui kaugel on üksteisest väljundobjektiivi fookuses asuvad kiired, mille lainepikkused erinevad üksteisest lainepikkuse ühiku võrra. $D_l = \Delta x / \Delta \lambda$, kus lainepikkuste erinevusele $\Delta \lambda$ vastab nendevaheline kaugus ruumis Δx . Järelikult pilust väljuva spektraalriba laius on

$$\Delta \lambda = \frac{s}{D_l}, \quad (1.1)$$

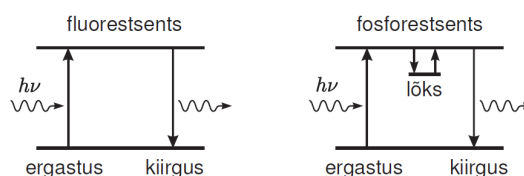
kus s on pilu laius.

Lineaarset dispersiooni D_l saab hinnata nurkdispersiooni D_β kaudu. Nurkdispersioon $D_\beta = \Delta \beta / \Delta \lambda$, kus $\Delta \beta$ on nurga muutus lainepikkuse muutusel $\Delta \lambda$. Lineaarne dispersioon on seotud nurkdispersiooniga läbi väljundobjektiivi fookuskauguse f : $D_l = f D_\beta$.

1.4 Fluorestsents

Luminescents on igasugune valguse kiirgamine, mis ei ole tingitud materjali temperatuurist. Samas on olemas ka luminestsentsi liike, nagu näiteks termoluminescents, kus alles temperatuuri tõstes hakkab eelnevalt ergastatud materjal valgust kiirgama. Luminestsentsi ergastamiseks võib aine saada energiat näiteks valgusega kiiritamisel, keemilisest reaktsioonist, elektrivoolust või muust mittesoojuslikust allikast. Oluline nõue luminestsentsile on, et tema järelhelenduse kestus oleks pikem valguslaine võnkeperioodist. Niimoodi on välistatud peegeldumise või teatud tüüpi hajumiste liigitumine luminestsentsi alla.

Käesolevas töös rakendatakse aine omadust kiirata valgust peale footoni neeldumist ehk peale fotoergastust. Selle nähtuse nimetus on fotoluminescents, mis omakorda jaguneb fosforestsentsiks ja fluorestsentsiks. Fosforestsentsi ja fluorestsentsi erinevus seisneb selles, et fosforestsents lähtub tripletsest seisundist, millest üleminekud singletsele põhiseisundile on keelatud ja seetõttu püsib fluorofoor ergastatud seisundis kauem (joonis 1.4). Fosforestsents võib kesta alates millisekundist kuni tundideni, fluorestsents aga piirdub nanosekunditega.



Joonis 1.4: Fluorestsentsi ja fosforestsentsi erinevus [33].

Fluorofoori spontaanne kiirgus fluorestsentsil on juhuslik kvantmehaaniline nähtus, mis on puhtalt tõenäosuslik. Järelikult, et kirjeldada fluorofoori järelhelenduse kestvust, tuleb rääkida selle suurema ansambli statistilisest käitumisest. Niimoodi saab kirja panna ergastatud fluorofooride arvu ajas:

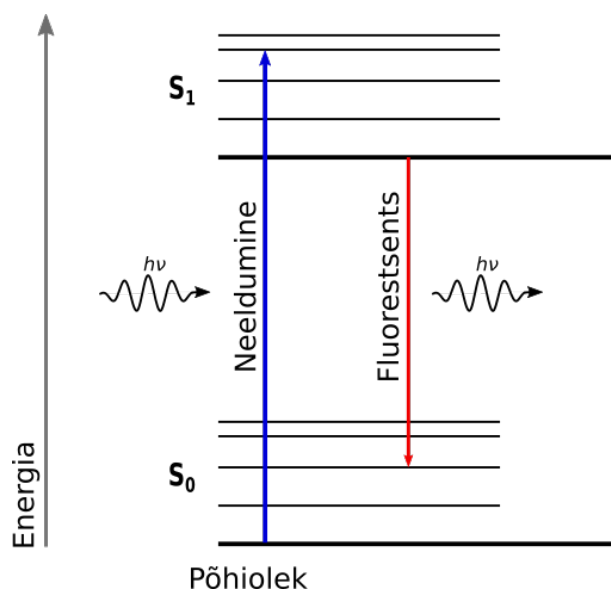
$$N(t) = N_0 e^{-t/\tau}, \quad (1.2)$$

kus N_0 on ergastatud fluorofooride arv alghetkel (ergastuse lõppemise hetkel) ning τ fluorestsentsi eluiga ehk kustumisaeg. Võrrandi 1.2 võib samamoodi kirja panna kasutades ergastatud seisundite arvu asemel kiirguse intensiivsust:

$$I(t) = I_0 e^{-t/\tau}. \quad (1.3)$$

Võrrand 1.3 kehtib ainult juhul, kui ansambelis olevad fluorofoorid on identsed, vastasel korral tuleb erinevaid ansambleid kirjeldavad intensiivsuste (valem 1.3) funktsioonid liita.

Fluorestsentsi lainepikkus on üldjuhul suurem, kui ergastav lainepikkus. Elektronseisundite muutusi kirjeldab piltlikult Jablonski diagramm (joonis 1.5). Peale fluorofoori ergastamist elektronvõnke energiatasemele toimub hetkeline mittekiirguslik relaksatsioon madalaimale elektronvõnke-seisundile, kust kiiratakse juba esialgselt neelatud energiast väiksem energiakvant.



Joonis 1.5: Jablonski diagramm ehk energiatasemete skeem footoni neeldumisel ja aine fluorestseerumisel.

1.4.1 Patoloogiliste kudede ja ainete tuvastamine fluorestsentsi abil

Kuna erinevate molekulide ergastamisel valgusega kiiratakse ka erinev fluorestsentsi spekter, on võimalik fluorestsentsi rakendada aine tuvastamisel. Fikseerides ergastava valguse kindlal lainepikkusel ning mõõtes materjalist kiiratud valguse intensiivsuse mingis lainepikkuse diapasaonis, on võimalik määrata fluorestsentsi kiirguse spekter. Vastupidi, fikseerides mõõdetava kiirguse lainepikkuse ning muutes ergastuse lainepikkust, on võimalik määrata fluorestsentsi ergastusspekter. Kõige informatiivsema pildi saab siis, kui kiirguse spekter mõõdetakse erinevatel ergastuse lainepikkustel. Materjalide fluorestsentsi spektri varieeruvus tuleneb neis olevate fluorofooride struktuuri ja neid ümbritseva keemilise keskkonna erinevustest. Molekuli struktuurist oleneb teda kirjeldav lainefunktsioon ehk ka elektroonsete energiatasemete ning võnkeseisundite jaotus. Ergastatud seisundite energiat mõjutab ka fluorofoori ümbritsev keskkond kuna sellest sõltub lokaalne elektriväli milles fluorofoor

asub [34].

Spektromeetrit, millega fluorestsentsi mõõdetakse, nimetatakse spektrofluorimeetriks. Selline spektromeeter koosneb tavaliselt kahest monokromaatorist, kus üks on ergastava valguse monokromatiseerimiseks ja teine katseobjektilt kiirgava valguse disperseerimiseks. Kui ergastamiseks kasutatakse kindla lainepikkusega valgusallikat, näiteks laser, siis piisab ainult ühest monokromaatorist.

