



Núbia Inocência Pavesi Pini

***“IN VITRO AND IN SITU EVALUATION OF
MICROABRASION TECHNIQUE ON ENAMEL
MICROHARDNESS AND MORPHOLOGY”***

***“AVALIAÇÃO IN VITRO E IN SITU DA TÉCNICA DE
MICROABRASÃO SOBRE A MICRODUREZA E
MORFOLOGIA DO ESMALTE DENTAL”***

PIRACICABA

2013



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**

NÚBIA INOCÊNCYA PAVESI PINI

***“IN VITRO AND IN SITU EVALUATION OF MICROABRASION TECHNIQUE ON
ENAMEL MICROHARDNESS AND MORPHOLOGY”***

Orientador: Prof. Dr. José Roberto Lovadino

Co-Orientadora: Prof.^a Dr.^a Débora Alves Nunes Leite Lima

***“AVALIAÇÃO IN VITRO E IN SITU DA TÉCNICA DE MICROABRASÃO SOBRE
A MICRODUREZA E MORFOLOGIA DO ESMALTE DENTAL”***

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica da Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de
Mestra em Clínica Odontológica com área concentração em Dentística.

Master dissertation presented to the Clinical Dentistry Post-Graduate Program of the Piracicaba Dental School of the University of Campinas to obtain the MsC grade in Clinical Dentistry with major in Operative Dentistry.

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL
DA DISSERTAÇÃO DE Mestrado DEFENDIDA PELA
ALUNA NÚBIA INOCÊNCYA PAVESI PINI, ORIENTADA
PELA PROF. DR. JOSÉ ROBERTO LOVADINO.

Assinatura do Orientador

PIRACICABA
2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR
JOSIDELMA F COSTA DE SOUZA – CRB8/5894 - BIBLIOTECA DA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA DA UNICAMP

P655a Pini, Núbia Inocência Pavesi, 1987-
Avaliação in vitro e in situ da técnica de microabrasão sobre a
microdureza e morfologia do esmalte dental / Núbia Inocência
Pavesi Pini. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2013.

Orientador: José Roberto Lovadino.

Coorientador: Débora Alves Nunes Leite Lima.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas,
Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Saliva. 2. Microscopia. I. Lovadino, José Roberto,
1953- II. Lima, Debora Alves Nunes Leite, 1978- III.
Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de
Odontologia de Piracicaba. IV. Título.

Informações para a Biblioteca Digital

Título em Inglês: In vitro and in situ evaluation of microabrasion
technique on enamel microhardness and morphology

Palavras-chave em Inglês:

Enamel

Saliva

Microscopy

Área de concentração: Dentística

Titulação: Mestra em Clínica Odontológica

Banca examinadora:

José Roberto Lovadino [Orientador]

Renata Corrêa Pascotto

Flávio Henrique Baggio Aguiar

Data da defesa: 14-03-2013

Programa de Pós-Graduação: Clínica Odontológica



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Odontologia de Piracicaba



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Dissertação de Mestrado, em sessão pública realizada em 14 de Março de 2013, considerou a candidata NÚBIA INOCENCYA PAVESI PINI aprovada.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "debora".

Profa. Dra. DEBORA ALVES NUNES LEITE LIMA

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Renata Pascotto".

Profa. Dra. RENATA CORRÊA PASCOTTO

A large, stylized handwritten signature in black ink, appearing to read "Flavio Baggio Aguiar".

Prof. Dr. FLAVIO HENRIQUE BAGGIO AGUIAR

Dedicatória...

À minha mãe, **Gleide Pavesi Pini**, pela dedicação ímpar em tornar todos os meus sonhos possíveis, pela constante compreensão e amizade e pelo amor desmedido que tem por seus filhos. Por ser meu escudo, meu porto seguro, meu ponto de partida e meu ponto de chegada. Como exemplo de amor e carinho, a senhora é a responsável por eu ter conseguido chegar até aqui... Amo você!

Ao meu pai, **Ademar Pini**, que, ainda que ausente em presença física, é meu grande exemplo de garra e determinação. Seus grandes feitos, seus ideais, a saudade inexplicável e a ânsia por ter partilhado mais da sua vivência, são o combustível que me faz todos os dias procurar o meu melhor e, assim, te encher de orgulho, onde quer que esteja! Sinto muito sua falta...

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

José Saramago

Agradecimentos...

A Deus...

Os desígnios divinos se revelaram na minha existência. Nunca, nas minhas projeções de futuro, planejei estudar nessa grande e renomada universidade, mas Deus, em sua infinita plenitude, costurou o meu caminho e aqui me trouxe.

Agradeço a Ele pelo dom da vida, pelos obstáculos superados, objetivos alcançados e pela concretização deste sonho.

Aos meus orientadores...

Ao professor, **José Roberto Lovadino**, pela oportunidade de orientação. Obrigada por me acolher junto ao seu grupo de pesquisa e acreditar que eu pudesse fazer parte dele. O senhor é um grande exemplo pelo que já foi e principalmente pelo que é, como professor e como pessoa!

À professora e co-orientadora, **Débora Alves Nunes Leite Lima**, pela incansável orientação no projeto de pesquisa e, principalmente, por estar sempre disposta a me ouvir e aconselhar como amiga. A nossa convivência oportunizou meu crescimento profissional e humano, e hoje, a senhora é para mim um grande exemplo a ser seguido, um verdadeiro espelho. O lugar que ocupa é fruto de todo o seu esforço e dedicação. À senhora, apesar de tão pouco tempo de vivência, é uma pessoa repleta de experiência e saber incontestáveis. O nosso convívio aflorou o melhor de mim e o seu nome abrilhanta este trabalho. Sou sua fã!

Ao professor, **Flávio Henrique Baggio Aguiar**, meu orientador de estágio docente, pela oportunidade de aprendizado e exercício da prática clínica. A nossa convivência possibilitou o aprimoramento da minha técnica e o aperfeiçoamento do meu trabalho. Sinto-me honrada em poder citá-lo, pois sua contribuição é incontestável não apenas nesse estudo, mas também na minha vida profissional.

À minha família...

Por serem a base e o alicerce para o meu crescimento profissional e pessoal, pois sei que, independente de qualquer coisa, vocês serão sempre o meu destino final...

Aos meus irmãos, **Marlon e Indianara**, por apoiarem o meu projeto de pós-graduação, partilhando os meus sonhos, me impulsionando a segui-los e a lutar por eles. Obrigada por entenderem a minha ausência frente aos percalços da vida, que sabemos que não são poucos. A vocês, toda a minha admiração e respeito! Obrigada por cumprirem tão bem o papel de irmãos, com plenas demonstrações de amizade, carinho e amor. Um obrigado mais que especial a minha irmã, por quem eu cultivo extensa admiração, em quem eu encontro toda a minha força e sabedoria para enfrentar a vida e superar os momentos difíceis. Sem vocês não sou nada!

Aos meus avós, **Lino e Eunice**, toda a minha gratidão pelo amor incondicional e confiança em mim depositados. Sempre, como muita alegria, vocês completaram a minha vida de uma maneira única, e com certeza inesquecível. Amo vocês!

Aos meus cunhados, **José Sonni e Edilene Pini**, pela presença constante em minha vida. Vocês são verdadeiros irmãos! Obrigada por partilhar a sua vida com a minha família e, com certeza, fazê-la muito mais feliz!

As minhas sobrinhas, **Júlia e Geovana**, pela leveza que dão a minha vida pelo simples fato de existirem! A tia sente muito a falta de vocês!

Aos meus tios, **Gilmar e Marilete**, que nunca mediram esforços para se fazer presentes sempre que precisamos, driblando até mesmo a distância que nos separa. Obrigada pela presteza nos momentos difíceis e também por serem as pessoas maravilhosas que são.

Agradecimentos

Ao meu namorado...

A você, **Daniel**, pelo sentimento que compartilhamos e pela presença constante nos meus momentos aqui em Piracicaba, ajudando no que fosse preciso. Com certeza essa caminhada ficou muito mais agradável depois que lhe conheci. Sou extremamente feliz por tê-lo junto comigo, como meu companheiro, meu amigo e meu amor!

Aos seus pais, **Renato e Daisy**, por me acolherem de maneira única! Vocês são verdadeiros presentes em minha vida, por me enriquecerem com seus valores e ideais, constituindo, assim, grandes exemplos a serem seguidos, seja como profissionais, pessoas ou família!

Aos meus amigos...

