

AMANDA AQUINO MATHEUS

**Efeito do uso de enxaguatório com baixa concentração de fluoreto
e trimefosfato de sódio sobre a erosão do esmalte dentário
bovino. Estudo in vitro.**

ARAÇATUBA-SP

2010

AMANDA AQUINO MATHEUS

**Efeito do uso de enxaguatório com baixa concentração de fluoreto e
trimefostato de sódio sobre a erosão do esmalte dentário bovino. Estudo in
vitro.**

Trabalho de Conclusão de Curso como
parte dos requisitos para a obtenção do
título de Bacharel em Odontologia da
Faculdade de Odontologia de Araçatuba,
Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho”.

Orientador: Prof. Dr. Alberto Carlos
Botazzo Delbem

ARAÇATUBA-SP

2010

Dedicatória

Aos meus pais Lourival Denny e Elizeth, meus irmãos Jordana, Camila, João Gabriel e Pedro. À minha querida e amada avó Camerina, com amor, admiração e gratidão pela compreensão, carinho, presença e incansável apoio ao longo da faculdade.

Agradecimentos

Agradeço primeiro a Deus, que me guiou nessa longa caminhada, aos meus amigos e familiares que sempre me encorajaram e a vocês meus pais, pois de vocês recebi o dom mais precioso do universo: a vida. Já por isso seria infinitamente grata. Mas vocês não se contentaram em presentear-me apenas com ela. Revestiram-me de amor, carinho e dedicação. Cultivaram na criança todos os valores que me transformou em adulta responsável, consciente. Abriram a porta do meu futuro com o estudo. Trabalharam, sacrificaram seus sonhos em favor dos meus, não foram apenas pais, mas amigos e companheiros, mesmo nas horas mais difíceis. Tantas foram às vezes que tomaram para vocês meus problemas, incentivando-me a prosseguir e a vocês meus irmãos sempre presentes. Agora é seguir em frente, buscar meus objetivos, o desconhecido chamado futuro. Seguirei com a certeza de que obstáculos virão, mas tenho Deus sempre comigo. Valeu a pena os dias de angústia, de cansaço, de tédio e exaustão, cada momento vivido nessa louca correria em busca de um sonho. Levarei comigo a certeza de que se quero sou capaz.

Ao meu orientador, Dr Alberto Delbem, pela oportunidade e confiança para execução desse trabalho. Obrigada.

À minha orientadora Dra Ana Elisa de Mello Vieira, pela atenção e apoio durante o processo de definição e orientação deste trabalho. Obrigada.

À minha amiga, companheira, irmã: Carla Favretto, que me transmitiu perseverança durante os momentos em que fraquejei. Por acreditar em mim, estar ao meu lado, e pela sua grande devoção de amor, amizade e carinho. Obrigada.

À minha querida amiga, Nathália Viana, pelo seu empenho, amor, dedicação e amizade em querer sempre me elevar, mostrando com sua forma singela e simples que o caminho poderia até ser longo, mas que suas recompensas eram grandiosas. Obrigada

À mestrande Michele, que durante o desenvolvimento dessa pesquisa não me deixou desanimar. Seu carinho e dedicação foram primordiais durante a execução desse trabalho.

À todos do Departamento de Odontopediatria, que me transmitiram todo o amor, carinho e companheirinhos durante a execução desse projeto. Toda união transmitida por vocês me fizeram continuar.

À Universidade Estadual Paulista “*Júlio de Mesquita Filho*”, Campus de Araçatuba – UNESP, Faculdade de Odontologia, pela oportunidade de formação e crescimento profissional. Incluindo todos os funcionários desta Instituição e professores que me deram base para amar a Odontologia.

Epígrafe

*“Tudo tem seu tempo determinado, e há tempo para todo propósito debaixo
do céu”*

Eclesiastes 3:01

Efeito do uso de enxaguatórios com baixa concentração de fluoreto e trimetafosfato de sódio sobre a erosão do esmalte dentário bovino. Estudo in vitro.