Peatükk 2

Eksperimentaalne osa

2.1 Kasutatud riist- ja tarkvara

Eksperimendi andmete kogumisel ja nende analüüsimisel kasutati põhiliselt juhendaja Dmitri Lanevski arvutit, mille tehnilised näitajad on välja toodud järgnevas tabelis (tabel 2.1):

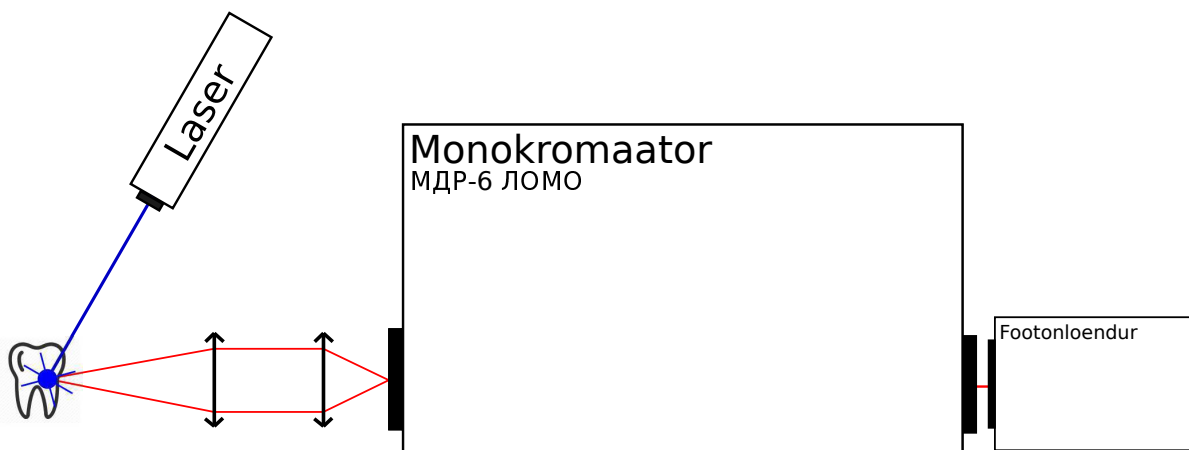
Tabel 2.1: Kasutatud sülearvuti (Dell Latitude E5540) tehnilised näitajad.

Protsessor	Intel Core i7-4600U @ 2,10GHz 2,7GHz
Mälu	8GB DDR3
Graafika	Nvidia GeForce GT 720M

Andmeid koguti *Microsoft Windows 8.1 Pro* platvormil visuaalprogrammeerimise tarkvaraga *LabVIEW* ning arendusplaadiga *Arduino*, millele on olemas ka kohandatud kasutajasõbralik C/C++ keelne programmeerimise tarkvara. *LabVIEW* eelisteks on tema lihtsad ja paindlikud võimalused andmete kogumise keskkonna loomiseks. Lisaks olid *LabVIEW*-s juba olemas raudvaraga suhtlemiseks vajalikud seadmedraiverid. Katsetes kasutatud hambad olid hambaarst Anneli Aleksiuuse praksises patsientidelt eemaldatud hambad.

2.2 Hamba terve koe ja kaariese kahjustuse fluorestsentsispektrid

Hambakaariese ja terve hamba erinevuste optiliseks äratundmiseks koostati järgmine eksperimendiseade (joonis 2.1):



Joonis 2.1: Katse skeem fluorestsentsi spektri mõõtmiseks.

Katses kasutatud seadmed ja mõõteriistad:

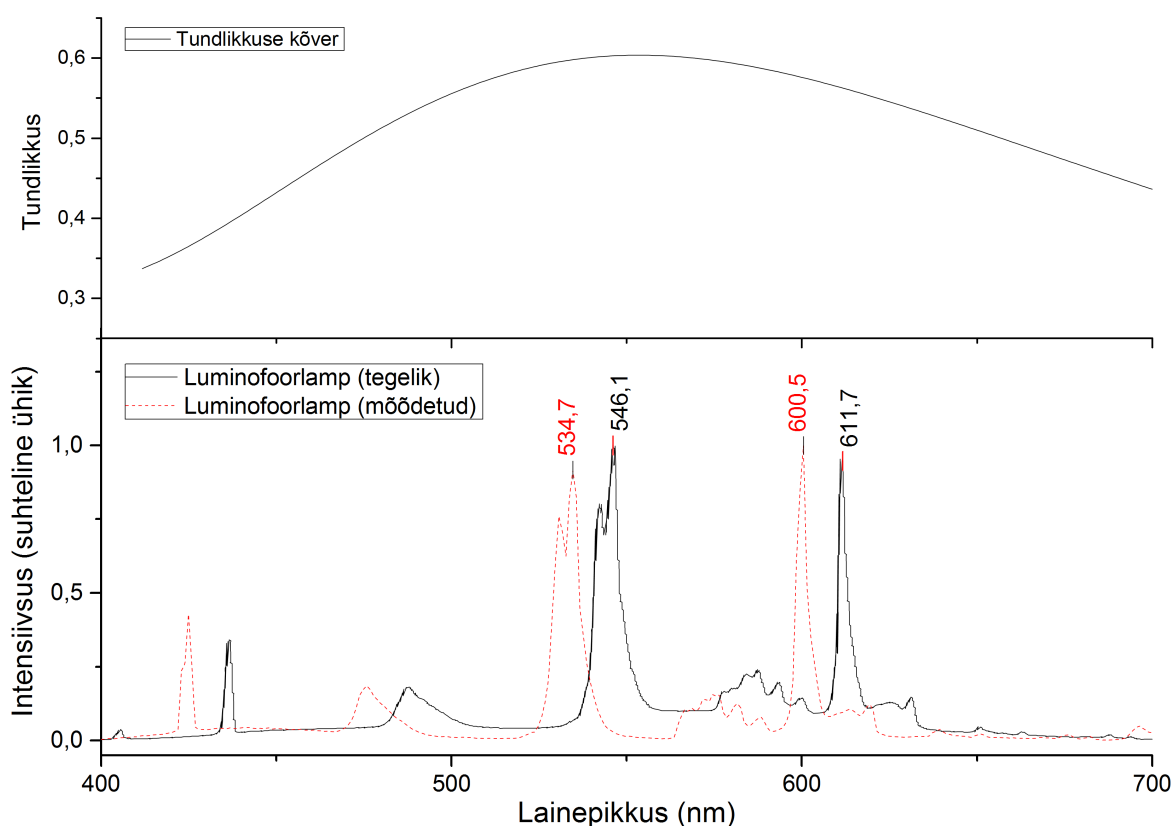
- 405 nm laser (klass 3B) väljundvõimsusega 50 mW
- Skaneeriv monokromaator МДР-6 ЛОМО
- PDM seeria laviin-fotodiod [35]
- *Racal - Dana* 1991 universaalne taimer/loendur [36]

Hamba ja kaariese ergastamiseks kasutati laserit, mis kiirgab lainepikkusel 405 nm. Laboriruumi aknad olid pimendatud ja kõik ülejäänud valgusallikad olid välja lülitatud. Uuritav hammas asetati koondava lääts fookusesse, mis kollimeeris hambalt lähtuva fluorestsentsi. Edasi suunati kollimeeritud valgus järgmisele kumerläätsle, mille fookuses asub monokromaatori sisendpilu. Katses kasutati kahe difraktsioonivõrega topeltmonokromaatorit lineaarse dispersiooniga 1,3 nm/mm. Väljundpilu laiuseks valisime 0,5 mm, mis vastab spektraalsele laiusele 0,65 nm. Pilu laius pidi olema piisavalt suur, et signaal-müra suhe oleks maksimaalne, samas aga piisavalt väike, et spekter oleks võimalikult täpselt mõõdetud. Laviin-fotodiodi väljundiks olevat elektriliste impulsside jada, mille sagedus on proportsionaalne mõõdetava footonite vooga, loendati sagedusmõõtjaga *Racal - Dana*. Sagedusmõõtjast suunati andmed GPIB liidese vahendusel edasi arvutisse, kus nad salvestati

ja kuvati *LabVIEW* programmiga. Sagedusmõõtja draiver modifitseeriti selliselt, et programm küsiks andmeid võrdse ajavahemiku tagant ja salvestaks need tekstifailina.

