



**Efecto de barnices fluorados sobre el esmalte erosionado a través de microscopia de fuerza atómica: Estudio in vitro**

**Effect of fluoride varnishes on eroded enamel by atomic force microscopy:  
In vitro study**

**Efeitos de vernizes fluoretados em esmalte erodido mediante microscopia de  
força atômica: Estudo in vitro**

Diana Verónica Rodríguez Rocha<sup>1</sup>, Pablo Bonilla<sup>2</sup>, Elena Aillón<sup>3</sup>, Gustavo Tello<sup>4</sup>

**RECIBIDO:** 07/may/2017 **CORREGIDO:** 15/jun/2017 **APROBADO:** 20/jul/2017

1. Especialista en Odontopediatria en la Universidad Central del Ecuador (UCE). Email: [od.veronicar@gmail.com](mailto:od.veronicar@gmail.com)
2. PhD en Innovación Farmacéutica. Coordinador de Carrera en la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador (UCE). Email: [pablo2us@yahoo.com](mailto:pablo2us@yahoo.com)
3. MSc en Odontopediatria por la FOUSP, Brasil. Coordinadora de Posgrado de Odontopediatria de la Universidad Central del Ecuador (UCE). [draailloneelena@gmail.com](mailto:draailloneelena@gmail.com)
4. PhD en Odontopediatria por la FOUSP, Brasil. Profesor-investigador coordinador de investigación del Instituto de Posgrado de la Universidad Central del Ecuador (UCE) – Ecuador. Profesor del posgrado de Odontopediatria de la UCE; [pgtello@uce.edu.ec](mailto:pgtello@uce.edu.ec)

## RESUMEN

**Objetivo:** Evaluar el efecto de diferentes barnices fluorados sobre el esmalte erosionado a través de Microscopia de Fuerza Atómica (MFA). **Materiales y métodos:** Se utilizaron 30 muestras de esmalte de incisivos bovinos sin lesiones de caries defectos estructurales o fracturas, fueron divididas en 3 grupos (N=10): G1 control negativo, G2 Duraphat (Colgate) y G3 Clinpro White Varnish (3M ESPE). El MFA equipado con una punta de no contacto, con parámetros de rugosidad media (Ra) y rugosidad media cuadrática (Rrms), con imágenes de un área de 50x50 micras a una resolución de 256x256 píxeles y 0,5 Hz. Se midió la rugosidad inicial, luego se realizó desafío erosivo con Sprite Zero y remineralización con saliva artificial, después de 4 ciclos de erosión y remineralización se midió la rugosidad del esmalte como protección mecánica y al 1, 2, 3 y 4 días como protección química. Los datos se analizaron estadísticamente con las pruebas de ANOVA, Tukey y T de Student con un nivel de significancia al 5%. **Resultados:** El test de ANOVA mostró una diferencia en los grupos de barnices de flúor en el 2º, 3º y 4º día en comparación con el grupo control ( $p < 0,05$ ). El test de Tukey mostró una diferencia entre Duraphat y Clinpro en valores de Ra ( $p = 0,03$ ) y Rrms ( $p = 0,05$ ) en el 4º día. La T de Student demostró que no hay diferencias para Clinpro en Ra ( $p = 0,14$ ) y Rrms ( $p = 0,13$ ) desde los valores iniciales hasta el 4º día. **Conclusión:** Clinpro White Varnish tiene una mejor acción para reducir la rugosidad superficial en la superficie del esmalte cuando se somete a desafíos ácidos.

**Palabras clave:** Erosión dental; esmalte dental; flúor.

## ABSTRACT

**Purpose:** To evaluate the effect of different fluoride varnishes on eroded enamel through Atomic Force Microscopy (AFM). **Materials and Methods:** 30 samples of bovine incisor enamel without carious lesions, defective structure or fractures were divided into 3 groups (N = 10): G1: negative control, G2: Duraphat® (Colgate) and G3: Clinpro™ White Varnish (3M ESPE). The AFM was used, equipped with a non-contact tip with parameters such as average roughness (Ra) and the mean square roughness (Rrms) at an area for images of 50 x 50 microns with a resolution of 256 X 256 pixels and 0.5 Hz. First, the initial roughness was measured, then an erosive trail was carried out with Sprite Zero and remineralization with artificial saliva. After 4 cycles of erosion and remineralization, the roughness of enamel as mechanic protection was measured and at 1, 2, 3 and 4 days as chemical protection. Data were analyzed statistically with ANOVA, Tukey and Student T with a significance level of 5%. **Results:** The ANOVA test showed a difference in the groups of fluoride varnishes on the 2<sup>nd</sup>, 3<sup>rd</sup> and 4<sup>th</sup> day in comparison with the control group ( $p < 0.05$ ). The Tukey test showed a difference between Duraphat® and Clinpro™ in the values of Ra ( $p = 0.03$ ) and Rrms ( $p = 0.05$ ) on the 4<sup>th</sup> day. The Student's T test showed no difference for Clinpro™ in Ra ( $p = 0.14$ ) and Rrms (0.13) from the initial values until 4<sup>th</sup> day. **Conclusion:** Clinpro™ White Varnish shows better results to reduce surface roughness in the enamel when subjected to acidic trails.

**Keywords:** Dental erosion; dental enamel; fluorine.

## RESUMO

**Objetivo:** Avaliar o efeito de diferentes vernizes fluoretados no esmalte erodido por meio de microscopia de força atômica (MFA). **Materiais e Métodos:** Foram selecionadas 30 amostras de esmalte de incisivos bovinos sem cárie, defeitos de estrutura ou fraturas, foram divididas em 3 grupos (n = 10): G1: controle negativo, G2: Duraphat (Colgate) e G3: Clinpro White Varnish (3M ESPE). Foi utilizado MFA, equipado com uma ponta de não contato. Determinaram-se parâmetros fotográficos como a rugosidade média (Ra) e rugosidade média quadrática (Rrms) da superfície, com imagens de uma área de 50 x 50 microns com uma resolução de 256 X 256 pixels e 0,5 Hz. Em primeiro lugar procedeu-se realizar a medição da rugosidade inicial, foi realizada o desafio erosivo com Sprite Zero e remineralização com saliva artificial, após 4 ciclos de erosão e remineralização foi medido a rugosidade do esmalte foi medida como proteção mecânica e ao 1, 2, 3 e 4 dias como proteção química. Os dados foram analisados estatisticamente com ANOVA, Tukey T de Student com um nível de significância de 5%. **Resultados:** O Teste de ANOVA mostrou uma diferença dos grupos de vernizes fluoretados no 2º, 3º e 4º dia em comparação com o grupo controle ( $p < 0,05$ ). O Teste de Tukey mostrou uma diferença entre Duraphat e Clinpro nos valores de Ra ( $p = 0,03$ ) e Rrms ao 4º dia ( $p = 0,05$ ). O teste T de Student não mostrou nenhuma diferença para Clinpro em Ra ( $p = 0,14$ ) e Rrms (0,13) dos valores iniciais até ao dia 4. **Conclusão:** O Verniz Clinpro White Varnish tem melhor ação na redução da rugosidade da superfície do esmalte quando foi submetido à desafios ácidos.

**Palavras chaves:** Erosão dentária; esmalte dentário; flúor.

## INDRODUCCIÓN

La erosión dental (ED) ha sido considerada como un problema de salud bucal que se presenta con una alta prevalencia en pacientes cada vez más jóvenes<sup>1</sup>. En los últimos años este problema llama la atención de clínicos e investigadores en todo el mundo<sup>2, 3, 4</sup>. La ED se ha definido como la pérdida de tejido duro del diente a causa de la presencia de ácidos de origen intrínseco o extrínseco sin implicación bacteriana<sup>5, 6, 7</sup>.

El esmalte maduro al carecer de células no posee capacidad de reparación espontánea, cuando está afectado por caries, erosión, abrasión o fracturas<sup>8, 9</sup>. Se ha mencionado que cuando el esmalte dental se expone al medio oral para poder remineralizarse necesita de materiales exógenos<sup>10</sup>.

La ED da como resultado el ablandamiento de esmalte y dentina, que en combinación con procesos mecánicos como la abrasión provocan un desgaste dental patológico. El desgaste dentario erosivo se refiere al proceso de erosión acompañado a procesos físicos como atrición y abrasión, mientras que la erosión dental se refiere únicamente al desgaste dental producto de procesos químicos (ácidos), por lo que el termino apropiado es desgaste dentario erosivo ya que la ED no ocurre de manera aislada en boca<sup>7, 11, 12</sup>.

En etapas iniciales la ED se caracteriza por una disolución superficial del esmalte dental, que provoca una zona ablandada y desmineralizada que puede ser remineralizada por saliva y otros agentes como el fluoruro<sup>13</sup>. La ED altera las propiedades mecánicas del esmalte provocando la disolución de tejido inorgánico que conforme avanza se puede desarrollar en un efecto visible y en etapas más avanzadas afecta a la dentina<sup>14</sup>.

