

Факултет _____
Стоматолошки

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ

(Број захтева)

Веће научних области медицинских наука
(Назив већа научне области коме се захтев упућује)

(Датум)

ЗАХТЕВ**за давање сагласности на одлуке о усвајању извештаја Комисије за оцену докторске дисертације и о именовању комисије за одбрану**

Молимо да, сходно члану 48 ст. 5 тач. 4) Статута Универзитета у Београду ("Гласник Универзитета", бр. 201/2018, 207/2019, 213/2020, 214/2020, 217/2020, 230/21, 232/22, 233/22 и 236/22), дате сагласност на одлуку о усвајању извештаја Комисије за оцену докторске дисертације:

КАНДИДАТ **Милена (Ружица) Милановић**

(име, име једног од родитеља и презиме)

студент докторских студија на студијском програму **Базична и клиничка истраживања у стоматологији**,уписан на докторске студије **12.10.2018.** године,пријавио је тему докторске дисертације дана **28.09.2021.** године, под називом:

„Испитивање утицаја различитих третмана почетне каријесне лезије глеђи на формирање биофилма, адхезију и вијабилност ћелија хумане гингиве и вредности микротврдоће глеђи“

из научне области:

Стоматолошке наукеУниверзитет је дана **09.07.2024.**својим актом
под бр.**61206-2556/2-24**

дао сагласност на предлог теме докторске дисертације

која је гласила:

„Испитивање утицаја различитих третмана почетне каријесне лезије глеђи на формирање биофилма, адхезију и вијабилност ћелија хумане гингиве и вредности микротврдоће глеђи“

Име и презиме ментора

**проф. др Милош Белоица,
проф. др Биљана Миличић**Комисија за оцену докторске дисертације именована је на седници одржаној **26.05.2026.**одлуком факултета под бр. **3/31**, у саставу

	Име и презиме члана комисије	звање	научна област	Установа у којој је запослен
1.	проф. др Зоран Мандинић	редовни професор	Стоматолошке науке	Стоматолошки факултет Универзитета у Београду
2.	проф. др Јелена Јулоски	ванредни професор	Стоматолошке науке	Стоматолошки факултет Универзитета у Београду
3.	доц. др. Ана Вуковић	доцент	Стоматолошке науке	Стоматолошки факултет Универзитета у Београду
4.	доц. др Александар Јаковљевић	доцент	Стоматолошке науке	Стоматолошки факултет Универзитета у Београду
5.	доц. др Бранислава Стојановић	доцент	Стоматолошке науке	Медицински факултет Универзитета у Нишу

Напомена: уколико је члан Комисије у пензији навести датум пензионисања

Датум стављања извештаја Комисије и докторске дисертације на увид јавности 28.05.2026.

Наставно-научно веће факултета усвојило је извештај Комисије за оцену докторске дисертације на седници одржаној дана 22.09.2026.

Комисија за одбрану докторске дисертације именована је на седници одржаној 22.09.2026.

одлуком факултета под бр. _____, у саставу:

	Име и презиме члана комисије	звање	научна област	Установа у којој је запослен
1.	проф. др Зоран Мандинић	редовни професор	Стоматолошке науке	Стоматолошки факултет Универзитета у Београду
2.	проф др Јелена Јулоски	ванредни професор	Стоматолошке науке	Стоматолошки факултет Универзитета у Београду
3.	доц.др . Ана Вуковић	доцент	Стоматолошке науке	Стоматолошки факултет Универзитета у Београду
4.	доц.др Александар Јаковљевић	доцент	Стоматолошке науке	Стоматолошки факултет Универзитета у Београду
5.	доц.др Бранислава Стојановић	доцент	Стоматолошке науке	Медицински факултет Универзитета у Нишу

Напомена: уколико је члан Комисије у пензији навести датум пензионисања.

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

- Прилози:
1. Одлука Наставно-научног већа о усвајању извештаја Комисије за оцену докторске дисертације и одлука о именовању Комисије за одбрану докторске дисертације
 2. Извештај Комисије о оцени докторске дисертације
 3. Примедбе на извештај Комисије о оцени докторске дисертације (уколико их је било) и мишљење Комисије о примедбама

Напомена: Факултет доставља Универзитету захтев са прилозима у електронској форми и у једном писаном примерку за архиву Универзитета

На основу члана 53. Статута Стоматолошког факултета Универзитета у Београду, Наставно научно веће Стоматолошког факултета, на седници одржаној 22.09.2026. године, донело је следећу

О Д Л У К У

Усваја се позитиван извештај Комисије за оцену завршене докторске дисертације **др Милене Милановић**, под називом **„Испитивање утицаја различитих третмана почетне каријесне лезије глеђи на формирање биофилма, адхезију и вијабилност ћелија хумане гингиве и вредности микротврдоће глеђи“**.

Именовани/а ће јавно бранити докторску дисертацију, након добијања сагласности Већа научних области медицинских наука Универзитета у Београду, пред комисијом у саставу:

- проф. др Зоран Мандинић, редовни професор, Стоматолошки факултет у Београду
- проф. др Јелена Јулоски, ванредни професор, Стоматолошки факултет у Београду
- доц. др Ана Вуковић, доцент, Стоматолошки факултет у Београду
- доц. др Александар Јаковљевић, доцент, Стоматолошки факултет у Београду
- доц. др Бранислава Стојковић, доцент, Медицински факултет у Нишу

О б р а з л о ж е њ е

Веће научних области медицинских наука, на седници од 09.07.2024. године, дало је сагласност на предлог теме докторске дисертације **др Милене Милановић**, под називом **„Испитивање утицаја различитих третмана почетне каријесне лезије глеђи на формирање биофилма, адхезију и вијабилност ћелија хумане гингиве и вредности микротврдоће глеђи“**.

Именовани/а је у часопису „DENTISTRY JOURNAL“, објавио/ла рад под називом: „The effect of different white spot lesion treatments on the enamel microhardness - An in vitro pilot study“ (2025).

Именовани/а је у часопису „SRPSKI ARHIV ZA CELOKUPNO LEKARSTVO“, објавио/ла рад под називом: „Effect of different demineralizing solutions and different exposing times on artificial initial caries lesion formation – an in vitro study“ (2023).

Имајући у виду напред наведено, Наставно научно веће Стоматолошког факултета Универзитета у Београду, решило је као у диспозитиву.

Одлуку доставити: Именованом/ој, Универзитету у Београду, Одсеку за наставу, Већу, Комисији (5) и Писарници.

Шеф
Административно-кадровског
одсека
Николија Мартић

Декан
Стоматолошког факултета
проф. др Војкан Лазић

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ
СТОМАТОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

На основу члана 53. Статута Стоматолошког факултета Универзитета у Београду, Наставно-научно веће Стоматолошког факултета, на седници одржаној 26.05.2026. године, именovalo је Комисију у саставу:

Проф. др Зоран Мандинић, редовни професор, Клиника за дечју и превентивну стоматологију, Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду, ужа научна област: Превентивна и дечја стоматологија (председник Комисије)

Проф. др Јелена Јулоски, ванредни професор, Клиника за дечју и превентивну стоматологију, Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду, ужа научна област: Превентивна и дечја стоматологија

Доц. др Ана Вуковић, доцент, Клиника за дечју и превентивну стоматологију, Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду, ужа научна област: Превентивна и дечја стоматологија

Доц. др Александар Јаковљевић, доцент, ОЈ Институтски предмети, Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду, ужа научна област: Патолошка физиологија

Доц. др Бранислава Стојковић, доцент, Интегрисане академске студије денталне медицине, УНО Превентивна и дечја стоматологија, Медицински факултет, Универзитет у Нишу, ужа научна област: Превентивна и дечја стоматологија

за оцену завршене докторске дисертације под називом **„Испитивање утицаја различитих третмана почетне каријесне лезије глеђи на формирање биофилма, адхезију и вијабилност ћелија хумане гингиве и вредности микротврдоће глеђи“**

Кандидат: **др Милена Милановић**

Ментори:

Проф. др Милош Белоица, ванредни професор, Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду, ужа научна област: Превентивна и дечја стоматологија

Проф. др Биљана Миличић, редовни професор, Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду, ужа научна област: Биостатистика, Информатика у стоматологији

На основу прегледа приложеног материјала, именована Комисија подноси Наставно-научном већу Стоматолошког факултета Универзитета у Београду следећи

ИЗВЕШТАЈ

Основни подаци о кандидаткињи

Милена Ж. Милановић рођена је 8. септембра 1992. у Крушевцу, Република Србија. У родном граду завршила је ОШ „Драгомир Марковић”, а потом и Гимназију са одличним успехом и носилац је дипломе „Вук Караџић”.

Стоматолошки факултет Универзитета у Београду уписала је 2011. године и завршила 2017. године са просечном оценом 9,77. Током студирања бавила се студентским научно-истраживачким радом, највише из области Дечје и превентивне стоматологије. Аутор и коаутор је неколико радова које је презентовала на студентским конгресима у земљи и иностранству. Носилац је „Colgate Palmolive Adria” стипендије за најбољег студента V године, стипендије „Доситеја” коју додељује Фонд за младе таленте Републике Србије, као и награде за најбољег дипломираног студента школске 2016/2017. године. Добитница је Повеље Ректора Универзитета у Београду за најбољег студента у генерацији Стоматолошког факултета Универзитета у Београду.

Током интегрисаних студија стоматологије била је један од главних организатора манифестације „Осмехом обасјај свет” у оквиру обележавања Светског дана оралног здравља, у Београду 2016. године. Исте године била је волонтер на 13. ЕАРД Конгресу (Сава Центар, Београд). Такође, учествовала је у организацији радионица на Фестивалу науке 2018. године „Авантуре једног зуба” и 2019. године „Стоматологија какву још ниси видео”.

Приправнички стаж обављала је на клиникама Стоматолошког факултета Универзитета у Београду. Након положеног стручног испита, 2018. године уписује Докторске академске студије – Базична и клиничка истраживања у стоматологији.

Од 2019. године ангажована је као сарадник у високом образовању на Клиници за деčју и превентивну стоматологију Стоматолошког факултета Универзитета у Београду. Током 2022. године уписује специјализацију из Превентивне и деçје стоматологије, а фебруара 2025. године полаже специјалистички испит са одличном оценом. Од јуна 2025. године добија звање асистента.

Учесница је пројекта „Примјена озона код хируршког вађења импактираних доњих трећих молара: утицај на појаву постоперативних компликација и процесе зарастања“, подржаном од стране Министарства за научнотехнолошки развој и високо образовање Републике Српске (број: 19.032/961-110/23).

Говори енглески и италијански језик. Активан је члан Српског лекарског друштва, Удружења стоматолога Србије и Стоматолошке коморе Србије. Од новембра 2023. године постаје сертификовани iTOP (Individually Trained Oral Prophylaxis, Curaden Академија, Цирих, Швајцарска) инструктор у циљу даљег рада на едукацији и унапређењу оралног здравља. Један је од аутора сета брошура под називом „Смернице за спровођење превентивних мера у деçјој стоматологији“ у оквиру пројекта „Подршка имплементацији програмских активности за унапређење оралног здравља деце и омладине у Републици Србији“ (уредник: проф. др Дејан Марковић).

Аутор је и коаутор 6 радова (2 категорије M21, 3 категорије M23 и 1 категорије M51) и више саопштења са скупова (8 категорије M34 и 32 категорије M64).

Категорија M21:

1. **Milanović Milena**, Beloica Miloš, Mandinić Zoran, Juloski Jelena, Petrović Miloš, Kosanović Dušan, Todorović Miloš, Dimitrijević Maja, Jakovljević Aleksandar, Vorkapić Miloš, Stanimirović Dragan (2025). The effect of different white spot lesion treatments on the enamel microhardness - An in vitro pilot study. DENTISTRY JOURNAL, vol. 13, br. 11, Article ID 496. (IF2 2024 = 3,1, IF5 2024 = 3,3)

2. Mandinic Zoran, Stojanovic Jelena, Prokic Aleksandra, Beloica Milos, Jovanovic Svetlana, Kuzmanovic-Pficer Jovana M, Mladenovic Rasa J, Kosanovic Dusan, **Milanovic Milena**, Todorovic Milos, Milosevic-Markovic Maja, Dozic Ivan S (2024) Oral Hygiene, Dietary Habits, and Saliva Properties in Relation to the Decayed, Missing, and Filled Teeth Index of Dental Students: A Pilot Study, MEDICINA-LITHUANIA, vol. 60, br. 12, Article ID 2023.

(IF2 2022 = 2,6, IF5 2022 = 2,9)

Категорија M23:

1. **Milanovic Milena**, Mandinic Zoran, Juloski Jelena, Dimitrijevic Maja, Milicic Biljana, Andjelski-Radicevic Biljana, Pavlovic Vladimir B, Beloica Milos (2023) Effect of different demineralizing solutions and different exposing times on artificial initial caries lesion formation – an in vitro study, SRPSKI ARHIV ZA CELOKUPNO LEKARSTVO, vol. 151, br. 11-12, str. 652-657.

(IF2 2021 = 0,224, IF5 2021 = 0,265)

2. **Milanovic Milena**, Dimitrijevic Maja, Juloski Jelena, Juloski Jovana (2022) Isolation with rubber dam: knowledge, training, and attitudes of final year dental students, VOJNOSANITETSKI PREGLED, vol. 79, br. 10, str. 996-1001.

(IF2 2021 = 0,245, IF5 2020 = 0,378)

3. **Milanovic Milena**, Beloica Milos, Jovicic Olivera, Mandinic Zoran, Janjic Bojan, Juloski Jelena (2021) Oral manifestations and rehabilitation of a patient with osteogenesis imperfecta, SRPSKI ARHIV ZA CELOKUPNO LEKARSTVO, vol. 149, br. 11-12, str. 708-712.

(IF2 2021 = 0,224, IF5 2020 = 0,358)

Категорија M51:

Milanović M, Bogdanović N, Jakšić M, Miličić-Lazić M. Oral health status in 12 and 15-year-old schoolchildren. Stomatološki glasnik Srbije. 2021; 68(2): 79-85.

Приказ садржаја докторске дисертације

Докторска дисертација др Милене Милановић под називом „Испитивање утицаја различитих третмана почетне каријесне лезије глеђи на формирање биофилма, адхезију и вијабилност ћелија хумане гингиве и вредности микротврдоће глеђи“ написана је на 98 страна, уз приказ 58 слика, 13 табела, 6 графикона и 5 шема, као и 174 референце из релевантне научне литературе. Докторска дисертација садржи: сажетак на српском и енглеском језику, увод, циљеве истраживања и хипотезе, материјал и метод, резултате, дискусију, закључке и списак литературе.

У уводу, кандидаткиња указује на значајну распрострањеност каријеса и чињеницу да је и даље један од највећих јавно-здравствених проблема на глобалном нивоу. Орална обољења утичу на целокупно здравље, на психолошке и социјалне аспекте развоја, што

се последично одражава на квалитет живота. Према Међународном удружењу стоматолога најчешћа обољења усне дупље, каријес и обољења пародонцијума, сврстана су у хроничне незаразне болести. Подаци из доступне научне литературе указују да савремена стоматологија, упркос научно-технолошком развоју, још увек није довела до смањења оптерећења појединца и друштва каријесом и његовим компликацијама.

Кандидат даље детаљно описује етиолошке факторе у развоју каријеса. Описани су примарни и секундарни етиолошки фактори, као и различити микрофактори (који утичу на нивоу појединца) и макрофактори (односе се на утицај заједнице). Посебан акценат у уводу дат је савременом приступу у терапији почетних каријесних лезија глеђи (тзв. белих мрља) који подразумева индивидуални приступ пацијенту, детаљну процену ризика за настанак каријеса и планирање превентивно-профилактичких мера чији је циљ заустављање деминерализације и подстицање процеса реминерализације.

Такође, **описана је структура глеђи и њене специфичности.** Кандидаткиња је посебну пажњу посветила опису почетне каријесне лезије глеђи (беле мрље), **објашњавајући механизам настанка, клиничку слику и хистолошку анализу попречног пресека.** Подаци из доступне научне литературе указују да постоји тренд повећања преваленце белих мрља. Уколико се не уоче правовремено, у реверзибилној фази, ове лезије ће напредовати и доћи ће до настанка кавитета на зубима. Још један закључак истраживача односи се на негативан психолошки ефекат белих мрља на предњим зубима, уочен како код млађе деце, тако и код адолесцената.

Савремена стоматологија је окренута максималном очувању зубних ткива и тежњи ка минималним интервенцијама. У том контексту, **описани су неинвазивни третмани у терапији почетне каријесне лезије глеђи.** Објашњен је значај флуорида у превенцији и профилакси белих мрља, начин деловања, као и могућности за локалну примену флуорида. Још једно од средстава које се примењује у терапији белих мрља представља паста са казеин фосфопептидом-аморфним калцијум фосфатом. Представља нанокомплекс јона калцијума, фосфата и хидроксилних јона који су стабилизовани казеин-фосфопептидима. У условима пада рН вредности плака, ово једињење делује као пуфер ослобађајући поменуте јоне на површини зуба, који се крећу низ концентрациони градијент ка површини глеђи, доводећи до активирања процеса реминерализације и последичног смањења деминерализације.