2.2.1 Spektrite korrigeerimine

Tulemused loeti tekstifailist andmetöötluse tarkvarasse *OriginPro*. Esmalt mõõtsime luminofoorlambi spektri, milles leiduvate elavhõbeda joonte järgi tegime kindlaks spektromeetri lainepikkuste skaala parandi. Mõõdetud spektrite intensiivsused korrigeerisime laviin-fotodiodi spektraalse tundlikkusega (joonis 2.2–ülemine graafik).

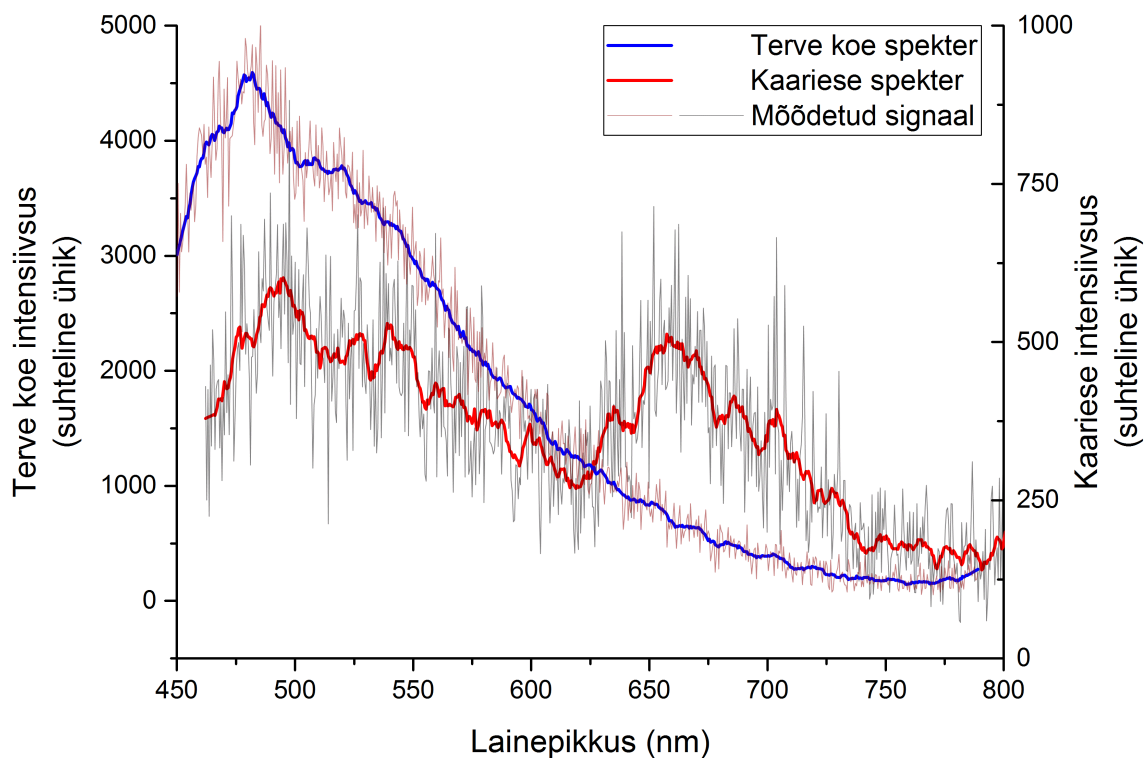


Joonis 2.2: Laviin-fotodiodi tundlikkuse kõver (ülemine graafik). Tegeliku ja mõõdetud luminofoorlambi spektrid (alumine graafik).

Joonisel 2.2 on näha luminofoorlambi spektrid, nii meie poolt mõõdetud kui ka kirjandusest võetud spekter [37]. Spektrite vastavad maksimumid on teineteises suhtes ühesuguses nihkes (11,3 nm), millest võib järeldada spektromeetri lainepikkuste skaneerimise lineaarsuse. Selle aluseks on siinusmehhanismi piisav täpsus kui ka skaneerimismootori kiiruse konstantsus. Kõik joonisel 2.1 toodud katseseadmega mõõdetud spektrid on lainepikkuste parandiga korrigeeritud.

2.2.2 Spektrite mõõtmine

Joonisel 2.1 kujutatud katseseadmega mõõdeti hamba terve pinna ning kaariesest kahjustatud pinna fluorestsentsi spektrid. Saadud tulemused on näha joonisel 2.3, kus on ära toodud suhteliselt müraised töötlemata spektrid kui ka silutud spektrid.



Joonis 2.3: Terve hamba ning hambakaariese fluorestsentsi spektrid laserergastusel lainepikkusel 405 nm.

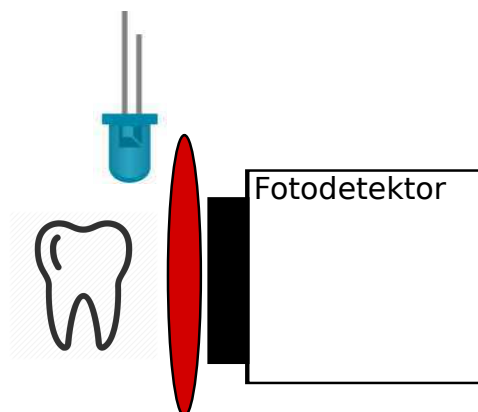
Võrreldes joonisel 2.3 toodud ja kirjandusest leitud spektreid (joonis 1.2) on selgelt näha hamba spektrite kokkulangevusi. Lisaks võime joonisel 2.3 näha karioosselt pinnalt mõõdetud spektris väga tugevat rohelist fluorestsentsi langust vahemikus 450 nm kuni 550 nm ning väikest maksimumi punases, mis viitab porfüriinide olemasolule.

2.3 Kaarise tuvastamine fotodiodiga

Fluorestsentsi detekteerimissüsteemi lihtsustamiseks võtsime kasutusele mõõteskeemi, kus spektromeetri asendasime filtriga ja hinnalise laviinfotodiodi asendasime fotodiodiga. Katses kasutatud seadmed ja mõõteriistad olid järgmised:

- LED kiirgusmaksimumiga 395 nm (UV5TZ-395-15)
- Interferentsfilter läbilaskvusmaksimumiga 670 nm (D670/20x)
- Võimendiga fotodiod (ODA-6WB-100M)
- Laserdiodi kontrolleri (LDC501)
- Ostsilloskoop (*Tektronix* TDS220)

Eelneva eksperimendi tulemustest lähtudes koostati järgmine eksperimendiseade porfüriini tuvastamiseks hambalt (joonis 2.4, A.1):



Joonis 2.4: Katse skeem kaarise detekteerimiseks.

Hammast valgustatakse sinise LED-iga ning hamba ja fotodetektori vahele on pandud interferentsfilter. Filter on valitud arvestades kaarise spektrit joonisel 2.3, läbilaskvusmaksimumiga 670 nm ja ribalaiusega 20 nm. LED valgusti pingestati kontrolleri LDC501. Fotodetektoriga mõõdetud valguse intensiivsus visualiseeriti ostilloskoobiga.