El proceso erosivo implica la liberación de iones hidrogeno (H<sup>+</sup>) derivados de ácidos débiles y fuertes, estos iones se unen a iones de fosfato y carbonatos, para ser eliminados de los cristales de hidroxiapatita, así el agua, el carbonato y el fosfato son los responsables de la difusión del ácido a los tejidos duros del diente<sup>15</sup>.

La prevalencia del desgaste dentario erosivo en preescolares varía de 0,6% a 78,8% a nivel mun-

## INTRODUCTION

Dental erosion (DE) is considered as one of the major problems to oral health that is shown to have an increasing prevalence in younger patients<sup>1</sup>. In the latest years, this problem has caught the attention of many clinicians and researchers around the world<sup>2, 3, 4</sup>. DE has been defined as the loss of hard dental tissue because of the presence of acids with intrinsic and extrinsic origin with no bacterial involvement<sup>5, 6, 7</sup>.

Mature enamel that lacks cells does not possess the capacity of spontaneous repair when affected with caries, erosion, abrasion or fracture<sup>8, 9</sup>. It has been mentioned that the enamel of the tooth needs exogenous materials when remineralization occurs in the oral environment<sup>10</sup>.

DE results in the softening of enamel and dentine that in combination with mechanical processes such as abrasion leads to pathological dental wear. In contrast, Erosive dental wear, appropriate terminology for the following conditions, refers to the erosion process accompanied by the physical processes such as attrition and abrasion, whereas dental erosion (DE) only refers to dental wear resulting from chemical processes (acids) given that the occurrence of DE is not isolated to the mouth<sup>7, 11, 12</sup>.

In the initial stages, DE is characterized by the dissolving in the surface of the dental enamel, which causes a softened and demineralized zone that can be remineralized by saliva and other agents such as fluoride<sup>13</sup>. The DE causes the dissolving of inorganic tissue because it alters the mechanical properties of the enamel. This can develop in a visible effect as it advances, and in later stages it affects the dentin<sup>14</sup>.

The erosive process involves the release of hydrogen ions (H<sup>+</sup>) derived from weak and strong acids. These ions bind to phosphate ions and carbonates, to be removed from the crystals of hydroxyapatite. Thus water, carbonate and phosphate are responsible for the diffusion of the acid in the hard tissues of the tooth<sup>15</sup>.

The prevalence of erosive dental wear in preschool children ranges from 0.6% to 78.8% world-

dial<sup>7,16</sup>. En niños de 6 a 12 años de edad 19.9% y del 13% al 34,1% en adolescentes<sup>17</sup>. Así mismo, un único estudio de tendencia de la prevalencia de desgaste dentario erosivo en preescolares brasileños mostró una alta prevalencia en tres estudios transversales siendo de 51,6%, 53,9% y 51,3% en los años 2008, 2010 y 2012 respectivamente, mostrando una tendencia estacionaria<sup>7</sup>.

Se han desarrollado muchas estrategias para la prevención y tratamiento de la ED, considerando al fluoruro como el agente principal para la remineralización del esmalte<sup>18</sup>. Los fluoruros se aplican en diversas formas, tales como dentífricos, enjuagues bucales, geles y barnices<sup>19</sup>.

Se sabe que la acción de las terapias de flúor, como fluoruro de sodio (NaF), se atribuye principalmente a la precipitación de fluoruro de calcio (CaF<sub>2</sub>) en las superficies grabadas permitiendo tener al diente una barrera del contacto con el ácido<sup>20</sup>. Ya que esta capa de CaF<sub>2</sub> se incorpora posteriormente en el esmalte como hidroxifluorapatita, lo que resulta un aumento de la resistencia a los ácidos impidiendo la disolución dentaria<sup>21,22</sup>.

Las aplicaciones profesionales de altas concentraciones de flúor en barniz se han propuesto como un tratamiento preventivo del desgaste de los dientes causada por la erosión ácida<sup>23</sup>.

Existen varias formulaciones de flúor barniz que pueden diferir en su capacidad de depositar fluoruro en el esmalte superficial hasta una profundidad de 50 micras, generando una modificación de la superficie del diente y permitiendo que este sea más resistente a cambios de pH ácido<sup>24</sup>.

Los barnices de fluoruro, podrían ser más eficaces que las soluciones o geles en prevención de la erosión dental por su capacidad de adherirse a la superficie del diente y actuar por un período de tiempo más prolongado, creando un depósito de calcio y fluoruros<sup>25</sup>.

Los estudios indican que Duraphat® es el barniz de fluoruro más comúnmente investigado para la remineralización de las lesiones de caries iniciales (mancha blanca). Por esta razón, algunos estudios han probado su eficacia para prevenir

wide<sup>7,16</sup>, and in children of 6 to 12 years of age, 19.9% and from 13% to 34.1% in adolescents. Likewise, the only study of the prevalence of erosive dental wear in Brazilian preschoolers showed a high prevalence in three cross-sectional studies, results being 51.6%, 53.9% and 51.3% in 2008, 2010 and 2012 respectively, showing a steady trend<sup>7</sup>.

Many strategies for the prevention and treatment of DE have been developed, considering fluoride as the main agent for the remineralization of the enamel<sup>18</sup>. Fluorides are applied in various forms, such as dentifrices, mouthwashes, gels and varnishes<sup>19</sup>.

It is known that the action of fluoride therapies, such as sodium fluoride (NaF), is mainly attributed in the precipitation of calcium fluoride (CaF<sub>2</sub>) on the engraved surfaces, allowing the tooth to have a barrier against the contact of the acid<sup>20</sup>. Since this layer of CaF<sub>2</sub> is subsequently incorporated into the enamel as hydroxy fluorapatite, which impedes the dissolving of the dental enamel because it results in an increase of the resistance to the acids<sup>21,22</sup>.

The professional applications of high concentrations of fluorine in varnish has been proposed as a preventative treatment to the decay of teeth caused by the acid erosion<sup>23</sup>.

There are sever formulations of fluorine varnish that may differ in their ability to deposit fluoride in the surface enamel to a depth of 50 microns, generating a modification of the surface of the tooth and allowing it to be more resistant to changes in acid pH<sup>24</sup>.

Fluoride varnishes may be more effective than other solutions or gels in preventing tooth erosion due to their ability to adhere to the surface of the tooth and act for a longer period of time, creating a deposit of calcium and fluorides<sup>25</sup>.

Studies indicate that Duraphat® is the most commonly investigated fluoride varnish for the remineralization of the initial carious lesions (white spot). For this reason, some studies have proved the efficacy of Duraphat® to prevent DE<sup>26</sup>. Seve-

la ED<sup>26</sup>. Varios de estos estudios indicaron que Duraphat® es capaz de reducir parcialmente la progresión de lesiones erosivas<sup>27, 28</sup>.

El Clinpro™ White Varnish es una resina alcohólica que contiene 22600 ppm de flúor y tricalcio fosfato amorfo (fTCP) que es liberada al ambiente oral durante el tratamiento, con mejor fluidez. El fTCP que se presenta en Clinpro™ White Varnish es protegido con ácido fumárico, que evita las interacciones indeseadas entre el calcio y el fosfato y entre el calcio y el flúor en periodo útil del barniz, la saliva disuelve lentamente el ácido fumárico brindando mayor protección al barniz, dejando que los componentes de calcio protegidos sean liberados de manera similar con los iones de flúor<sup>29</sup>.

Existen numerosos estudios con microscopia de fuerza atómica (MFA) que se han utilizado para determinar cambios en la superficie dental erosionada después de la aplicación de agentes fluorados<sup>21, 30, 31</sup>, sin embargo, no existen estudios del fTCP en barniz asociado al flúor para prevención de ED.

Es por esta razón que el objetivo de este estudio es comparar la efectividad de barnices fluorados sobre el esmalte erosionado con la utilización de MFA para determinar cambios en la rugosidad superficial del esmalte cuando es sometido a desafíos erosivos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio de tipo experimental in vitro fue aprobado por el Subcomité de Ética de Investigación en Seres Humanos de la Universidad Central del Ecuador SEISH-UCE.

Se recolectaron 30 incisivos de bovino (IB) con los siguientes criterios: sin presencia de lesiones de caries o mancha blanca, grietas, hipoplasia, fluorosis, fracturas o pigmentación intrínseca. Los IB fueron lavados con agua, y almacenados en un recipiente plástico con tapa en agua destilada, que fue cambiada cada 24 horas. Para preparar las muestras, los IB fueron seccionados con discos de diamante bajo refrigeración, separando inicialmente la corona de la raíz y luego en sentido vestíbulo lingual con un rotor (DREMEL

ral of these studies indicated that Duraphat® is able to partially reduce the progression of erosive lesions<sup>27, 28</sup>.