У докторској дисертацији описана је примена нисковискозних композитних смола у терапији почетних каријесних лезија глеђи. Захваљујући дејству капиларних сила, ова смола инфилтрира лезију, попуњава поре настале процесом деминерализације у телу каријесне лезије и на тај начин формира дифузиону баријеру унутар саме лезије глеђи. Објављени резултати указују на постизање значајног терапијског ефекта након примене нисковискозних смола. Поред терапијског ефекта у заустављању почетних каријесних лезија глеђи, остварује се и маскирање беличасте боје лезије. Међутим, у доступној научној литератури уочава се потреба за даљим испитивањем утицаја ових смола на друге карактеристике глеђи, као што је храпавост површине, микротврдоћа глеђи, дубина пенетрације, пријемчивост за формирање биофилма.

Кандидат даље анализира пријемчивост микроорганизама за специфичне површине у усној дупљи (површина зуба и различитих материјала) и њен значај у етиопатогенези каријеса. *Streptococcus mutans* представља најзначајнију бактерију у сложенем процесу настанка каријеса. Сматра се да *Candida albicans* може имати значајну улогу у развоју каријеса захваљујући својој ацидогеној природи, могућности да формира биофилм, ферментише угљене хидрате и производи одређене ензиме. Резултати досадашњих истраживања указали су да локална апликација флуорида утиче на смањење пријемчивости *S. mutans* за површину зуба, као и да долази до смањене продукције киселих метаболита. Међутим, мање података је доступно о утицају лака са флуором на адхезију бактерија за глеђ зуба. Према доступним сазнањима, нема података о утицају препарата са флуоридима, казеин фосфопептидом-аморфним калцијум фосфатом и инфилтрационе смоле на адхезију гљивице *C. albicans* на глеђ зуба.

Будући да се различита средства за реминерализацију глеђи, као и нисковискозне композитне смоле апликују на површину зуба и да су у директном контакту са оралним ткивима, како меким, тако и чврстим, потребно је потврдити и њихову биокомпатибилност. Приликом употребе већина ових средстава може доћи у контакт са оралним ткивима укључујући гингиву. Тако да, последично, може доћи до појаве запаљења, алергијских реакција или испољавања цитотоксичног дејства. Постоји потреба за даљим истраживањем утицаја препарата са флуоридима и средстава са СРР-АСР на оралну мукозу, будући да су доступне студије дале различите резултате у зависности од концентрације активних јона. Са друге стране, недостају подаци о утицају инфилтрационе смоле на ћелије хумане гингиве.

Циљ истраживања

Кандидаткиња Милена Милановић је јасно дефинисала основни циљ и ближе циљеве и на њих одговорила својим истраживањем.

Основни циљ овог истраживања био је утврдити успешност примене различитих средстава која се користе у терапији почетних каријесних лезија глеђи и њихов утицај на одређене микроорганизме и ћелије гингиве. У том контексту, испитиван је лак са флуором, паста са аморфним калцијум фосфатом казеин фосфопептидом и нисковискозна композитна смола. Први корак је представљао одабир одговарајућег раствора за формирање почетних каријесних лезија глеђи. Затим, након третмана почетних каријесних лезија глеђи, анализиране су морфолошке промене и вредности микротврдоће глеђи. Један од циљева био је испитивање утицаја поменутих средстава на пријемчивост за формирање биофилма (*Streptococcus mutans*, *Candida albicans*). Такође, анализиран је и њихов утицај на вијабилност и адхезију фибробласта гингиве.

На основу дефинисаних циљева, кандидаткиња је формулисала следеће радне хипотезе:

1. Испитивани третмани почетне каријесне лезије глеђи статистички значајно утичу на повећање микротврдоће глеђи у односу на вредности микротврдоће глеђи почетне каријесне лезије.
2. Постоји статистички значајна разлика у пријемчивости бактерије *Streptococcus mutans* и гљивице *Candida albicans* за интактну глеђ, површину глеђи почетних каријесних лезија и површину белих мрља након различитих третмана почетне каријесне лезије глеђи.
3. Различити третмани почетне каријесне лезије глеђи значајно утичу на смањење вијабилности хуманих фибробласта гингиве.

У поглављу **Материјал и методе** кандидаткиња описује план и дизајн експерименталног истраживања спроведеног на Стоматолошком факултету Универзитета у Београду (Клиника за дечју и превентивну стоматологију, Клиника за оралну хирургију, Лабораторија за биохемију, Лабораторија за микробиологију, Имплантолошко истраживачки центар – Лабораторија за базична истраживања), Технолошко-металуршком факултету Универзитета у Београду и Пољопривредном факултету Универзитета у Београду. Истраживање је реализовано уз одобрење Етичког одбора Стоматолошког факултета Универзитета у Београду (бр. 36/11, на седници одржаној

10.04.2024. године), у складу са важећим етичким принципима и стандардима за научна истраживања.

Истраживање је спроведено кроз више експерименталних фаза. Прва фаза подразумевала је одабир одговарајућег раствора за деминерализацију и формирање артифицијелних почетних каријесних лезија глеђи (белих мрља). Протокол третмана почетних каријесних лезија глеђи (лаком са флуором, пастом са аморфним калцијум фосфатом-казеин фосфопептидом и нисковискозном инфилтрационом смолом) је детаљно описан. Након третмана белих мрља, на скенинг електронском микроскопу (SEM) посматране су морфолошке промене глеђи. Микротврдоћа је испитивана *Oliver Pharr* методом и употребом мерача (сонде) сферног облика. Квантификација формираног мономикробног биофилма (*S. Mutans*, *C. albicans*) вршена је бројањем колонија по милилитру узорка (енгл. *Colony Forming Units – CFU/ml*) и методом ланчане реакције полимеразе у реалном времену (енгл. *Real-Time PCR*). Анализа формираног биофилма вршена је помоћу скенинг електронског микроскопа. За испитивање утицаја различитих третмана беле мрље на вијабилност фибробласта гингиве коришћен је тест митохондријалне активности (MTT тест). Адхезија фибробласта за површину узорака посматрана је на скенинг електронском микроскопу.

Након темељног описа спроведених експерименталних процедура, кандидаткиња је у последњем сегменту материјала и метода навела програм коришћен за статистичку анализу (енгл. *Statistical Package for Social Sciences - SPSS*). Додатно, представљени су сви примењени статистички тестови за обраду података. Избор одговарајућих статистичких тестова зависио је од природе расподеле података добијених истраживањем, уз ниво статистичке значајности постављен на $p < 0,05$.

Поглавље **Резултати** садржи систематичан приказ резултата спроведеног истраживања. Кандидаткиња је резултате истраживања представила текстуално, табеларно или графички, а у сагласности са вредностима добијеним статистичким тестирањима:

1. Избор раствора за формирање почетних каријесних лезија глеђи

Раствор за формирање артифицијелних белих мрља састављен од калцијум хлорида, монокалијум фосфата и сирћетне киселине одговарајућих концентрација, са рН вредношћу 4,4 и дужином излагања од 96 сати је довео до формирања белих мрља одговарајућих особина.

2. Морфолошке промене глеђи испитиване методом скенинг електронске микроскопије (SEM)

На попречном пресеку почетне каријесне лезије глеђи уочени су проширени интерпризматични простори који одговарају зонама деминерализације и формирању субповршинске лезије. Након третмана лаком са флуором могли су се уочити, у неким деловима, мање изражени интерпризматични простори, док се након примене пасте са казеин фосфопептидом-аморфним калцијум фосфатом уочавају формиране глобуле калцијум-фосфата. Након инфилтрације композитном смолом, уочена је јасна разлика здраве глеђи и положаја глеђних призми, међуспоја и зоне беле мрље која је инфилтрирана.

3. Микротврдоћа глеђи

- Највеће вредности микротврдоће уочене су код интактне глеђи и код почетних каријесних лезија глеђи инфилтрираних нисковискозном композитном смолом.
- Вредност микротврдоће код инфилтрираних белих мрља била је значајно већа у односу на нетретиране почетне каријесне лезије глеђи ($p < 0,05$).
- Вредности микротврдоће након третмана лаком са флуором и пастом са казеин фосфопептидом-аморфним калцијум фосфатом су показале упоредиве вредности, без значајне разлике у односу на тврдоћу почетних каријесних лезија глеђи ($p > 0,05$).
- Коришћен је *ANOVA* тест, уз *Post-Hoc Bonferroni* тест за вишеструка поређења.

4. Испитивање пријемчивости за формирање биофилма - *Streptococcus mutans*

4.1. Квантификација *S. mutans* бројањем по милилитру узорка (CFU/ml)

- Најмањи број бактерија уочен је након третмана пастом са казеин фосфопептидом-аморфним калцијум фосфатом и након примене инфилтрационе смоле.
- Значајно мањи број уочен је након третмана пастом са казеин фосфопептидом-аморфним калцијум фосфатом и инфилтрационом смолом у односу на примену лака са флуридима ($p < 0,05$).
- Коришћен је *Kruskal-Wallis* тест, уз *Mann-Whitney U* тест за даља поређења међу групама.

4.2. Квантификација *S. mutans* методом ланчане реакције полимеразе у реалном времену

- Третман пастом са казеин фосфопептидом-аморфним калцијум фосфатом показује значајно смањење броја бактерија у односу на нетретиране почетне каријесне лезије глеђи ($p < 0,05$).

- Третман пастом са казеин фосфопептидом-аморфним калцијум фосфатом показује значајно смањење броја бактерија у односу на примену нисковискозне композитне смоле ($p < 0,05$).

- Коришћен је *Kruskal-Wallis* тест, уз *Mann-Whitney U* тест за даља поређења међу групама.

4.3. На скенинг електронском микроскопу је потврђено формирање мономикробног биофилма.

5. Испитивање пријемчивости за формирање биофилма - *Candida albicans*

5.1. Квантификација *C. albicans* бројањем по милилитру узорка (CFU/ml)

- Третман лаком са флуором и пастом са казеин фосфопептидом-аморфним калцијум фосфатом показују значајно смањење броја бактерија у односу на нетретиране почетне каријесне лезије глеђи ($p < 0,05$).

- Примена инфилтрационе смоле показала је већу пријемчивост за формирање овог мономикробног биофилма у односу на преостала два испитивана третмана почетних каријесних лезија глеђи ($p < 0,05$).

- Коришћен је *Kruskal-Wallis* тест, уз *Mann-Whitney U* тест за даља поређења међу групама.

5.2. Квантификација *C. albicans* методом ланчане реакције полимеразе у реалном времену

- Примена инфилтрационе смоле показала је већу пријемчивост за формирање овог мономикробног биофилма у односу на преостала два испитивана третмана почетних каријесних лезија глеђи ($p < 0,05$).

- Коришћен је *Kruskal-Wallis* тест, уз *Mann-Whitney U* тест за даља поређења међу групама.

5.3. На скенинг електронском микроскопу је потврђено формирање мономикробног биофилма.

6. Испитивање утицаја на фибробласте гингиве

- Највећи проценат вијабилности фибробласта гингиве уочен је након третмана лаком са флуором (126, 21%), при чему је та вредност значајно већа у односу на интактну глеђ ($p < 0,05$).

- Најнижа вредност процента митохондријалне активности уочена је након инфилтарције белих мрља композитном смолом (86, 59%), али без значајне разлике у односу на интактну глеђ ($p > 0,05$).

- Коришћен је *ANOVA* тест, уз *Post-Hoc Bonferroni* тест за вишеструка поређења.

- Коришћењем скенинг електронске микроскопије је потврђено присуство хуманих фибробласта на површини узорака.

У **Дискусији** кандидаткиња свеобухватно анализира добијене резултате и пореди их са постојећим подацима из доступне литературе. Подаци из литературе указују на успешност инфилтрације артифицијелних каријесних лезија и остварену задовољавајућу дубину пенетрације (Прајапати и сарадници, 2017; Субраманијам и сарадници, 2014), што је потврђено и резултатима ове докторске дисертације. Резултати Париса и сарадника (2013) и Мандаве и сарадика (2017), указују да инфилтрација белих мрља композитном смолом повећава тврдоћу почетних каријесних лезија глеђи, што је у складу са резултатима дисертације. Анализа резултата пасте са казеин фосфопептидом аморфним калцијум фосфатом и лака са флуором указује на тренд повећања микротврдоће глеђи, али то повећање није показало статистичку значајност. Микротврдоћа јесте важан показатељ терапијског успеха, али није једини, посебно када се говори о средствима са флуором и калцијум-фосфатом. Ова средства могу довести до заустављања каријеса и минерализације површине глеђи која је чини отпорнијом на даљи процес деминерализације, а да при томе промена у вредности микротврдоће није још увек значајна.

Обрада и анализа података прикупљених током експерименталног истраживања омогућила је да се процени утицај испитиваних средстава у терапији почетних каријесних лезија глеђи на пријемчивост за формирање биофилма, што може даље послужити за обликовање клиничких препорука. Такође, СЕМ анализа је омогућила визуелни приказ претходно формираног биофилма.

Резултати дисертације указују да испитивана средства нису у значајној мери смањила вијабилност хуманих гингивалних фибробласта. Након третмана лаком са флуором, уочен је значајно већи проценат вијабилности, чак и у односу на интактну глеђ, што је важан показатељ безбедности његове клиничке употребе.

Закључци су јасно и прецизно представљени, у складу са постављеним циљевима, а донети на основу приказаних резултата.

1. Избор раствора за формирање почетних каријесних лезија глеђи

Раствор за формирање артифицијелних белих мрља састављен од калцијум хлорида, монокалијум фосфата и сирћетне киселине одговарајућих концентрација, са рН вредношћу 4,4 и дужином излагања од 96 сати је довео до формирања белих мрља одговарајућих особина.

2. Микротврдоћа

Инфилтрација почетних каријесних лезија глеђи (белих мрља) нисковискозном композитном смолом значајно повећава микротврдоћу глеђи у односу на вредности микротврдоће белих мрља.

Третмани белих мрља лаком са флуором и пастом са казеин фосфопептидом-аморфним калцијум фосфатом су показали упоредиве вредности микротврдоће глеђи, али није дошло до статистички значајног повећања вредности микротврдоће у односу на беле мрље.

3. Пријемчивост за формирање биофилма

Беле мрље третиране лаком са флуором су показале највећу пријемчивост за формирање биофилма *Streptococcus mutans* (бројањем колонија по милилитру узорка – CFU/ml).

Површина почетних каријесних лезија глеђи третирана пастом са казеин фосфопептидом-аморфним калцијум фосфатом је била најмање пријемчива за формирање биофилма *Streptococcus mutans*.

Беле мрље инфилтриране нисковискозном композитном смолом су испољиле највећу пријемчивост за формирање биофилма *Candida albicans*.

4. Вијабилност фибробласта гингиве

Испитивана средстава која се користе у терапији почетних каријесних лезија глеђи (лак са флуором, паста са казеин фосфопептидом-аморфним калцијум фосфатом и нисковискозна инфилтрациона смола) нису неповољно утицала на вијабилност ћелија хумане гингиве (фибробласти). Скенинг електронска микроскопија је потврдила адхезију фибробласта гингиве у свим испитиваним групама.

У поглављу **Литература**, приказан је списак од 174 референце из релевантне научне литературе, које су на одговарајући начин цитиране у раду.

Научна вредност и упоредна анализа докторске дисертације са подацима из литературе

Упоредна анализа добијених резултата са подацима из литературе показује сагласност и потврђује клинички значај истраживања. Нисковискозна композитна смола је показала добру могућност инфилтрације почетних каријесних лезија глеђи, што је потврђено СЕМ анализом, а у складу је са претходним студијама. Такође, инфилтарција почетних каријесних лезија глеђи је значајно повећала микротврдоћу глеђи у односу на нетретиране беле мрље. Анализа резултата дисертације показала је приближне средње вредности тврдоће глеђи након примене лака са флуором и пасте са казеин фосфопептидом-аморфним калцијум фосфатом. Упркос одређеним ограничењима *in vitro* истраживања, примена лака са флуором и пасте са казеин фосфопептидом-аморфним калцијум фосфатом је показала позитиван терапијски ефекат и тенденцију повећања вредности микротврдоће глеђи у односу на почетну каријесну лезију глеђи. Добијени резултати су у складу са налазима у литератури.

Површина беле мрље третирана пастом са казеин фосфопептидом-аморфним калцијум фосфатом је показала значајно мању пријемчивост за формирање биофилма у односу на површину беле мрље и у односу на површину инфилтрирану композитном смолом. Наведени налаз потврђује резултате истраживања различитих аутора о позитивном терапијском утицају средстава на бази калцијум-фосфата. Примена лака са флуором у третману беле мрље је значајно умањила формирање биофилма у односу на нетретирану белу мрљу квантификацијом методом ланчане реакције полимеразе у реалном времену, што није у сагласју са резултатима добијеним пребројавањем колонија по милилитру узорка. Имајући у виду да метода ланчане реакције полимеразе у реалном времену има већу сензитивност у односу на други начин квантификације коришћен у оквиру ове

дисертације, може се сматрати да су резултати добијени наведеном методом клинички релевантнији.