Katse eesmärk oli tuvastada joonisel 2.3 näidatud porfüriini fluorestsentsi. Kui hammast alusel keerata nii, et karioosne pind on suunatud detektori poole, oli ostilloskoobi ekraanil näha fotodetektorilt tuleva signaali intensiivsuse kasvu.

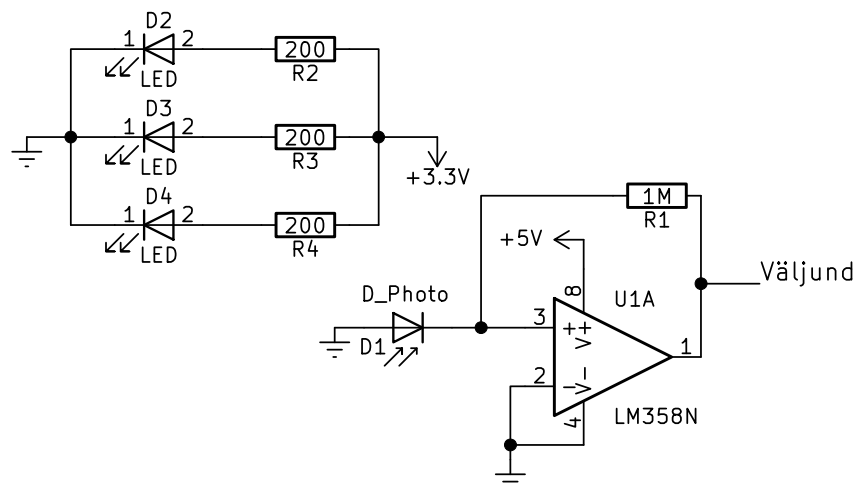
2.3.1 Kasutajasõbraliku seadme esmase prototüübi väljatöötamine

Kuna töö lõppeesmärgiks on praktilise ja kasutajasõbraliku seadeldise prototüübi välja töötamine hambakaariese tuvastamiseks, tuleb eelmises katses (vt 2.3) valmistatud seade teha kompaktsemaks. Lisaks tuli silmas pidada, et kasutatavad komponendid nii elektroonika, optika, kui mehaanika osas oleksid võimalikult odavad ja kättesaadavad.

Kasutatud seadmed ja elektroonika (sulgudes viited komponentidele joonisel 2.5):

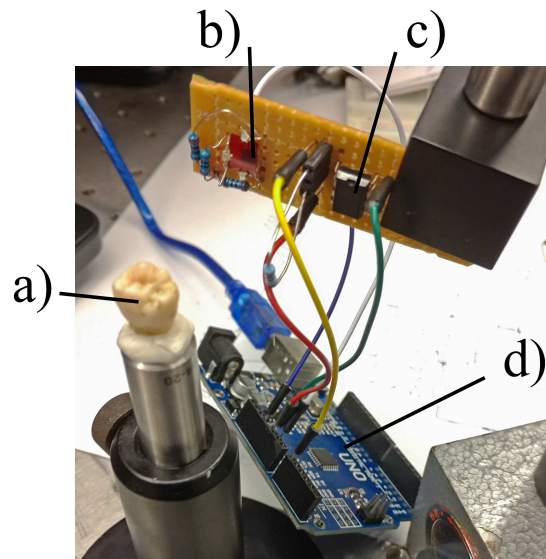
- SMD LED SM0603UV-400 400 nm ~ 405 nm (D2, D3, D4)
- Fotodiod BPW34 (*D_Photo*)
- Takistid: 1 M Ω (R1), 200 Ω (R2,R3,R4)
- Operatsioonivõimendi LM358N(U1A)
- Arendusplaat *Arudino UNO*
- Punane interferentsifilter

Elektroonika monteeriti montaažiplaadile (joonis 2.5) ning andmeid loeti *Arduino* arendusplaadiga (joonis 2.6).



Joonis 2.5: Ergastavate LEDide ja fotodiodi võimendi elektronikaskeem.

Skeemi 2.5 väljundpinget kirjeldab valem $V_{out} = i_d R_1$, kus i_d on voolutugevus, mis kasvab kui valguse intensiivsus suureneb ning takistus R_1 määrab võimenduse.



Joonis 2.6: Porfüriini tuvastava seadme prototüüp; a) mõõdetav hammas; b) fotodiod ja interferentsifilter; c) operatsioonivõimendi; d) *Arduino* arendusplaat

Kuna porfüriini fluorestsents ei ole piisavalt suure intensiivsusega siis antud seadmega seda välja lugeda ei õnnestunud. Suurimaks probleemiks osutus filtri läbilaskvus ergastusvalguse (400 nm) spektri piirkondades.

2.4 RGB anduriga seadme väljatöötamine

Kuna porfüriini iseseisvalt tuvastada pole odavate filtrite ja fotodiodidega võimalik, prooviti järgmise katseseadmega näha joonisel 1.2 ja 2.3 näidatud rohelse fluorestsentsi langust ja punase tõusu digitaalse RGB anduriga, mis võimaldab samaaegselt mõõta valguse intensiivsust kolmes lainepikkuste vahemikus – punases (R), rohelises (G) ja sinises (B) spektriosas. Anduriks valiti APDS-9960, mis kasutab I2C andmeside protokoll.

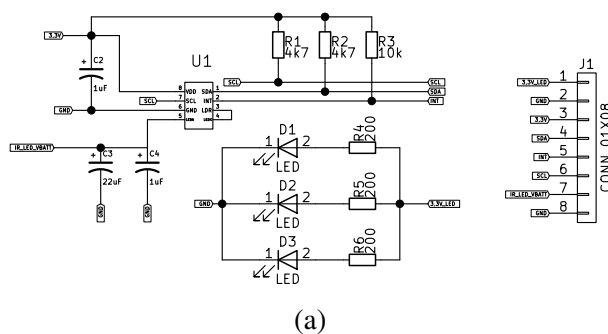
Kasutatud seadmed ja elektroonika (sulgudes viited komponentidele joonisel 2.7):

- SMD LED SM0603UV-400, 400 nm ~ 405 nm (D2, D3, D4)
- RGB andur APDS-9960 (U1)
- Takistid: 4,7 k Ω (R1, R2), 10 k Ω (R1, R2), 200 Ω (R4,R5,R6)
- Kondensaatorid: 1 μ F (C2, C4), 22 μ F (C3)
- Filter λ C12 läbilaskvusega alates ~425 nm (joonis A.2)

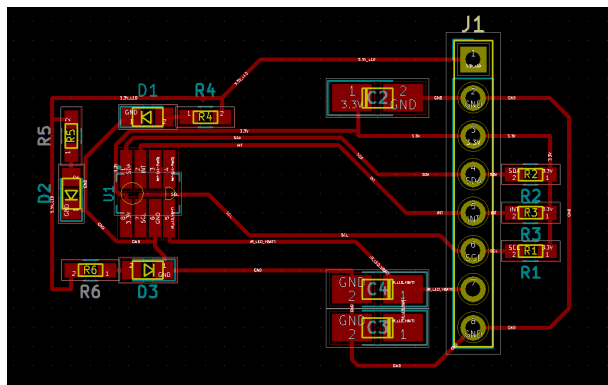
- Regulkeeriv filter laseri intensiivsuse vähendamiseks
- LLC moodul ja arendusplaat *Arduino UNO* (joonis A.3)
- 405 nm laser (klass 3B)
- Minispektromeeter FSD-8
- Optiline võimsuse mõõtja *Newport 1918-c*

2.4.1 Prototüübi ehitamine

Signaali lugemiseks disainiti elektroonikaskeemide kujundamise tarkvaraga *KiCad* ja valmistati RGB anduri andmelehe põhjal trükk-montaažiplaat, mille skeem on kujutatud joonisel 2.7.