Resumo

O presente estudo teve como objetivo avaliar *in vitro* a ação de enxaguatórios bucais com baixa concentração de fluoreto e trimetafosfato de sódio sobre a erosão. Após o polimento, 60 blocos de esmalte bovino (4x4mm) foram selecionados através da dureza de superfície (SH_i). Os blocos foram submetidos, por um período de 5 dias, ao desafio erosivo (Sprite Zero®) 4x ao dia/5 minutos seguido do tratamento com enxaguatórios placebo (sem fluoreto e TMP), 225 µg F/mL, 100 µg F/g, 100 µg F/g e TMP (0,2, 0,4 e 0,6%) por 15 segundos; e foram mantidos em saliva artificial (37°C) no restante do tempo. Após o desafio, o desgaste do esmalte foi avaliado pela perfilometria (µm) e a dureza de superfície do esmalte (SH_f) foi novamente medida. Os resultados de dureza de superfície após desafio erosivo (SH_f) mostram maiores valores para os grupos 100, 225, 100 TMP0,4 e 100 TMP0,6 (p<0,05). Menores desgastes da superfície do esmalte foram observados com os grupos 100 TMP0,2, 100 TMP0,4 e 100 TMP0,6 quando comparados aos demais grupos (p<0,05). Conclui-se que a adição de TMP em uma proporção (µg/g) de P(TMP):F de 12:1 em uma formulação de enxaguatório bucal (100 µg F/g) produz um efeito anti-erosivo melhor que um enxaguatório contendo 225 µg F/g.

Efeito do uso de enxagat6rios com baixa concentra76o de fluoreto e trimetafosfato de s6dio sobre a eros6o do esmalte dent6rio bovino. Estudo in vitro.

ABSTRACT

The aim of this in vitro study was to evaluate rinsing solutions with low fluoride (F) concentration and sodium trimetaphosphate (TMP) on enamel erosion. Following polishing procedures, 60 enamel blocks (4x4mm) were selected using surface hardness (SH_i). The blocks were submitted during 5 days to erosive challenges (Sprite Zero®) 4x per day/5 minutes followed by treatment with placebo (no F or TMP), 225 µg F/mL, 100 µg F/g, 100 µg F/g and TMP (0.2, 0.4 and 0.6%) rinsing solutions for 15 seconds and storage in artificial saliva (37°C). The alterations of the enamel were quantified using Knoop hardness test and profilometry (measurements in µm). The results of surface hardness (SH_f) showed higher values for groups 100, 225, 100 TMP0.4 and 100 TMP0.6 (p<0.05). Groups with TMP showed values of enamel wear lower than other groups (p<0.05). It was concluded that adding TMP in a P(TMP):F proportion (µg/g) of 12:1 to a rinsing solution formulation (100 µg F/g) presented a greater protective effect under erosion conditions than a rinsing solution with 225 µg F/g.

SUMÁRIO

Introdução	10
Materiais e Métodos.....	11
Resultados.....	15
Discussão	18
Conclusão	20
Referências bibliográficas	21

Introdução

A intenção das estratégias anti-erosivas é modificar a superfície do dente de modo que a desmineralização erosiva seja reduzida, mesmo na presença de desafios ácidos. Por muito tempo, o íon fluoreto foi considerado um agente anti-erosivo, independentemente do seu contra-íon. No entanto, estudos mais recentes provam que a eficácia do flúor no contexto de erosão é essencialmente determinada pela natureza do composto de flúor (HOVE et al. 2007, 2008; GANSS et al., 2008; MAGALHÃES et al., 2008; WIEGAND et al., 2008).

Com base na idéia de que altas concentrações de ingredientes ativos são necessárias para um efeito anti-erosivo melhor, soluções experimentais com concentrações de flúor na faixa de 1000 a 1500 ppm e concentrações de estanho de 1400 a 2800 ppm foram investigadas (SCHLUETER et al. 2009a, c). Estas soluções exibiram notável propriedade anti-erosiva, porém efeitos adversos surgiram (SCHLUETER et al. 2009d). Posteriormente, em um experimento *in vitro*, foi encontrado uma dose com concentrações de flúor $\leq$ 500 ppm e concentrações de estanho $\leq$ 2100 ppm, produzindo uma formulação eficaz contendo 125 ppm F como FMA, 375 ppm F como NaF e 800 ppm de Sn SnCl₂ (SCHLUETER et al. 2009e).