Када се посматрају три испитивана третмана беле мрље, уочава се значајна разлика у пријемчивости за формирање биофилма, односно инфилтрациона смола је, према резултатима ове дисертације, пријемчивија за *C. albicans* у односу на лак са флуором и пастом са казеин фосфопептидом-аморфним калцијум фосфатом.

Резултати дисертације указују да испитивана средства нису у значајној мери смањила вијабилност хуманих гингивалних фибробласта. У поређењу са контролном групом третман лаком са флуором није угрозио гингивалне фибробласте, већ се може рећи да је имао пролиферативни ефекат. Казеин фосфопептид-аморфни калцијум фосфат је показао упоредиве резултате, није дошло до смањене вијабилности ћелија. Овај налаз је конзистентан са описаним сазнањима у литератури. Једино је у групи Е, где је бела мрља инфилтрирана композитном смолом, дошло до смањења процента вијабилности, али без статистички значајне разлике у односу на контролну групу. Ово се може довести у везу са ослобађањем неполимеризованих мономера, што је у литератури описано.

Кратак опис постигнутих резултата уз практичне препоруке за клиничку праксу

Индивидуални превентивни план са контролом ризика за настанак каријеса и раном дијагностиком почетних каријесних лезија gleђи је основа савременог лечења каријеса. Резултати ове дисертације су потврдили да у превентивне мере, код пацијената са почетним каријесним лезијама gleђи, треба уврстити пасту са казеин фосфопептидом-аморфним калцијум фосфатом. Пре инфилтрације белих мрља нисковискозном композитном смолом, саветује се процена ризика за настанак каријеса пацијента и деловање на све факторе који доприносе деминерализацији. Након инфилтрације, препоручује се примена пасте са казеин фосфопептидом-аморфним калцијум-фосфатом у кућним условима, посебно уколико се претходним микробиолошким испитивањем покаже активност *C. albicans*. Смањена пријемчивост за формирање биофилма поменутог микроорганизма може бити од посебног значаја код деце са тешким формама каријеса раног детињства.

Кандидаткиња је објавила два рада која чине део докторске дисертације, и то:

1. **Milanović M**, Beloica M, Mandinić Z, Juloski J, Petrović M, Kosanović D, Todorović M, Dimitrijević M, Jakovljević A, Vorkapić M, et al. The Effect of Different White Spot Lesion

Treatments on the Enamel Microhardness—An In Vitro Pilot Study. Dentistry Journal. 2025; 13(11):496.

(IF2 2024 = 3,1, IF5 2024 = 3,3)

2. **Milanović M**, Mandinić Z, Juloski J, Miličić B, Anđelski-Radičević B, Pavlović V, Beloica M. Effect of different demineralizing solutions and different exposing times on artificial initial caries lesion formation - an in vitro study. Srpski arhiv za celokupno lekarstvo. 2023; 151(00):95-95.

(IF2 2021 = 0,224, IF5 2021 = 0,265)

Поред тога, кандидаткиња је учествовала и на конгресима са радовима:

1. **Milanović M**, Radičević Anđelski B, Vukašinović I, Vlajić Tovilović T, Petrović S, Radunović M, Beloica M. Effect of different white spot lesion treatments on *Candida albicans* biofilm formation. 29th Congress of the Balkan Stomatological Society, 24 – 26 April 2025, Belgrade, Serbia. Page 350. (M34)

2. **Milanović M**, Radičević Anđelski B, Petrović M, Miličić B, Beloica M. Ispitivanje uticaja različitih tretmana početne karijesne lezije gleđi na vrednosti mikrotvrdoće gleđi. 5. Kongres preventivne stomatologije, 14-15. novembar 2025, Beograd, Srbija. Str. 24. (M64)

Провера оригиналности докторске дисертације

На основу Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду и налаза у извештају из програма iThenticate којим је извршена провера оригиналности докторске дисертације **„Испитивање утицаја различитих третмана почетне каријесне лезије gleђи на формирање биофилма, адхезију и вијабилност ћелија хумане гингиве и вредности микротврдоће gleђи”**, аутора **Милене Милановић**, констатујемо да утврђено подударање текста износи **2%**. Овај степен подударности последица је коришћења општих појмова и личних имена, библиографских података о коришћеној литератури, општих места и података, што је у складу са чланом 9. Правилника.

Закључак (образложење научног доприноса)

Докторска дисертација др Милене Милановић под називом **„Испитивање утицаја различитих третмана почетне каријесне лезије gleђи на формирање биофилма,**

адхезију и вијабилност ћелија хумане гингиве и вредности микротврдоће глеђи”, представља темељно осмишљено и оригинално истраживање које анализира успешност примене различитих средстава која се користе у терапији почетних каријесних лезија глеђи и њихов утицај на одређене микроорганизме (*Streptococcus mutans*, *Candida albicans*) и фибробласте гингиве. Резултати истраживања су показали да инфилтрација почетних каријесних лезија глеђи доводи до повећања вредности микротврдоће у односу на вредности нетретираних лезија. Површина почетних каријесних лезија глеђи третирана пастом са казеин фосфопептидом-аморфним калцијум фосфатом је била најмање пријемчива за формирање биофилма *Streptococcus mutans*. Беле мрље инфилтриране нисковискозном композитном смолом су испољиле највећу пријемчивост за формирање биофилма *Candida albicans*. Испитивана средства која се користе у терапији почетних каријесних лезија глеђи (лак са флуором, паста са казеин фосфопептидом-аморфним калцијум фосфатом и нисковискозна композитна смола) нису неповољно утицала на вијабилност фибробласта гингиве. СЕМ анализа омогућила је додатни увид у формирани биофилм, док је у испитивању фибробласта гингиве, потврдила адхезију фибробласта у свим испитиваним групама. Докторска дисертација је дала значајне научно засноване препоруке за клинички рад:

- Инфилтрација почетних каријесних лезија глеђи нисковискозном композитном смолом представља добар терапијски избор, који доводи до побољшања микротврдоће почетних каријесних лезија глеђи.
- Примена пасте са казеин фосфопептидом-аморфним калцијум фосфатом, као превентивна мера, може допринети смањеној пријемчивости почетних каријесних лезија глеђи за формирање биофилма *Streptococcus mutans*.
- Примена пасте са казеин фосфопептидом-аморфним калцијум фосфатом у кућним условима и профилактичка примена лака са флуором (у амбулантним условима) након инфилтарције белих мрља може смањити пријемчивост третираних површина за формирање биофилма *Candida albicans*.

Докторска дисертација др Милена Милановић спроведена је у складу са свим начелима научног истраживања, са прецизно дефинисаним циљевима, оригиналном методологијом, детаљно изложеним и аргументованим резултатима и јасно формулисаним закључцима.

Након увида у достављени текст, Комисија је једногласно оценила да докторска дисертација **„Испитивање утицаја различитих третмана почетне каријесне лезије глеђи на формирање биофилма, адхезију и вијабилност ћелија хумане гингиве и вредности микротврдоће глеђи”**, аутора **др Милене Милановић** представља оригинално, самостално и научно утемељено истраживање. Комисија сматра да комплексност ове докторске дисертације упућује на научну релевантност кандидаткиње.

Докторска дисертација у потпуности испуњава све критеријуме прописане Законом о високом образовању и статутима Универзитета у Београду и Стоматолошког факултета Универзитета у Београду.

На основу изнетог, Комисија предлаже Наставно-научном већу Стоматолошког факултета Универзитета у Београду да прихвати позитиван извештај Комисије за оцену докторске дисертације **др Милене Милановић** и достави надлежном већу научних области Универзитета на сагласност.

Чланови Комисије:

Проф. др Зоран Мандинић

Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду

Проф. др Јелена Јулоски

Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду

Доц. др Ана Вуковић

Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду

Доц. др Александар Јаковљевић

Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду

Доц. др Бранислава Стојковић

Медицински факултет, Универзитет у Нишу

У Београду, 28.05.2026.

Број:
Датум:

У складу са одредбама Закона о високом образовању, као и одговарајућим одредбама општих аката Стоматолошког факултета Универзитета у Београду, ставља се на увид јавности:

Докторска дисертација и извештај стручне комисије за оцену завршене докторске дисертације др Милене Милановић, под називом

„Испитивање утицаја различитих третмана почетне каријесне лезије глеђи на формирање биофилма, адхезију и вијабилност ћелија хумане гингиве и вредности микротврдоче глеђи“

Стручна комисија доставила је наведени извештај Наставно научном већу Факултета **28.05.2026. године.**

Рок за увид јавности је 30 дана, и истиче **26.06.2026. године.**

У наведеном периоду, извештај се може добити на увид у Одсеку за наставу Секретаријата факултета, сваког радног дана од 8 до 14 часова, а штампана верзија докторске дисертације у Библиотеци Факултета.

Електронска верзија докторске дисертације и извештај стручне комисије налазе се и на сајту Факултета.

Како се, према одредбама Статута, јавност информише истицањем обавештења о праву на увид јавности на огласну таблу у наставно-научној ОЈ, молимо Вас да овај акт видно истакнете на поменути начин.

Дипломирани правник
Николија Мартић

На основу члана 53. Статута Стоматолошког факултета Универзитета у Београду, Наставно научно веће Стоматолошког факултета, на електронској седници одржаној 26.05.2026. године, донело је следећу

О Д Л У К У

Именује се комисија за оцену завршене докторске дисертације **др Милене Милановић**, под називом **„Испитивање утицаја различитих третмана почетне каријесне лезије глеђи на формирање биофилма, адхезију и вијабилност ћелија хумане гингиве и вредности микротврдоће глеђи“**, у саставу:

- проф. др Зоран Мандинић, редовни професор, Стоматолошки факултет у Београду
- проф. др Јелена Јулоски, ванредни професор, Стоматолошки факултет у Београду
- доц. др Ана Вуковић, доцент, Стоматолошки факултет у Београду
- доц. др Александар Јаковљевић, доцент, Стоматолошки факултет у Београду
- доц. др Бранислава Стојковић, доцент, Медицински факултет у Нишу

Образложење

Комисија за научно-истраживачки рад, на иницијативу одговарајуће катедре, утврдила је предлог састава комисије, а Наставно научно веће је одлучило као у диспозитиву.

Одлуку доставити: Кандидату, Комисији (5), Одсеку за наставу, Већу и Писарници.

Шеф
Административно-кадровског
одсека
Николија Мартић

Декан
Стоматолошког
факултета
проф. др Војкан Лазић

ОЦЕНА ИЗВЕШТАЈА О ПРОВЕРИ ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

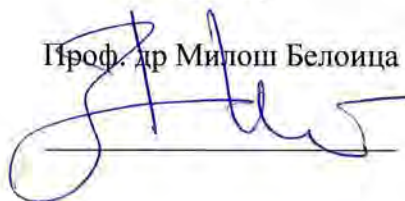
На основу Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду и налаза у извештају из програма iThenticate којим је извршена провера оригиналности докторске дисертације **„Испитивање утицаја различитих третмана почетне каријесне лезије глеђи на формирање биофилма, адхезију и вијабилност ћелија хумане гингиве и вредности микротврдоће глеђи”**, аутора **Милене Милановић**, констатујем да утврђено подударање текста износи 2%. Овај степен подударности последица је **цитата, библиографских података о коришћеној литератури, тзв. општих места и података, као и претходно публикованих резултата докторандових истраживања, који су проистекли из дисертације**, што је у складу са чланом 9. Правилника.

На основу свега изнетог, а у складу са чланом 8. став 2. Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду, изјављујем да извештај указује на оригиналност докторске дисертације, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

15.05.2026. године

Ментор

Проф. др Милош Белоица



ОЦЕНА ИЗВЕШТАЈА О ПРОВЕРИ ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

На основу Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду и налаза у извештају из програма iThenticate којим је извршена провера оригиналности докторске дисертације **„Испитивање утицаја различитих третмана почетне каријесне лезије глеђи на формирање биофилма, адхезију и вијабилност ћелија хумане гингиве и вредности микротврдоће глеђи”**, аутора **Милене Милановић**, констатујем да утврђено подударање текста износи 2%. Овај степен подударности последица је **цитата, библиографских података о коришћеној литератури, тзв. општих места и података, као и претходно публикованих резултата докторандових истраживања, који су проистекли из дисертације**, што је у складу са чланом 9. Правилника.

На основу свега изнетог, а у складу са чланом 8. став 2. Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду, изјављујем да извештај указује на оригиналност докторске дисертације, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

15.05.2026. године

Ментор

Проф. др Биљана Миличић





ПОТВРДА

У Централној библиотеци Стоматолошког факултета урађена је категоризација објављених радова др МИЛЕНЕ МИЛАНОВИЋ, индексираних у Web of Science бази.

На основу Правилника о стицању истраживачких и научних звања ("Службени гласник РС", број 80/2024) и Правилника о категоризацији и рангирању научних часописа ("Службени гласник РС", број 80/2024) утврђено је да је др Милена Милановић публиковала 5 радова у часописима са импакт фактором (*Journal Citation Reports* листа).

1. **Milanović Milena**, Beloica Miloš, Mandinić Zoran, Juloski Jelena, Petrović Miloš, Kosanović Dušan, Todorović Miloš, Dimitrijević Maja, Jakovljević Aleksandar, Vorkapić Miloš, Stanimirović Dragan (2025). The effect of different white spot lesion treatments on the enamel microhardness - An in vitro pilot study. DENTISTRY JOURNAL, vol. 13, br. 11, Article ID 496. (Категорија M21; IF2 2024 = 3,1; IF5 2024 = 3,3; JCI 2024 = 1,15)
2. Mandinic Zoran, Stojanovic Jelena, Prokic Aleksandra, Beloica Milos, Jovanovic Svetlana, Kuzmanovic-Pficer Jovana M, Mladenovic Rasa J, Kosanovic Dusan, **Milanovic Milena**, Todorovic Milos, Milosevic-Markovic Maja, Dozic Ivan S (2024) Oral Hygiene, Dietary Habits, and Saliva Properties in Relation to the Decayed, Missing, and Filled Teeth Index of Dental Students: A Pilot Study, MEDICINA-LITHUANIA, vol. 60, br. 12, Article ID 2023. (Категорија M21; IF2 2022 = 2,6; IF5 2022 = 2,9; JCI 2024 = 0,74)
3. **Milanovic Milena**, Mandinic Zoran, Juloski Jelena, Dimitrijevic Maja, Milicic Biljana, Andjelski-Radicevic Biljana, Pavlovic Vladimir B, Beloica Milos (2023) Effect of different demineralizing

solutions and different exposing times on artificial initial caries lesion formation – an in vitro study. SRPSKI ARHIV ZA CELOKUPNO LEKARSTVO, vol. 151, br. 11-12, str. 652-657.

(Категорија M23; IF2 2021 = 0,224; IF5 2021 = 0,265; JCI 2023 = 0,06)

4. **Milanovic Milena**, Dimitrijevic Maja, Juloski Jelena, Juloski Jovana (2022) Isolation with rubber dam: knowledge, training, and attitudes of final year dental students, VOJNOSANITETSKI PREGLED, vol. 79, br. 10, str. 996-1001.

(Категорија M23; IF2 2021 = 0,245; IF5 2020 = 0,378; JCI 2022 = 0,07)

5. **Milanovic Milena**, Beloica Milos, Jovicic Olivera, Mandinic Zoran, Janjic Bojan, Juloski Jelena (2021) Oral manifestations and rehabilitation of a patient with osteogenesis imperfecta, SRPSKI ARHIV ZA CELOKUPNO LEKARSTVO, vol. 149, br. 11-12, str. 708-712.

(Категорија M23; IF2 2021 = 0,224; IF5 2020 = 0,358; JCI 2021 = 0,06)

Библиотекар

Централне библиотеке



Др Јелена Јаћимовић

У Београду. 15.5.2026. године



Article

The Effect of Different White Spot Lesion Treatments on the Enamel Microhardness—An In Vitro Pilot Study

Milena Milanović¹, Miloš Beloica^{1,*}, Zoran Mandinić¹, Jelena Juloski¹, Miloš Petrović², Dušan Kosanović¹, Miloš Todorović¹, Maja Dimitrijević¹, Aleksandar Jakovljević^{3,4}, Miloš Vorkapić⁵ and Dragan Stanimirović⁶

¹ Clinic for Pediatric and Preventive Dentistry, School of Dental Medicine, University of Belgrade, 11000 Belgrade, Serbia; milena.milanovic@stomf.bg.ac.rs (M.M.); zoran.mandinic@stomf.bg.ac.rs (Z.M.); jelena.juloski@stomf.bg.ac.rs (J.J.); dusan.kosanovic@stomf.bg.ac.rs (D.K.); milos.todorovic@stomf.bg.ac.rs (M.T.); maja.dimitrijevic@stomf.bg.ac.rs (M.D.)