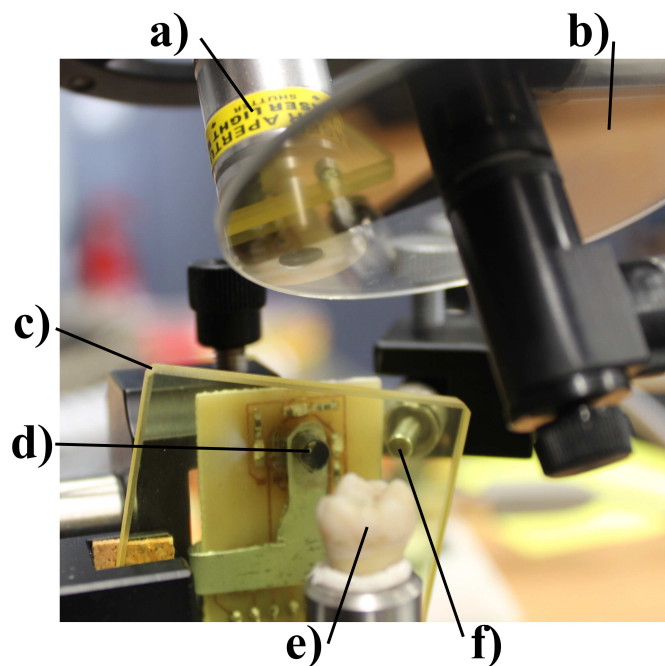


(a)



(b)

Joonis 2.7: RGB anduri elektroonika skeem (a) ja trükiplaadi disain (b).

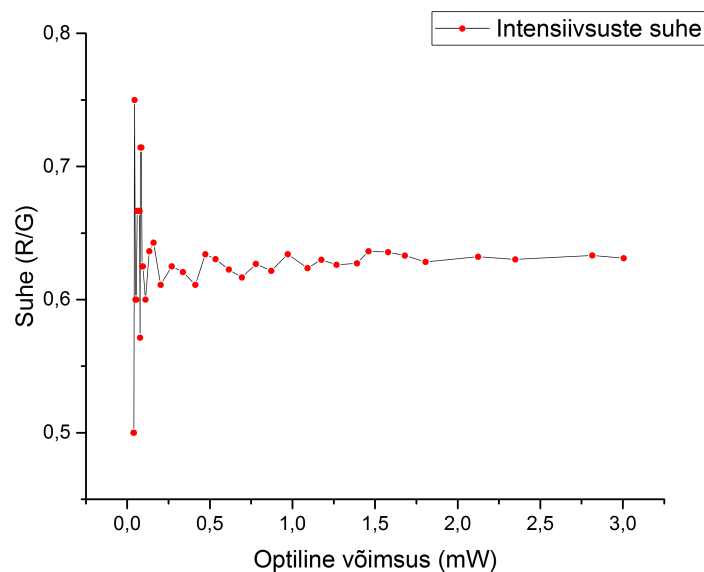


Joonis 2.8: Eksperiment kaariese tuvastamiseks RGB anduriga; a) laser; b) reguleeritav filter laseri intensiivsuse vähendamiseks; c) filter ЖС12; d) RGB andur koos toruga; e) mõõdetav hammas; f) spektromeetri andur.

Arduino mikroprotsessori ja tarkvara vahendusel kuvati arvuti ekraanil RGB anduri punase ja roheline intensiivsuste suhe. Elektroonika kahjustamise vältimises ja signaalide tasemete ühtlustamiseks on *Arduino* ja RGB plaadi ühenduste vahele pandud LLC moodul, mis viib *Arduinost* tuleva 5 V signaali pingele 3,3 V peale. Kuna SMD LEDide intensiivsus pole piisavalt suur, kasutati ergastava valgusallikana 405 nm lainepikkusega laserit. RGB anduri ette asetati filter ЖС12, mis ei lase hambalt peegeldunud ergastava laseri valgust läbi. Antud RGB anduril on punase filtriga anduril tundlikkuse kõveral (joonis 2.10) väikene maksimum lähis-UV juures, mis tänu ЖС12 filtrile punase signaali tugevusele ebavajalikku panust ei anna. Et signaali koguda eelistatult vaid hamba valgustatud piirkonnast, on RGB anduri ette tehtud silindri kujuline kõrvalise valguse tõke. Hammast sai statiivil oma telje ümber keerata, et reguleerida kust anduri silinder valgust kogub. Katse on kujutatud joonisel 2.8.

2.4.2 RGB anduri linearsuse kontroll

Et välistada andurite tundlikkuse sõltuvust valguse intensiivsusest, mõõdeti R/G suhte väärtused erineva intensiivsusega ergastuse juures. Ergastava laseri intensiivsust reguleeriti kettakujulise filtriga, mille pööramiselsai sai laserikiire teele paigutada filtri erineva läbilaskvusega piirkondi. Filtri ja hamba vahele pandi klaasitükk, millelt peegeldunud valgust mõõdeti optilise võimsus mõõtjaga (joonis A.4).

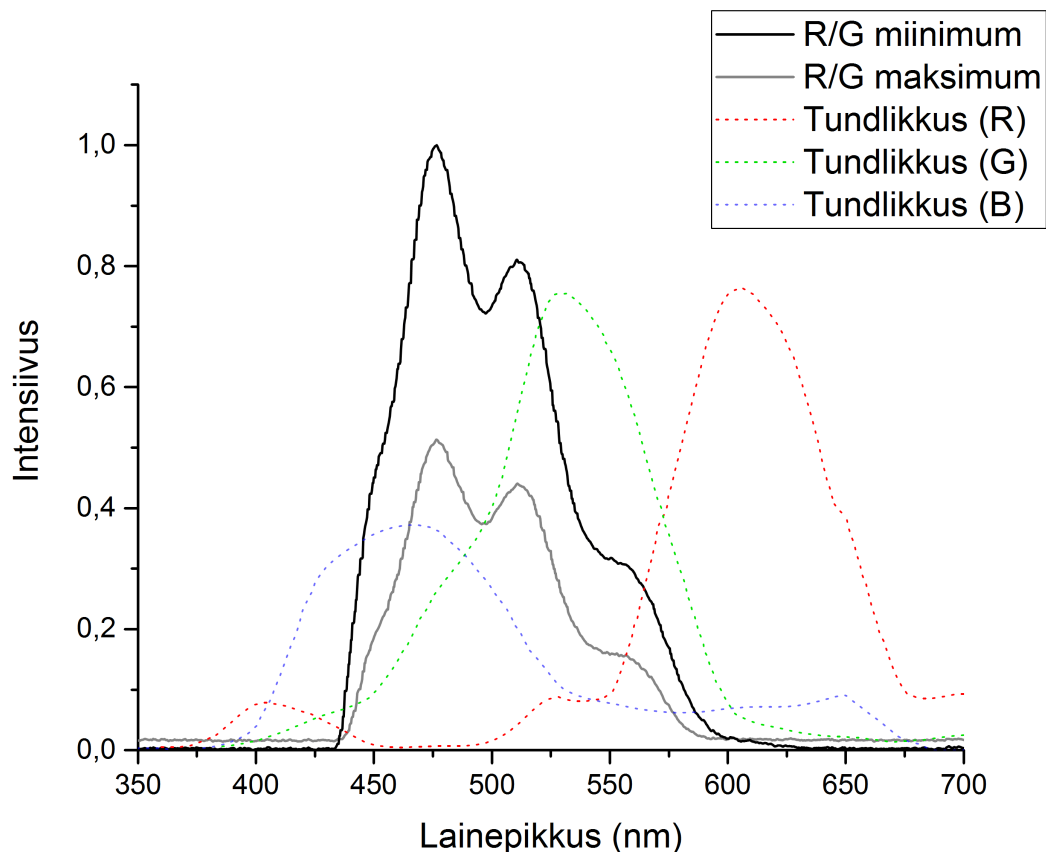


Joonis 2.9: R/G suhete väärtused varieeruvale ergastuse intensiivsusel.