Clinpro™ White Varnish is an alcoholic resin containing 22,600 ppm of fluorine and amorphous tricalcium phosphate (fTCP) which is released into the oral environment with better fluidity. The fTCP present in Clinpro™ White Varnish is protected with fumaric acid, which impedes undesired interactions between calcium and phosphate, and calcium and fluoride in the useful period of the varnish. The saliva slowly dissolves the fumaric acid, providing greater protection to the varnish by allowing the protected calcium components to be released in a similar fashion with the fluoride ions<sup>29</sup>.

Numerous studies with atomic-force microscopy (AFM) have been used to determine changes in the eroded dental surface after the application of fluorinated agents<sup>21, 30, 31</sup>; however, there are no studies of fTCP in fluoride varnish for the prevention of DE.

It is for this reason that the objective of this study is to compare the effectiveness of fluorinated varnishes on eroded enamel with the use of AFM to determine changes in enamel surface roughness when subjected to erosive trials.

## MATERIALS AND METHODS

The present in vitro experimental study was approved by the Sub-Committee on Human Research Ethics at "Universidad Central del Ecuador (UCE)" SEISH-UCE.

30 bovine incisors (BI) were collected with the following criteria: without the presence of carious lesions or white spot, cracks, hypoplasia, fluorosis, fractures or intrinsic pigmentation. The BIs were washed with water and placed in a sealed plastic container filled with distilled water, which was changed every 24 hours. To prepare the samples, the BI were divided using diamond cutters under refrigeration, separating the crown from the root and then in a lingual vestibular sense with a drill (DREMEL Multi Pro 5000

Multi Pro 5000 a 35000 rpm), se obtuvieron las muestras de la porción más plana de la corona en sentido cervico incisal y mesio distal. Las muestras de esmalte de IB tuvieron las dimensiones (4mm x 5mm x 2mm) <sup>26</sup>.

Cada muestra fue colocada en resina acrílica para facilitar su manipulación y análisis.



**Figura 1:** Muestras en discos en resina acrílica

Las muestras en su superficie labial fueron pulidas con discos de pulido Soflex (3M ESPE) con granos consecutivos de grueso a ultra fino, bajo refrigeración para producir una superficie plana, utilizando una pieza de mano de baja velocidad en periodos que fueron desde 30 seg a 1 min.

Fueron seleccionadas aleatoriamente las muestras de esmalte de IB y divididos en 3 grupos de 10 cada uno siendo:

Grupo 1: Desafío erosivo sin tratamiento de barniz de flúor (control negativo).

Grupo 2: Tratamiento con flúor barniz Duraphat® (Colgate) (control positivo).

Grupo 3: Tratamiento con flúor barniz Clinpro™ White Varnish (3M-ESPE).

Las muestras de esmalte bovino recibieron profilaxis utilizando copas de caucho y piedra pómez con baja rotación, los residuos fueron lavados con agua de grifo y secados con aire por 15 segundos.

En cada superficie lisa se colocó barniz de uñas de color rojo (Masglo) dejando una ventana libre de esmalte sano de 1 x 3 mm, donde se realizó una demarcación utilizando un marcador

a 35000 rpm). Through this process, samples of the flattest part of the crown in the incisal cervical and distal mesio were obtained. The enamel samples of BI had the dimensions (4mm x 5mm x 2mm) <sup>26</sup>.

Each sample was placed in acrylic resin to facilitate its manipulation and analysis.



**Figure 1:** Samples in acrylic resin on discs.

Samples on the labial surface were polished under refrigeration with Soflex (3M ESPE) polishing discs with consecutive coarse-to-ultra-fine grains to produce a flat surface using a low-speed hand piece at periods ranging from 30 sec. to 1 min.

Samples of BI enamel were randomly selected and divided into 3 groups of 10 each.

Group 1: Erosive trial without treatment of fluoride varnish (negative control)

Group 2: Treatment with Duraphat® fluoride varnish (Colgate) (positive control)

Group 3: Treatment Clinpro™ White Varnish (3M-ESPE)

The samples of bovine enamel received prophylaxis through the utilization of rubber and pumice cups with low rotation. The residues were washed with tap water and air dried for 15 seconds.

A red nail varnish (Masglo) was placed on each smooth surface, leaving an open observation window of healthy 1 x 3 mm enamel, where a green marker (CD Writer SIMBALION®) of a

de color verde (CD Writer SIMBALION®) de punta 0,5 mm en el extremo superior de la ventana. Esta demarcación permitió tener el área de referencia delimitada, para guiar a la punta del microscopio de fuerza atómica (MFA) y permitir una medición de la misma área en el curso del experimento.



**Figura 2:** Muestra con ventana de 1x3mm

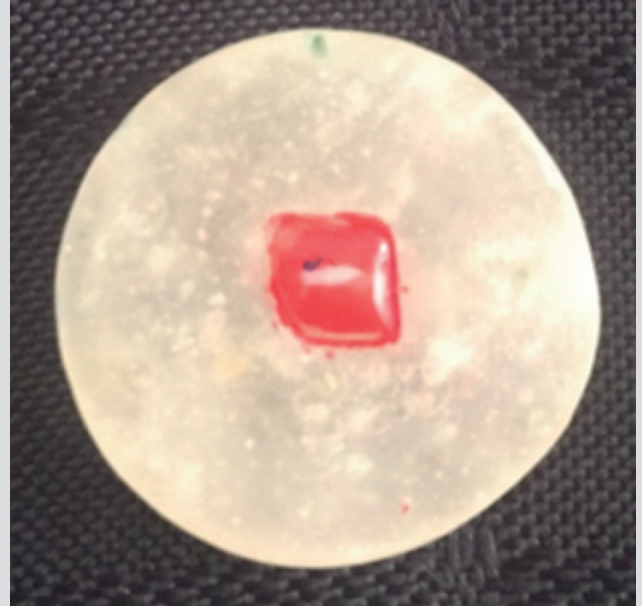
Las muestras fueron analizadas con un MFA Park Systems y un software (Smart Scan™), equipado con un escáner piezoeléctrico punta no contac cantiliver (PP-NCHR 10M-Park Systems) en modo tapping con parámetros: un área de 50 x 50 micras con una resolución de 256 X 256 pixeles y 0,5 Hz con una gama de 5 micras en dirección de la Z (profundidad).

Se determinaron parámetros fotográficos más comunes, tales como la rugosidad de superficies: rugosidad media (Ra) y rugosidad media cuadrática (Rrms).

- La Ra está indicada por los distintos niveles de las alturas con valores medios.
- La Rrms indicada por los valores cuadrados entre picos y valles, de cada muestra.

Se realizó la medición de la rugosidad inicial (INICIAL) de cada muestra previa a la coloca-

0.5mm tip was used to mark the upper end of the window. This mark served as an area of reference to guide the tip of the AFM and to allow a measure of the same area throughout the duration of the experiment.



**Figure 2:** Muestra con Ventana de 1x3mm

The samples were analyzed with an MFA Park Systems and a software (Smart Scan™) equipped with a non-contacting piezoelectric scanner (PP-NCHR 10M-Park Systems) in tapping mode with the following parameters: an area of 50 x 50 microns with a resolution of 256 X 256 pixels and 0.5 Hz with a range of 5 microns in the Z plane (depth).

More common photographic parameters were taken into consideration, such as surface roughness: average roughness (Ra) and mean square roughness (Rrms)

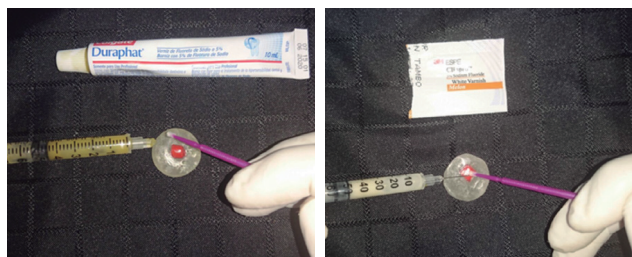
- Ra is characterized by the different levels of heights with mean values
- Rrms is characterized by the square values between peaks and valleys of each sample

The initial roughness (INITIAL) of each sample prior to the placement of fluorine varnish

ción del flúor barniz para los grupos respectivos. Luego las muestras se conservaron por 24 horas en saliva artificial Salivsol® (cloruro de sodio, cloruro de potasio, cloruro de calcio dihidratado, cloruro de magnesio hexa hidratado y excipientes) 20ml/muestra en frascos individuales etiquetados.

Las muestras del grupo G1 no recibieron ningún tipo de tratamiento.

En los grupos de G2 y G3 se les colocó 0,1ml de barniz de flúor correspondiente, el barniz se colocó previamente en una jeringa de 1ml y se dispersaron con un microaplicador (Microbrush®) punta fina de 1,5mm en la ventana de examinación. Las muestras fueron almacenadas en saliva artificial en frascos individuales por 2 horas antes del desafío erosivo.