² Faculty of Technology and Metallurgy, University of Belgrade, 11000 Belgrade, Serbia; mpetrovic@tmf.bg.ac.rs

³ Department of Pathophysiology, School of Dental Medicine, University of Belgrade, 11000 Belgrade, Serbia; a.jakovljevic@stomf.bg.ac.rs

⁴ Scientific Laboratories, Implant-Research Center, School of Dental Medicine, University of Belgrade, 11000 Belgrade, Serbia

⁵ Institute of Chemistry, Technology and Metallurgy, National Institute of the Republic of Serbia, University of Belgrade, 11000 Belgrade, Serbia; worcky@nanosys.ihtm.bg.ac.rs

⁶ Clinic for Periodontology and Oral Medicine, School of Dental Medicine, University of Belgrade; 11000 Belgrade, Serbia; dragan.stanimirovic@stomf.bg.ac.rs

* Correspondence: milos.beloica@stomf.bg.ac.rs

Abstract

Background/Objectives: Dental caries, one of the most common oral diseases worldwide, represents a major public health concern. Contemporary dentistry has established several non-invasive approaches and resin infiltration, as a micro-invasive path, in the treatment of white spot lesions (WSLs). This study aimed to evaluate the effect of different WSL treatments on enamel surface microhardness. **Materials and Methods:** Seventy-five intact human premolars extracted upon orthodontic indication and the demineralizing solution composed of acetic acid, monopotassium phosphate and calcium chloride with pH = 4.4 and exposure time 96 h were used. The samples were randomly divided into five groups (n = 15): I—intact enamel (control group); II—artificial white spot lesion; III—artificial WSL treated with fluoride varnish; IV—artificial WSL treated with casein phosphopeptide—amorphous calcium phosphate (CPP-ACP) paste; V—resin-infiltrated artificial WSL. The surface microhardness was determined using the Oliver–Pharr method and a spherical indenter (Shimadzu Indenter, Kyoto, Japan). One-way analysis of variance (ANOVA) followed by a Post Hoc test (Bonferroni) was used with a level of significance set at $p < 0.05$. **Results:** Resin-infiltrated white spot lesions showed comparable microhardness mean value as the control group: $68.23 (\pm 21.45)$ and $63.57 (\pm 18.89)$, respectively ($p > 0.05$). Also, resin infiltration increased enamel microhardness compared to WSL values, with a statistically significant difference ($p < 0.05$). Fluoride varnish and CPP-ACP treatment resulted in equivalent values (50.84 ± 14.35 and 50.99 ± 15.31 , respectively). **Conclusions:** Different WSL treatments (fluoride varnish, CPP-ACP and resin infiltration) produced comparable enamel microhardness values. Among the tested agents, resin infiltration resulted in higher microhardness values, while fluoride varnish and CPP-ACP demonstrated equivalent outcomes.

Keywords: white spot lesion; minimally invasive dentistry; enamel microhardness; resin infiltration; fluoride varnish; CPP-ACP



Academic Editors: Yoav Finer and Hans S. Malmstrom

Received: 18 August 2025

Revised: 9 October 2025

Accepted: 16 October 2025

Published: 27 October 2025

Citation: Milanović, M.; Beloica, M.; Mandinić, Z.; Juloski, J.; Petrović, M.; Kosanović, D.; Todorović, M.; Dimitrijević, M.; Jakovljević, A.; Vorkapić, M.; et al. The Effect of Different White Spot Lesion Treatments on the Enamel Microhardness—An In Vitro Pilot Study. *Dent. J.* **2025**, *13*, 496. <https://doi.org/10.3390/dj13110496>

Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Dental caries is a multifactorial, noncommunicable oral disease that is highly dependent on nutritional habits [1]. The contemporary understanding of caries etiology involves a combination of biological, behavioral, psychological and environmental factors. According to the Global Burden of Diseases, Injuries, and Risk Factors Study, dental caries is recognized as a major public health concern. It is estimated that 2.5 billion people suffer from caries of permanent teeth, and more than 530 million children suffer from untreated caries in primary dentition [2–4].

An initial enamel caries lesion, commonly referred to as a white spot lesion (WSL), is the first clinical sign of dental caries. Demineralization within the lesion, which occurs in the subsurface enamel layer, increases the porosity and modifies the optical properties of the enamel. The refractive indices of enamel, water and air differ, which causes the initial enamel caries lesion to appear as an opaque white spot, clearly distinguishable from intact enamel [4,5].

If this lesion is not detected in the initial phase and managed properly, it progresses to a cavity. Also, these opaque lesions might compromise the aesthetics of the patient if they are present in the aesthetic zone [6]. The conducted studies showed that WSLs on the anterior permanent teeth have a negative psychological impact among children and adolescents and that they lower self-esteem [7]. On the other hand, successful WSL management improves their oral health and quality of life [8]. Over the last decades, the prevalence of WSLs has increased [6,7].

Modern dentistry includes several non-invasive techniques in the treatment of white spot lesions. The aim is to arrest caries lesions at an early stage and to enhance their remineralization [9–11]. Fluoride-mediated remineralization is the cornerstone of caries prevention, and it is the most used concept worldwide [12]. Also, bioactive remineralizing agents such as amorphous calcium phosphate (ACP), casein phosphopeptide–amorphous calcium phosphate (CPP-ACP) and calcium silicate-based materials are commonly used [13–15]. CPP-ACP is a nanocomplex of calcium ions, phosphate ions and hydroxide ions stabilized by casein phosphopeptides. When pH values decrease, the CPP-ACP nanocomplex releases calcium and phosphate ions onto the tooth surface. This process enhances remineralization while simultaneously reducing demineralization. Additionally, a synergistic effect with fluoride has been reported, further contributing to the remineralization [12].

Micro-invasive approach in the WSL treatment includes infiltration of these lesions with a low viscosity composite resin. This resin, commercially available as ICON, infiltrates the body of the initial enamel caries lesion due to capillary forces and conceals the pores between the pathological crystals. Therefore, it creates a diffusion barrier inside the caries lesion body, and dissolution of crystals and caries progression are retarded. In addition, microporosities filled with resin provide a reflection of light similar to the surrounding intact enamel (RI of sound enamel is 1.62 and RI of resin infiltrant is 1.46) [13].

Non-invasive and minimally invasive strategies for caries management are widely employed. These approaches involve chemically distinct agents with different mechanisms of action and treatment protocols. Fluoride and casein phosphopeptide–amorphous calcium phosphate promote remineralization, while resin infiltration works by blocking diffusion pathways, thereby arresting caries progression. These agents are accessible and commonly used in clinical practice. Despite their differing modes of action, their effectiveness is often compared in the literature [14–16]. Some studies have also examined the impact of applying remineralizing agents prior to resin infiltration in the treatment of initial enamel caries lesions [17].

The obtainable clinical evidence reveals successful masking of enamel whitish discoloration in WSLs infiltrated with resin. However, there is further need for evaluation of its

impact on other enamel features (such as surface roughness and enamel hardness, shear bond strength, penetration depth) [5]. In vitro studies using resin infiltration of artificial white spot lesions are a possible method to accomplish this goal [18].

Therefore, the objective of the present study was to evaluate the effect of different white spot lesion treatments on enamel surface microhardness.

The null hypothesis tested was that different white spot lesion treatments showed no significant difference in enamel surface microhardness values.

2. Materials and Methods

The present in vitro study was conducted in the Clinic for Pediatric and Preventive Dentistry and Department for Biochemistry, School of Dental Medicine, University of Belgrade, and Faculty of Technology and Metallurgy, University of Belgrade. Ethical Committee approval was obtained for the study protocol (No. 36/11; approved date: 16 April 2024).

2.1. Sample Collection

Seventy-five intact human premolars were used for the study. The inclusion criteria were intact maxillary or mandibular, and first or second premolars extracted upon orthodontic indication. The exclusion criteria were hypomineralization, hypoplasia, caries, restorations or fractures of the teeth. The patients and their parents/guardians received information about the study, and their written consent was obtained.

2.2. Specimen Preparation

The selected teeth were cleaned with periodontal curettes to remove any remaining soft tissue and with fluoride-free prophylactic paste (Cleanic, Kerr, Brea, CA, USA), applied by a brush mounted on a low-speed hand piece, under water cooling. In addition, the vestibular surfaces were polished using cups mounted on a low-speed hand piece, under water cooling. The teeth were washed in distilled water and stored in a 0.1% thymol solution at room temperature until further use for no longer than 1 month to prevent bacterial growth.

Roots were removed at the cemento-enamel junction with a low-speed diamond saw (Isomet, Buehler Ltd., Lake Bluff, IL, USA) under water cooling. Pulp tissue was discarded, and pulp chambers of the premolar crowns were obturated with flowable composite (Revolution Flowable Composite, Kerr, Brea, CA, USA). The premolar crowns were divided into five groups using simple randomization (one control group and four test groups; $n = 15$):

- I—Intact enamel (control group);
- II—Artificial white spot lesion (WSL);
- III—Artificial WSL treated with fluoride varnish;
- IV—Artificial WSL treated with CPP-ACP paste;
- V—Resin-infiltrated artificial WSL.

All crowns in test groups were coated with an acid-resistant nail varnish (Essence, Cosnova GmbH, Sulzbach, Germany), except for a middle area of vestibular surfaces, which were isolated using adhesive paper, sized 4 mm × 4 mm (Figure 1). The adhesive papers were removed after the nail varnish had dried completely at room temperature.

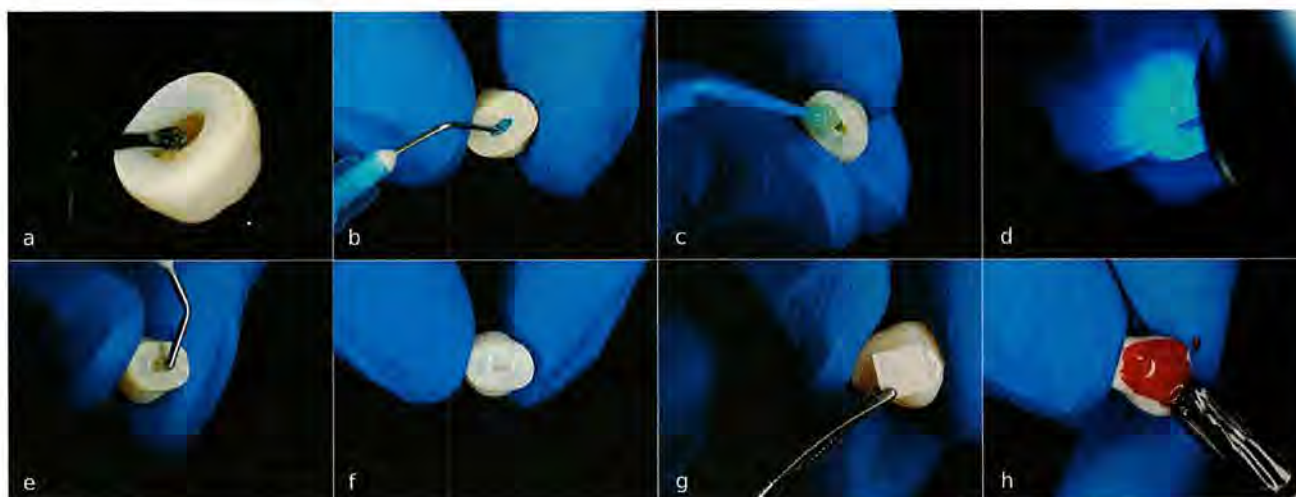


Figure 1. Preparation of the premolar crowns for the demineralization: (a) pulp tissue was removed; (b) dentin was etched with 37% orthophosphoric acid; (c) after rinsing and drying, an adhesive was applied; (d) polymerization was performed; (e,f) Pulp chambers were obturated with flowable composite; (g) the middle area of buccal surface was isolated using adhesive paper, sized 4 mm × 4 mm; (h) the crowns were coated with an acid-resistant nail varnish.

2.3. Artificial Demineralization

The results of previously conducted research showed that a demineralizing solution composed of acetic acid, monopotassium phosphate and calcium chloride with pH = 4.4 and exposure time 96 h produced optimal artificial WSLs [19]. Each specimen was submerged in 20 mL of the demineralizing solution in a sterile plastic container. The pH of the solution was checked every day with a probe to maintain the initially defined value (Mi 150, pH/Temperature Bench Meter, Martini instruments—Milwaukee Instruments, Rocky Mount, NC, USA). If necessary, it was adjusted with potassium hydroxide.

After demineralization, nail varnish was carefully removed with oil-free acetone, and the samples were thoroughly washed with distilled water. All specimens were visually inspected, and the macroscopic appearance of the enamel lesion was evaluated.

2.4. Material Application

The artificial initial enamel caries lesions were treated with three different agents whose composition is shown in Table 1. The specimens in groups I and II were stored in deionized water at room temperature.

Table 1. Composition of materials used in the study.

Material	Composition	Manufacturer
Fluor Protector S	1.5% ammonium fluoride (7700 ppmF in solution); Ethanol; Water; Polymer; Additive; Saccharin, mint aroma	Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein
Tooth Mousse	CPP-ACP (RECALDENT), Water, Glycerol, D-sorbitol, CMC-Na, Propylene glycol, Silicon dioxide, Titanium dioxide, Xylitol, Phosphoric acid, Flavoring, Zinc oxide, Sodium-saccharin, Ethyl p-hydroxybenzoate, Magnesium oxide, Guar gum, Propyl p-hydroxybenzoate, Butyl p-hydroxybenzoate	GC, Tokyo, Japan
ICON	Icon-Etch: Hydrochloric acid (15% HCl), Pyrogenic silicic acid; Surface-active substances; Icon-Dry: 99% ethanol; Icon-Infiltrant: Methacrylate-based resin matrix; Initiators; Additives	DMG, Hamburg, Germany

Group III—Fluoride varnish

The group III samples were treated with Fluor Protector S (Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein). The samples were dried with an oil-free air spray, and the varnish was applied with the brush (Vivabrush G, Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein). After 60 s, each sample was immersed in deionized water at room temperature for 28 days.

Group IV—CPP-ACP paste

In this test group, Tooth Mousse (GC, Tokyo, Japan) was used. After drying with oil-free air spray, the WSLs were coated with paste for 5 min and were stored in deionized water in sterile plastic containers at room temperature. The remineralizing procedure was repeated for 28 days.

Group V—Resin infiltration

The artificial WSLs were treated with resin infiltrant—ICON (DMG, Hamburg, Germany) following the manufacturer's instructions (Appendix A.1—Table A1). After resin application, the specimens were polished using cups on a low-speed hand piece under water cooling. The specimens were stored in deionized water in sterile plastic containers at room temperature for 28 days.

2.5. Surface Microhardness Testing

Silicone molds sized 1×1 cm were made. The samples (vestibular halves of premolar crowns) were embedded in acrylic blocks, leaving the vestibular surface of the crown exposed, flat, and as parallel as possible to the floor. The surface microhardness was determined using the Oliver–Pharr method and a spherical indenter (Shimadzu Indenter, Kyoto, Japan). The Oliver–Pharr method is an analytical technique used in instrumented indentation testing to evaluate the hardness of a material/object. To obtain the hardness value, mathematical analysis is performed [20,21]:

$$H = P_{\max}/A$$

In this formula: H—hardness; $P_{\max}$ —peak load during the indentation; A—effective contact area between the indenter and the tested surface under maximum load.

The variable A is calculated using the following formula:

$$A = 24.5 \cdot h_c^2$$

(h_c —the depth of contact: $h_c = h_{\max} - \epsilon \cdot P_{\max}/S$; $h_{\max}$ —the largest penetration depth; ϵ —constant which depends on the type of the indenter; S—the slope of the unloading curve at the beginning; Figure 2).

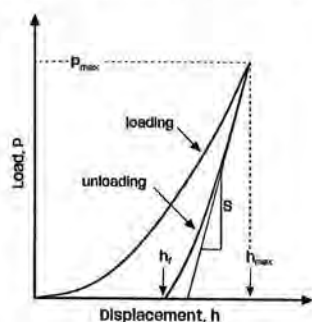


Figure 2. Schematic illustration of indentation load–displacement data showing important parameters for hardness analysis [20,21]: P—load, h, h_f —displacement, S—the slope of the unloading curve at the beginning.

Three indentations were made at the center of each sample (Appendix A.2—Figure A1), and the microhardness values were calculated according to the previously described mathematical model. The average value for each sample was calculated. The flow chart of the sample collection and specimen preparation for microhardness testing is presented in Figure 3.