...da graduação para sempre

À **Juliana Nagata** pela convivência desde os tempos da graduação e principalmente agora, ao morarmos juntas. Sem palavras para expressar o quanto a sua presença foi importante esses anos. Compartilhamos nossos medos e anseios, nossas frustrações e alegrias, nossa ansiedade na conclusão dos objetivos propostos, e, no meio de tantas emoções, você foi muito mais que uma grande amiga, foi meu alento, meu suporte! Sem palavras para expressar o quanto te admiro por ser essa amiga maravilhosa que é em todos os sentidos!

Às sempre presentes **Christine Men, Mariana Nagata e Cristiane Schutz**, que desde a graduação me acompanham, torcem e vibram por mim a cada passo, a cada degrau que alcanço. Ainda que distantes, sabemos que podemos contar umas com as outras, e que, independente dos rumos que os nossos caminhos tomem, eles sempre vão se cruzar, pois vocês são as amigas mais preciosas que eu poderia ter encontrado. Vocês fazem MUITA falta!

Aos amigos, **Eduardo Muncinelli, Wesley Ferrari, Camila Fracalossi e Maria Fenanda Vianna**, pelo companheirismo, torcida e preocupação constante comigo aqui em Piracicaba... por serem os amigos brilhantes que são, merecem ser lembrados nesse dia tão especial!

Aos meus amigos...

...de Piracicaba para qualquer lugar

À **Tereza Pedrosa**, a Terez! Uma amizade que, assim como surgiu de maneira bastante inesperada, se tornou forte de maneira surpreendente! Você é uma pessoa maravilhosa e me sinto honrada por hoje tê-la como amiga. Te admiro muito pela

sua sinceridade, honestidade e dedicação, que cativa, agracia a nossa convivência e a torna uma pessoa muito importante e especial na minha vida!

À **Thatiana de Vicente Leite**, um verdadeiro presente durante esses anos! Sem palavras para lhe agradecer a amizade verdadeira que você me dedica, as palavras de apoio quando preciso e a presença firme, seja nos momentos de alegria ou de tristeza! Obrigada por me receber em sua vida e, principalmente, por me deixar fazer parte dela!

Às meninas **Caroline Odo, Mabelle Monteiro, Cindy Goes, Izabella Pereira, Larissa Rezende, Pamela Saporski, Carol Ventura e Thais Mageste**, amigas que com certeza serão para a vida toda! A presença de vocês faz toda diferença no meu dia a dia, isso porque são pessoas incríveis, pelas quais tenho muito orgulho por integrarem meu círculo de amizades. Cada uma, em sua singularidade, completa a minha vida, pois sei que sempre posso contar com a amizade de vocês!

Aos meus amigos...

...da Pós-Graduação para a vida

À **Juliana Públio** por dividir a sua orientadora comigo de maneira tão paciente e por ser essa pessoa diferenciada pela sua simplicidade, o que a torna mais que especial! Nossa amizade surgiu em um momento de adversidade, e talvez por isso ela seja tão verdadeira, tão sutil e aconchegante! Obrigada Jú por sempre estar disposta a me ajudar, e, no que precisar, pode contar comigo!

Aos amigos da turma de mestrado pela intensa convivência durante esses anos e pela partilha de sonhos, anseios e conhecimentos... Alguns em especial: **Maria Jordão, Day Oliveira, Erick Coppini, Henrique Vieira e Alan Palialol**.

A **Cecília Giorgi, Livia Aguilera, Lucinha Trazzi, Cintia Araújo, Bia D`Arce, Marina DiFrancescatônio e Anderson Catelan**, e todos os demais amigos do doutorado, pela ótima companhia nesta jornada!

Ao amigo **Diogo Miranda**, o maior animador da minha torcida! Obrigada pela confiança que depositou em mim, pela oportunidade de lhe conhecer melhor e por dividir sua alegria de viver comigo! Torço muito por você!

Às alunas de iniciação científica, em especial, **Rafaela Costa**, pela disposição em ajudar, pela preocupação com o meu trabalho e principalmente por me permitirem ainda mais o exercício da pesquisa.

Aos meus amigos...

...voluntários do estudo

Aos amigos que, carinhosamente, aceitaram participar da pesquisa com o único objetivo de me ajudar e de enriquecer o meu trabalho, sem esperar nada em troca. Sem palavras para agradecer o que fizeram por mim, a prontidão e a paciência que tiveram para o que o estudo desse certo! Muito obrigada!

Aos mestres...

A minha eterna orientadora, **Renata Corrêa Pascotto**. A senhora com certeza foi e será sempre um grande exemplo a seguir. Se a docência é hoje um dos meus sonhos, com certeza ele foi construído a partir da convivência e aprendizado que tive e tenho a honra de ter com a senhora. Agradeço pelo incentivo, tanto à prática clínica quanto ao aperfeiçoamento científico, que culminou com o meu projeto de pós-graduação. Obrigada pelas oportunidades e pelo constante apoio. À senhora, toda a minha admiração e respeito!

Aos professores **Luis Alexandre Maffei Sartini Paulillo**, **Giselle Maria Marchi** e **Américo Bortolazzo Correr**, pela atenção e conhecimento dispensados no exame de qualificação.

Aos demais professores da Área de Dentística, **Luis Roberto Marcondes Martins** e **Marcelo Giannini**, pela convivência diária e pelo conhecimento transmitido.

Ao professor **Renato Herman Sundfeld** pela constante inspiração em adentrar e prosseguir com essa linha de pesquisa, que hoje é mais que um projeto, uma verdadeira paixão!

À professora **Gláucia Maria Bovi Ambrosano** pela paciência e prontidão em compartilhar os conhecimentos de estatística.

Ao professor **Lourenço Correr Sobrinho** pelo apoio e suporte no para o uso dos equipamentos do laboratório da Área de Materiais Dentários.

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba

Tudo que vem junto com este título, todos os sentimentos e conquistas, foram possíveis, em grande parte, devido a esta instituição, que, como um todo, me acolheu de maneira singular, rendendo-me de orgulho com o fato de que, agora, também levarei seu nome comigo! Professores, funcionários, alunos... Muito obrigada!

À **Faculdade de Odontologia de Piracicaba** da **Universidade de Campinas**, na pessoa de seu diretor, Prof. Dr. Jacks Jorge Júnior.

À **Coordenadoria Geral da Pós-Graduação** da FOP/ÚNICAMP, em nome da Prof. Dra. Renata Cunha Matheus Rodrigues Garcia e da secretária Érica Alessandra Pinho Sinhoreti, por toda atenção dispensada.

Ao **Coordenador de Pós-Graduação** em Clínica Odontológica da FOP/UNICAMP, Prof. Dr. Márcio de Moraes.

A secretária da Área de Dentística e amiga, **Mônica Barnabé**, que, com muito carinho e paciência, está sempre pronta para ajudar no que for preciso.

Ao engenheiro **Marcos**, Área de Materiais Dentários, pela prontidão em sempre solucionar as surpresas da pesquisa!

Aos biólogos **Adriano Martins** e **Eliene Nervaes** por todo apoio e suporte para o uso dos microscópios.

As **turmas de graduação**, por me permitirem exercitar o aprendizado, e, dessa forma, capacitar ainda mais o meu exercício de cirurgiã dentista!

Aos órgãos de fomento **CAPES** e **FAPESP** pela concessão da bolsa e auxílio para desenvolvimento da pesquisa.

A todos que contribuíram para a realização deste projeto... Muito Obrigada!