**Figura 3:** (A y B) Muestra con barniz de flúor

Se realizó desafío erosivo en todas las muestras con los criterios de Murakami, 2013<sup>26</sup>, alternado con remineralización con saliva artificial 20ml/muestra. Los ciclos de desafío erosivo fueron realizados con gaseosa Sprite Zero® (Coca Cola Company con un pH 3,6) 33ml/muestra con agitación leve (velocidad de 2 en una plancha de agitación magnética de 5 posiciones IKA® WERKE) 240 rpm/min durante 3 min a temperatura ambiente. Estos ciclos se realizaron 4 veces al día durante 5 días, para realizar un total de 60 min de erosión al final de experimento. La gaseosa fue cambiada en cada ciclo. Después de cada ciclo las muestras fueron lavadas con agua desionizada por 15 seg, secadas con aire y almacenadas en saliva artificial por 45 min hasta el siguiente desafío erosivo.

was measured for the respective groups. The samples were then stored in a 20ml sample of artificial saliva Salivsol® (sodium chloride, potassium chloride, calcium chloride dihydrate, magnesium chloride hexahydrate and excipients) for 24 hours in individually labeled flasks.

The samples of group G1 did not receive any type of treatment.

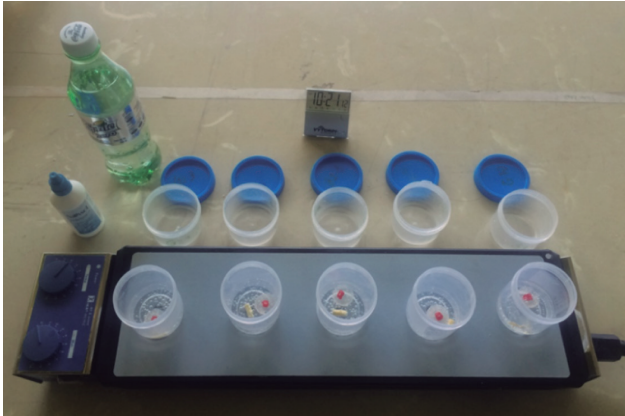
groups G2 and G3 received 0.1 ml of corresponding fluorine varnish that was previously placed in a 1ml syringe and dispersed with a micro applicator (Microbrush®) with a 1.5mm thin tip in the examination window. The samples were stored in artificial saliva in individual flasks for 2 hours before the erosive trial.



**Figure 3:** (A and B) Sample with fluorine varnish

The erosive trial was performed in all samples with the criteria of Murakami, 2013<sup>26</sup>, alternating with remineralization with a 20ml sample of artificial saliva. Erosive trial cycles were performed with a 33ml sample of Sprite Zero® (Coca Cola Company with a pH 3.6) with slight agitation (speed 2 on a magnetic stirrer, IKA® WERKE, with 5 positions) at 240 rpm / min for 3 min at room temperature. This process was performed 4 times a day for 5 days in order to accumulate 60 minutes of erosion by the end of the experiment. The soda was replaced every 5 cycles of this process. After every cycle, the samples were washed with deionized water for 15 seconds; afterwards, they were air-dried and set aside in artificial saliva for 45 minutes until the next erosive trial.





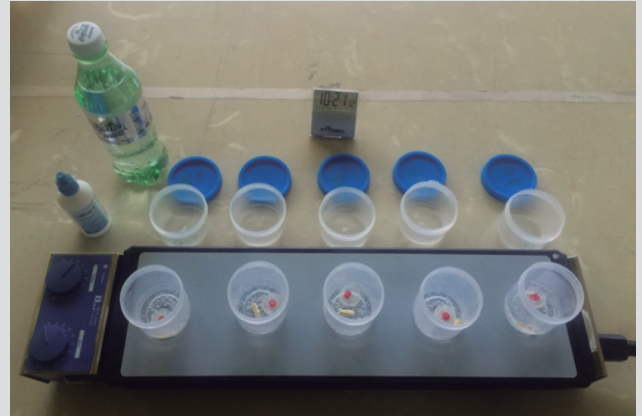
**Figura 4:** Muestras en desafío erosivo

Inmediatamente después de realizado los cuatro ciclos de desafío erosivo y de remineralización del primer día, el barniz de flúor fue eliminado con una hoja de bisturí N°15 y acetona diluida (solución 1:1), evitando alterar la ventana de medición delimitada por el barniz de uñas, luego se lavó las muestras con agua desionizada, se secaron con aire para proceder a la medición de la rugosidad superficial del esmalte (POST) para determinar el efecto de protección mecánica de los barnices.

Para los siguientes días se realizó los 4 ciclos de erosión y remineralización tomando medidas de rugosidad media (Ra) y rugosidad media cuadrática (Rrms) al 1er, 2do, 3er y 4to día, para evaluar la protección química de cada tipo de barniz de Flúor.



**Figura 5:** Análisis de las muestras en MFA



**Figure 4:** Samples in the erosive trials

Immediately after completing the four cycles of the erosive trails and remineralization of the first day. The fluoride varnish was eliminated with a No. 15 scalpel blade and a diluted acetone (1:1 solution), avoiding the alteration of the window of measurement delineated by the nail varnish. Then, to determine the effect of mechanical protection, the samples were cleaned with deionized water and air dried in preparation for the measurement of the surface roughness of the enamel (POST).

For the following days, 4 erosive and remineralization cycles were performed taking measurements of average roughness (Ra) and mean square roughness (Rrms) at the 1<sup>st</sup>, 2<sup>nd</sup>, 3<sup>rd</sup>, 4<sup>th</sup> day in order to evaluate the chemical protective qualities of each type of fluorine varnish.



**Figure 5:** Analysis of samples in AFM

Posterior a cada medición, las muestras fueron almacenadas en saliva artificial, donde permanecieron de un día al otro a 37°C en una estufa (Memmert®). La solución de saliva artificial (Salivsol®) fue cambiada cada mañana antes del inicio del ciclo del desafío erosivo, posterior al primero y al tercer ciclo erosivo<sup>21, 26</sup>.

Todas las muestras fueron analizadas por el mismo examinador el mismo que fue cegado, es decir que no tuvo conocimiento de que tratamiento llevo cada grupo de muestras.

### Análisis estadístico

Los datos fueron colocados en una tabla de Excel 2010 (Microsoft Office) junto con las imágenes separadas por hojas de trabajo. Fueron utilizados los pruebas de ANOVA, t de student y test de Tukey con un nivel de significancia de 5%.

## RESULTADOS

La Ra y Rrms se mostraron dispersas en su medición inicial pero similar entre los grupos, lo que aseguró la aleatoriedad en la distribución de muestreo con similar nivel de partida. La valoración como protección mecánica (POST) después del tratamiento (en el caso de los grupos experimentales) y sin tratamiento (control) arrojó valores también dispersos dentro de los grupos y entre los grupos (ver cuadro 1 y 2).

After each measurement, the samples were stored in artificial saliva where they remained overnight at 37°C in oven (Memmert®). The solution of artificial saliva (Salivsol®) was changed every morning before the beginning of the erosive trail after the first and third erosive cycle<sup>21, 26</sup>.

All the samples were analyzed by the same examiner who was blinded, that is to say that the examiner was not aware of which treatment corresponded with each group of samples.

### Statistical Analysis

The data was placed in an Excel 2010 spreadsheet (Microsoft Office) along with the images stored in worksheets. The ANOVA Student's T test and Tukey's test were utilized with a significance level of 5%.

## RESULTS

The Ra and Rrms diverged from each other in their initial measurement, but became similar between the groups, which confirmed the randomness in the distribution of the samples with a similar level of departure at the beginning. The assessment as mechanical protection (POST) after the treatment (in the case of the experimental groups) and without treatment (in the case of the control) generated diverse results within the groups and among the groups (see chart 1 and 2).