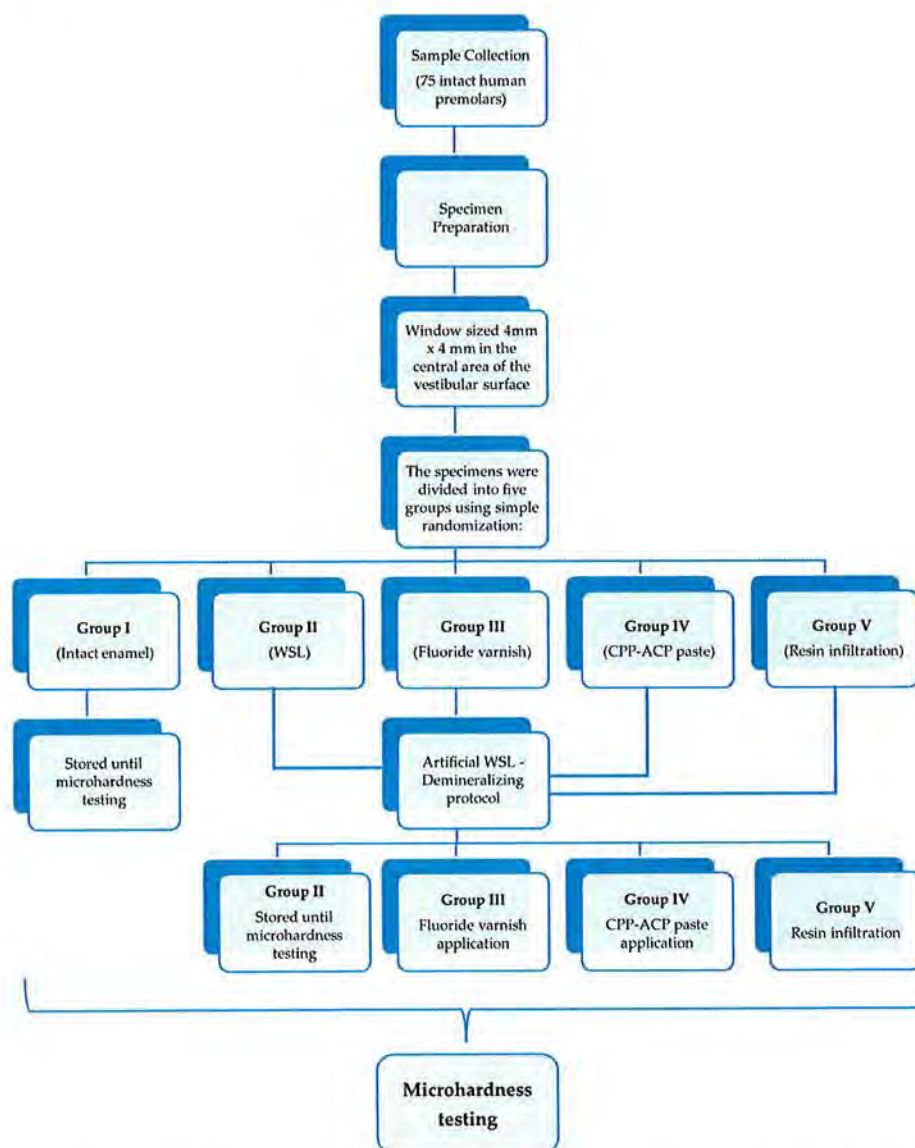


Figure 3. Flow chart of the sample collection and specimen preparation for microhardness testing.

2.6. Statistical Analysis

SPSS version 22.0 (IBM Corp., New York, NY, USA) was used for the statistical analysis of the data obtained. The microhardness results were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Post Hoc multiple comparisons (Bonferroni test). The level of significance was set at $p < 0.05$.

3. Results

The highest mean microhardness values were obtained in group I (intact enamel) and group V (resin-infiltrated WLSs). In group I mean value was 63.57 ± 18.89 . Comparable results were found in group V, which ranged from 31.66 to 112.74 with a mean of 68.23 ± 21.45 (Figure 4, Table 2). Between these two groups, there were no statistically significant differences ($p > 0.05$).

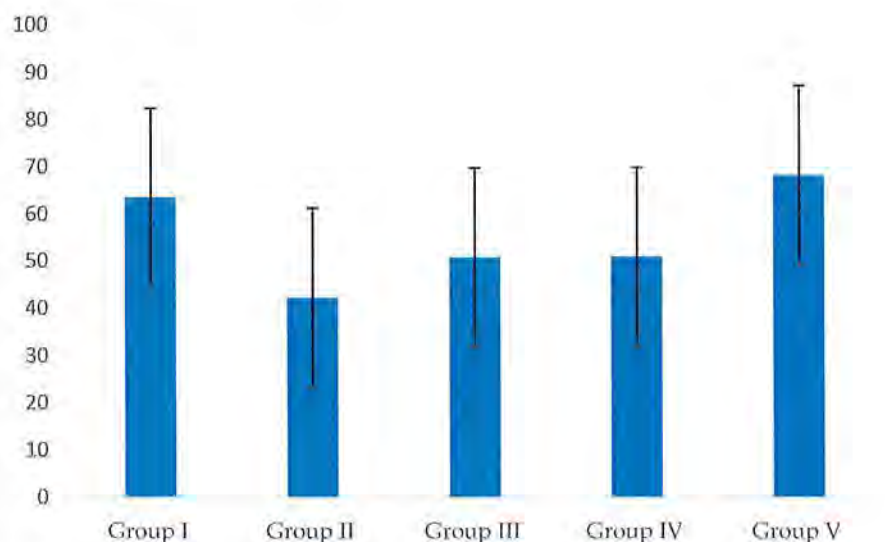


Figure 4. Mean enamel microhardness values (with standard deviation) in all groups.

Table 2. Microhardness values and comparison between groups.

	Group I Intact Enamel	Group II WSL	Group III Fluoride Varnish	Group IV CPP-ACP Paste	Group V Resin Infiltration
Mean	63.57 ^A	42.35 ^B	50.84 ^{A,B}	50.99 ^{A,B}	68.23 ^A
S.D.	18.89	17.98	14.35	15.31	21.45
<i>p</i>	0.001 *				

p: One-way analysis of variance (ANOVA), * Significant difference at $p < 0.05$; Post Hoc multiple comparisons: Means with different superscripted letters were significantly different.

Group III (fluoride varnish-treated WSLs) and group IV (CPP-ACP paste-treated WSLs) demonstrated equivalent results: mean values were 50.84 ± 14.35 and 50.99 ± 15.31 , respectively. There was no statistically significant difference between groups III, IV and V ($p > 0.05$).

The lowest values of enamel surface microhardness were found in group II (WSLs). The mean value was 42.35 ± 17.98 . There was a statistically significant difference between groups I and II and groups II and V ($p < 0.05$).

4. Discussion

Dental caries, as one of the most common oral diseases worldwide, represents a major public health concern [2]. Under physiological conditions, the enamel surface is subjected to continuous cycles of demineralization and remineralization. However, when pathological factors predominate, demineralization surpasses remineralization, leading to the formation of an initial enamel caries lesion [22]. This stage of caries development is

highly dynamic and reversible. Advances in the understanding of the etiological factors and pathophysiological processes involved in dental caries have led to a paradigm shift in the approach to caries management. The minimally invasive concept has been introduced, emphasizing the crucial role of preventive and prophylactic therapy and early caries detection [23]. Also, individual caries risk assessment is a fundamental part of the treatment. Resin infiltration, as a micro-invasive approach, is part of the minimum intervention dentistry concept (MID) [24].

There are many demineralization protocols for artificial WSLs formation. They can contain lactic acid, acetic acid, methyl diphosphonate (MHDP), an acidified hydroxyethylcellulose system, and in some of them, fluoride might be added. The results of the systematic review and meta-analysis showed that the duration of the demineralization process varied from several hours to 1,200 h. In addition, pH of demineralizing solutions varied between 4 and 5 [25]. In the present study, the demineralizing solution was selected due to the results obtained by a previously conducted pilot study [19].

Enamel microhardness evaluation requires the testing surface to be as flat and parallel to the base as possible. Some authors used silicon carbide discs under water cooling and polishing procedures to flatten the enamel [18,26,27]. Also, the removal of about 100 µm of the outer enamel layer was reported [18]. The authors of the present study wanted to preserve the top enamel layer and to avoid the flattening procedures. Therefore, the spherical micro-indenter and the Oliver–Pharr method were chosen.

The Oliver–Pharr method is an analytical technique used in indentation testing (microindentation or nanoindentation) to determine the hardness and elastic modulus of a material. It was developed by W.C. Oliver and G.M. Pharr in the 1990s, and it has been improved over the years for testing of micro/nano-structures, biomaterials and coatings [20,21]. The Vickers and Knoop hardness testing involve precise measurement of indenter impression [28]. In contrast, the Oliver–Pharr method enables direct determination of mechanical properties from the indentation load-unloading curve, eliminating the need to visually assess the hardness impression. Accurate indenter impressions are ideally obtained when the testing surface is flat; if this condition is not met, the measurement of hardness values becomes imprecise. Given that the enamel surface, without additional preparation, is not entirely flat or parallel to the base, the Oliver–Pharr method was selected as the more reliable option for the present study.

Enamel surface microhardness testing can reflect the improvements in WSLs after resin infiltration. This measurement cannot assess the mineral changes in the WSL after the different treatment methods, but it can demonstrate the improvements of the WSL [10,29,30]. The results of this study showed that resin infiltration of WSLs significantly increased the enamel surface microhardness compared to the untreated ones. Some of these measurements were equivalent to sound enamel. However, a statistically significant difference was not found between different white spot lesion treatments. So, the null hypothesis was accepted. The lowest mean microhardness was found in the white spot lesion group, which was expected and in accordance with the literature data [9,31,32]. It might be explained by chemical remodeling of the enamel rods, which caused pore formation and reduced microhardness [9].

The resin infiltrant organic matrix is mostly composed of triethylene glycol dimethacrylate (TEGDMA). This monomer has a high degree of conversion, low viscosity and low molecular weight. Another benefit is the ability to penetrate the porous structure of the WSL body and to prevent further ionic diffusion [31]. The incorporated resin matrix might reinforce the enamel structure mechanically. The microhardness finding by Paris et al. also showed that resin infiltration can reharder the WSL [33]. Mandava et al. demonstrated better results of resin infiltration in recovering microhardness compared to colloidal silica

infiltrates [10]. However, most of them reported lower microhardness in artificial WSLs treated with resin infiltrant compared with sound enamel [30,33]. This might be associated with the fact that the degree of conversion in some cases can be lower, and formation of chains might not always occur [34]. Moreover, material shrinkage during light curing may leave some parts of demineralized enamel without infiltrant, which could also contribute to the decrease in surface microhardness compared to intact enamel [30].

Fluoride remains the gold standard for white spot lesion treatment with multiple systematic reviews confirming its successful effects [25–27]. The literature suggests that a fluoride varnish is highly effective in reducing caries, providing a long-lasting effect with minimal side effects [35,36]. Additionally, it is well-tolerated by both patients (children and adults) and clinicians. In contrast, fluoride solutions, while less effective for long-term remineralization, offer a more economical alternative. In the present study, varnish containing organic fluoride was used. The initial fluoride concentration in it is 7700 ppm, which is lower compared to the conventionally used 5% sodium fluoride (NaF). However, according to the product information, after varnish application, the solvent evaporates, and the effective fluoride concentration is increased on the tooth surface. Moreover, organic fluoride forms a stable film on the tooth surface due to its surfactant-like properties, which enhance its retention time and contribute to prolonged remineralizing and antibacterial activity [37]. The organic fluoride varnish might be applied in a very thin layer that dries swiftly, which is convenient and more comfortable for the pediatric population. Therefore, this varnish was selected for the study.

CPP-ACP is one of the commonly used remineralizing agents and its efficacy has been investigated [38]. Scientific evidence supports the use of CPP-ACP for remineralization of early enamel caries lesions. However, the clinical benefit of CPP-ACP use over fluoride is still unclear [39]. It might be challenging to simulate CPP-ACP paste usage in the *in vitro* conditions. Some authors applied it once a day for 14 days [40], while Rana et al. reported applying it twice a day for 14 days [9]. A few studies described daily application for 28 days as a relevant treatment duration [41–43] and this recommendation was incorporated into the present study.

The findings of the present study demonstrated similar average enamel microhardness values between the fluoride varnish and the CPP-ACP paste groups. These values were lower than sound enamel but above the WSL microhardness. These results were in accordance with literature data [44]. The low-viscosity resin infiltrant penetrated early enamel caries lesions immediately, and therefore, the microhardness recovery can be measured after the treatment. In the oral cavity, the effects of fluoride varnish and CPP-ACP are saliva-dependent. Also, in the present study, the CPP-ACP paste was applied for 4 weeks. Despite the limitations of an *in vitro* study, both fluoride therapy and the CPP-ACP paste showed higher average enamel microhardness values compared to the average microhardness value of white spot lesions. However, the statistically significant difference was not found ($p > 0.05$). In further research, a prolonged period of use may be considered, and the results could be compared to the results obtained from the present study. The literature data suggested that fluoride varnish used in the present study showed a positive therapeutic effect and decreased demineralization [45,46]. On the other hand, an *in vitro* study that evaluated fluoride release 6 months after application demonstrated that 5% NaF was superior to ammonium fluoride-based varnishes [47]. In future research, the *in vivo* effects of these products can be examined.

In vitro studies are commonly employed to assess various enamel surface characteristics, including hardness, surface roughness and biofilm susceptibility. However, the oral cavity represents a dynamic environment characterized by pH fluctuations, mechanical forces and the presence of saliva, which plays a critical role in maintaining overall oral

homeostasis. The present study is limited by its inability to account for saliva-dependent reactions and pH variations. Future research could investigate the impact of additional demineralization on treated enamel surfaces, mineral content changes (SEM/EDX) and long-term mechanical characteristics. Another important aspect of the treatments evaluated is their aesthetic outcome, which requires further investigation. In future research, an alternative approach could be explored, including measuring the initial microhardness of the enamel before demineralization, WSL microhardness and then various white spot lesion treatments. A preliminary microhardness test was not conducted in this study, and incorporating it into future studies would help validate the results. The results indicated no statistically significant differences among groups III, IV, and V. However, group V (resin infiltration) demonstrated outcomes comparable to the control group. It is possible that stronger statistical correlations could emerge with a larger sample size. This aspect warrants further investigation in future research.

5. Conclusions

The various treatments for white spot lesions (fluoride varnish, casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate and resin infiltration) produced comparable enamel microhardness values. Among the tested agents, resin infiltration resulted in higher microhardness values, while fluoride varnish and CPP-ACP demonstrated equivalent outcomes. Given the inherent limitations of this *in vitro* pilot study, further research is necessary to verify these findings, particularly under clinical conditions.

Author Contributions: Conceptualization, M.B. and A.J.; methodology, M.B., D.K., A.J. and M.V.; validation, Z.M. and J.J.; formal analysis, M.P. and M.V.; investigation, M.M. and M.V.; writing—original draft preparation, M.M., M.D. and M.T.; writing—review and editing, Z.M. and J.J.; visualization, M.M., M.D. and M.T.; supervision, M.B. and D.S. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: This study was approved by the Ethics Committee of the School of Dental Medicine, University of Belgrade (No. 36/11; approved date: 16 April 2024).

Informed Consent Statement: Informed written consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: The original contributions presented in this study are included in the article. Further inquiries can be directed to the corresponding author.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

Abbreviations

The following abbreviations are used in this manuscript:

WSL	White spot lesion
CPP-ACP	Casein phosphopeptide–amorphous calcium phosphate
RI	Refractive index
TEGDMA	Triethyleneglycol dimethacrylate
NaF	Sodium fluoride

Appendix A

Appendix A.1

Table A1. Protocol for resin infiltration (ICON) according to the manufacturer's recommendations.

Steps	Recommendations
Step 1: Icon-etch	Apply Icon-etch with the tip; Let it set for 2 min with periodic smearing; Rinse with water for 30 s; Dry with oil/water-free air spray.
Step 2: Icon-dry	Apply Icon-dry with the tip; Let it set for 30 s; Dry with oil/water-free air spray.
Step 3: Icon-infiltrant	Apply Icon-infiltrant with the Icon Vestibular Tip; Let it set for 3 min with periodical activation and additional resin coating; Remove excess material with cotton rolls; Light cure for 40 s; Repeat the application of Icon-infiltrant, as previously described, with contact time 1 min; Polishing.

Appendix A.2



Figure A1. Surface microhardness testing.