RESUMO

Objetivo: Avaliar, *in vitro*, a influência dos ácidos utilizados para microabrasão e, *in situ*, o efeito do tempo de contato com a saliva na microdureza e morfologia do esmalte abrasionado. **Metodologia:** *In vitro*: Setenta blocos dentais bovinos foram divididos em 7 grupos (n=10). Os grupos experimentais foram tratados com aplicação ativa/passiva dos ácidos H₃PO₄ 35% (E1/E2) ou HCl 6,6% (E3/E4); e controles, tratados com microabrasão com H₃PO₄+pedra-pomes (C5), HCl+silica (C6) ou nenhum tratamento (C7). *In situ*: Nove grupos (n=19) de blocos dentais bovinos foram divididos de acordo com o tratamento e o tempo de exposição salivar, sendo 4 grupos tratados com H₃PO₄+pedra-pomes, 4 com HCl+silica e 1 grupo controle. Os grupos tratados foram subdivididos em: sem exposição salivar, 1 hora, 24 horas ou 7 dias de exposição em ambiente intrabucal. A microdureza superficial (SMH) foi avaliada antes e após a microabrasão, e após exposição salivar (*in situ*). A microdureza subsuperficial (CSMH – 10, 25, 50 e 75 µm) foi analisada após a microabrasão (*in vitro*) e após a exposição salivar (*in situ*). Espécimes representativos foram selecionados para a avaliação da morfologia do esmalte por meio da microscopia confocal de varredura a laser (MCVL - *in vitro*) e por microscopia eletrônica de varredura (MEV - *in situ*). Para a análise estatística foi realizada análise de variância para medidas repetidas (Proc Mixed), e os testes de Tukey-Kramer e Dunnet (SMH) e ANOVA (parcelas subdivididas) e Tukey-Kramer (CSMH – *in situ*) (p<0.05). **Resultados:** *In vitro*: Não foram encontradas diferenças entre as análises pré e pós-microabrasão entre os grupos controles para SMH. Entre os grupos experimentais, a aplicação ativa demonstrou os maiores valores de SMH, sem diferença entre os ácidos, com a mesma forma de aplicação. A maioria dos grupos apresentou redução do valor de CSMH conforme aumento da profundidade, com diferenças entre os grupos com microabrasão (C5 e C6) e o C7; e entre todos os grupos experimentais e o C7. Comparando a aplicação dos ácidos, a aplicação ativa do H₃PO₄ (E1) mostrou maior CSMH com diferença estatística em relação ao HCl (E3). A MCVL demonstrou diferentes

padrões de condicionamento para cada grupo. *In situ*: Para as análises de SMH, todos os grupos tratados apresentaram redução na microdureza, com diferenças em relação ao controle e a leitura inicial. Após exposição salivar, os resultados demonstraram que o tratamento com HCl+sílica foi mais propenso à remineralização, já que, com 1 hora foi verificado aumento na SMH, com diferença significativa em relação à análise pós-microabrasão. Apenas o tratamento com HCl+sílica foi eficiente em reestabelecer tal propriedade em relação ao controle. A análise de CSMH confirmou a maior capacidade de remineralização do esmalte tratado com HCl+sílica, uma vez que após 7 dias de exposição salivar, os valores de microdureza foram restabelecidos para as camadas mais superficiais do esmalte (10 e 25 μm). A MEV demonstrou o efeito remineralizador da saliva para ambos os tratamentos. **Conclusões:** Os ácidos utilizados para microabrasão apresentaram alto poder erosivo quando aplicados individualmente. O tratamento com HCl+sílica resultou em uma superfície de esmalte mais propensa à remineralização.

Palavras-chave: Microabrasão do esmalte, microdureza, saliva, microscopia.

ABSTRACT

Objective: To evaluate, *in vitro*, the effect of acids used in microabrasion on enamel microhardness, and, *in situ*, the effects of remineralizing time on enamel surface after microabrasion. **Methods:** *In vitro*: Seven groups (n=10) of enamel blocks from bovine incisors were divided in: Experimental groups treated by active/passive application of 35% H₃PO₄ (E1/E2) or 6.6% HCl (E3/E4); and control groups treated by microabrasion with H₃PO₄+pumice (C5), HCl+silica (C6), or no treatment (C7). *In situ*: Nine groups (n=19) of same specimens were divided in according to microabrasion and salivary exposition being 1 control (no treatment) and 4 groups with microabrasion using 35% H₃PO₄+pumice and 4 groups using 6.6% +silica. One group of each treatment was submitted to 4 frames of salivary exposition, being without exposition and with 1 hour, 24 hours or 7 days of presence on *in situ* regimen. Surface microhardness (SMH) was evaluated before and after microabrasion, and after salivary exposition (*in situ*). Cross-sectional microhardness (CSMH) was analyzed after microabrasion (*in vitro*) and after salivary exposition (*in situ*). For confocal laser scanning microscopy (CLSM - *in vitro*) and scanning electron microscopy (SEM - *in situ*), representative specimens group were selected. Statistical analysis used Proc Mixed, Tukey-Kramer and Dunnet tests (SMH) e ANOVA (subdivided parcels) and Tukey-Kramer tests (CSMH – *in situ*) (p<0.05). **Results:** *In vitro*: For SMH, it was not found statistically differences between the control groups after treatment. Active application resulted in significantly higher microhardness results than passive application, with no difference between acids. For most groups, the CSMH decreased as the depth increased, with differences between the groups treated with microabrasion (C5 and C6) and C7; and between all of experimental groups and C7. A significantly higher mean CSMH result was obtained with active application of H₃PO₄ compared to HCl. CLSM revealed the conditioning pattern for each group. *In situ*: For SMH, the groups treated with microabrasion presented reducing in mineral content, with

statistical difference in relation to the control and to the initial analysis. The treatment HCl+silica presented lower reduction and was statistically different from the treatment with H₃PO₄+pumice. After salivary exposition SMH results revealed that surface treated with HCl+silica was more prone to remineralizing effect of saliva, once it was verified since with 1 hour of presence in *in situ* regimen, with significant differences between the treatments after 7 days of salivary exposition. Just for SMH, the HCl+silica reached values obtained in control group. CSMH analysis showed that 7 days of salivary exposition were efficient in reestablish de values for the outer layers (10 e 25 µm) of enamel treated with HCl+silica. SEM analysis presented the remineralizing effect in the course of the time.

Conclusions: Acids used for enamel microabrasion presented a higher erosive action when solely applied. Data suggested that enamel surface treated with HCl+silica presented more susceptibility for remineralizing action of saliva than that treated with phosphoric acid and pumice.

Keywords: Enamel microabrasion, saliva, microscopy.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	1
CAPÍTULO 1 - Effects of acids used in the microabrasion technique: microhardness and confocal microscopy analysis.....	6
CAPÍTULO 2 - <i>In situ</i> investigation of remineralizing time on tooth enamel following microabrasion treatments.....	23
CONCLUSÃO.....	45
REFERÊNCIAS.....	47
APÊNDICE – Detalhamento das Metodologias.....	50
ANEXOS	
Anexo 1.....	75
Anexo 2.....	76

INTRODUÇÃO GERAL

A microabrasão é considerada uma técnica conservadora para a eliminação de manchas ou defeitos superficiais no esmalte dental (Loguercio et al., 2007a; Sundfeld et al., 2007b). O procedimento consiste na realização de desgaste no esmalte com auxílio de um agente abrasivo associado a um ácido, utilizando aplicação mecânica com micromotor de baixa velocidade (Mondelli et al., 1995; Schmidlin et al., 2003; Benbachir et al., 2007). Como vantagens, a técnica propicia a obtenção de resultados estéticos imediatos e permanentes com remoção de pequena quantidade de esmalte, quando comparada ao preparo cavitário para restaurações adesivas (Zuanon et al., 2006).

A indicação primordial para a técnica microabrasiva é para a remoção de defeitos e manchas que se atenham à superfície do esmalte (Marson et al., 2007; Sundfeld et al., 2007a). Tais indicações são de origem intrínseca, destacando-se, entre elas, a fluorose dental, amelogenese imperfeita e hipoplasia de esmalte (Lovadino et al., 1989; Sundfeld et al., (1995, 2002). A remoção de manchas brancas remineralizadas, comum em pacientes após o tratamento ortodôntico, também compreende uma indicação para a técnica (Sundfeld et al., 2007b). Há casos de pigmentação intrínseca ou extrínseca, em que a microabrasão pode ser indicada em associação com o clareamento dental (Sundfeld et al., (1995, 2007a, 2010); Murphy et al., 2007). Outra indicação da microabrasão é para a remoção de remanescentes de resina após a retirada do aparelho ortodôntico (Sundfeld et al., (2002, 2007b). Nesses casos, a associação da microabrasão à remoção de resina composta com pontas diamantadas se faz viável, uma vez que a microabrasão resulta em uma superfície lisa e polida, evitando as cicatrizes ou a permanência de resquícios dos materiais adesivos (Sundfeld et al., 2002).