MORETTO et al. (2010), em um estudo *in vitro*, mostraram que dentifrícios contendo 5000 µg F/g e dentifrícios com 500 µg F/g e 3% de trimetafosfato de sódio apresentaram maior efeito protetor sobre o esmalte dentário submetido a desafios ácidos.

Na literatura há poucos trabalhos que relatam o enxaguatório bucal no tratamento erosivo. Com isso, o presente estudo teve como objetivo avaliar *in vitro* a ação de enxaguatórios bucais com baixa concentração de fluoreto e trimetafosfato de sódio sobre a erosão do esmalte dentário bovino.

Material e método

Delineamento Experimental

O delineamento experimental foi casualizado e o número de repetições foi calculado considerando o nível do α -error de 5% e β -error de 10% (www.dssresearch.com) e uma perda de 20% durante as análises dos grupos. Para os testes com enxaguatórios, os blocos foram divididos em 6 grupos experimentais de 10 espécimes cada, de acordo com o tratamento (n=60). Os tratamentos foram realizados com os seguintes enxaguatórios: placebo (sem fluoreto e TMP), 225 μg F/mL, 100 μg F/g, 100 μg F/g e TMP (0,2, 0,4 e 0,6%). Os blocos foram submetidos ao desafio erosivo (Sprite Zero®) 4 vezes ao dia durante 5 minutos seguido do tratamento com as soluções por 15 segundos; e foram mantidos em saliva artificial (37°C) no restante do tempo. Após os desafio erosivo, determinou-se a dureza de superfície (SHf) do esmalte e o desgaste do esmalte foi avaliado pela perfilometria (μm). Para análise estatística, foram considerados como variáveis os valores de SHi, SHf e desgaste do esmalte (μm) e, como fator de variação, os enxaguatórios.

Formulação e Análise de Fluoreto e pH dos Enxaguatórios

Os enxaguatórios bucais foram manipulados em laboratório com os seguintes componentes: metil-p-hidroxibenzoato de sódio, sacarinato de sódio, glicerina e água. Fluoreto de sódio (Merck®, Alemanha) foi acrescentado às formulações, exceto ao grupo placebo, até uma concentração final de 100 ou 225 μg F/mL. As formulações de enxaguatórios com 100 μg F/mL tiveram concentrações de trimetafosfato de sódio (TMP, Sigma® - Aldrich Co., USA) de 0,0 (100); 0,2 (100 TMP0,2); 0,4 (100 TMP0,4) e 0,6% (100 TMP0,6).

Para a dosagem dos enxaguatórios (n=3) 1 mL de cada enxaguatório foi dispensado em balão volumétrico de polipropileno de 100 mL e completado com água destilada/deionizada, para obter 3 diluições de cada solução de bochecho. A seguir, foram removidas duas alíquotas de 1 mL de cada diluição (balão volumétrico) e colocadas em frascos de poliestireno cristal (J-10, Injeplast, PR, Brasil), totalizando 6 amostras de cada enxaguatório

(DELBEM et al., 2003). A estas amostras foi acrescido 1 mL de TISAB II e os resultados foram expressos em $\mu\text{g F/mL}$. A determinação foi realizada com um eletrodo específico para íon F (9409 BN – Orion) e microeletrodo de referência (Analyser) acoplado ao analisador de íons (Orion 720 A⁺), previamente calibrado com 5 padrões (0,25 a 4,0 $\mu\text{g F/mL}$).

O pH dos enxaguatórios foi analisado, em triplicata, com um eletrodo de pH (2A09E-FH Analyser, São Paulo, SP, Brasil) e analisador de íons Orion 720A+.