**Cuadro 1:** Media y Desviación Estándar y Test de ANOVA de la Rugosidad media (Ra) por grupo y momento de medición

Grupo	Rugosidad superficial (Ra nm)					
	INICIAL	POST	Día1	Día 2	Día 3	Día 4
Control	30,3 ± 3,4	43,3 ± 5,9	50,7 ± 5,5	53,5 ± 2,9	49,4 ± 4,2	49,1 ± 5,1
Flúor barniz Duraphat	34,1 ± 4,9	41,5 ± 6,8	43,1 ± 7,4	45,1 ± 6	51,8 ± 7,1	48,2 ± 3,3
Clinpro White Varnish	36,2 ± 6,3	35 ± 5,8	39,6 ± 5,7	37,8 ± 4,7	47,7 ± 6,1	36,3 ± 6,9
<b>(p)</b>	0,70	0,61	0,45	<b>0,04</b>	0,17	<b>0,05</b>

± Desviación estándar p= significancia a través de ANOVA

**Chart 1:** Average and standard deviation and Anova Test of average roughness (Ra) per group and time of measurement

Group	Superficial roughness (Ra nm)					
	INITIAL	POST	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4
Control	30,3 ± 3,4	43,3 ± 5,9	50,7 ± 5,5	53,5 ± 2,9	49,4 ± 4,2	49,1 ± 5,1
Fluoride Varnish Duraphat	34,1 ± 4,9	41,5 ± 6,8	43,1 ± 7,4	45,1 ± 6	51,8 ± 7,1	48,2 ± 3,3
Clinpro White Varnish	36,2 ± 6,3	35 ± 5,8	39,6 ± 5,7	37,8 ± 4,7	47,7 ± 6,1	36,3 ± 6,9
<b>(p)</b>	0,70	0,61	0,45	<b>0,04</b>	0,17	<b>0,05</b>

± Standard Deviation p= significance provided by ANOVA

**Cuadro 2:** Media y Desviación Estándar y Test de ANOVA de la Rugosidad media cuadrática (Rrms) por grupo y momento de medición

Grupo	Rugosidad (Rrms nm)					
	INICIAL	POST	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4
Control	29,8 ± 2,9	44,5 ± 7	49,6 ± 5,7	52,8 ± 6,5	49,4 ± 4,6	48,8 ± 4,3
Flúor barniz Duraphat	31 ± 3	36,6 ± 3,7	37,4 ± 5,3	43,1 ± 4,8	46 ± 5,2	42,7 ± 4,6
Clinpro White Varnish	32,4 ± 3,6	34 ± 3,3	39 ± 4,6	35,5 ± 3,8	40,2 ± 5,5	33,7 ± 4,3
<b>(p)</b>	0,85	0,31	0,21	<b>0,04</b>	<b>0,01</b>	<b>0,04</b>

± Desviación estándar p= significancia a través de ANOVA

Se encontraron diferencias significativas entre los tres grupos, en las dimensiones de Ra para los días 2 y 4 y para Rrms para los días 2, 3 y 4. Por lo que fue necesaria la prueba post Hoc de Tukey, cuyos resultados se presentan en el cuadro 3.

**Chart 2:** Average and standard deviation and Anova Test of average squared roughness (Rrms) per group and time of measurement

Group	Roughness (Rrms nm)					
	INITIAL	POST	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4
Control	29,8 ± 2,9	44,5 ± 7	49,6 ± 5,7	52,8 ± 6,5	49,4 ± 4,6	48,8 ± 4,3
Fluoride Varnish Duraphat	31 ± 3	36,6 ± 3,7	37,4 ± 5,3	43,1 ± 4,8	46 ± 5,2	42,7 ± 4,6
Clinpro White Varnish	32,4 ± 3,6	34 ± 3,3	39 ± 4,6	35,5 ± 3,8	40,2 ± 5,5	33,7 ± 4,3
<b>(p)</b>	0,85	0,31	0,21	<b>0,04</b>	<b>0,01</b>	<b>0,04</b>

± Standard Deviation p= significance provided by ANOVA

Significant differences were found among the three groups with respect to Ra for days 2 and 4 and for Rrms for days 2, 3 and 4. For this reason Tukey's post Hoc test was necessary. Results are shown on chart 3.

**Cuadro 3:** Resultados del Test de Tukey

Variable	Dimensión	Grupo (I)	Grupo (J)	Diferencia de medias (I-J)	Significancia (p)
<b>Rugosidad Superficial media (Ra)</b>	Día 2	Control	Flúor barniz Duraphat	8,37	0,06
			Clinpro White Varnish	15,67	<b>0,01</b>
		Flúor barniz Duraphat	Clinpro White Varnish	7,30	0,19
	Día 4	Control	Flúor barniz Duraphat	0,87	0,62
			Clinpro White Varnish	12,81	<b>0,02</b>
		Flúor barniz Duraphat	Clinpro White Varnish	11,94	<b>0,03</b>
	Día 2	Control	Flúor barniz Duraphat	9,70	<b>0,03</b>
			Clinpro White Varnish	17,30	<b>0,02</b>
		Flúor barniz Duraphat	Clinpro White Varnish	7,60	0,40
	Día 3	Control	Flúor barniz Duraphat	3,35	0,12
			Clinpro White Varnish	9,20	<b>0,04</b>
		Flúor barniz Duraphat	Clinpro White Varnish	5,85	0,09
Día 4	Control	Flúor barniz Duraphat	6,09	0,54	
		Clinpro White Varnish	15,08	<b>0,02</b>	
	Flúor barniz Duraphat	Clinpro White Varnish	8,99	<b>0,05</b>	
<b>Rugosidad Superficial media cuadrática (Rrms)</b>		Flúor barniz Duraphat	Clinpro White Varnish	8,99	<b>0,05</b>

**Chart 3:** Results of the Tukey Test

Variable	Dimension	Group (I)	Group (J)	Difference in measurement (I-J)	Significance (p)
<b>Average surface roughness (Ra)</b>	Day 2	Control	Fluorine Varnish Duraphat	8,37	0,06
			Clinpro White Varnish	15,67	<b>0,01</b>
		Fluorine Varnish Duraphat	Clinpro White Varnish	7,30	0,19
	Day 4	Control	Fluorine Varnish Duraphat	0,87	0,62
			Clinpro White Varnish	12,81	<b>0,02</b>
		Fluorine Varnish Duraphat	Clinpro White Varnish	11,94	<b>0,03</b>
	Day 2	Control	Fluorine Varnish Duraphat	9,70	<b>0,03</b>
			Clinpro White Varnish	17,30	<b>0,02</b>
		Fluorine Varnish Duraphat	Clinpro White Varnish	7,60	0,40
	Day 3	Control	Fluorine Varnish Duraphat	3,35	0,12
			Clinpro White Varnish	9,20	<b>0,04</b>
		Fluorine Varnish Duraphat	Clinpro White Varnish	5,85	0,09
Day 4	Control	Fluorine Varnish Duraphat	6,09	0,54	
		Clinpro White Varnish	15,08	<b>0,02</b>	
	Fluorine Varnish Duraphat	Clinpro White Varnish	8,99	<b>0,05</b>	
<b>Mean square roughness (Rrms)</b>		Fluorine Varnish Duraphat	Clinpro White Varnish	8,99	<b>0,05</b>

Adicionalmente, se desarrolló la prueba t Student para muestras emparejadas a fin de comprobar las variaciones en la medición a lo largo del tiempo en comparación con el valor inicial, tal como se indica en los cuadros 4 y 5.

Additional, the T Student test has been developed for paired samples to evaluate the variations in measurement over a longer period of time in contrast with the initial value, as indicated in charts 4 and 5.

**Cuadro 4:** Resultados de la prueba t Student para Ra

Grupo	Inicial	Post	Día 1		Día 2		Día 3		Día 4		p
	Ra (nm)	Ra (nm)	P	Ra (nm)	P	Ra (nm)	P	Ra (nm)	P	Ra (nm)	
Control	30,3 ± 3,4	43,3 ± 5,9	0,03	50,7 ± 5,5	0,03	53,5 ± 2,9	0,04	49,4 ± 4,2	0,01	49,1 ± 5,1	0,01
Flúor barniz Duraphat	34,1 ± 4,9	41,5 ± 6,8	0,71	43,1 ± 7,4	0,60	45,1 ± 6	0,04	51,8 ± 7,1	0,02	48,2 ± 3,3	0,02
Clinpro White Varnish	36,2 ± 6,3	35 ± 5,8	0,14	39,6 ± 5,7	0,30	37,8 ± 4,7	0,17	47,7 ± 6,1	0,07	36,3 ± 6,9	0,14

**Graph 4:** Results of the T Student test for Ra

Group	Initial	Post	Day 1		Day 2		Day 3		Day 4		p
	Ra (nm)	Ra (nm)	P	Ra (nm)	P	Ra (nm)	P	Ra (nm)	P	Ra (nm)	
Control	30,3 ± 3,4	43,3 ± 5,9	0,03	50,7 ± 5,5	0,03	53,5 ± 2,9	0,04	49,4 ± 4,2	0,01	49,1 ± 5,1	0,01
Fluorine Varnish Duraphat	34,1 ± 4,9	41,5 ± 6,8	0,71	43,1 ± 7,4	0,60	45,1 ± 6	0,04	51,8 ± 7,1	0,02	48,2 ± 3,3	0,02
Clinpro White Varnish	36,2 ± 6,3	35 ± 5,8	0,14	39,6 ± 5,7	0,30	37,8 ± 4,7	0,17	47,7 ± 6,1	0,07	36,3 ± 6,9	0,14

El grupo Clinpro White Varnish prácticamente logró mantener la rugosidad inicial ( $p > 0,05$ ). El otro grupo (Duraphat) solo mantuvo el valor inicial hasta el 1er día ( $p = 0,06$ ).

The Clinpro™ White Varnish practically managed to maintain initial roughness ( $p > 0.05$ ). The other group (Duraphat®) only maintained the initial value until the 1<sup>st</sup> day ( $p = 0.06$ ).