A eficácia da microabrasão depende, entre outros fatores, da coloração, da localização e da profundidade da mancha ou do defeito do esmalte, pois a espessura deste varia conforme a região ou superfície do dente (Tong et al., 1993;

Zuanon et al., 2006). A profundidade da mancha é o fator determinante para a indicação da técnica (Allen et al., 2004; Ritter et al., 2005; Paic et al., 2008). Manchas muito profundas em esmalte, como as resultantes de hipoplasia, não são resolvidas com a microabrasão, sendo, nestes casos, necessário a realização de um tratamento restaurador (Ribeiro et al., 2005). Dessa forma, fica evidente a necessidade de se estabelecer um correto diagnóstico para o planejamento e sucesso do caso clínico (Lovadino et al., 1989; Silva et al., 2000; Catelan et al., 2012).

A técnica de microabrasão foi proposta, inicialmente, utilizando ácido clorídrico 36% (Croll & Cavanaugh, 1986; Croll, 1989), aplicado com a utilização de calor, por meio de instrumento metálico aquecido em sua extremidade, sobre as superfícies dos dentes afetados ou do aquecimento direto dos dentes com lã de vidro, com a finalidade de aumentar o poder de penetração do ácido na estrutura dental (McCloskey, 1984; Croll & Cavanaugh, 1986; Croll, 1989) e acelerar a reação química que propiciava a dissolução da superfície manchada (Mondelli et al., 1995). Croll & Cavanaugh (1986) propuseram a utilização de ácido clorídrico a 18%, considerado erosivo nessa concentração (Sundfeld et al., 2007), associado à pedra-pomes como abrasivo. Kamp (1989) propôs a substituição do ácido clorídrico pelo ácido fosfórico a 37% na mistura microabrasiva. Essa associação, em forma de pasta, se apresenta como alternativa viável aos profissionais, por serem produtos de fácil acesso e também de uso rotineiro em outros procedimentos odontológicos (Mondelli et al., 1995). Ainda, o ácido clorídrico vem sendo utilizado em menores concentrações associado ao abrasivo carbeto de silício (Zuanon et al., 2006; Sundfeld et al., 2007a) em formulações comerciais.

O efeito que mais corrobora o sucesso clínico da técnica foi denominado “Efeito Abrasão” (Donly et al., 1992; Croll & Segura, 1996; Croll, 1997), ao qual se relacionam a lisura e brilho no esmalte conseguido pela técnica, que se acentuam com o passar do tempo (Loguercio et al., 2007; Sundfeld et al., 2007). Tal efeito foi explicado devido à possível alteração da camada mais

superficial do esmalte (aprismática), em que parte da estrutura defeituosa é removida e uma grande porção mineral é compactada sobre a superfície, resultando em uma camada prismática, densa e polida, que apresenta graus de reflexão e refração da luz diferentes de uma superfície que não foi tratada, a qual seria responsável pela camuflagem de manchas da camada superficial. A hidratação com a saliva favorece ainda mais esse fenômeno óptico (Donly et al., 1992; Schmidlin et al., 2003). Outro benefício oriundo da microabrasão, é que a superfície tratada se apresenta mais resistente à colonização bacteriana e aos desafios ácidos advindos da placa dental (Segura et al., 1997), ou até mesmo ao condicionamento ácido necessário para restaurações adesivas (Hoeppner et al., 2010), se comparado ao esmalte não tratado com a técnica.

Apesar dos bons resultados clínicos que vêm sendo obtidos com a microabrasão (Sundfeld et al., 2007a), há pouca informação sobre a quantidade de perda mineral ocasionada pela realização da técnica, em detrimento da ação desmineralizante dos ácidos empregados, da ação abrasiva e da combinação de tais efeitos. Estudos mostram que a perda de estrutura de esmalte é maior pela microabrasão, quando comparada às técnicas de clareamento, uma vez que ácidos são utilizados (Tong et al., 1993). No entanto, a perda mineral eventualmente ocasionada na superfície dental, pela microabrasão ou por outros fatores, pode ser restituída pela ação da saliva, que contém em sua composição cálcio e fosfato, entre outros, que são agentes protetores do esmalte e da dentina (Ribeiro et al., 2006; Grazziotin et al., 2011; De Vasconcelos et al., 2012;). A ação coadjuvante do flúor à saliva também é um artifício potencializador da remineralização do esmalte, frente aos desafios ácidos (Paes Leme et al., 2004).

A fim de quantificar alterações nas propriedades físicas da estrutura dental, testes de microdureza e rugosidade, que se correlacionam com a avaliação de perda mineral do esmalte, são comumente empregados (Paic et al. 2008; Delben et al., 2009; Attin et al., 2009; Schlueter et al., 2011; Gonzalez-Cabezas et al., 2012). Estudos mostram que as técnicas de microabrasão não resultam em alterações significativas de microdureza, mas provocam aumento significativo na

rugosidade do esmalte (Fragoso et al., 2011; Bertoldo et al., 2011), sendo ainda desconhecido os efeitos da técnica na camada subsuperficial do esmalte após a microabrasão. Tais estudos também avaliaram, *in vitro*, a propriedade de remineralização do esmalte microabrasionado, utilizando saliva artificial (Fragoso et al., 2011; Bertoldo et al., 2011). No entanto, a literatura carece de estudos que relacionem os efeitos da saliva sobre o esmalte após diferentes técnicas de microabrasão, como possível em um regime de estudo *in situ*.

Avaliações histológicas em microscopia têm mostrado que, após a microabrasão, a superfície de esmalte aparece como uma camada desprovida da sua morfologia natural aprismática, como efeito resultante da técnica (Donly et al., 1992). A análise superficial do esmalte é possível de ser realizada por meio da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). O método permite a caracterização microestrutural do esmalte (Ferreira et al., 2011) em diferentes tamanhos, podendo, dessa forma, ser caracterizado o efeito de diferentes substâncias, como os agentes microabrasivos, sobre a morfologia do esmalte dental. De acordo com alguns estudos (Maireles et al., 2009; Fragoso et al., 2011), a microabrasão com ácido fosfórico ou clorídrico associado aos abrasivos pedra-pomes ou sílica, respectivamente, resultam em características superficiais semelhantes às aquelas visualizadas no esmalte após o condicionamento com ácido fosfórico e clorídrico, respectivamente, sendo que o tratamento de microabrasão com este ácido resulta em desmineralização acentuada com evidência dos espaços interprismáticos (Tong et al., 1993; Paic et al., 2008).

A Microscopia Confocal de Varredura a Laser (MCVL) é também um método eficaz para a avaliação dos efeitos da microabrasão, visto que permite uma avaliação qualitativa da extensão e profundidade da desmineralização do esmalte (Paris et al., 2009; Behamn et al., 2010). Esta técnica microscópica proporciona análises de espécimes dispensando procedimentos como desidratação, embebição e fixação dos mesmos. Assim, a arquitetura e organização estrutural do corpo de prova são mantidas, e por meio de diferentes profundidades de foco, os detalhes da amostra podem ser visualizados de

maneira tridimensional (Arends & Bosch, 1993; Watson, 1997). Estudos recentes vêm utilizando esta metodologia para avaliar a profundidade de desmineralização do esmalte em lesões de cárie (Paris et al., 2009; Behnan et al., 2010; Meyer-Lueckel et al., 2011). Entretanto, não há na literatura estudos que avaliem se a técnica de microabrasão seria capaz de levar a uma desmineralização do esmalte em profundidade, uma vez que substâncias ácidas são utilizadas.

Considerando a importância da técnica de microabrasão, como tratamento estético conservador, e a manutenção das propriedades físicas do esmalte após este procedimento (Paic et al., 2008), este estudo teve como objetivo avaliar, *in vitro*, a influência dos ácidos utilizados para a microabrasão na dureza superficial e de subsuperfície do esmalte. Ainda, foi avaliado, *in situ*, o efeito da saliva no esmalte abrasionado em diferentes tempos.

Effects of acids used in the microabrasion technique: microhardness and confocal microscopy analysis

ABSTRACT

Aims: This study evaluated the effects of the acids, with different applications, used in the microabrasion technique on the enamel microhardness and morphology. **Methods:** Seventy enamel/dentine blocks (25 mm²) from bovine incisors were divided into 7 groups ($n = 10$). Experimental groups were treated by active/passive application of 35% H₃PO₄ (E1/E2) or 6.6% HCl (E3/E4). Control groups were treated by microabrasion with H₃PO₄+pumice (C5), HCl+silica (C6), or no treatment (C7). The superficial (SMH) and cross-sectional microhardness (CSMH; depths of 10, 25, 50, and 75 μm) of enamel were analyzed. Enamel morphology was evaluated by confocal laser-scanning microscopy (CLSM). Data were analyzed by variance analysis of repeated-measures (PROC MIXED), Tukey, and Dunnett tests ($\alpha = 5\%$). **Results:** For the control groups, SMH was statistically different after treatment only for C5. Active application (E1 and E3) resulted in significantly higher microhardness results than passive application (E2 and E4), with no difference between acids. For most groups, the CSMH decreased as the depth increased. The CSMH results of the microabrasion groups (C5 and C6) were significantly lower than the CSMH of the untreated control (C7). All experimental groups showed significantly reduced CSMH values compared to the control groups. A significantly higher mean CSMH result was obtained with the active application of H₃PO₄ (E1) compared to HCl (E3). Passive application did not result in CSMH differences between acids. CLSM revealed differences in the conditioning pattern for each group. **Conclusion:** Although the acids displayed an erosive action, use of microabrasion with an acid led to less damage to the enamel layers.