Preparo dos blocos de esmalte

Para a realização deste estudo, 60 blocos de esmalte (4x4mm) foram obtidos de dentes incisivos de bovinos mantidos em formol 2%, pH 7,0, durante 30 dias antes de qualquer procedimento experimental. Esses blocos tiveram suas superfícies de esmalte polidas seqüencialmente (lixa de granulação 400, 600 e 1200 - Buehler, Lake Bluff, IL, USA), para remoção de ~200 μm da superfície do esmalte. Após polimento, foi determinada a dureza de superfície (SHi) do esmalte e selecionados os blocos que com dureza Knoop entre 330,0 e 377,0 Kg/mm^2 . Para manter uma superfície de referência durante a determinação do desgaste do esmalte pela perfilometria, duas camadas de esmalte de unha foram aplicadas nas extremidades de cada bloco.

Tratamento e desafio erosivo

Durante 5 dias, blocos de esmalte foram submetidos a desafios erosivos (Sprite[®], Cia de Bebidas Ipiranga, Ribeirão Preto, Brazil, pH 2,8), 4 vezes por dia (5 minutos cada, 10 mL/bloco). Imediatamente após o 1º e 4º desafio erosivo, os blocos de esmalte foram expostos a um dos enxaguatórios bucais (5 mL/bloco, 15 segundos) a temperatura ambiente, seguido por um período de 1 hora de remineralização (Saliva artificial, 1,5 mmol L^{-1} $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0,9 mmol L^{-1} $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 150 mmol L^{-1} KCl, 0,1 mol L^{-1} tampão Tris, 0,03 ppm F, pH 7,0, 5 mL/ bloco) (WEST et al., 1998; ATTIN et al., 2001; HUGHES et al., 2002; HUNTER et al., 2003), a temperatura ambiente e

em recipientes plásticos. Entre os desafios e os tratamentos, os blocos foram lavados com água deionizada e secos com papel toalha para evitar contaminação das soluções. Após os ciclos erosão/tratamento, os blocos foram mantidos em saliva artificial (37°C) no restante do tempo.

Análise da dureza de superfície

A dureza de superfície, para seleção dos blocos de esmalte, foi determinada (SH_i) utilizando-se microdurômetro Micromet 5114 hardness tester (Buehler, Lake Bluff, USA e Mitutoyo Corporation, Kanagawa, Japan) e o software Buehler OmniMet (Buehler, Lake Bluff, USA). Foi utilizado um penetrador diamantado piramidal tipo Knoop, com carga estática de 25 gramas, por dez segundos. Foram realizadas cinco impressões eqüidistantes entre si 100 µm.

Ao final do experimento, foi realizada a dureza de superfície pós-erosão dos blocos de esmalte utilizando o mesmo microdurômetro com as mesmas especificações. Na área exposta ao desafio erosivo, foram realizadas 5 indentações, com distâncias aleatórias entre elas, englobando toda a superfície do esmalte.

Determinação do desgaste superficial

Para determinação do desgaste superficial foi utilizado o Rugosímetro Surftest SJ 401 – Mitutoyo (Mitutoyo American Corporation), com uma ponta apalpadora esférica, acoplada a uma unidade que tem como função processar e interagir as informações quantitativamente, fornecendo os resultados. O rugosímetro foi conectado a um microcomputador que processa e armazena as informações pertinentes aos ensaios. Com o auxílio de um software específico do equipamento (Surftest) além dos dados específicos de rugosidade, foram obtidos também os perfis das superfícies testadas, sendo estes importantes para a ilustração e quantificação do desgaste.

Para determinação da rugosidade superficial dos espécimes o rugosímetro foi ajustado para que a ponta apalpadora do aparelho realizasse

determinado percurso (Lt= limite de tracejamento). Foi utilizado o parâmetro de filtragem ou minimização das ondas de superfície [ponto de corte (cut off)- Lc = 1,5mm]. O parâmetro Ra (μm) utilizado para obtenção foi a rugosidade aritmética que traduz o valor de todas as distâncias absolutas do perfil de rugosidade. A ponta do rugosímetro percorreu as superfícies dos espécimes passando por regiões de esmalte hígido (protegido) ao afetado. Após a determinação do perfil, a medida do desgaste foi obtida pela distância em micrômetros entre a linha média do gráfico correspondente à área protegida do espécime (superfície de referência) e o pico de desgaste. Para cada bloco foram feitas cinco medidas em diferentes áreas.