References

1. Machiulskiene, V.; Campus, G.; Carvalho, J.C.; Dige, I.; Ekstrand, K.R.; Jablonski-Momeni, A.; Maltz, M.; Manton, D.J.; Martignon, S.; Martinez-Mier, E.A.; et al. Terminology of Dental Caries and Dental Caries Management: Consensus Report of a Workshop Organized by ORCA and Cariology Research Group of IADR. *Caries Res.* **2020**, *54*, 7–14. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Kassebaum, N.J.; Smith, A.G.C.; Bernabé, E.; Fleming, T.D.; Reynolds, A.E.; Vos, T.; Murray, C.J.L.; Marcenes, W. Global, Regional, and National Prevalence, Incidence, and Disability-Adjusted Life Years for Oral Conditions for 195 Countries, 1990–2015: A Systematic Analysis for the Global Burden of Diseases, Injuries, and Risk Factors. *J. Dent. Res.* **2017**, *96*, 380–387. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Nassar, H.M.; Lippert, F. Artificial Caries Lesion Characteristics after Secondary Demineralization with Theobromine-Containing Protocol. *Molecules* **2021**, *26*, 300. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Theodory, T.G.; Kolker, J.L.; Vargas, M.A.; Maia, R.R.; Dawson, D.V. Masking and Penetration Ability of Various Sealants and ICON in Artificial Initial Caries Lesions In Vitro. *J. Adhes. Dent.* **2019**, *21*, 265–272. [[CrossRef](#)]

5. Bandekar, S.; Patil, S.; Dudulwar, D.; Moogi, P.P.; Ghosh, S.; Kshirsagar, S. Remineralization potential of fluoride, amorphous calcium phosphate-casein phosphopeptide, and combination of hydroxylapatite and fluoride on enamel lesions: An in vitro comparative evaluation. *J. Conserv. Dent.* **2019**, *22*, 305–309. [\[CrossRef\]](#)
6. Araújo, G.S.; Naufel, F.S.; Alonso, R.C.; Lima, D.A.; Puppim-Rontani, R.M. Influence of Staining Solution and Bleaching on Color Stability of Resin Used for Caries Infiltration. *Oper. Dent.* **2015**, *40*, E250–E256. [\[CrossRef\]](#)
7. Benson, P.E.; Javidi, H.; DiBiase, A.T. What is the value of orthodontic treatment? *Br. Dent. J.* **2015**, *218*, 185–190. [\[CrossRef\]](#)
8. Hasmun, N.; Vettore, M.V.; Lawson, J.A.; Elcock, C.; Zaitoun, H.; Rodd, H.D. Determinants of children's oral health-related quality of life following aesthetic treatment of enamel opacities. *J. Dent.* **2020**, *98*, 103372. [\[CrossRef\]](#)
9. Rana, N.; Singh, N.; Shaila; Thomas, A.M.; Jairath, R. A comparative evaluation of penetration depth and surface microhardness of Resin Infiltrant, CPP-ACPF and Novamin on enamel demineralization after banding: An in vitro study. *Biomater. Investig. Dent.* **2021**, *8*, 64–71. [\[CrossRef\]](#)
10. Mandava, J.; Reddy, Y.S.; Kantheti, S.; Chalasani, U.; Ravi, R.C.; Borugadda, R.; Konagala, R.K. Microhardness and Penetration of Artificial White Spot Lesions Treated with Resin or Colloidal Silica Infiltration. *J. Clin. Diagn. Res.* **2017**, *11*, ZC142–ZC146. [\[CrossRef\]](#)
11. De Almeida, C.M.; da Rosa, W.L.O.; Meereis, C.T.W.; de Almeida, S.M.; Ribeiro, J.S.; da Silva, A.F.; Lund, R.G. Efficacy of antimicrobial agents incorporated in orthodontic bonding systems: A systematic review and meta-analysis. *J. Orthod.* **2018**, *45*, 79–93. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
12. Philip, N. State of the Art Enamel Remineralization Systems: The Next Frontier in Caries Management. *Caries Res.* **2019**, *53*, 284–295. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
13. Aref, N.S.; Alrasheed, M.K. Casein phosphopeptide amorphous calcium phosphate and universal adhesive resin as a complementary approach for management of white spot lesions: An in-vitro study. *Progress. Orthod.* **2022**, *23*, 12. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
14. Wang, Q.; Zhou, Y.; Cui, T.; Li, J.; Lo, E.C.M.; Hao, G.; Zhi, Q. Comparative evaluation of four treatments for postorthodontic white spot lesions: A randomized controlled trial. *Clin. Oral. Investig.* **2023**, *27*, 5957–5968. [\[CrossRef\]](#)
15. Baafif, H.A.; Alibrahim, I.F.; Alotaibi, S.H.; Alharbi, H.G.; Shubaily, M.N.; Elkwahty, W.M.A. The Efficacy of Resin Infiltrant and Casein Phosphopeptide-amorphous Calcium Fluoride Phosphate in Treatment of White Spot Lesions (Comparative Study). *J. Int. Soc. Prev. Community Dent.* **2020**, *10*, 438–444. [\[CrossRef\]](#)
16. Dhamija, M.; Tyagi, R.; Kalra, N.; Khatri, A. Efficacy of Resin Infiltration and Fluoride Casein Phosphopeptide Amorphous Calcium Phosphate Varnish on Non-cavitated Active White Spot Lesions in Children: A Randomized Clinical Trial. *Pesqui. Bras. Em Odontopediatria E Clínica Integr.* **2022**, *22*, e210094. [\[CrossRef\]](#)
17. Doğu Kaya, B.; Manav Özen, A.; Yılmaz Atalı, P.; Güngör, A.S.; Dalkılıç, E.; Alkan, E.; Tağtekin, D.; Türkmen, C. Effect of the use of remineralization agents before resin infiltration on the treatment of initial enamel lesions: An in-vitro study. *BMC Oral Health* **2024**, *24*, 868. [\[CrossRef\]](#)
18. Magalhães, A.C.; Moron, B.M.; Comar, L.P.; Wiegand, A.; Buchalla, W.; Buzalaf, M.A. Comparison of cross-sectional hardness and transverse microradiography of artificial carious enamel lesions induced by different demineralising solutions and gels. *Caries Res.* **2009**, *43*, 474–483. [\[CrossRef\]](#)
19. Milanovic, M.; Mandinic, Z.; Juloski, J.; Dimitrijevic, M.; Milicic, B.; Andelski-Radicevic, B.; Pavlović, V.; Beloica, M. Effect of different demineralizing solutions and different exposing times on artificial initial caries lesion formation—An in vitro study. *Srpski Arhiv za Celokupno Lekarstvo* **2023**, *151*, 652–657. [\[CrossRef\]](#)
20. Oliver, W.C.; Pharr, G.M. An improved technique for determining hardness and elastic modulus using load and displacement sensing indentation experiments. *J. Mater. Res.* **1992**, *7*, 1564–1583. [\[CrossRef\]](#)
21. Oliver, W.C.; Pharr, G.M. Measurement of hardness and elastic modulus by instrumented indentation: Advances in understanding and refinements to methodology. *J. Mater. Res.* **2004**, *19*, 3–20. [\[CrossRef\]](#)
22. Pretty, I.A.; Ellwood, R.P. The caries continuum: Opportunities to detect, treat and monitor the re-mineralization of early caries lesions. *J. Dent.* **2013**, *41* (Suppl. S2), S12–S21. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
23. Murdoch-Kinch, C.A.; McLean, M.E. Minimally invasive dentistry. *J. Am. Dent. Assoc.* **2003**, *134*, 87–95. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
24. Innes, N.P.T.; Chu, C.H.; Fontana, M.; Lo, E.C.M.; Thomson, W.M.; Uribe, S.; Heiland, M.; Jepsen, S.; Schwendicke, F. A Century of Change towards Prevention and Minimal Intervention in Cariology. *J. Dent. Res.* **2019**, *98*, 611–617. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
25. Soveral, M.; Machado, V.; Botelho, J.; Mendes, J.J.; Manso, C. Effect of Resin Infiltration on Enamel: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J. Funct. Biomater.* **2021**, *12*, 48. [\[CrossRef\]](#)
26. Prajapati, D.; Nayak, R.; Pai, D.; Upadhya, N.; Bhaskar, V.K.; Kamath, P. Effect of Resin Infiltration on Artificial Caries: An in vitro Evaluation of Resin Penetration and Microhardness. *Int. J. Clin. Pediatr. Dent.* **2017**, *10*, 250–256. [\[CrossRef\]](#)
27. Toledano, M.; Osorio, R.; Osorio, E.; Prati, C.; Carvalho, R.M. Microhardness of acid-treated and resin infiltrated human dentine. *J. Dent.* **2005**, *33*, 349–354. [\[CrossRef\]](#)

28. Sleem, M.M.; Eid, E.G.; Abdelghany, A.M.; Farahat, D.S. Evaluation of the remineralization potential of different bioactive glass varnishes on white spot lesions: An in vitro study. *BMC Oral. Health*. **2025**, *25*, 1284. [\[CrossRef\]](#)
29. Freitas, M.; Nunes, L.V.; Comar, L.P.; Rios, D.; Magalhaes, A.C.; Honorio, H.M.; Wang, L. In vitro effect of a resin infiltrant on different artificial caries-like enamel lesions. *Arch. Oral Biol.* **2018**, *95*, 118–124. [\[CrossRef\]](#)
30. Torres, C.R.G.; Borges, A.B.; Torres, L.M.S.; Gomes, I.S.; de Oliveira, R.S. Effect of caries infiltration technique and fluoride therapy on the colour masking of white spot lesions. *J. Dent.* **2011**, *39*, 202–207. [\[CrossRef\]](#)
31. Zakizade, M.; Davoudi, A.; Akhavan, A.; Shirban, F. Effect of Resin Infiltration Technique on Improving Surface Hardness of Enamel Lesions: A Systematic Review and Meta-analysis. *J. Evid. Based Dent. Pract.* **2020**, *20*, 101405. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
32. Neres, E.Y.; Moda, M.D.; Chiba, E.K.; Briso, A.L.F.; Pessan, J.P.; Fagundes, T.C. Microhardness and Roughness of Infiltrated White Spot Lesions Submitted to Different Challenges. *Oper. Dent.* **2017**, *42*, 428–435. [\[CrossRef\]](#)
33. Paris, S.; Schwendicke, F.; Seddig, S.; Muller, W.D.; Dorfer, C.; Meyer-Lueckel, H. Micro-hardness and mineral loss of enamel lesions after infiltration with various resins: Influence of infiltrant composition and application frequency in vitro. *J. Dent.* **2013**, *41*, 543–548. [\[CrossRef\]](#)
34. Gajewski, V.E.; Pfeifer, C.S.; Fróes-Salgado, N.R.; Boaro, L.C.; Braga, R.R. Monomers used in resin composites: Degree of conversion, mechanical properties and water sorption/solubility. *Braz. Dent. J.* **2012**, *23*, 508–514. [\[CrossRef\]](#)
35. Seppä, L. Fluoride varnishes in caries prevention. *Med. Princ. Pract.* **2004**, *13*, 307–311. [\[CrossRef\]](#)
36. Piesiak-Pańczyszyn, D.; Zakrzewski, W.; Piszko, A.; Piszko, P.J.; Dobrzyński, M. Review on fluoride varnishes currently recommended in dental prophylaxis. *Polim. Med.* **2023**, *53*, 141–151. [\[CrossRef\]](#)
37. Sh, P.; Raghu, R.; Shetty, A.; Gautham, P.; Reddy, S.; Srinivasan, R. Effect of organic versus inorganic fluoride on enamel microhardness: An in vitro study. *J. Conserv. Dent.* **2013**, *16*, 203–207. [\[CrossRef\]](#)
38. Vyavhare, S.; Sharma, D.S.; Kulkarni, V.K. Effect of three different pastes on remineralization of initial enamel lesion: An in vitro study. *J. Clin. Pediatr. Dent.* **2015**, *39*, 149–160. [\[CrossRef\]](#)
39. Li, J.; Xie, X.; Wang, Y.; Yin, W.; Antoun, J.S.; Farella, M.; Mei, L. Long-term remineralizing effect of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate (CPP-ACP) on early caries lesions in vivo: A systematic review. *J. Dent.* **2014**, *42*, 769–777. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
40. El-zankalouny, S.M.; Abd El Fattah, W.M.; El-Shabrawy, S. Penetration depth and enamel microhardness of resin infiltrant and traditional techniques for treatment of artificial enamel lesions. *Alex. Dent. J.* **2016**, *41*, 20–25. [\[CrossRef\]](#)
41. Shaik, Z.A.; Rambabu, T.; Sajjan, G.; Varma, M.; Satish, K.; Raju, V.B.; Ganguru, S.; Ventrapati, N. Quantitative Analysis of Remineralization of Artificial Carious Lesions with Commercially Available Newer Remineralizing Agents Using SEM-EDX- In Vitro Study. *J. Clin. Diagn. Res.* **2017**, *11*, ZC20–ZC23. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
42. Cardoso-Martins, I.; Pessanha, S.; Coelho, A.; Arantes-Oliveira, S.; Marques, P.F. Evaluation of the Efficacy of CPP-ACP Remineralizing Mousse in Molar-Incisor Hypomineralized Teeth Using Polarized Raman and Scanning Electron Microscopy-An In Vitro Study. *Biomedicines* **2022**, *10*, 3086. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
43. Tosco, V.; Vitiello, F.; Monterubbianesi, R.; Gatto, M.L.; Orilisi, G.; Mengucci, P.; Putignano, A.; Orsini, G. Assessment of the Remineralizing Potential of Biomimetic Materials on Early Artificial Caries Lesions after 28 Days: An In Vitro Study. *Bioengineering* **2023**, *10*, 462. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
44. Reynolds, E.C.; Cai, F.; Cochrane, N.J.; Shen, P.; Walker, G.D.; Morgan, M.V.; Reynolds, C. Fluoride and casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate. *J. Dent. Res.* **2008**, *87*, 344–348. [\[CrossRef\]](#)
45. Subramaniam, P.; Telegeti, S. Effect of different concentrations of fluoride varnish on enamel surface microhardness: An in vitro randomized controlled study. *J. Indian Assoc. Public Health Dent.* **2016**, *14*, 344–347. [\[CrossRef\]](#)
46. Babu, K.L.; Subramaniam, P.; Teleti, S. Effect of varnish containing casein phosphopeptides-amorphous calcium phosphate and fluoride on surface microhardness of enamel—An in vitro study. *Saudi J. Oral. Sci.* **2020**, *7*, 29–34. [\[CrossRef\]](#)
47. Singh, V.; Naik, S.; Vashisth, P.; Sharma, S.; Chandak, A.; Murry, J.N. Comparative Evaluation of Longevity of Fluoride Release from Three Different Fluoride Varnishes: An Observational Study. *Int. J. Clin. Pediatr. Dent.* **2024**, *17*, 341–345. [\[CrossRef\]](#)

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.



ORIGINAL ARTICLE / ОРИГИНАЛНИ РАД

Effect of different demineralizing solutions and different exposing times on artificial initial caries lesion formation – an *in vitro* study

Milena Milanović¹, Zoran Mandinić¹, Jelena Juloski¹, Maja Dimitrijević¹, Biljana Miličić², Biljana Anđelski-Radičević³, Vladimir Pavlović⁴, Miloš Beloica¹

¹University of Belgrade, School of Dental Medicine, Clinic for Pediatric and Preventive Dentistry, Belgrade, Serbia;

²University of Belgrade, School of Dental Medicine, Department for Medical Statistics and Informatics, Belgrade, Serbia;

³University of Belgrade, School of Dental Medicine, Department for Biochemistry, Belgrade, Serbia;

⁴University of Belgrade, Faculty of Agriculture, Department for Physics and Mathematics, Belgrade, Serbia

Introduction/Objective Artificial enamel caries lesions are commonly created to simulate *in vivo* caries development and to examine the effect of non-invasive and microinvasive approaches in treatment of initial caries lesions.

The objective of the present study was to compare three different demineralizing solutions and exposing times in terms of the formation of artificial white spot lesions and to evaluate their demineralization effect through scanning electron microscopy observations.

Methods Twenty intact human premolars, extracted for orthodontic reasons, were thoroughly cleaned, stored in 0.1% thymol solution at room temperature and cut at the cemento-enamel junction before demineralizing process. The specimens were randomly divided into three experimental groups, according to the used demineralization agent and the time of exposure: Group I (acetic acid; pH = 4.4; 96 hours); Group II (lactic acid; pH = 4.5; 120 hours); Group III (Lactic acid; pH = 4.3; 504 hours) and one control group (saline). After demineralisation, macroscopic appearance was checked and all specimens were observed under scanning electron microscope to evaluate the enamel characteristics and caries lesion depths.

Results In Group I and II enamel subsurface porosity with dissolution of enamel crystals is detected and the mean depths of white spot lesions were 48.55 µm (SD = 1.11) and 43.23 µm (SD = 6.74), respectively. In Group III structural integrity of enamel surface was not preserved.

Conclusion Demineralizing solutions used in experimental groups I and II resulted in artificial initial caries lesions with satisfactory characteristics and similar appearance on scanning electron microscopy. The outcome of demineralizing process which lasted 504 hours were cavitated enamel lesions.

Keywords: enamel; demineralization; white spot lesions; scanning electron microscopy

INTRODUCTION

Dental caries, one of the most common oral diseases worldwide, represents a major public health concern, as confirmed by the latest report on the Global Burden of Disease [1]. It is estimated that 2.5 billion people suffer from caries in permanent teeth, and more than 530 million children suffer from untreated caries in deciduous dentition [1, 2, 3]. Initial caries lesions, also known as white spot lesions (WSLs), are the earliest clinical signs of enamel caries. Subsurface enamel demineralization increases porosity and changes the optical characteristics of enamel. Consequently, the initial caries lesion appears as an opaque white spot, visibly different from the surrounding sound enamel due to differences in the refractive indexes (RI) [3, 4]. In the last decades, the prevalence of WSLs has increased, and some authors consider this increase a potential side effect of orthodontic therapy with fixed orthodontic appliances [5, 6]. If these lesions are not detected in the initial phase and are not properly managed in

this reversible stage, they might progress into irreversible cavitated lesions. Additionally, WSLs might compromise the aesthetics of the anterior teeth [7, 8]. Contemporary dentistry established several non-invasive approaches in treatment of initial caries lesions to arrest caries lesions at an early stage and to improve its remineralization [9, 10, 11]. Fluoride-based and bioactive remineralizing agents such as casein phosphopeptide – amorphous calcium phosphate and calcium silicate-based materials are widely used [12–15]. As a modern, microinvasive approach, infiltration of the WSLs with a low viscosity composite resin, commercially available as ICON (DMG MORI, Hamburg, Germany), has been developed [16].