Keywords: enamel microabrasion, enamel microhardness, confocal laser scanning microscopy.

INTRODUCTION

Enamel microabrasion involves the application of an abrasive coupled with an acid to the affected area. This process allows the outer layer of enamel and, consequently, the stain to be removed through the association between the erosive and abrasive effects¹⁻⁴. This technique is used to treat intrinsic stains, such as fluorosis spots⁵, inactive white spots due to demineralization⁴, and localized hypoplasia⁶. The success of the technique depends on the depth of the stained enamel^{1,6,7}. In general, microabrasion seems to be more efficient when the spots are located on the outermost layers of the dental enamel^{6,8}.

The microabrasion technique has been modified over the years. Initially, the procedure was performed with 36% hydrochloric acid⁹ (HCl), a concentration considered erosive and toxic⁴. Heat was applied by a metallic instrument to increase the acid diffusion in the dental structure⁹. Croll and Cavanaugh⁹ (1986) proposed the mechanical application of a lower concentration of the same acid (18% HCl) in association with pumice as an abrasive. This concentration of acid was able to decalcify the enamel and the stain contained within it. The application of pumice as an abrasive agent with HCl increased the loss of enamel¹⁰. In 1989, it was proposed the use of phosphoric acid (H₃PO₄) under the same conditions as an efficient technique for enamel microabrasion¹¹. Currently used microabrasive mixtures include 6% HCl in association with silicon carbide in a commercial presentation and 35% H₃PO₄ together with pumice as an accessible combination⁴, with mechanical application by low-speed rotation^{4,5,12,13}. These protocols employ lower concentrations of HCl and H₃PO₄ than have been used in previous protocols, and they use lower pH values, resulting in higher enamel erosion.

In 2008, Paic et al.¹⁴ reported that the use of pumice alone was not sufficient to remove the outer (stained) layer of enamel. This finding showed the importance of the acid in the microabrasion technique. They presumed that the

erosive action of the acid was the main factor in enamel removal¹⁰. Although studies have attempted to quantify the enamel alterations that are elicited by microabrasion^{1,3,10,14-16}, little is known about the effects of the acids that are used in this process on the superficial and deeper layers of enamel. Moreover, in addition to the type, concentration, and pH of the acid, other parameters affect the erosive potential during microabrasion, including the type of abrasive, time of instrumentation, application mode, and force applied¹⁴. Unfortunately, these important factors are poorly described in most studies^{3,10,14}.

To address these shortcomings in the literature, the purpose of the present study was to evaluate the effects of the acid used in the microabrasion technique on the morphology and the superficial and cross-sectional microhardness values (SMH and CSMH, respectively) of the enamel.

MATERIAL AND METHODS

Preparation of specimens

Seventy bovine incisor teeth were selected. After the coronary portion had been separated with a double-faced diamond disc (KG Sorensen, Ind. Com. Ltda.; Barueri, SP, Brazil), enamel blocks of 25 mm² were obtained with a precision saw (Isomet 1000; Buehler, Illinois, USA) and a high-concentration diamond disc (4" × 012 × ½, Buehler, Illinois, USA). To obtain flat and standardized enamel surfaces, the blocks were planned by using silicon carbide (SiC) papers of decreasing granulation, and the surfaces were polished in a circular polishing machine under water cooling with felts (TOP, RAM, and SUPRA - Arotec, Cotia; SP, Brazil) associated with a diamond paste (6, 3, and 1 µm granulation) and greased with a specific oil (Arotec, Cotia; SP, Brazil). Between the polishing steps and after the final polishing, all slabs were sonicated for 15 min in an ultrasonic bath (Marconi, Piracicaba, SP, Brazil), to remove any rubbish present on the enamel surface. The specimens were stored in distilled water at 37 °C until the beginning of the experiment.

Enamel surface treatment

The samples were divided into seven groups ($n = 10$) according to the microabrasive system or the acid used and its form of application.

Experimental groups:

- *E1*: Active application of 35% H_3PO_4 (Ultra Etch™ - Ultradent Products Inc, Utah, USA), performed with a low-rotation electric micromotor;
- *E2*: Passive application of 35% H_3PO_4 (Ultra Etch™ - Ultradent Products Inc, Utah, USA);
- *E3*: Active application of 6.6% HCl (Drogal, Piracicaba, SP, Brazil), performed with a low-rotation electric micromotor;
- *E4*: Passive application of 6.6% HCl (Drogal, Piracicaba, SP, Brazil).

Control groups:

- *C5*: Microabrasion with 35% H_3PO_4 (Ultra Etch™ – Ultradent Products Inc, Utah, USA) associated with pumice (SS White Ltda; Rio de Janeiro, RJ, Brazil), performed with a low-rotation electric micromotor (LB-2000, Beltec Indústria e Comércio de Equipamentos Odontológicos Ltda, São Paulo, SP, Brazil);
- *C6*: Microabrasion with 6.6% HCl associated with sílica (Opalustre™ – Ultradent Products Inc, Utah, USA), performed with a low-rotation electric micromotor (LB-2000, Beltec Indústria e Comércio de Equipamentos Odontológicos Ltda, São Paulo, SP, Brazil);
- *C7*: No treatment.

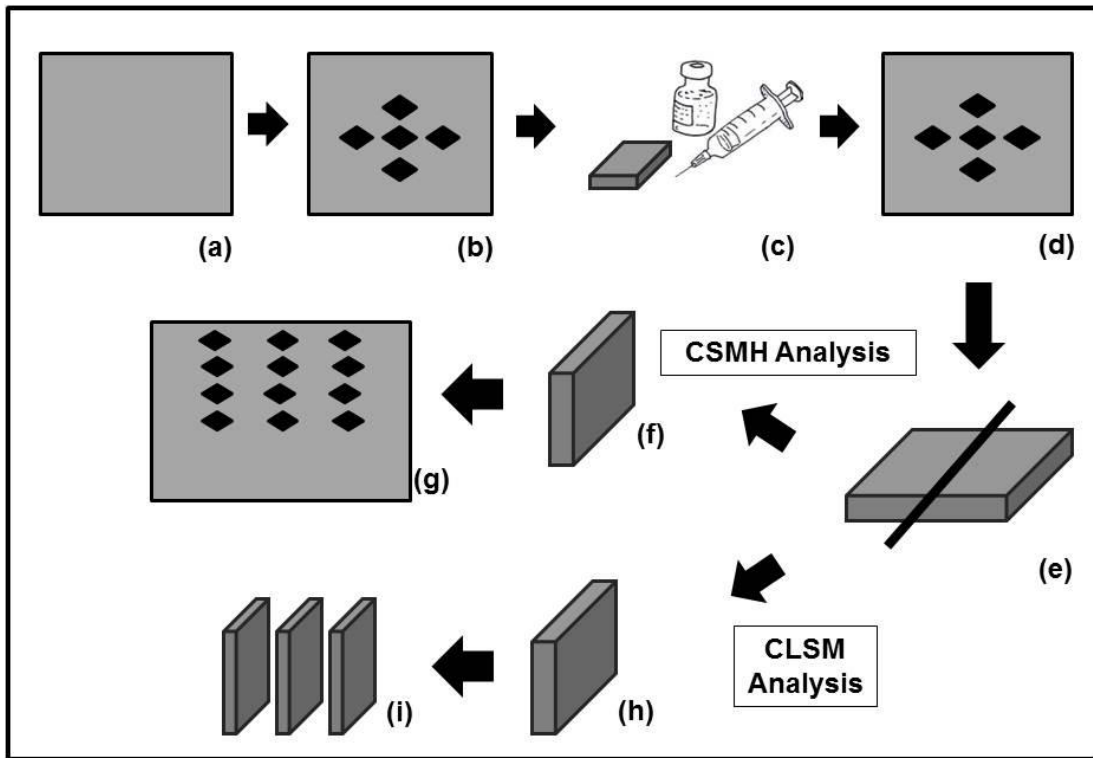
For the microabrasive system composed of H_3PO_4 and pumice (*C5*), equal parts of each component were measured with a dosage spoon (0.240 g) and mixed. All of the components were placed on the enamel surface with a syringe until the sample was covered; the amount required corresponded to 0.0200 g for the groups treated with acid and abrasive and 0.0150 g for the groups treated with acid only. All of the surface treatments were performed with 10 applications of 10 s

each. After each application, the enamel surface was rinsed and dried for 10 s with a dental sprayer and compressed air, respectively. The microabrasion treatment and active application of the acids were performed with a lower rotation micromotor with padronized rotation (nearly 12000 rpm). All of treatments were performed for the same operator.