Análise Estatística

Para análise dos dados foi considerado como fator de variação os enxaguatórios e, como variáveis, os valores de dureza de superfície (SHi e SHf) e do desgaste superficial (μm). O número de repetições final considerado foi 10 permitindo um poder para o cálculo estatístico de 95,1%. Os dados apresentaram distribuição normal (Kolmogorov-Smirnov) e homogênea (Cochran) e foram submetidos à análise de variância (one-Way) seguida pelo teste de Bonferroni para múltiplas comparações. As análises foram realizadas pelo programa estatístico BioEstat versão 5.0 para Windows com significância ao nível de 5%.

Resultados

As concentrações médias (DP) de fluoreto ($\mu\text{g/g}$) nos enxaguatórios experimentais placebo, 100, 225, 100 TMP0,2, 100 TMP0,4 e 100 TMP0,6 foram, respectivamente: 2,8 (0,5), 224,3 (2,8), 99,8 (3,7), 98,5 (1,0), 100,2 (3,0) e 99,5 (1,6); todas apresentaram-se dentro do esperado mostrando uma variação menor que 10%. O valor médio (DP) do pH dos enxaguatórios experimentais placebo, 100, 225, 100 TMP0,2, 100 TMP0,4 e 100 TMP0,6 foram, respectivamente: 7,9 (0,0), 7,9 (0,0), 7,9 (0,0), 8,0 (0,0), 7,7 (0,0), 8,0 (0,0). O valor médio (DP) da dureza de superfície antes dos desafios erosivos (SH_i), considerando todos os grupos, foi de 350,2 (12,1) Kg/mm^2 . Não houve diferença entre os valores médios de SH_i entre os grupos experimentais ($p>0,05$), sendo que a maior média foi 353,3 (13,4) e a menor 348,8 (12,6) Kg/mm^2 .

Os resultados de dureza de superfície após desafio erosivo (SH_f) mostram (Figura 1) maiores valores para os grupos 100, 225, 100 TMP0,4 e 100 TMP0,6 ($p<0,05$). Menor valor de SH_f foi observado para o grupo placebo ($p<0,05$). Os grupos 100 TMP0,2 e 100 TMP0,4 apresentaram dureza de superfície semelhantes ($p>0,05$).

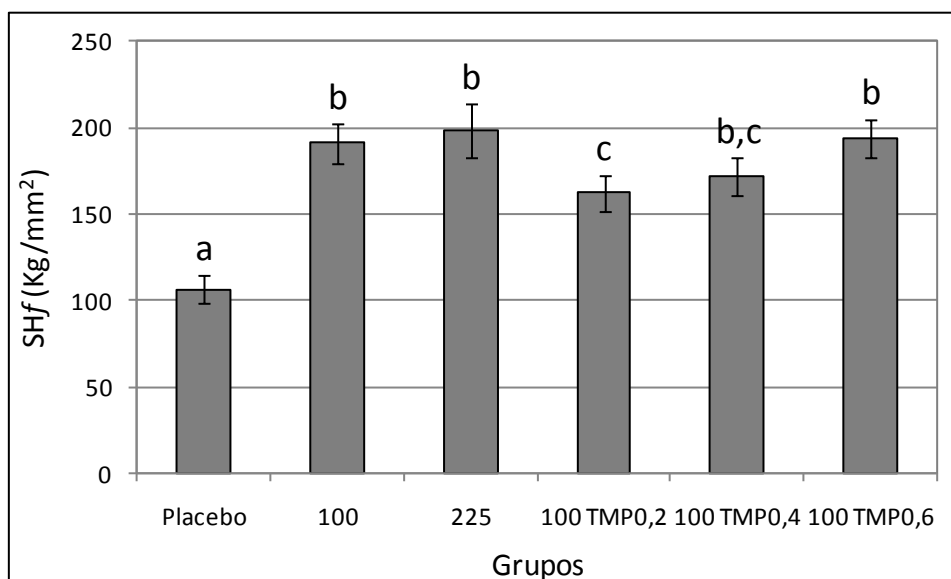


Figura 1 – Valores de dureza de superfície (SHf, média, n=10) entre os grupos submetidos ao desafio erosivo. Letras distintas indicam diferença estatisticamente significativa entre os grupos (Bonferroni; $p < 0,05$). As barras verticais indicam o desvio-padrão da média.