Accessible clinical experience points towards successful masking of whitish enamel discoloration in WSLs when treated with infiltrative resin [17]. However, there is still need for further examination of its impact on the other features and its effectiveness (such as surface roughness and enamel hardness, shear bond strength, penetration depth) [5]. *In vitro* studies

Received • Примљено:
December 28, 2022

Revised • Ревизија:
September 28, 2023

Accepted • Прихваћено:
October 17, 2023

Online first: November 7, 2023

Correspondence to:

Jelena JULOSKI
School of Dental Medicine
Clinic for Pediatric and Preventive
Dentistry
dr Subotića Starijeg 11
11000 Belgrade
Serbia
jelena.juloski@stomf.bg.ac.rs



Figure 1. Before immersion into solutions, the roots of the teeth were separated at the cemento-enamel junction with a low-speed diamond saw under water cooling; to perform the section, each tooth was fixed to glass plate using a sticky dental wax

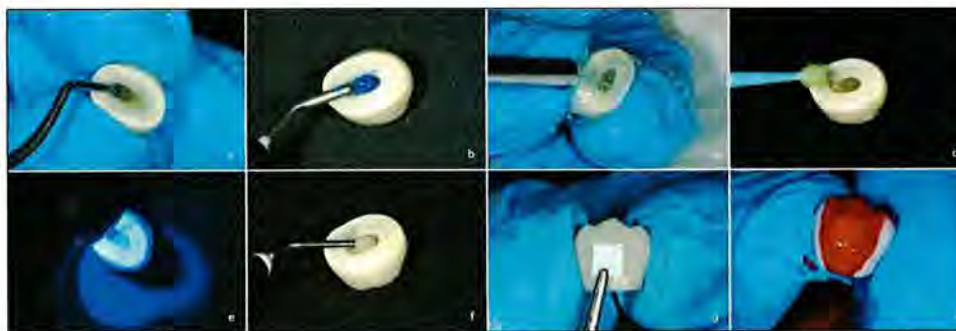


Figure 2. Preparation of the premolar crowns for the demineralizing process: a – pulp tissue was discharged; b – dentin was etched with 37% orthophosphoric acid; c – after 15 seconds, it was thoroughly rinsed and dried; d – an adhesive was applied on the dentin surface; e – polymerisation was performed; f – pulp chambers were obturated with flowable composite; g – the middle area of buccal and oral surface of all crowns was isolated using adhesive paper, sized 4 × 4 mm; h – the crowns were coated with an acid-resistant nail varnish

with resin infiltration of artificial initial caries lesions are a potential method to achieve this goal. There are numerous demineralization protocols for artificial WSLs which differ in the demineralization agents, the pH of the solutions/gels and the required time of the exposure to the demineralizing agent. They can contain lactic acid, acetic acid, methyl diphosphonate, acidified hydroxietilcellulose system, and in some of them fluoride might be added. The recent systematic review and meta-analysis reported that a duration of demineralization process, which simulated the formation of WSLs, varied from several to 1200 hours. In addition, pH of demineralizing solutions varied between four and five [5].

Developing adequate artificial initial caries lesion is needed to investigate the characteristics of different remineralizing protocols. Therefore, the objective of the present study was to compare the effect of three different demineralizing solutions and exposure times on the formation of artificial WSLs and evaluate their demineralizing effects through scanning electron microscopy (SEM).

METHODS

The present study was conducted in the Clinic for Pediatric and Preventive Dentistry and Department for Biochemistry, School of Dental Medicine, University of Belgrade and SEM evaluation was performed in the Department for Physics and Mathematics, Faculty of Agriculture, University of Belgrade.

The present work was approved by competent ethics committee (Ethics Committee of School of Dental Medicine, University of Belgrade, no 36/41) and conforms to the legal standards.

Twenty caries-free permanent maxillary or mandibular, first or second human premolars extracted upon orthodontic indication were used for this study. The teeth were visually examined using LED light to ensure that there are no enamel surface defects or microcracks.

Specimen preparation

The selected teeth were cleaned with periodontal curettes to remove any remaining soft tissue and with fluoride free prophylactic paste (Cleanic, Kerr, Orange, CA, USA), applied by a brush mounted in a low-speed hand piece, under water cooling. Subsequently, the teeth were washed in distilled water and stored in 0.1% thymol solution at room temperature until further use for no longer than 1 month.

Before demineralization process, roots were removed at the cemento-enamel junction with a low-speed diamond saw (Isomet, Buehler Ltd, Lake Bluff, IL, USA) under water cooling (Figure 1). Pulp tissue was removed, and pulp chambers of the premolar crowns were obturated with flowable composite (Flow-It ALC, Pentron). The premolar crowns were randomly divided into three experimental groups and one control group (each group containing five teeth).

All crowns in experimental groups were coated with an acid-resistant nail varnish (Essence, Cosnova GmbH, Zulcbah, Germany), except for a middle area of buccal and oral surfaces which were isolated using adhesive paper, sized 4 × 4 mm (Figure 2). The adhesive papers were removed after the nail varnish had dried completely at room temperature. Each crown of the tooth gave two specimens (buccal and oral half), stored in saline solution at room temperature until SEM evaluation (Figure 3).



Figure 3. After demineralization, all premolar crowns were sectioned into two halves (buccal and oral) with a low-speed diamond saw under water cooling

Artificial initial caries lesions

The specimens were randomly divided into three experimental groups, according to the used demineralization agent, and one control group ($n = 10$):

Group I – demineralizing solution I – acetic acid based; pH = 4.4; for 96 hours [10, 18, 19];

Group II – demineralizing solution II – lactic acid based; pH = 4.5; for 120 hours [20];

Group III – demineralizing solution III – lactic acid based; pH = 4.3; 504 hours [21];

Group IV – control group (stored in saline solution at room temperature until SEM evaluation).

The composition of each demineralizing solution, its pH and exposure times are reported in Table 1.

Table 1. Characteristics of solutions used for demineralization

Features	Group I	Group II	Group III
Composition	2.2 mmol/L calcium chloride	12 mmol/L calcium chloride	18 mmol/L calcium chloride
	2.2 mmol/L monopotassium phosphate	10 mmol/L monopotassium phosphate	7.8 mmol/L monopotassium phosphate
	0.05 mmol/L acetic acid	50 mmol/L lactic acid	100 mmol/L lactic acid
	/	100 mmol/L sodium chloride	3 mmol/L sodium azide
pH	4.4	4.5	4.3
Exposure time	4 days / 96 hours	5 days / 120 hours	21 days / 504 hours

Each specimen was immersed in 20 ml of appropriate demineralizing solution in a sterile plastic container. The pH of demineralizing solutions was checked every day with a probe to maintain the initially defined values (Mi 150, pH/Temperature Bench Meter, Martini instruments; Figure 4). If needed, it was adjusted with potassium hydroxide. In Group I and Group III, specimens were stored at room temperature [10, 18, 19] and in Group II they were stored in 37°C incubator (Binder GmbH Incubator, Tuttlingen, Germany) [21].

Subsequent to the artificial demineralization, nail varnish was carefully removed with oil-free acetone from the specimens, and they were thoroughly rinsed with distilled water. All specimens were visually inspected and macroscopic appearance of enamel lesion was evaluated.

Scanning electron microscopy evaluation of artificial white spot lesions

After completed demineralization procedure, all premolar crowns were sectioned into two halves (buccal and oral) with a low-speed diamond saw (Isomet, Buehler Ltd, Lake Bluff, IL, USA) under water cooling (Figure 3). In order to perform the section, each crown was fixed to glass plate using sticky dental wax (Galeo, Galenika, Belgrade, Serbia).

From obtained buccal and oral premolar halves, sections were made through the artificially created WSLs in experimental groups and from sound enamel in the control



Figure 4. The pH of the demineralizing solutions was evaluated daily to maintain the initially defined values



Figure 5. The areas exposed to the demineralizing solution appeared whitish-opaque on daily light at the end of the process

group. Each premolar half was sectioned in vestibulo-oral direction, into 1-mm-thick slices with a low-speed diamond saw (Isomet, Buehler Ltd, Lake Bluff, IL, USA) under water cooling. Sections were made through the middle area and two slices were obtained from each premolar half. All slices were polished with silicon carbide paper (600, 800, 1000, 1200 grit paper) under water cooling, rinsed with distilled water, dried and etched with phosphoric acid gel (Gel Etchant, Kerr) for 30 seconds. After abundant rinsing and drying, the specimens were dehydrated in an ascending ethanol series (25%, 50%, 70%, 90%, 95%). Drying was performed with oil free air spray. Specimens were mounted on metallic stubs, gold-sputtered (Bal-Tec SCD 005 Sputter Coater) and observed under a Scanning Electron Microscope (JEOL-JSM-6460LV, Tokyo, Japan) under different magnifications (40, 100, 700, 1000, 1500, 4000) to evaluate the characteristics of initial caries lesions – demineralization depth and pattern.

RESULTS

In the first and the second experimental group, areas exposed to the demineralizing solution appeared whitish-opaque on daily light at the end of demineralization process. In both groups, visual inspection of the specimens did not reveal any localized breakdown of the enamel (Figure 5). On the other hand, in the third experimental group the structural integrity of the enamel was not maintained.

Sound enamel in the control group (Group IV) on cross-sectional SEM micrograph showed physiological enamel rod appearance (Figure 6). The surface of sound enamel might appear with occasional depressions,

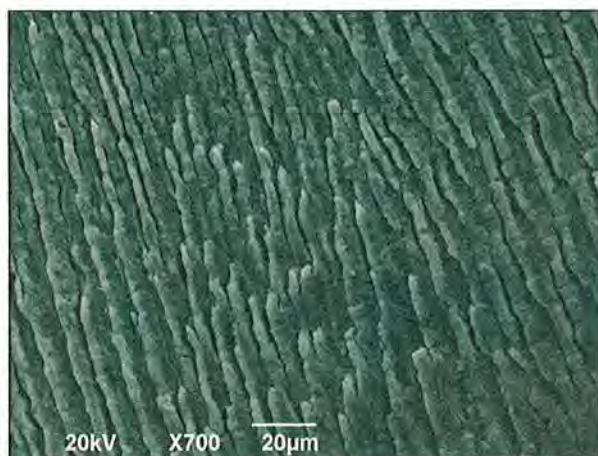


Figure 6. Scanning electron microscopy evaluation showed physiological enamel rod appearance in the control group

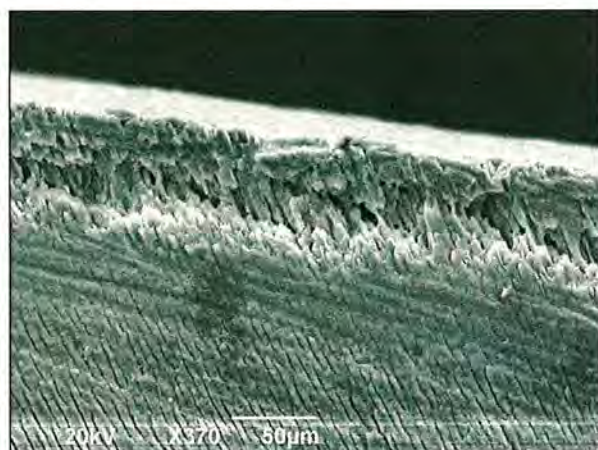


Figure 7. In the experimental group I enamel subsurface porosity with dissolution of enamel crystals was detected

representing prism ends termination at the surface. These structures were usually located at the base of perikymata. The present SEM evaluation showed relatively smooth enamel without these morphological variations.

In Group I enamel subsurface porosity with dissolution of enamel crystals was detected (Figure 7). It indicated formation of caries-like subsurface lesion. The mean depth of lesion was $48.55 \mu\text{m}$ ($\text{SD} = 1.11$) (Figure 8). In Group II, the mean depth of the lesion was $43.23 \mu\text{m}$ ($\text{SD} = 6.74$). In Figure 9 similar enamel appearance as in the previous group was found. The appearance of these caries-like lesions might be similar to the surface of sound enamel except for surface depressions. Furthermore, in both groups (Group I and Group II), small number of specimens on microphotographs showed that some surface enamel areas of the WSLs were eroded while surrounded enamel surface was intact.

In the Group III structural integrity of enamel surface was not preserved. Figure 10 presents surface erosion with prismatic pattern of enamel surface dissolution. Also, this lactic acid based demineralizing solution resulted in loss of enamel prism cores with present porosities and preserved enamel prism peripheries.

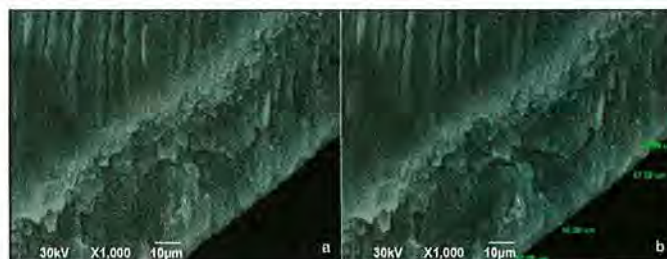


Figure 8. The depth of formed initial caries lesions was evaluated through scanning electron microscopy observations

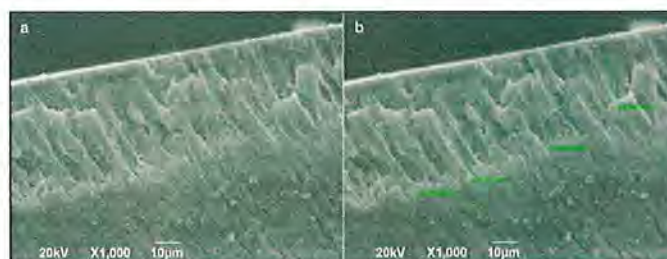


Figure 9. In the experimental group II caries-like subsurface lesions were obtained; they had similar enamel appearance as in the first experimental group



Figure 10. In the experimental group III structural integrity of enamel surface was not preserved; surface erosion with prismatic pattern of enamel surface dissolution can be seen

DISCUSSION

Artificial enamel caries lesions are commonly created to simulate *in vivo* caries development. Enamel specimens are usually exposed to demineralizing solutions and gels composed of acetic or lactic acid, undersaturated regarding hydroxyapatite, to simulate the plaque fluid conditions and allow the formation of initial enamel lesions [22, 23].

Freitas et al. [24] used methylcellulose gel. Its high viscosity could compromise the diffusion rate of the acid, resulting in a reduced demineralization and fewer pores.

Issa et al. [25] concluded that presence of fluoride in the demineralizing process, especially when gel was used, significantly reduced the lesion depth and mineral loss in permanent teeth. In addition, typical subsurface lesions could be formed in the absence of fluoride. So, in the present study, demineralizing solutions without fluoride were used.

Considering previously mentioned solutions and availability of solutions' components, which is an important contributing factor in selection of demineralization agents [26], acetic and lactic acid-based protocols were selected for the present study. pH values of the solutions used in the study are also in accordance with a recently published systematic review and meta-analysis suggesting that the pH of demineralizing solutions should vary between four and five [5].

When it comes to duration of demineralizing process, less consistent findings are present in literature. As previously mentioned, this period varies from few to 1.200 hours. In the present study, solution used in the first experimental group lasted 96 hours as reported in several *in vitro* experiments [10, 18, 27]. Also, Behrouzi et al. [19] used solution for the same time, but it was acidified hydroxyethylcellulose system. Group II in the present study had longer exposure time (120 hours).

On the other hand, in the third experimental group, it was significantly longer (21 day / 504 hours), as this protocol was suggested by Prajapati et al. [21]. These authors reported the mean depth of formed lesions of 341 μm . In the present pilot study, initial caries lesion with subsurface demineralization were not formed by this demineralizing solution. On the contrary, it resulted in localized enamel breakdowns with areas of prismatic pattern of dissolution.

The mean depth of artificial initial caries lesions obtained in the present study was 48.55 μm in the first group and 43.23 μm in the second group, which is not as deep as reported in some *in vitro* studies [10, 21], although there are similar findings in literature. Magalhães et al. [22] reported mean depth of subsurface enamel lesions between 35 and 52 μm , except for methyl diphosphonate lesions (86 μm).

In the present experiment, WSLs were visually detectable on the wet specimens and some authors stated that WSL was visible on a wet tooth surface when it had penetrated deeper into the enamel surface [28]. They could

be described as whitish areas with rough enamel surface enamel.

Artificial WSLs induced in this experiment (Group I and Group II) demonstrated intact surface layer with subsurface prismatic demineralization and an enlargement of the prism sheaths. In some specimens, two types of enamel surface involvement were described: areas of erosion and other areas apparently intact, when compared to the sound enamel surrounding them. These two distinct sites of the WSL also presented diverse levels of enamel dissolution. Eroded areas showed irregular patterns of surface destruction, and, by some authors, they indicated an advanced stage of the dissolution of the enamel promoted by the carious process [29].

CONCLUSION

Based on the results of this study it could be concluded that different demineralizing solutions produce artificial initial caries lesions of variable features and depths. Demineralizing solution based on acetic acid of pH value 4.4- and 96-hour-long exposure time and solution based on lactic acid of pH value 4.5 and 120 hours exposure time provide artificial WSLs with satisfactory characteristics. The outcome of demineralizing process which lasted 21 days were cavitated enamel lesions.