Microhardness test

The Knoop surface microhardness (SMH) and cross-sectional microhardness (CSMH), at a load of 25 g with an indentation time of 10 s, of the enamel were determined with a microhardness tester (Shimadzu HMV-2000, Shimadzu Corp., Kyoto, Japan). The SMH was tested twice, before (initial) and after (final) the microabrasion procedure. For the SMH analysis, five indentations spaced 100 μm apart were made in the center of the enamel block. For the CSMH tests, the blocks were longitudinally sectioned through the center. One of the halves had its cut face exposed and gradually polished with SiC papers, felts, and diamond paste, as previously explained. Four rows of three indentations spaced 100 μm apart were made at 10, 25, 50, and 75 μm from the outer enamel surface. The length of each indentation was measured with an optical analysis system coupled with the microhardness tester. The mean values at all three measuring points at each distance from the surface were averaged (Figure 1).

Figure 1. Experimental design for SMH and CSMH analyses



(a) Sample; (b) SMH analysis before treatment (initial); (c) Surface treatment; (d) SMH analysis after treatment (final); (e) Longitudinal section of the sample; (f) Polishing of the cut surface of the sample; (g) CSMH analysis; (h and i) Preparations of slices for CSLM analysis.

Confocal laser-scanning microscopy (CLSM)

Slices were obtained from the other half of the cut samples that were not used for the CSMH analysis (Figure 1). These slices were polished with SiC papers of decreasing granulation, surface-polished with felts (TOP, RAM, and SUPRA - Arotec, Cotia; SP, Brazil) associated with a diamond paste of decreasing granulation (6, 3, and 1 μm , respectively), and greased with a specific oil (Arotec, Cotia; SP, Brazil). This process resulted in 0.3- μm -thick slices. The specimens were washed for 15 min in an ultrasonic tub (Marconi, Piracicaba, São Paulo, Brazil) between each of these procedures and after the final polishing step.

For CLSM analysis, the specimens were stored in freshly prepared 0.1 mM rhodamine B (Aldrich Chem. Co., Milwaukee, Wisc., USA) for 1 h, without further rinsing^{17,24}. They were examined with a Leica TCS SP2-SE microscope (Leica Microsystems GmbH, Manheim, Germany) in fluorescent mode. A HeNe 543 gas laser was used as the light source. The intensity of the excitation light and the amplification of the photomultiplier were kept constant during the investigation period. The detected light was conducted through a 543-nm long-pass filter; thus, the emitted fluorescent light was discriminated from the reflected and the scattered light. The visualized layer was selected 10 μm below the sample surface, and images were recorded with an oil immersion objective (40X, numerical aperture 1.25).

Statistical analysis

The data obtained were submitted to statistical analysis. After exploratory data analysis, PROC MIXED was used for repeated measures, followed by the Tukey-Kramer and Dunnett tests. The significance level was 5%.

RESULTS

SMH analysis

The results of the SMH analysis are shown in Table 1. In relation to the control groups, the treatments with H_3PO_4 and pumice (C5) or HCl and silica (C6) did not result in significantly reduced enamel SMH means compared to the initial measurement and the group without treatment (C7). For the groups treated by active application of H_3PO_4 (E1) and HCl (E3), the SMH values were statistically different from those of all other groups; however, no differences in SMH between E1 and E3 were observed. Groups with the passive application of H_3PO_4 (E2) and HCl (E4) showed the lowest SMH results. The SMH values of E2 and E4 were significantly different compared to the experimental groups with active application and the control groups; however, no significant differences in SMH between E2 and E4 were observed.

Table 1. Results for Knoop surface microhardness (SMH) according to the treatment group (mean \pm SD, $n = 10$)

Groups	Controls	Acid	Aplication	Enamel Microhardness (μm)	
				Initial	Final
E1		H ₃ PO ₄	Active	479,60 (58.92) Aa	^{\$&*} 313,46 (55.70)Ba
E2			Passive	503,0 (55.57) Aa	^{\$&*} 118,3 (19.15) Bb
E3		HCl	Active	470,40(55.70) Aa	^{\$&*} 305,06 (52.58)Ba
E4			Passive	516,9 (59.89) Aa	^{\$&*} 134,01 (33.93)Bb
C5	H ₃ PO ₄ +Pumice			488,80 (47.94) A	451,76 (51.64)A
C6	HCl+Silica			485,60 (59.96) A	469,70 (55.30) A
C7	No treatment			457,10 (59.10)A	463,08 (55.93)A

There was not difference between the acids in relation to the type of application ($p=0,4986$). Means followed by different letters (uppercase in horizontal and lowercase in vertical comparing time within each category of microabrasion) differ ($p\leq 0.05$). * Differ from control with no treatment at the same time ($p\leq 0.05$). [&] Differ from HCl + silica at the same time ($p\leq 0,05$). ^{\$} Differ from H₃PO₄+Pumice at the same time ($p\leq 0.05$).

CSMH analysis

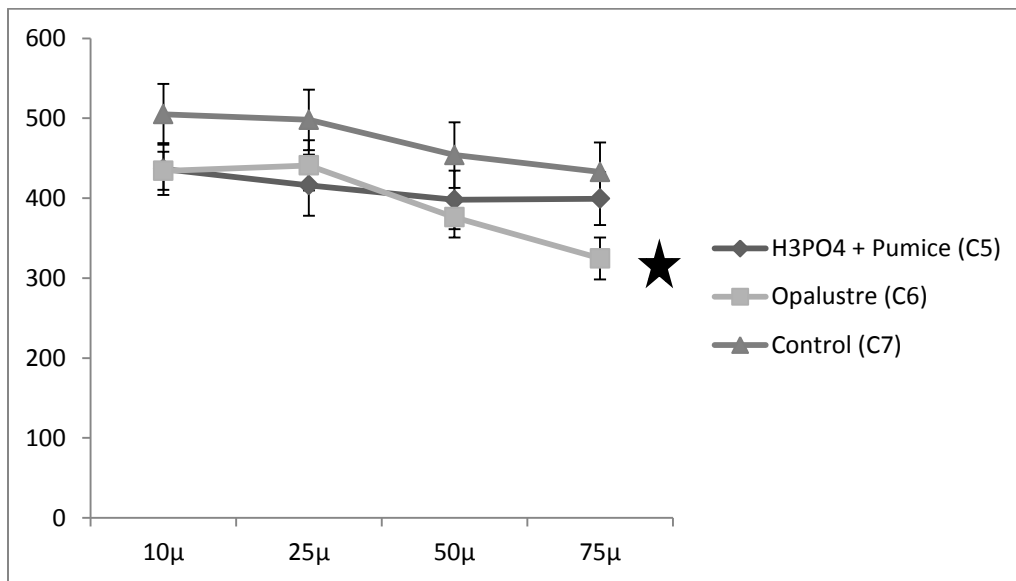
Figures 2 and 3 show the results of the CSMH analysis. The groups treated by microabrasive systems with acid, abrasive, and rotation (C5 and C6) showed reduced CSMH values in all of the deeper layers of the enamel (10, 25, 50, and 75 μm), with statistical differences compared to the group with no treatment (C7). The group treated with HCl and silica (C6) showed significantly lower CSMH values at 75 μm than the group treated with H₃PO₄ and pumice (C5) and the control without treatment (C7). In C5, no differences in CSMH between the analyzed depths were observed, whereas C6 showed differences in CSMH between the deeper layers (50 and 75 μm) and the superficial layers.