Menores desgastes da superfície do esmalte foram observados com os grupos 100 TMP0,2, 100 TMP0,4 e 100 TMP0,6 (Figura 2) quando comparados aos demais grupos ($p < 0,05$). O grupo placebo apresentou o maior desgaste diferindo dos demais grupos ($p < 0,05$). Os grupos 100 e 225 apresentaram perda de esmalte similares ($p > 0,05$).

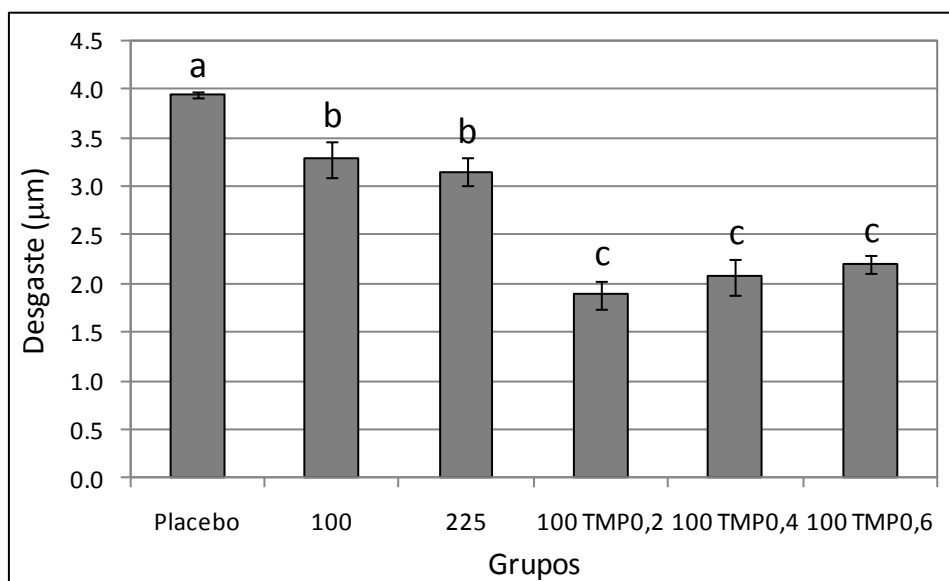


Figura 2 – Valores médios (n=10) do desgaste (µm) entre os grupos submetidos ao desafio erosivo. Letras distintas indicam diferença estatisticamente significativa entre os grupos (Bonferroni; $p < 0,05$). As barras verticais indicam o desvio-padrão da média.

Discussão

O presente estudo avaliou a possibilidade de enxaguatório com reduzida concentração de fluoreto (100 µg F/g) apresentar uma eficácia contra a erosão dentária. Para isto, TMP foi adicionado aos enxaguatórios, o que já foi demonstrado em estudo *in vitro* melhorar a ação anticárie (TAKESHITA et al., 2009) e contra a erosão dentária (MORETTO et al., 2010) de um dentifrício com 500 µg F/g.

Baseado em resultados publicados (TAKESHITA et al., 2009; MORETTO et al., 2010; MISSEL, 2010) as concentrações de TMP foram adequadas a concentração de 100 µg F/g com objetivo de obter eficácia contra a erosão dentária. A proporção (µg/g) de P(TMP):F utilizada com os enxaguatórios contendo 100 µg F/g ficou entre 6:1 a 18:1, semelhante a faixa de eficácia encontrada com dentifrícios contendo 500 µg F/g no estudo de TAKESHITA et al. (2009), considerando a ação anticárie. Isto foi confirmado com os resultados do presente estudo mostrando que os enxaguatórios com fluoreto associado ao TMP apresentaram melhores resultados quando comparado aos enxaguatórios experimentais contendo 100 e 225 µg F/g (Figura 2). De acordo com GONZALEZ (1971), o TMP e o F não competem pelo mesmo sítio de ligação na superfície do esmalte, atuando de forma distinta. Entretanto, o TMP pode interferir negativamente na ação do F quando utilizado em maiores concentrações.