Conflict of interest: None declared.

REFERENCES

- Kassebaum NJ, Smith AGC, Bernabé E, Fleming TD, Reynolds AE, Vos T, et al. Global, Regional, and National Prevalence, Incidence, and Disability-Adjusted Life Years for Oral Conditions for 195 Countries, 1990-2015: A Systematic Analysis for the Global Burden of Diseases, Injuries, and Risk Factors. *J Dent Res*. 2017;96(4):380-7. [DOI: 10.1177/0022034517693566] [PMID: 28792274]
- Nassar HM, Lippert F. Artificial Caries Lesion Characteristics after Secondary Demineralization with Theobromine-Containing Protocol. *Molecules*. 2021;26(2):300. [DOI: 10.3390/molecules26020300] [PMID: 33435546]
- Theodory TG, Kolker JL, Vargas MA, Maia RR, Dawson DV. Masking and Penetration Ability of Various Sealants and ICON in Artificial Initial Caries Lesions *In Vitro*. *J Adhes Dent*. 2019;21(3):265-72. [DOI: 10.3290/j.jad.a42520] [PMID: 31093619]
- Bandekar S, Patil S, Dudulwar D, Moogi PP, Ghosh S, Kshirsagar S. Remineralization potential of fluoride, amorphous calcium phosphate-casein phosphopeptide, and combination of hydroxylapatite and fluoride on enamel lesions: An *in vitro* comparative evaluation. *J Conserv Dent*. 2019;22(3):305-9. [DOI: 10.4103/JCD.JCD_13_19] [PMID: 31367119]
- Soveral M, Machado V, Botelho J, Mendes JJ, Manso C. Effect of Resin Infiltration on Enamel: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Funct Biomater*. 2021;12(3):48. [DOI: 10.3390/jfb12030048] [PMID: 34449679]
- Sundararaj D, Venkatachalapathy S, Tandon A, Pereira A. Critical evaluation of incidence and prevalence of white spot lesions during fixed orthodontic appliance treatment: A meta-analysis. *J Int Soc Prev Community Dent*. 2015;5(6):433-9. [DOI: 10.4103/2231-0762.167719] [PMID: 26759794]
- Araújo GS, Naufel FS, Alonso RC, Lima DA, Puppin-Rontani RM. Influence of Staining Solution and Bleaching on Color Stability of Resin Used for Caries Infiltration. *Oper Dent*. 2015;40(6):E250-6. [DOI: 10.2341/14-290-L] [PMID: 26266656]
- Perdigão J. Resin infiltration of enamel white spot lesions: An ultramorphological analysis. *J Esthet Restor Dent*. 2020;32(3):317-24. [DOI: 10.1111/jerd.12550] [PMID: 31742888]
- Rana N, Singh N, Shaila, Thomas AM, Jairath R. A comparative evaluation of penetration depth and surface microhardness of Resin Infiltrant, CPP-ACPF and Novamin on enamel demineralization after banding: an *in vitro* study. *Biomater Investig Dent*. 2021;8(1):64-71. [DOI: 10.1080/26415275.2021.1919119] [PMID: 34179820]
- Mandava J, Reddy YS, Kantheti S, Chalasani U, Ravi RC, Borugadda R, et al. Microhardness and Penetration of Artificial White Spot Lesions Treated with Resin or Colloidal Silica Infiltration. *J Clin Diagn Res*. 2017;11(4):ZC142-ZC6. [DOI: 10.7860/JCDR/2017/25512.9706] [PMID: 28571282]
- De Almeida CM, da Rosa WLO, Meireis CTW, de Almeida SM, Ribeiro JS, da Silva AF, et al. Efficacy of antimicrobial agents incorporated in orthodontic bonding systems: a systematic review and meta-analysis. *J Orthod*. 2018;45(2):79-93. [DOI: 10.1080/14653125.2018.1443872] [PMID: 29504867]
- Oliveira PRA, Barboza CM, Barreto LSC, Tostes MA. Effect of CPP-ACP on remineralization of artificial caries-like lesion: an *in situ* study. *Braz Oral Res*. 2020;34:e061. [DOI: 10.1590/1807-3107bor-2020.vol34.0061] [PMID: 32609230]
- Hamdi K, Hamama HH, Motawea A, Fawzy A, Mahmoud SH. Remineralization of early enamel lesions with a novel prepared tricalcium silicate paste. *Sci Rep*. 2022;12(1):9926. [DOI: 10.1038/s41598-022-13608-0] [PMID: 35705597]
- Sebastian R, Paul ST, Azher U, Reddy D. Comparison of Remineralization Potential of Casein Phosphopeptide: Amorphous Calcium Phosphate, Nano-hydroxyapatite and Calcium Sucrose Phosphate on Artificial Enamel Lesions: An *In Vitro* Study. *Int J Clin Pediatr Dent*. 2022;15(1):69-73. [DOI: 10.5005/jp-journals-10005-2339] [PMID: 35528489]

15. Almansouri N, Bakry AS, Abbassy MA, Linjawi AI, Hassan AH. Evaluation of Resin Infiltration, Fluoride and the Biomimetic Mineralization of CPP-ACP in Protecting Enamel after Orthodontic Inter-Proximal Enamel Reduction. *Biomimetics* (Basel). 2023;8(1):82. [DOI: 10.3390/biomimetics8010082] [PMID: 36810413]
16. Ibrahim DFA, Venkiteswaran A, Hasmun NN. The Penetration Depth of Resin Infiltration Into Enamel: A Systematic Review. *J Int Soc Prev Community Dent*. 2023;13(3):194–207. [DOI: 10.4103/jispcd.JISPCD_36_23] [PMID: 37564169]
17. Wierichs RJ, Langer F, Kobbe C, Abou-Ayash B, Esteves-Oliveira M, Wolf M, et al. Aesthetic caries infiltration - Long-term masking efficacy after 6 years. *J Dent*. 2023;132:104474. [DOI: 10.1016/j.jdent.2023.104474] [PMID: 36878424]
18. Arora TC, Arora D, Tripathi AM, Yadav G, Saha S, Dhinsa K. An In-Vitro evaluation of resin infiltration system and conventional pit and fissure sealant on enamel properties in white spot lesions. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*. 2019;37(2):133–9. [DOI: 10.4103/1319-2442.261345] [PMID: 31249175]
19. Behrouzi P, Heshmat H, Hoorizad Ganjkar M, Tabatabaei SF, Kharazifard MJ. Effect of Two Methods of Remineralization and Resin Infiltration on Surface Hardness of Artificially Induced Enamel Lesions. *J Dent (Shiraz)*. 2020;21(1):12–7. [DOI: 10.30476/DENTJODS.2019.77864] [PMID: 32158780]
20. Sano H, Nakashima S, Songpaisan Y, Phantumvanit P. Effect of a xylitol and fluoride containing toothpaste on the remineralization of human enamel *in vitro*. *J Oral Sci*. 2007;49(1):67–73. [DOI: 10.2334/josnusd.49.67] [PMID: 17429185]
21. Prajapati D, Nayak R, Pai D, Upadhyaya N, K Bhaskar V, Kamath P. Effect of Resin Infiltration on Artificial Caries: An *in vitro* Evaluation of Resin Penetration and Microhardness. *Int J Clin Pediatr Dent*. 2017;10(3):250–6. [DOI: 10.5005/jp-journals-10005-1445] [PMID: 29104384]
22. Magalhães AC, Moron BM, Comar LP, Wiegand A, Buchalla W, Buzlaf MA. Comparison of cross-sectional hardness and transverse microradiography of artificial carious enamel lesions induced by different demineralising solutions and gels. *Caries Res*. 2009;43(6):474–83 [DOI: 10.1159/000264685] [PMID: 20016178]
23. Klaisiri A, Janchum S, Wongsomtakoon K, Sirimanathon P, Krajangta N. Microleakage of resin infiltration in artificial white-spot lesions. *J Oral Sci*. 2020;62(4):427–9 [DOI: 10.2334/josnusd.19-0321] [PMID: 32830164]
24. Freitas M, Nunes LV, Comar LP, Rios D, Magalhães AC, Honorio HM, et al. In vitro effect of a resin infiltrant on different artificial caries-like enamel lesions. *Arch Oral Biol*. 2018;95:118–24. [DOI: 10.1016/j.archoralbio.2018.07.011] [PMID: 30099240]
25. Issa AJ, Preston K, Preston A, Tumba K, Duggal M. A study investigating the formation of artificial sub-surface enamel caries-like lesions in deciduous and permanent teeth in the presence and absence of fluoride. *Journal of Dental Research*. 2002;81:A138-A. [DOI: 10.1016/S0003-9969(03)00095-5] [PMID: 12828985]
26. Zakizade M, Davoudi A, Akhavan A, Shirban F. Effect of Resin Infiltration Technique on Improving Surface Hardness of Enamel Lesions: A Systematic Review and Meta-analysis. *J Evid Based Dent Pract*. 2020;20(2):101405. [DOI: 10.1016/j.jebdp.2020.101405] [PMID: 32473796]
27. Ayad AH, AbdelHafez MI, AlGhandour RN, Mustafa DS, Nour KA. Effect of different surface treatments on the microhardness and colour change of artificial enamel lesions. *Aust Dent J*. 2022;67(3):230–8. [DOI: 10.1111/adj.12908] [PMID: 35224731]
28. Kidd EA, Fejerskov O. What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. *J Dent Res*. 2004;83 Spec No C:C35–8. [DOI: 10.1177/154405910408301s07] [PMID: 15286119]
29. Haikel Y, Frank RM, Voegel JC. Scanning electron microscopy of the human enamel surface layer of incipient carious lesions. *Caries Res*. 1983;17(1):1–13. [DOI: 10.1159/000260643] [PMID: 6571803]

Утицај различитих раствора за деминерализацију и времена излагања на настанак и карактеристике почетних каријесних лезија глеђи – *in vitro* студија

Милена Милановић¹, Зоран Мандинић¹, Јелена Јулоски¹, Маја Димитријевић¹, Биљана Миличић², Биљана Анђелски-Радичевић³, Владимир Павловић⁴, Милош Белоица¹

¹Универзитет у Београду, Стоматолошки факултет, Клиника за децу и превентивну стоматологију, Београд, Србија;

²Универзитет у Београду, Стоматолошки факултет, ОЈ институтски предмети, наставни предмет Информатика у стоматологији, Биостатистика, Београд, Србија;

³Универзитет у Београду, Стоматолошки факултет, ОЈ институтски предмети, наставни предмет Биохемија, Београд, Србија;

⁴Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет, Одељак за физику и математику, Београд, Србија

САЖЕТАК

Увод/Циљ Почетна каријесна лезија глеђи формирана у *in vitro* условима се често користи за испитивање ефикасности различитих средстава за реминерализацију.

Циљ овог истраживања био је испитивање утицаја три различита раствора за деминерализацију и различитог времена излагања на формирање белих мрља, као и процена карактеристика насталих почетних каријесних лезија глеђи помоћу скенирајућег електронског микроскопа.

Метод У овом *in vitro* истраживању коришћено је 20 премолара хуманог порекла који су извађени из ортодонских разлога. Након детаљног уклањања остатака ткива, потопљени су у 0,1% раствор тимола, на собној температури. Пре процеса деминерализације извршено је одсецање корена у нивоу глеђноцементне границе. Методом случајног избора разврстани су у три експерименталне групе, у зависности од употребљеног раствора за деминерализацију и времена у току којег су били изложени дејству раствора: Група 1

(сирћетна киселина; pH = 4,4; током 96 сати); Група 2 (млечна киселина; pH = 4,5; 120 сати); Група 3 (млечна киселина; pH = 4,3; 504 сата) и контролна група (физиолошки раствор). Пресеци здраве глеђи у контролној групи и особине насталих каријесних лезија глеђи у експерименталним групама посматрани су на скенирајућем електронском микроскопу.

Резултати У првој и другој експерименталној групи уочен је настанак почетних каријесних лезија глеђи, са потповршинским зонама деминерализације и повећане порозности. У трећој експерименталној групи није очуван интегритет површине глеђи и дошло је до настанка кавитета.

Закључак Раствори за деминерализацију употребљени у првој и другој експерименталној групи дали су почетне каријесне лезије сличних особина, док је исход трећег раствора био настанак дефеката глеђи.

Кључне речи: глеђ; деминерализација; почетне каријесне лезије глеђи; скенирајући електронски микроскоп



УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ

Адреса: Студентски трг 1, 11000 Београд, Република Србија
Тел.: 011 3207400; Факс: 011 2638818; E-mail: kabinet@rect.bg.ac.rs

ВЕЋЕ НАУЧНИХ ОБЛАСТИ
МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

Београд, 9. јул 2024. године
02-01 Број: 61206-2556/2-24
ТК

На основу члана 48 став 5 тачка 3 Статута Универзитета у Београду („Гласник Универзитета у Београду”, бр. 201/18, 207/19, 213/20, 214/20, 217/20, 230/21, 232/22, 233/22, 236/22, 241/22, 243/22, 244/23, 245/23, 247/23 и 251/23) и чл. 32 Правилника о докторским студијама на Универзитету у Београду („Гласник Универзитета у Београду”, број 191/16, 212/19, 215/20, 217/20 и 228/2021, 230/21 и 241/22), а на захтев Стоматолошког факултета, број: 1277/1 од 27. јуна 2024. године, Веће научних области медицинских наука, на седници одржаној 9. јула 2024. године, донело је

ОДЛУКУ

ДАЈЕ СЕ САГЛАСНОСТ на одлуку Наставно-научног већа Стоматолошког факултета о прихватању теме докторске дисертације МИЛЕНЕ МИЛАНОВИЋ, под називом: „Испитивање утицаја различитих третмана почетне каријесне лезије глеђи на формирање биофилма, адхезију и вијабилност ћелија хумане гингиве и вредности микротврдоће глеђи“ и одређивању др Милоша Белоице, доцента, и проф. др Биљане Миличић за менторе.

ПРЕДСЕДНИЦА ВЕЋА

проф. др Татјана Пекмезовић

Доставити:

- Факултету,
- Архиви Универзитета

УНИВЕРЗИТЕТУ БЕОГРАДУ
СТОМАТОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ
СЕКРЕТАРИЈАТ

ПРИМЉЕНО: 25-07-2024

Орг. јед.	Број	Прилог	Вредност
03	1277/2		



Универзитет у Београду
СТОМАТОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ

Београд, Улица др Суботића бр. 8, тел: 2685-288

e-mail: stomfak@rcub.bg.ac.rs

web: www.stomf.bg.ac.rs

ЕТИЧКИ ОДБОР

ISO 9001

BUREAU VERITAS
Certification



БР-36/11

16-04-2024

На молбу др Милене Милановић, Етички одбор Стоматолошког факултета Универзитета у Београду, на електронској седници одржаној дана 10.04.2024. године, даје

САГЛАСНОСТ

др Милени Милановић за спровођење истраживања у оквиру израде докторске дисертације под називом:

„Испитивање утицаја различитих третмана почетне каријесне лезије глеђи на формирање биофилма, адхезију и вијабилност ћелија хумане гингиве и вредности микротврдоће глеђи”

и у друге сврхе се не може користити.

Београд,

15.04.2024.



ПРЕДСЕДНИК ЕТИЧКОГ ОДБОРА

/Проф. др Наташа Николић Јакоба/

На основу члана 21. и члана 92. став 1. тачка 1. Статута Стоматолошког факултета Универзитета у Београду, продекан за научноистраживачку делатност доноси следећу

ОДЛУКУ

Милени Милановић, број индекса: 4004/2018, студенту докторских академских студија Стоматологије, одобрава се мировање права и обавеза студента у школској 2022/23. години због болести.

Образложење

Милена Милановић, број индекса: 4004/2018, студент докторских академских студија Стоматологије упутила је допис бр. 31/54 од 04.07.2023. године са молбом да јој се одобри мировање права и обавеза студената у школској 2022/23. години због болести.

Разматрајући молбу именоване, као и приложену документацију, донета је одлука као у диспозитиву.

Одлуку доставити:

Именованој;

Студентској служби;

Писарници.

Дипломирани правник
Николија Мартић

Продекан за научноистраживачку
делатност
Стоматолошког факултета
проф. др Ивана Радовић

На основу члана 109. став 3. Закона о високом образовању, члана 101. став 4. Статута Универзитета у Београду, члана 18. и члана 93. став 3. Статута Стоматолошког факултета Универзитета у Београду, а у складу са дописом Универзитета у Београду бр. 847/2 од 25.04.2024. године, декан доноси следећу

ОДЛУКУ

Милени Милановић, бр. индекса: 4004/2018, одобрава се завршетак Докторских академских студија стоматологије у троструком трајању.

Образложење

Милена Милановић, бр. индекса: 4004/2018, поднела је захтев бр. 1889/1 од 08.10.2024. године да јој се одобри завршетак студија у троструком трајању

Решавајући по молби именоване, а имајући у виду да испуњава законске услове, донета је одлука као у диспозитиву.

Одлуку доставити:

Именованој;
Студентској служби;
Писарници.

Дипломирани правник
Николија Мартић

Декан
Стоматолошког факултета
проф. др Војкан Лазић