For the groups with active application of H₃PO₄ (E1) and HCl (E3), the mean CSMH was reduced in all of the enamel layers, with statistical differences compared to the control groups (C5, C6, and C7). In all of the layers analyzed, the reduction of CSMH was significantly higher with active application of H₃PO₄ compared to that of HCl. The groups with passive application presented significant

differences in CSMH compared to the controls, but no significant differences in CSMH between the acids were observed.

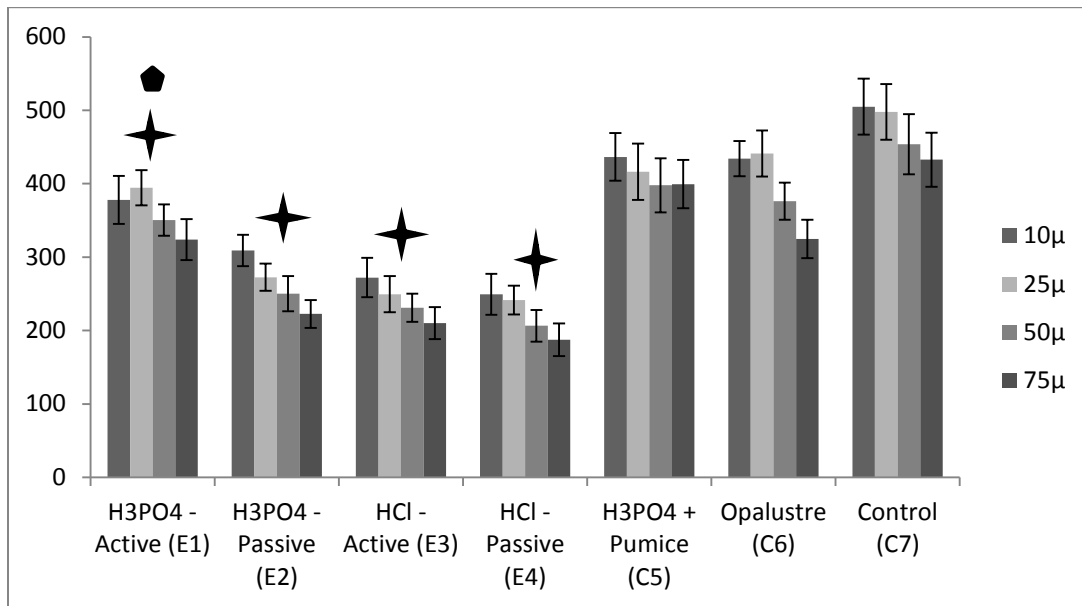
For both acids and application types (active/passive), there were significant differences in CSMH between the superficial and deeper layers. All of the mean CSMH values of experimental groups treated with HCL (E3 and E4) differed from those of the group treated with HCl and silica (C6). Similarly, the mean CSMH values of experimental groups treated with H₃PO₄ (E1 and E2) differed from that of the control treated with H₃PO₄ and pumice (C5). The experimental groups showed greater reduction of the CSMH as compared to the corresponding positive control group. All of experimental group treatments resulted in differences in CSMH compared to the control group without treatment (C7).

Figure 2: Mean Knoop cross-sectional microhardness (CSMH) values according to the treatment and distance (μm) from the surface for the control groups (bars denote SD, $n = 10$).



Stars, statistically different from H₃PO₄ + Pumice (C5) and from the control with no treatment (C7)

Figure 3: Mean Knoop cross-sectional microhardness (CSMH) according to the treatment and distance (μm) from the surface (bars denote SD, $n = 10$).

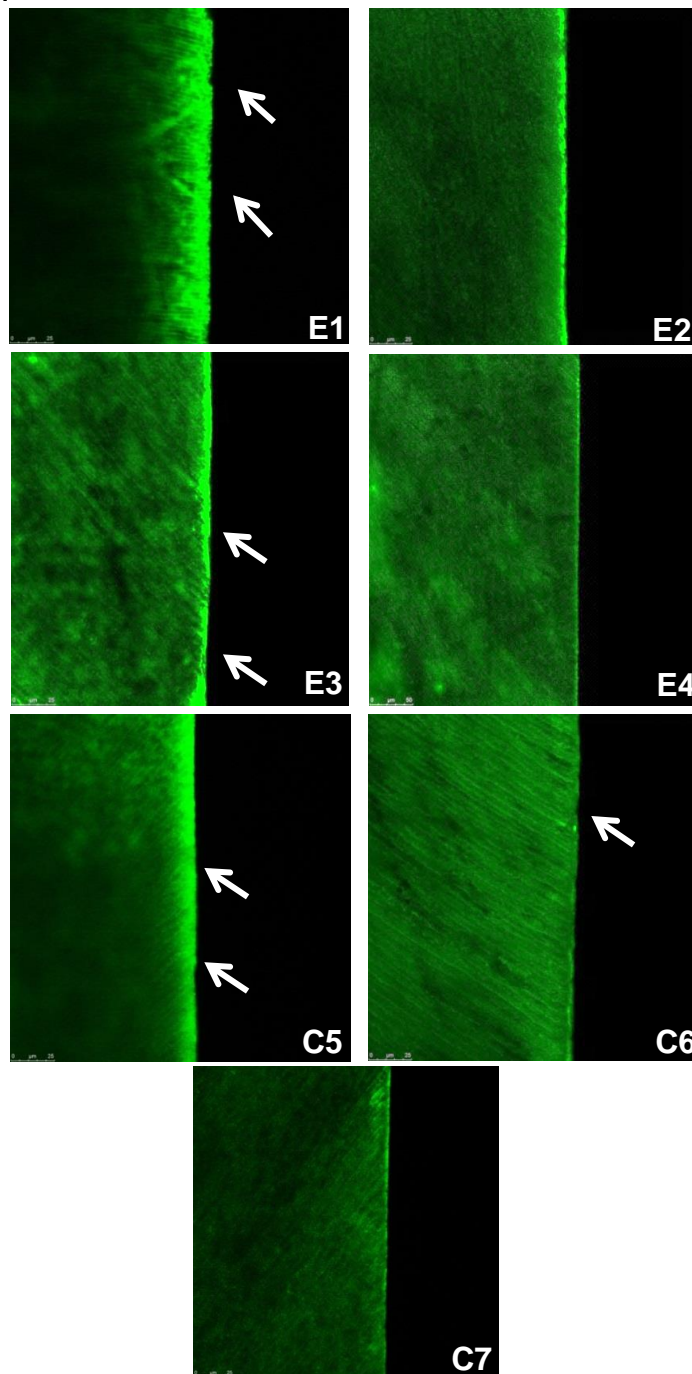


Star sign, significantly different compared to controls; Pentagon, significantly different compared to actively applied HCl.

Morphology analysis by CLSM

Figure 4 shows the results of the CLSM analysis. The subsurface structures remained unchanged after all of the treatments. All of the groups treated with acids or with microabrasive systems showed different surface conditioning patterns compared to the group without treatment (C7). In the case of the groups treated with microabrasive systems (H_3PO_4 + Pumice – C5 and HCl + Silica – C6), localized surface microwear was observed. Surface microwear was also seen in the groups with active application of H_3PO_4 (E1) and HCl (E3). CLSM images for the groups with passive application of H_3PO_4 (E2) and HCl (E4) showed transversal exposure of the enamel prisms, which was a result of the acid conditioning. The light-colored seam observed at the top of the specimens in almost all of the images demonstrated the light-reflecting properties of the uppermost surface regions of the enamel slabs. This effect might be due to a smear layer induced by surface polishing.

Figure 4: Representative images of the groups by confocal laser-scanning microscopy (CLSM).



E1 and E2: Groups treated with 35% H_3PO_4 and pumice with active and passive application, respectively; E3 and E4: Groups treated with 6.6% HCl with active and passive application, respectively; C5 and C6: Groups treated with microabrasion using 35% H_3PO_4 and pumice and HCl and silica, respectively. Images show points of localized surface microwear (active application groups) and transversal exposure of the enamel prisms (passive application groups).