A adição de 0,2% de TMP foi suficiente para aumentar a capacidade do F (100 µg/g) em reduzir a erosão da superfície do esmalte ao redor de 40% quando comparado aos grupos 100 e 225 (Figura 2). Foi observado que dentifrícios contendo fluoreto de sódio promovem a formação de fluoreto de cálcio na superfície do esmalte, sendo estes depósitos responsáveis pela ação anticárie dos produtos aplicados topicamente (SAXEGAARD e ROLLA, 1988; OGAARD, 2001). De acordo com a literatura, o TMP pode interferir com a dissolução do esmalte reduzindo a perda mineral (GONZALEZ et al, 1973; McGAUGHEY e STOWELL, 1977), bem como facilitar a difusão de cátions para o interior do esmalte (VAN DIK et al., 1980).

Os dados de dureza mostraram que um esmalte erodido apresenta a superfície menos amolecida quando submetido ao tratamento com fluoreto (EISENBURGER et al., 2003; MAGALHÃES et al., 2008; RIOS et al., 2006), entretanto não foi possível verificar diferenças entre as concentrações de fluoreto (Figura 1). No presente estudo, apenas foi possível verificar que a presença do fluoreto atua propiciando um esmalte menos amolecido superficialmente (Figura 1). Porém, de acordo com MORETTO et al. (2010), é possível verificar uma correlação negativa entre o desgaste e a dureza de superfície utilizando dentifrícios placebo, 1100 µg F/g e 5000 µg F/g ($r=-0.877$; $p<0,001$).

Conclusão

Baseado na metodologia utilizada e nos resultados, conclui-se que a adição de TMP em uma proporção ($\mu\text{g/g}$) de P(TMP):F de 12:1 em uma formulação de enxaguatório bucal ($100 \mu\text{g F/g}$) produz um efeito anti-erosivo melhor que um enxaguatório contendo $225 \mu\text{g F/g}$.

Referências bibliográficas

ATTIN T, KNOFEL S, BUCHALLA W: In situ evaluation of different remineralization periods to decrease brushing abrasion of desmineralized enamel. **Caries Res.** 35:216-222. 2001.

DELBEM, A. C. B. et al. Avaliação do teor de flúor de soluções para bochechos e de géis e o risco de intoxicação aguda. **Rev. ABO Nac.**, v. 11, n. 3, p. 188-193, Jun-jul. 2003.

EISENBURGER M, HUGHES J, WEST MX, JANDT KD, ADDY M: Ultrasonication as a method to study enamel demineralisation during acid erosion. **Caries Res.** 34: 289-294.2000.

GANSS C, SCHLUETER N, HARDT M, SCHATTENBERG P, KLIMEK J. Effect of fluoride compounds on enamel erosion in vitro—a comparison of amine, sodium and stannous fluoride. **Caries Res** 42:2-7. 2008.

GONZALEZ, M. Effect of trimetaphosphate ions on the process of mineralization. **J. Dent. Res.**, v. 50, n. 4, p.1056-1064, Oct. 1971.

GONZALES, M.; JEANSONNE, B. G.; FEAGIN, F. F. Trimetaphosphate and fluoride actions on mineralization at the enamel-solution interface. **J. Dent. Res.**, v. 52, n. 2, p. 261-266, Mar. 1973.

HOVE LH, HOLME B, YOUNG A, TVEIT AB. The erosion-inhibiting effect of TiF₄, SnF₂, and NaF solutions on pellicle-covered enamel in vitro. **Acta Odontol Scand** 65:259-264. 2007.

HOVE LH, HOLME B, YOUNG A, TVEIT AB. The protective effect of TiF₄, SnF₂ and NaF against erosion-like lesions in situ. **Caries Res** 42: 68-72. 2008.