Graafikult joonisel 2.9 on näha, et piisavalt suurte intensiivsuste korral R/G suhe püsib konstantne. Kui RGB andurile langeva valguse intensiivsus on aga liiga väike siis jääb pudelikaelaks analoog-digitaal muunduri resolutsioon, mistõttu nõrkade signaalide korral anduri täpsus kiirelt kahaneb. On ka näha, et suhte mõõtmine, erinevalt ühe parameetri mõõtmisest, tagab signaali sõltuvuse just fluorestsentsi spektrist mitte näiteks kaugusest hambast. Sellele, et tegu ei ole lihtsalt nõrgale signaalile omase müraga vaid A/D konverteerimise digitaalsusega, viitab R ja G signaali stabiilsus ajas ka väikestel intensiivsustel, kus suhte graafik muutub hüplikuks.

2.4.3 Prototüübiga mõõdetud tulemused

Joonistelt 1.2 ja 2.3 on näha, et fluorestsentsi spektris roheline langus ja punase tõus viitab kaariesele. Järelikult, kui meil on intensiivsuste suhte arvutamisel punane fluorestsents jagatud rohelisega siis suhe suureneb kaariese korral ning on minimaalne terve hamba koe puhul.

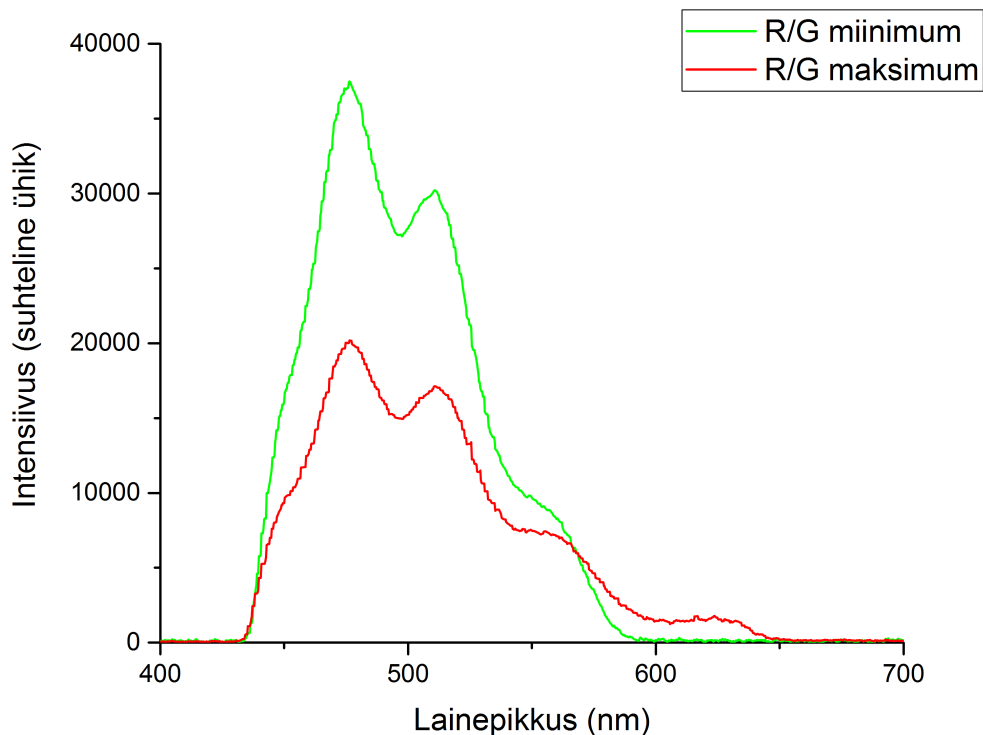


Joonis 2.10: Normaliseeritud spektrid terve (R/G miinimum) ning kahjustunud koe (R/G maksimum) korral. RGB tundlikkuse kõverad; R - punane; G - roheline; B - sinine.

Joonisel 2.10 oleva R/G miinimumi ehk terve koe puhul oli mõõdetud intensiivsuste suhe 0,6463 ning R/G maksimumi ehk kaariese korral 0,7839. Kuigi joonisel 2.10 pole spektris porfüriinile iseäralikku kuju näha, võib suhete muutumisest järeldada, et porfüriini tõttu spektri punane osa siiski väheneb aeglasemalt kui roheline. R/G maksimumi korral oli laseriga ergastades punast fluorestsentsi ka silmaga märgata. Mõõtmistel oli RGB ja spektrometri andurid mõõdetavast hambast 22 mm kaugusel.

Suurendades spektrometri FSD-8 kogumisaega oli võimalik näha R/G maksimumi spektris porfüriinile omapäraselt punast fluorestsentsi intensiivsuse kasvamisena 625 nm juures ning R/G

miinimumis selle puudumist (joonis 2.11). Kogumisajaks valiti R/G maksimumi juures 5 s ning miinimumi juures 2 s.



Joonis 2.11: Terve ehk R/G miinimum (kogumisaeg 2 s) ja kahjustunud ehk R/G maksimum (kogumisaeg 5 s) hamba koe spektrid. 625 nm juures on näha porfüriini fluorestsentsi riba. R/G maksimumi spekter on niimoodi läbi jagatud, et ta oleks võrdeline 2 s kogumisajaga.

Katsetes kasutusel olevatel hammastel oli kude silmnähtavalt haigestunud, mistõttu kaariese tuvastamine oli meie seadmele igati jõukohane. Meetodi ja seadme usaldusväärsuse täpsemaks hindamiseks oleks vaja laiendada katsetes uuritavate hammaste valimit. Seadmelt saadud signaali tuleks võrrelda erineva kaariese tasemega hammaste puhul, kaasaarvatud täiesti terved hambad ja hambad, kus kaariese algfaas avaldub porfüriini akumulatsioonina emailil. Seadme edasises arendusutöös võib otsida veelgi sobivamat RGB andurit (näiteks mis sisaldaks suurema bittide arvuga A/D muundit või analoogväljundiga RGB andur koos eraldiseisva A/D muundiga), tuleb ergastamiseks leida piisava võimsusega ja kitsa spektriga LED valgusti ning tuleb välja töötada kindel viis, kuidas patsient seadet kasutab.

Kaariese tuvastamine fluorestsentsiga Jan Viilma

Kokkuvõte

Püstitatud eesmärk, milleks oli arendada kaariese tuvastamise üldkättesaadav fluorestsentsmeetod ja välja töötada vastava seadme prototüüp, täideti planeeritud mahus.