**Cuadro 5:** Resultados de la prueba t Student para Rrms

Grupo	Inicial	Post	Día 1		Día 2		Día 3		Día 4		p
	Ra (nm)	Ra (nm)	P	Ra (nm)	P	Ra (nm)	P	Ra (nm)	P	Ra (nm)	
Control	29,8 ± 2,9	44,5 ± 7	0,04	49,6 ± 5,7	0,05	52,8 ± 6,5	0,08	49,4 ± 4,6	0,01	48,8 ± 4,3	0,03
Flúor barniz Duraphat	31 ± 3	36,6 ± 3,7	0,7	37,4 ± 5,3	0,29	43,1 ± 4,8	0,03	46 ± 5,2	0,01	42,7 ± 4,6	0,01
Clinpro White Varnish	32,4 ± 3,6	34 ± 3,3	0,3	39 ± 4,6	0,39	35,5 ± 3,8	0,24	40,2 ± 5,5	0,13	33,7 ± 4,3	0,13

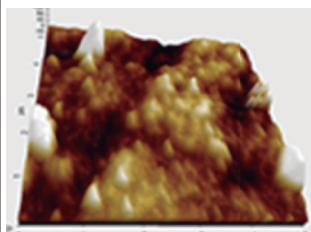
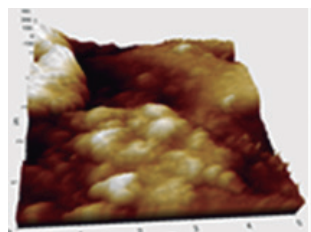
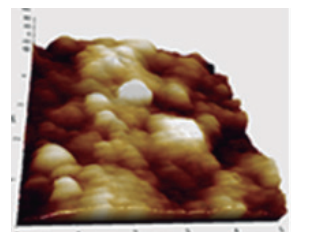
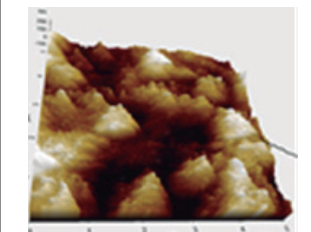
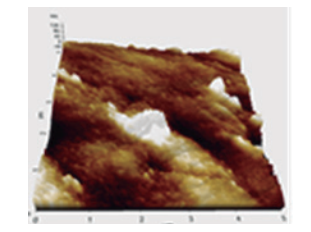
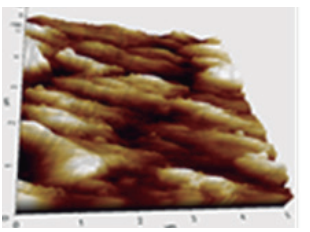
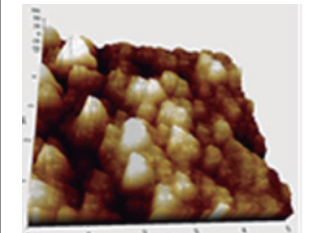
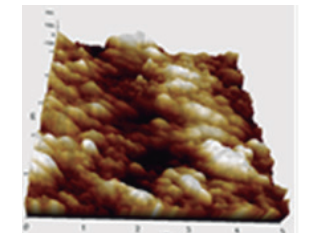
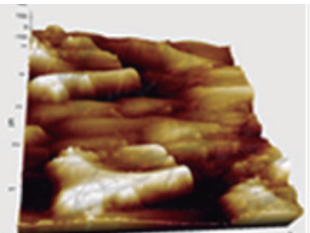
**Chart 5:** Results of the T Student test for Rrms

Group	Initial	Post	Día1		Day 2		Day 3		Day 4		
	Ra (nm)	Ra (nm)	P	Ra (nm)	P	Ra (nm)	P	Ra (nm)	P	Ra (nm)	p
Control	29,8 ± 2,9	44,5 ± 7	0,04	49,6 ± 5,7	0,05	52,8 ± 6,5	0,08	49,4 ± 4,6	0,01	48,8 ± 4,3	0,03
Fluorine Varnish Duraphat	31 ± 3	36,6 ± 3,7	0,7	37,4 ± 5,3	0,29	43,1 ± 4,8	0,03	46 ± 5,2	0,01	42,7 ± 4,6	0,01
Clinpro White Varnish	32,4 ± 3,6	34 ± 3,3	0,3	39 ± 4,6	0,39	35,5 ± 3,8	0,24	40,2 ± 5,5	0,13	33,7 ± 4,3	0,13

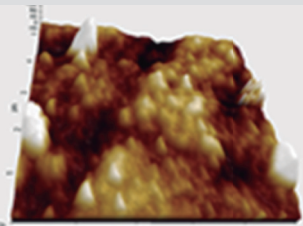
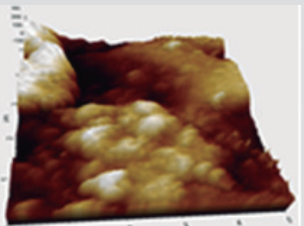
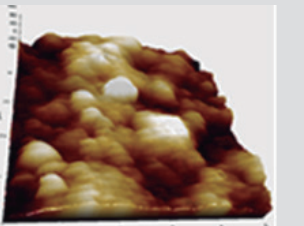
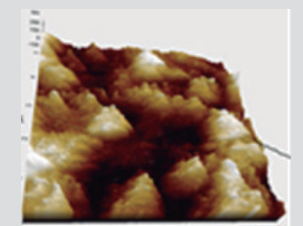
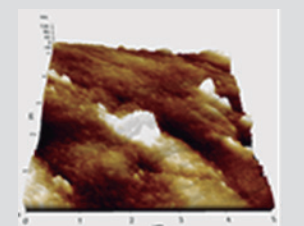
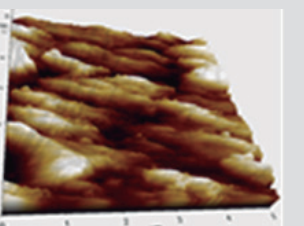
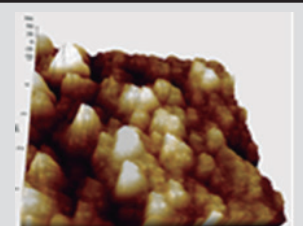
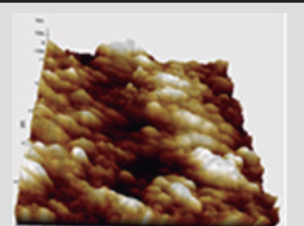
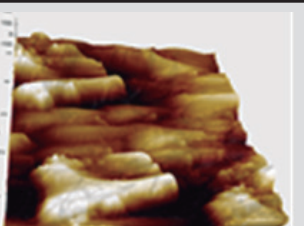
Al analizar la rugosidad media cuadrática Rrms, se determinó que el grupo Clinpro prácticamente logró mantener la rugosidad inicial ( $p > 0,05$ ). El grupo Duraphat no mantuvo el valor inicial a partir del día 2 ( $p = 0,03$ ).

Upon analyzing the mean square roughness (Rrms), it was determined that Clinpro™ practically managed to maintain the initial roughness ( $p > 0.05$ ). the Duraphat® group did not maintain the initial value from the start of day 2 ( $p = 0.03$ ).

**Figura 6:** Análisis Cualitativo Topográfico

MUESTRA	GRUPO CONTROL	GRUPO DURAPHAT	GRUPO CLINPRO WHITE VARNISH
Inicial	 Picos pronunciados una franja central con relieves uniformes y ondulados.	 Franja de relieves uniformes y ondulados con presencia de dos valles.	 Relieves ondulados y uniformes con dos picos.
Protección mecánica	 Presencia de un valle en V con dos relieves con pendientes pronunciadas.	 Picos con presencia de afloramientos rocosos asociado a depósito de cristales con un relieve con ondulaciones.	 Elevaciones disectadas y esparcidas.
4 to día Protección química	 Relieves muy pronunciados y un valle profundo.	 Relieves colinados disectados con pendientes de poca profundidad y un valle poco profundo.	 Relieves colinados con afloramiento depósito de cristales con poca altura.

**Figure 6:** Qualitative Topographic Analysis

SAMPLE	CONTROL GROUP	DURAPHAT GROUP	CLINPRO WHITE VARNISH GROUP
Initial	 <p>Pronounced peaks, a central strip with uniform wavy reliefs</p>	 <p>Strip of uniform and undulating reliefs with the presence of 2 valleys.</p>	 <p>Wavy and uniform reliefs with 2 peaks.</p>
Mechanical Protection	 <p>Presence of a V shaped with two reliefs with steep slopes.</p>	 <p>Peaks with presence of rocky outcrops associated to deposit of crystals with a relief with undulations.</p>	 <p>Dissected and scattered elevations.</p>
4 <sup>th</sup> day Chemical Protection	 <p>Very pronounced reliefs and a deep valley.</p>	 <p>Dissected hillside reliefs with shallow slopes and a shallow valley.</p>	 <p>Column reliefs with outcrop deposits of crystals with low height.</p>

## DISCUSIÓN

La ED es un problema que preocupa a clínicos y a investigadores en el mundo<sup>2,3,4</sup>, debido a su alta prevalencia en pacientes jóvenes<sup>1</sup>. Un reciente estudio realizado en preescolares demostró una alta prevalencia con una tendencia estacionaria<sup>7</sup>, por lo que, medidas preventivas eficaces deben ser realizadas a edades tempranas.