<http://www.dssresearch.com/home.asp>, 2010

HUGHES JA, JANDT KD, BAKER N, PARKER DM, NEWCOMBE RG, EISENBURGER M, ADDY M: Further modification to soft drinks to minimize erosion. A study in situ. **Caries Res.** 36: 70-74. 2002.

HUNTER MI, HUGHES JA, PARKER DM, WEST NX, NEWCOMBE RG, ADDY M: Development of low erosive carbonated fruit drinks. 1. Evaluation of two experimental orange drinks in vitro and in situ. **J Dent.** 31: 253-260. 2003.

MAGALHÃES AC, KATO MT, RIOS D, WIEGAND A, ATTIN T, BUZALAF MA. The effect of an experimental 4% TiF₄ varnish compared to NaF varnishes and 4% TiF₄ solution on dental erosion in vitro. **Caries Res** 42:269-274. 2008.

McGAUGHEY, C.; STOWELL, E. Effects of Polyphosphates on the solubility and mineral of HA: relevance of a rationale for anticarie activity. **J. Dent. Res.**, v. 56, n. 6, p. 579-587, Jun. 1977.

MORETTO MJ. Et al. : Effect of different fluoride concentrations of experimental dentifrices on enamel erosion and abrasion. **Caries res.** 44 (2) : 135- 140 Apr 2. 2010.

ÖGAARD, B. CaF₂ formation: cariostatic properties and factors of enhancing the effect. **Caries Res.** v. 35, n. 1, p. 40-4. 2001.

RIOS D, HONORIO, HM, MAGALHÃES AC, DELBEM ACB, MACHADO MAAM, SILVA SMB, BUZALAF MAR: Effect of salivary stimulation on erosion of human and bovine enamel subject or not to subsequent abrasion: an in situ/ex vivo study. **Caries Res.** 40:218-223. 2006.

SAXEGAARD, E.; ROLLA, G. Fluoride acquisition on and in human enamel during topical application in vitro. **Scand. J. Dent.**, v. 96, n. 6, p. 523-535, Oct. 2007.

SCHLUETER N, DURAN A, KLIMEK J, GANSS C. Investigation of the effect of various fluoride compounds and preparations thereof on erosive tissue loss in enamel in vitro. **Caries Res** 43:10-16. 2009a.

SCHLUETER N, HARDT M, LUSS A, ENGELMANN F, KLIMEK J, GANSS C. Effects of tin containing fluoride solutions as anti-erosive agents in enamel—An in vitro tin-uptake, tissue loss and SEM-study. **Eur J Oral Sci** 117:427-434. 2009c.

SCHLUETER N, KLIMEK J, GANSS C. Effect of stannous and fluoride concentration in a mouth rinse on erosive tissue loss in enamel in vitro. **Arch Oral Biol** 54:432-436. 2009d.

SCHLUETER N, KLIMEK J, GANSS C. In vitro efficacy of experimental tin- and fluoride-containing mouth rinses as anti-erosive agents in enamel. **J Dent** 37:944-948. 2009e.

TAKESHITA, E. M. et al. In vitro evaluation of dentifrice with low fluoride content supplemented with trimetaphosphate. **Caries Res.**, v. 43, n. 1, p. 50-6. Jan. 2009.

VAN DIJK, J. W.; BORGGREVEN, J. M.; DRIESSENS, F. C. The effect of some phosphates and a phosphonate on the electrochemical properties of bovine enamel. **Arch. Oral Biol.** v. 25, n. 8-9, p. 591-595. 1980.

WEST NX, MAXWELL A, HUHES JA, PARKER DM, NEWCOMBE RG, ADDY M: A method to measure clinical erosion: The effect of orange juice consumption on erosion of enamel. **J. Dent.** 26: 329-335. 1998.

WIEGAND A, LAABS KA, GRESSMANN G, ROOS M, MAGALHÃES AC, ATTIN T. Protection of short-time enamel erosion by different tetrafluoride compounds. **Arch Oral Biol** 53:497-502. 2008.