- Arendati meetodika ja esmane prototüüp hamba kaariese optiliseks tuvastamiseks. Katseseadme valmistamisel lähtuti sellest, et komponendid oleksid üld-levinud, odavad, ohutud tervisele ning kasutajasõbralikud.
- Kirjanduse põhjal selgitati fluorestsentsi kasutamist inimese bioainete tuvastamisel, uuriti kaariese olemust ning avaldumise viise ja täpsustati juba olemasolevaid vahendeid. Leiti, et hamba haigestunud koe põhilisteks erinevusteks võrreldes terve koega on fluorestsentsi intensiivsuse vähenemine spektri rohelises osas ning punase spektriosa suurenemine bakteriaalsest tegevustest põhjustatud porfüriinidest.
- Kaariese detektori prototüübi väljatöötamiseks teostatud eksperimentides mõõdeti ja analüüsiti hamba terve koe ja kaariese spektreid. Kogutud andmete põhjal otsustati, millised peavad olema prototüübis kasutatavate komponentide võimekus (näiteks fotodiodide spektraalse tundlikkuse kõverad ja ergastava valguse intensiivsus).
- Mõõdetud hamba terve koe ja kaariesest kahjustatud koe fluorestsentsi spektrid langesid üldiselt kirjanduses esitatutega hästi kokku.

Valminud prototüübis kasutatakse **uudset** meetodit kaariese detekteerimiseks, mis baseerub RGB kolmikfotodetektorist saadava punase ja rohelise spektripiirkonna intensiivsuste suhtel, mis eristab selgelt hamba tervet ning haigestunud kudesid. Andur ja ka ülejäänud komponendid, peale *Arduino* arendusplaadi asendamist, näiteks mikroprotsessoriga, saab piisavalt kompaktselt kokku pakkida, et kogu elektroonika mahuks tavalise elektroonilise hambaharja korpusesse. Peale prototüübi edasist arendust on otstarbekas ühendada teadmised ja vahendid TÜ stomatoloogide-teadlastega, taotledes luba mitteinvasiivseteks *in vivo* rakenduskatseteks.

Kuna hambaravi on jätkuvalt kallis ja väheoluline pole ka hirm valu ees, mistõttu hambaarsti külastust pigem edasi lükatakse, siis on meie arendatud prototüübil potentsiaali saada üld-kasutatavaks vahendiks suuremate kaariese kahjustuste ennetamisel.

Tänuavaldus

Töö autor soovib tänada kõiki, kes aitasid kaasa töö valmimisele. Tänan hambaarst Anneli Aleksiust innovaatilise idee välja käimise ning mõõdetavate katseobjektidega varustamise eest. Trükk-montaažiplaadiga varustamise ning abistamise eest valmistamisel tänan insener Agu Anijalga. Eelkõige tänan oma juhendajaid Dmitri Lanevskit, Ants Lõhmust ja Koit Muringut nende hindamatu abi ja suunamise eest köesoleva töö valmimisel.

Caries detection with fluorescence by Jan Viilma

Summary

The aim of this bachelor thesis was to apply a fluorescence-based method and develop a prototype for early caries detection, accessible to the public. The aim was fulfilled as planned. The main results obtained are as follows:

- The methodology and the prototype were developed for optical detection of dental caries. When developing the device, it was kept in mind for the components to be widespread, user-friendly and safe to the users health.
- The literature section gives an overview of using fluorescence for the identification of biological material, investigates the nature of the onset of caries and introduces already existing tools. It was found that the key difference between the diseased and the healthy dental tissue is the decrease in green fluorescence intensity as well as the rise in red fluorescence intensity from the accumulation of porphyrine caused by bacterial activity.
- In the experiments that were carried out for the development of a prototype the fluorescence spectrums of healthy and carious dental tissues were measured. The collected data was used to decide the limits and capabilities of the components used in the prototype (for example, the sensitivity curves of the photodiode and intensity of the excitation light).
- The measured fluorescence spectra of healthy dental tissue and caries were well in line with spectra from the literature.

The constructed prototype employs a **novel** method of caries detection, which is based on the evaluation of the ratio of the fluorescence intensities in red and green spectral bands measured by RGB triple photodetector. This ratio clearly distinguishes healthy dental tissue from a diseased one. In the subsequent development it would be practical to replace Arduino with a microcontroller and pack the components more compactly together, fitting them in a regular electronic toothbrush. Moreover, for the further development of the prototype, it is necessary to combine the knowledge and resources of stomatologist-scientists by requesting permission for noninvasive *in vivo* applications.

Since dentistry is still expensive and dental visits are often postponed, the developed device for early caries detection has the potential to become a general-used tool which allows prevention of major damage by caries.

Kirjandus

- [1] E. Aaviksoo. „Meditiinilise titaani funktsionaliseerimine aatomkihtsadestatud kilega“, 2015.
- [2] M. Neitsov. „Ti-5 plasma-anodeerimine ja saadud pindade modifitseerimine“, 2015.
- [3] „Hambaravi läheb edasi lükates vaid kallimaks“. <http://www.terviseuudised.ee/uudised/2016/03/31/hambaravi-laheb-edasi-lukates-vaid-kallimaks>, (2016).
- [4] M. Baffi, J.A. Rodrigues, and A. Lussi. Traditional and Novel Caries Detection Methods. In Ming yu Li, editor, „*Contemporary Approach to Dental Caries*“, pages 109–123. (InTech, mar 2012).
- [5] E. Betrisey, N. Rizcalla, I. Krejci, and S. Ardu. „Caries diagnosis using light fluorescence devices: VistaProof and DIAGNOdent“. *Odontology*, 102(2):330–335, mar 2013.
- [6] A. Mazuir. „Intraoral camera“, August 26 2014. US Patent D711,951.
- [7] G. Kuusik, E.Šibul, S. Russak, and R. Nõmmela. „ülevaade Tartu linna laste hambaravi korraldusest ja hambahaiguste levimusest 5–7aastastel lastel“. *Eesti Arst*, 87(5):342–346, 2008.
- [8] P. Niibo. „Hammaste erosioon“. *Eesti Arst*, 95(3):162–169, 2016.
- [9] „Hambakaaries ja selle ennetamine“. http://www.ut.ee/tervis/hambad/p3_1.htm, (2001).
- [10] M. G. Newman, H. Takei, P. R. Klokkevold, and F. A. Carranza. „*Carranza’s Clinical Periodontology*“. Elsevier LTD, Oxford, 2014.
- [11] J. D. B. Featherstone. „Dental caries: a dynamic disease process“. *Australian Dental Journal*, 53(3):286–291, sep 2008.
- [12] C. González-Cabezas. „The Chemistry of Caries: Remineralization and Demineralization