Para este estudio se utilizaron muestras de esmalte de IB, las mismas que fueron aplanadas y pulidas para tratar de eliminar las variaciones naturales comunes de la superficie del esmalte<sup>31</sup> para medir en el MFA. Los dientes de bovino son de fácil obtención, se han reportado en varios estudios en los

## DISCUSSION

DE is a problem of concern for many dental practitioners and researchers in the world<sup>2,3,4</sup> due to its high prevalence in young patients<sup>1</sup>. A recent study in preschool children showed this high prevalence as well as a steady increasing trend<sup>7</sup> demonstrating that preventative measures should be taken at an early age.

For this study, BI samples were used; furthermore, for accurate measurement in AFM, they were flattened and polished to try and eliminate the common natural variation of the surface enamel<sup>31</sup>. Bovine teeth are easily obtained and have been utilized as substitutes for human teeth in

que estos se utilizan como sustitutos de dientes humanos<sup>26,32</sup>. Sin embargo, se debe tomar en cuenta que estos dientes de bovino poseen superficies más aplanadas y una mayor porosidad en comparación con los dientes humanos, lo que provoca una mayor facilidad en formación de lesiones erosivas<sup>26,27</sup>.

Un estudio in situ de Viera et al., 2007<sup>25</sup> en personas que usaron bloques de esmalte erosionado en aparatos removibles por 15 días demostraron que el uso de barnices de flúor como Flúor Protector con 1000 ppm de flúor tuvo un efecto preventivo sobre la ED, similar a los resultados obtenidos en el presente estudio donde los barnices de flúor estudiados demostraron efecto preventivo (protección química).

En otro estudio se indicó que Duraphat es capaz de reducir parcialmente la progresión de lesiones erosivas en muestras de esmalte de terceros molares de humanos; produciendo un aumento de la microdureza inhibiendo la erosión dental inicial<sup>28</sup>, de la misma manera en el presente estudio se observó una disminución en la rugosidad del esmalte dental.

En procesos de erosión y abrasión sobre dentina de dientes de bovino al comparar soluciones de fluoruro de sodio (NaF) y fluoruro de titanio (TiF) con barnices de flúor: Duraphat, barniz con fluoruro de titanio y Duofluorid se demostró que los barnices son capaces de reducir la pérdida de tejido dentinario mientras que en las soluciones fluoradas no se mostraron efectivas para la prevención de erosión<sup>20</sup>, al igual que el presente estudio se observó disminución de la pérdida de estructura con el uso de barnices de flúor.

Sin embargo, en un estudio in situ que comparó enjuagues bucales de NaF uno de ellos con 225 ppm de flúor más fTCP, en un periodo de 28 días, demostró que la adición del fTCP con bajas concentraciones de flúor podría ser una alternativa para el desgaste dental erosivo<sup>33</sup>, este efecto preventivo de ED también fue demostrado en la presente investigación, dado que, el fTCP asociado al barniz de flúor en Clinpro White Varnish se mostró mejor hasta el 4to día de desafío erosivo.

various studies<sup>26,32</sup>. However, it should be taken into account that bovine teeth possess a greater amount of flat surfaces and porosity compared to human teeth, which have a higher propensity to form erosive lesions<sup>26,27</sup>.

A study in situ de Viera et al., 2007<sup>25</sup> in persons that used enamel blocks in removable apparatus for 15 days showed that the use of fluoride varnishes such as Flour Protector with 1000ppm of fluoride had a preventative effect on DE. These results were similar to the results obtained in this present study where the fluoride varnishes tested showed a preventative effect (chemical protection).

Another study indicated that Duraphat<sup>®</sup> is able to partially reduce the progression of erosive lesions in third molar enamel samples from humans<sup>28</sup>, producing an increase in micro hardness by inhibiting initial dental erosion. Similar results were observed in this present study as the roughness of the dental enamel decreased.

When comparing sodium fluoride(NaF) and titanium fluoride(TiF) with fluoride lacquer solutions in erosion and abrasion processes on the dentine of bovine teeth, Duraphat<sup>®</sup> varnish with titanium fluoride and Duofluorid showed that the varnishes are capable of reducing the loss of dentin tissue, while fluorinated solutions did not demonstrate effective prevention against erosion<sup>20</sup>. In a similar way, this present study observed the decrease in the loss of structure with the use of fluoride varnishes.

However, in an in situ study that compared mouthwashes of NaF, one of them with 225 ppm of fluoride plus fTCP, demonstrated that that the addition of fTCP with low concentration of fluorine could be an alternative for erosive dental decay<sup>33</sup>. This preventative quality against DE was also demonstrated in this present experiment, given that the fTCP associated with the fluoride varnish in Clinpro<sup>™</sup> White Varnish showed the greatest results up to the 4<sup>th</sup> day of the erosive trail.



No se encontraron estudios de rugosidad con microscopía de fuerza atómica con barnices de flúor asociado al trifosfato de calcio amorfo (fTCP) para prevenir procesos erosivos, por lo que los resultados de esta investigación no pueden ser comparados con ningún estudio de la literatura, ya que la efectividad del fTCP se evidencia sólo en estudios asociados a caries dental<sup>34, 35</sup>.

Por otra parte en el estudio de Murakami, 2013<sup>26</sup> comparó el efecto preventivo de barnices de flúor Duraphat y Barniz de flúor titanio con el Clinpro XT, en procesos de erosión y abrasión, obtuvo un mejor resultado para Clinpro XT. Considerando que este material es de fotocurado y que contiene en su composición ionómero de vidrio, brinda una barrera mecánica; mientras que en el presente estudio al realizar las mediciones con MFA para obtener los valores de Ra y Rrms en nanómetros, sin asociación de la abrasión, se obtuvo resultados similares en ambos barnices fluorados cuando estos no fueron removidos (protección mecánica).

En el estudio de Medeiros et al., 2013<sup>21</sup> compararon el efecto de pastas de nanofosfato de calcio con altas concentraciones de flúor con la utilización de MFA, utilizaron bloques de esmalte de terceros molares sumergidos en gaseosa Coca Cola por 5 días, los resultados no mostraron diferencias significativas entre los barnices de flúor con concentraciones de 22600 ppmF, gel de flúor fosfato acidulado con 12300 ppmF y las pastas de nanofosfato de calcio con 900 ppmF sobre el esmalte erosionado, concluyeron que todos los materiales utilizados pueden ser usados en la prevención de la ED, en el presente estudio, se compararon a los barnices de flúor ambos con la misma concentración de 22600 ppmF observando una reducción mayor en la rugosidad hasta el 4to día con el Clinpro White Varnish, se podría decir que este barniz brindó un mayor efecto de protección química contra la ED, lo que probablemente se deba a que este barniz contiene fTCP protegido con ácido fumárico permitiendo una mayor permanencia del barniz, a su vez las imágenes de MFA muestran diferente morfología en cada grupo y en diversos días, siendo menor la rugosidad observada con este tipo de barniz.

There were no studies of roughness using atomic force microscopy to observe the effects of fluoride varnishes associated with triphosphate (fTCP) to prevent erosive process, hence the results of this research cannot be compared with any literature since the evidence for effectiveness of fTCP is only found in studies associated with dental caries<sup>35</sup>.

On the other hand, the study of Murakami 2013<sup>26</sup> compared the preventative effect of fluoride varnishes Duraphat® and varnish of fluoride titanium with Clinpro™ XT in processes of erosion and abrasion. Clinpro™ XT obtained better results. Considering that this material is photo curing and contains glass ionomer in its composition, it provides a mechanical barrier. While in this present study, when measurements were made with AFM to obtain the values of Ra and Rrms in nanometers with no association of abrasion, similar results were obtained in both fluorinated varnishes when they were not removed (mechanical protection).

In the study by Medeiros et al., 2013<sup>21</sup> the effect of calcium nanophosphate pastes was compared with high concentrations of fluoride using AFM, using third molar enamel blocks submerged in Coca Cola for 5 days. The results did not show significant differences on eroded enamel between fluoride varnishes with concentration of 22,600 ppmF, fluoride phosphate gel acidulated with 12300 ppmF and calcium naphthalene paste with 900 ppmF, and it was concluded that all materials used can be used in the prevention of DE. In this present study the fluoride varnishes were compared with the same concentration of 22,600 ppmF, and a major reduction in the roughness up till the 4<sup>th</sup> day was observed with Clinpro™ White Varnish. It could be said that this varnish delivered a major chemical protective effect against DE, which is probably due to the fact that this varnish contains protected fTCP protected with fumaric acid. In addition, the AFM images show different morphology in each group, and on different days, a lower roughness was observed with this type of varnish.