- Events with Direct Clinical Relevance“. *Dental Clinics of North America*, 54(3):469–478, jul 2010.
- [13] M. R. Alammari, P. W. Smith, E. de Josselin de Jong, and S. M. Higham. „Quantitative light-induced fluorescence (QLF): A tool for early occlusal dental caries detection and supporting decision making in vivo“. *Journal of Dentistry*, 41(2):127–132, feb 2013.
- [14] M. H. Veen, R.Ž. Thomas, M. C. D. N. J. M. Huysmans, and J. J. Soet. „Red Autofluorescence of Dental Plaque Bacteria“. *Caries Research*, 40(6):542–545, 2006.
- [15] J. Fyrestam, N. Bjurshammar, E. Paulsson, A. Johannsen, and C. Östman. „Determination of porphyrins in oral bacteria by liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry“. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 407(23):7013–7023, jul 2015.
- [16] A. Almahdy, F. C. Downey, S.Šauro, R. J. Cook, M.Šherriff, D. Richards, T. F. Watson, A. Banerjee, and F. Festy. „Microbiochemical Analysis of Carious Dentine Using Raman and Fluorescence Spectroscopy“. *Caries Research*, 46(5):432–440, 2012.
- [17] D. Matošević, Z. Tarle, S. Miljanić, Z. Meić, L. Pichler, and G. Pichler. „The Detection of Carious Lesion Porphyrins Using Violet Laser Induced Fluorescence“. *Acta Stomatol Croatica*, 44(4):232–240, 2010.
- [18] L. Karlsson. „Caries Detection Methods Based on Changes in Optical Properties between Healthy and Carious Tissue“. *International Journal of Dentistry*, 2010:1–9, 2010.
- [19] B Angmar-Månsson and J. J. Bosch. „Quantitative light-induced fluorescence (QLF): a method for assessment of incipient caries lesions“. *Dentomaxillofacial Radiology*, 30(6):298–307, nov 2001.
- [20] S. Tranaeus, S. Al-Khateeb, S. Bjorkman, S. Twetman, and B. Angmar-Mansson. „Application of quantitative light-induced fluorescence to monitor incipient lesions in caries-active children. A comparative study of remineralisation by fluoride varnish and professional cleaning“. *European Journal of Oral Sciences*, 109(2):71–75, apr 2001.
- [21] M. H. Veen and E. J. Jong. Application of Quantitative Light-Induced Fluorescence for Assessing Early Caries Lesions. In „*Monographs in Oral Science*“, pages 144–162. KARGER, 2000.
- [22] A. Lussi, R. Hibst, and R. Paulus. „DIAGNOdent: an optical method for caries detection“. *Journal of dental research*, 83 Spec No C:C80–C83, 2004.
- [23] C. L. Darling and D. Fried. „Optical properties of natural caries lesions in dental enamel

- at 1310 nm“. In Peter Rechmann and Daniel Fried, editors, *Lasers in Dentistry XI*. SPIE, mar 2005.
- [24] C. L. Darling, G. D. Huynh, and D. Fried. „Light scattering properties of natural and artificially demineralized dental enamel at 1310 nm“. *Journal of Biomedical Optics*, 11(3):034023, 2006.
- [25] S-A. Son, K-H. Jung, C-C. Ko, and Y. H. Kwon. „Spectral characteristics of caries-related autofluorescence spectra and their use for diagnosis of caries stage“. *Journal of Biomedical Optics*, 21(1):015001, jan 2016.
- [26] B. Joseph, C.Š. Prasanth, J. L. Jayanthi, J. P., and N.Šubhash. „Detection and quantification of dental plaque based on laser-induced autofluorescence intensity ratio values“. *Journal of Biomedical Optics*, 20(4):048001, apr 2015.
- [27] K. Koenig, G. Flemming, and R. Hibst. „Laser-induced autofluorescence spectroscopy of dental caries“. *Cellular and molecular biology (Noisy-le-Grand, France)*, 44:1293–1300, December 1998.
- [28] F.Šundstrom, K. Fredriksson, S. Montan, U. Haftstrom-Bjorkman, and J.Štrom. „Laser-induced Fluorescence From Sound and Carious Tooth Substance - Spectroscopic Studies“. *Swedish Dental Journal*, 9(2):71–80, 1985.
- [29] K. Koenig, R. Hibst, H. Meyer, G. Flemming, and H.Šchneckenburger. „Laser-induced autofluorescence of carious regions of human teeth and caries-involved bacteria“. In Gregory B. Altshuler and Raimund Hibst, editors, *Dental Applications of Lasers*. SPIE, dec 1993.
- [30] K. Koenig and H.Šchneckenburger. „Laser-induced autofluorescence for medical diagnosis“. *Journal of Fluorescence*, 4(1):17–40, mar 1994.
- [31] C. K. Hope, K. Billingsley, E. J. Jong, and S. M. Higham. „A Preliminary Study of the Effects of pH upon Fluorescence in Suspensions of *Prevotella intermedia*“. *PLOS ONE*, 11(7):e0158835, jul 2016.
- [32] E. Bozdemir, A. M. Aktan, A.Özsevik, E.Š. Kararslan, M. E. Ciftci, and M. A. Cebe. „Comparison of different caries detectors for approximal caries detection“. *Journal of Dental Sciences*, 11(3):293–298, sep 2016.
- [33] V. Kiisk. „*Spektroskoopia alused loengukonspekt*“. (2016).
- [34] M.Šauer, J. Hofkens, and J. Enderlein. „*Basic Principles of Fluorescence Spectroscopy*“. (Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, feb 2011).

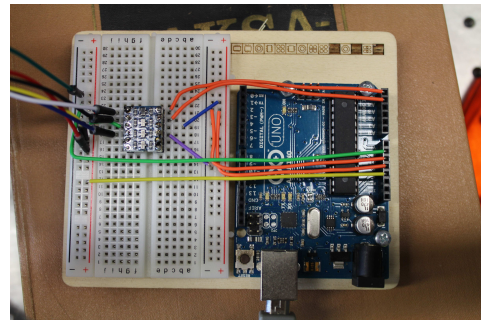
- [35] Micro Photon Devices. „*PDM series micro photon counter*“. <http://www.micro-photon-devices.com/Docs/Datasheet/PDM.pdf>. [Online; accessed 26-märts-2017].
- [36] Racal - Dana Instruments. „*1991 and 1992 Universal Timer/Counter*“, (1987). <http://exodus.poly.edu/~kurt/manuals/manuals/Other/RACAL%201991%20%26%201992%20Instruction.pdf>. [Online; accessed 26-märts-2017].
- [37] [Luminofoorlambi spekter] Wikipedia. Fluorescent lamp — wikipedia, the free encyclopedia. https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Fluorescent_lamp&oldid=774312515, 2017. [Online; accessed 9-Aprill-2017].

Lisa A

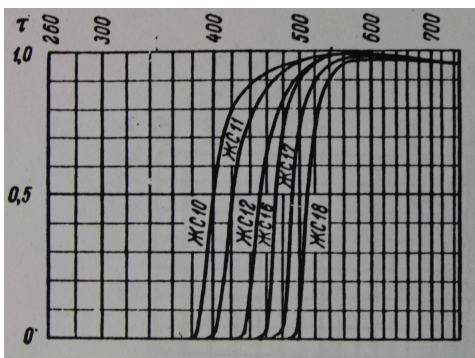
Lisad



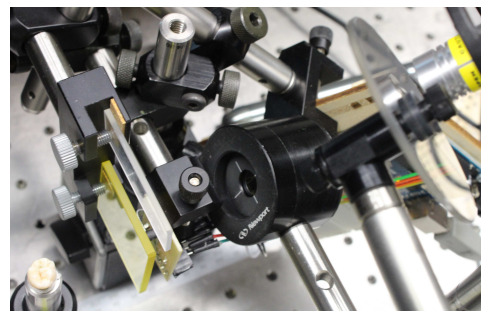
Joonis A.1: Katse kaarise detekteerimiseks.



Joonis A.3: *Arduino UNO* ja LLC moodul.



Joonis A.2: Filtri ЖС12 läbilaskvuse graafik.



Joonis A.4: RGB anduri R/G suhte mõõtmine varieeruva laseri intensiivusel.

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Jan Viilma,

1. annan Tartu Ülikoolile alates 01.06.2018 tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teosele alates

Kaariese tuvastamine fluorestsentsiga,

mille juhendaja on Dmitri Lanevski,

- (a) reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;
 - (b) üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace'i kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.
2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.
 3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartu, 26. mai 2017. a.