Con los resultados obtenidos se sugiere realizar estudios que investiguen la acción de estos barnices en el desgaste dentario erosivo ya que, en la cavidad bucal la ED está asociada a desgastes mecánicos como la abrasión y atricción, así como, otros estudios comparando el uso de MFA con perfilométrie.

### CONCLUSIÒN

EL Clinpro White Varnish tiene una mejor acción para reducir la rugosidad superficial en la superficie del esmalte cuando se somete a desafíos ácidos.

### BIBLIOGRAFÍA / BIBLIOGRAPHY

1. Jaeggi T, Gruninger A, Lussi A. Restorative Therapy of Erosion. *Dental Erosion. Monogr Oral Sci.* 2006;20(13):200-14.
2. Kreulen CM, Van 't Spijker A, Rodriguez JM, Bronkhorst EM, Creugers NH, Bartlett DW. Systematic Review of the Prevalence of Tooth Wear in Children and Adolescents. *Caries Res.* 2010;44(2):151-9.
3. Wiegand A, Attin T. Design of Erosion/Abrasion Studies – Insights and Rational Concepts. *Caries Research.* 2011;45(s1):53-9.
4. Johansson AK, Omar R, Carlsson GE, Johansson A. Dental Erosion and Its Growing Importance in Clinical Practice: From Past to Present. *Int J Dent.* 2012;2012(1):1-17.
5. Pindborg J. Pathology of the dental hard tissues. Philadelphia: WB Saunders; 1970.
6. Linnett V, Seow WK. Dental erosion in children: a literature review. *Pediatr Dent.* 2001;23(1):37-43.
7. Murakami C, Tello G, Abanto J, Oliveira L, Bonini G, Bönecker M. Trends in the prevalence of erosive tooth wear in Brazilian preschool children. *Int J Paediatr Dent.* 2016;26(1):60-5

With the obtained results, it is suggested to carry out research regarding the action of these varnishes on erosive dental wear given that DE is associated with mechanical decay like abrasion and attrition in the buccal cavity, just like other studies that comparing the use of AFM with profilometry.

### CONCLUSION

Clinpro™ White Varnish has better results when reducing the surface roughness in the enamel when submitted to erosive trails.

8. Moradian-Oldak J. Protein-mediated Enamel Mineralization. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2012;1(17):1996-2023.
9. Jayasudha, Baswara J, Navin H, Prasanna K. Enamel Regeneration - Current Progress and Challenges. *J Clin Diag Res.* 2014;8(9):ZE06-96
10. Oshiro M, Yamaguchi K, Takamizawa T, Inage H, Watanabe T, Irokawa A, Ando S, Miyazaki M. Effect of CPP-ACP paste on tooth mineralization: an FE-SEM study. *J Oral Sci.* 2007;49(2):115-20
11. Huysmans MC, Chew HP, Ellwood RP. Clinical Studies of Dental Erosion and Erosive Wear. *Caries Res.* 2011;45(s1):60-8.
12. Shitsuka C, Tello G, Correa SNP. Desgaste dentario erosivo en bebés, niños y adolescentes: una visión contemporánea. *Odontología.* 2016;19(2):100-8.
13. Sobral MA, de Oliveira T, Scaramucci T, Nogueira FN, Simões A. Effect of mouthrinses with different active agents in the prevention of initial dental erosion. *Indian J Dent Res.* 2015;26(5):508-13.
14. Ganss C, Lussi A, Schlueter N. The Histological features and physical properties of eroded dental hard tissues. *Monogr Oral Sci.* 2014;25(1):99-107

15. Featherstone J, Lussi A. Understanding the chemistry of dental erosion. *Monogr Oral Sci.* 2006;20(1):66-76.
16. Moimaz SA, Araújo PC, Chiba FY, Garbín CA, Saliba NA. Prevalence of deciduous tooth erosion in childhood. *Int J Dent Hyg.* 2013;11(3):226-30.
17. Murakami C, Oliveira L, Sheiham A, Nahás Pires Corrêa M, Haddad A, Bönecker M. Risk Indicators for Erosive Tooth Wear in Brazilian Preschool Children. *Caries Res.* 2011;45(2):121-9.
18. Magalhães AC, Wiegand A, Rios D, Honório HM, Buzalaf MA. Insights into preventive measures for dental erosion. *J Appl Oral Sci.* 2009;17(2):75-86.
19. Soares LE, De Carvalho Filho AC. Protective effect of fluoride varnish and fluoride gel on enamel erosion: roughness, SEM-EDS, and  $\mu$ -EDXRF studies. *Microsc Res Tech.* 2015;78(3):240-8.
20. Magalhães AC, Wiegand A, Rios D, Buzalaf MA, Lussi A. Fluoride in Dental Erosion. *Monogr Oral sci.* 2011(22):158-70.
21. Medeiros IC, Brasil VL, Carlo HL, Santos RL, Lima BA, De Carvalho FG. In vitro effect of calcium nanophosphate and high-concentrated fluoride agents on enamel erosion: an AFM study. *Int J Paediatr Dent.* 2013;24(3):168-74.
22. Levy F, Magalhães A, Gomes M, Comar L, Rios D, Buzalaf M. The erosion and abrasion-inhibiting effect of TiF<sub>4</sub> and NaF varnishes and solutions on enamel in vitro. *Int J Paediatr Dent.* 2011;22(1):11-6.
23. Sancakli S, Austin H, Al-Saqabi F, Moazzez R, Bartlett D. The influence of varnish and high fluoride on erosion and abrasion in a laboratory investigation. *Aust Dent J.* 2015;60(1):38-42.
24. Wiegand A, Attin T. Influence of fluoride on the prevention of erosive lesions--a review. *Oral Health Prev Dent.* 2003;1(4):245-53.
25. Vieira A, Jager D, Ruben J, Huysmans M. Inhibition of Erosive Wear by Fluoride Varnish. *Caries Res.* 2007;41(1):61-7.
26. Murakami C. Aplicação de diferentes agentes fluoretados para prevenção de erosão e abrasão do esmalte in vitro [Título Doutor]. Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo; 2013.
27. Vieira A, Ruben J, Huysmans M. Effect of Titanium Tetrafluoride, Amine Fluoride and Fluoride Varnish on Enamel Erosion in vitro. *Caries Res.* 2005;39(5):371-9.
28. Sorvari R, Meurman J, Alakuijala P, Frank R. Effect of Fluoride Varnish and Solution on Enamel Erosion in vitro. *Caries Res.* 1994;28(4):227-32.
29. Clinpro™ White Varnish - Desensibilizante Dental - 3M ESPE Fabricantes Dentales - 3M ESPE España [Internet]. Solutions. productos3m.es. 2016 [cited 1 May 2016]. Available from: [http://solutions.productos3m.es/wps/portal/3M/es\\_ES/3M\\_ESPE/Dental-Manufacturers/Products/Preventive-Dentistry/Dental-Prevention/Tooth-Desensitiser/#tab4](http://solutions.productos3m.es/wps/portal/3M/es_ES/3M_ESPE/Dental-Manufacturers/Products/Preventive-Dentistry/Dental-Prevention/Tooth-Desensitiser/#tab4)
30. Antonova IN, Goncharov VD, Kipchuk AV, Bobrova EA. Evaluation of dental hard tissues by means of atomic force microscopy. *Stomatologiya (Mosk).* 2014;93(4):11-4.
31. Poggio C, Ceci M, Beltrami R, Lombardi M, Colomo M. Atomic force microscopy study of enamel remineralization. *Ann Stomatol (Roma).* 2014;25(3):98-102.
32. Yassen GH, Platt JA, Hara AT. Bovine teeth as substitute for human teeth in dental research: a review of literature. *J Oral Sci.* 2011;53(3):273-82.
33. Mathews M, Amaechi B, Ramalingam K, Ccahuana-Vasquez R, Chedjieu I, Mackey A, Karlinsey, R. In situ remineralisation of eroded enamel lesions by NaF rinses. *Arch Oral Biol.* 2012;57(5):525-30.

34. Memarpour M, Soltanimehr E, Sattarahmady N. Efficacy of calcium- and fluoride-containing materials for the remineralization of primary teeth with early enamel lesion. *Microsc Res Tech.* 2015;78(9):801-6.
35. Alamoudi SA, Pani SC, Alomari M. The Effect of the Addition of Tricalcium Phosphate to 5% Sodium Fluoride Varnishes on the Microhardness of Enamel of Primary Teeth. *Int J Dent.* 2013; 2013: 486358. doi:10.1155/2013/486358.