DISCUSSION

No statistically significant difference was observed between the SMH results before and after enamel microabrasion with 35% H₃PO₄ and pumice (C5) or 6% HCl and silica (C6), as previously described^{1,15}. Studies have suggested the existence of an “abrosion effect”, whereby the erosive action of the acid couples with the abrasive action to compact the mineralized tissue within the organic area. Through this process, the outer layer of prism-rich enamel is replaced with a densely compacted, prism-free region^{4,5}, creating a fluorapatite-rich surface layer⁸. The Knoop CSMH means were significantly lower in all enamel layers in the positive control groups treated with microabrasion (C5 and C6) compared to the group with no treatment (C7). This finding demonstrates the erosive power of the acids. The only significant difference in CSMH means between the positive control groups (C5 and C6) was observed between the 75 µm layer from C5 and C6. This result reflects the higher erosive power of HCl compared to H₃PO₄ and its action in deep layers, which could be related to the lower pH value of HCl (-0.14) compared to H₃PO₄ (0.79)¹⁷.

The experimental groups with active application of H₃PO₄ (E1) and HCl (E3) showed significantly reduced SMH results compared to the control groups with (C5 and C6) and without (C7) treatment. This finding shows the importance of the presence of the abrasive agent for preventing the erosive action of the acids. At the same time, the combined use of abrasive and erosive actions is key^{1,4,5,15}, as studies have shown that the use of pumice alone is insufficient to remove the outer enamel layer¹⁴. The mean CSMH results progressively decreased with increasing depth, with differences between the acids. This finding was probably due to enamel topography, because enamel layers nearer to the dentin-enamel junction are more susceptible to demineralization than other layers^{18,19}.

For the experimental groups with active application, the CSMH results were lower for HCl (E3) than those for H₃PO₄ (E1), probably due to the lower pH of HCl¹⁷. Thus, the low pH values of both acids coupled with mechanical application (and, consequently, pressure) led to considerable enamel erosion^{17,20}. The groups

treated by passive application of the acids (E2 and E4) presented the lowest values of SMH (Table 1) and CSMH (Figure 3). In all of the enamel layers, the microhardness values in E2 and E4 were significantly different from those of the other experimental and control groups. This finding suggests that the use of mechanical application helps to guarantee the scattering and renovation of the acid on the enamel, without allowing the erosive substance to remain on the tooth surface for too long.

No significant differences were observed between the acids after passive application, consistent with previous findings that the use of 35% H₃PO₄ or 6.6% HCl does not result in differences with respect to mineral loss^{17,21}. With passive application, the lowest mean microhardness results were observed in the outermost layer (Table 1), indicating that the effect of the acid on the surface microhardness is stronger than that in the deeper layers. Similarly, Honório et al.²² (2010) stated that erosive demineralization is restricted to the surface until enamel loss from this surface occurs. Therefore, acids can reach the deepest layers of the enamel only after they cause changes in the surface. In the absence of mechanical application, the viscosity of the acidic gels retards their penetration into the enamel and, therefore, the erosion effect¹⁷.

The effect of the acids on enamel morphology was analyzed by CLSM. This microscopy technique can reveal the enamel ultrastructure through the light reflection and transmission properties of the dental structure. CLSM provides a tremendous complementary technique to surface observation^{17,23}, but it has limited sensitivity to detect lesions of less than approximately 15 µm in depth^{23,24}. Based on previous findings^{17,24,25}, rhodamine B fluorescent dye was used in this study because it can penetrate into the enamel voids created during demineralization²⁵.

The CLSM images showed that the subsurface enamel was unchanged after treatment with microabrasive systems or acids, but the experimental groups displayed differences in the structural changes. The CLSM images for groups with mechanical application showed evidence of potential microwears in the remaining surface, which were possibly the result of the use of an abrasive agent (C5 and

C6) or mechanical application (E1, E3, C5, and C6) during the treatment. Previous studies have also shown that increased pressure¹² and the presence of abrasive^{10,14} result in increased enamel loss. The images from the groups with passive application of the acids (E2 and E4) showed the transversal exposure of the enamel prism, which was possibly due to the diffusion of the acid through the enamel.

The clinical success of the microabrasion technique has been well-documented^{4-6,13}. As related in previous studies^{10,12,14} and in the present study, when planning the microabrasion procedure, the clinician should consider the effects of the technique on the enamel. Although there were no significant differences between the microabrasive systems used with respect to the enamel microhardness, when the acids were applied alone, both H₃PO₄ and HCl showed an erosive action that was able to reduce the mineral content of the tooth structure.

Overall, the results of this study showed that the preventive action of the abrasive was useful for preventing further damage to the dental enamel. Additional investigations of the proportion between the acid and abrasive agent in microabrasive systems should be performed. Such studies should focus on the development of an ideal system that allows the effective removal of the changed superficial enamel, while safety preserving the enamel characteristics in the deeper layers.

CONCLUSION

The results of this study verify the erosive power of H₃PO₄ and, especially, HCl. Compared to H₃PO₄, the active application of HCl resulted in significantly greater reductions in the microhardness results in the deeper enamel layers. The use of microabrasive systems containing acid and abrasive compounds combined with mechanical application can allow the efficient reduction of enamel damage in the superficial and deeper layers of the remaining enamel after treatment, thereby maintaining the enamel integrity as such as possible.

Acknowledgments

The authors acknowledge Droga Farmacêutica/Laboratório de Manipulação (Drugstore – Piracicaba/São Paulo) and the pharmaceuticals Mrs. Cristiane Melotto Pedro and Mrs. Priscila de Oliviera Cinto for obtaining of the hydrochloric acid formulation. This study was supported by FAPESP (Proc. 2011/004067-7).

REFERENCES

1. Fragoso LS, Lima DA, de Alexandre RS, Bertoldo CE, Aguiar FH & Lovadino JR. Evaluation of physical properties of enamel after microabrasion, polishing, and storage in artificial saliva. *Biomed Mater* 2011;6:035001.
2. Benbachir N, Ardu S & Krejci I. Indications and limits of the microabrasion technique. *Quintessence Int* 2007;38:811-815.
3. Schmidlin PR, Gohring TN, Schug J & Lutz F. Histological, morphological, profilometric and optical changes of human tooth enamel after microabrasion. *Am J Dent* 2003;16 Spec No:4A-8A.
4. Sundfeld RH, Croll TP, Briso AL, de Alexandre RS & Sundfeld Neto D. Considerations about enamel microabrasion after 18 years. *Am J Dent* 2007;20:67-72.
5. Croll TP. Enamel microabrasion: observations after 10 years. *J Am Dent Assoc* 1997;128 Suppl:45S-50S.
6. Wray A & Welbury R. UK National Clinical Guidelines in Paediatric Dentistry: Treatment of intrinsic discoloration in permanent anterior teeth in children and adolescents. *International journal of paediatric dentistry / the British Paedodontic Society [and] the International Association of Dentistry for Children* 2001;11:309-315.
7. Ardu S, Castioni NV, Benbachir N & Krejci I. Minimally invasive treatment of white spot enamel lesions. *Quintessence Int* 2007;38:633-636.
8. Hoepfner MG, Mauro SJ, Alexandre RS, Sundfeld ML & Sundfeld RH. Evaluation "in situ" of tag formation in dental enamel submitted to microabrasion

technique. Effect of two etching times. *Acta Odontol Latinoam: AOL* 2010;23:153-157.

9. Croll TP. Enamel microabrasion for removal of superficial discoloration. *J Esthetic Dent* 1989;1:14-20.

10. Zuanon AC, Santos-Pinto L, Azevedo ER & Lima LM. Primary tooth enamel loss after manual and mechanical microabrasion. *Pediatr Dent* 2008;30:420-423.

11. Kamp AA. Removal of white spot lesions by controlled acid-pumice abrasion. *J Clin Orthod: JCO* 1989;23:690-693.

12. Dalzell DP, Howes RI & Hubler PM. Microabrasion: effect of time, number of applications, and pressure on enamel loss. *Pediatr Dent* 1995;17:207-211.

13. Sundfeld RH, Rahal V, Croll TP, De Aalexandre RS & Briso AL. Enamel microabrasion followed by dental bleaching for patients after orthodontic treatment-
-case reports. *J Esthet Restor Dent* 2007;19:71-77.

14. Paic M, Sener B, Schug J & Schmidlin PR. Effects of microabrasion on substance loss, surface roughness, and colorimetric changes on enamel in vitro. *Quintessence Int* 2008;39:517-522.

15. Bertoldo CES FL, Lima DANL, Ambrosano GMB, Aguiar FHB, Lovadino JR. Evaluation of the effect of different methods of microabrasion and polishing on surface roughness of dental enamel. *Indian J Dent Res* 2013;In press:

16. Meireles SS, Andre Dde A, Leida FL, Bocangel JS & Demarco FF. Surface roughness and enamel loss with two microabrasion techniques. *J Contemp Dental Pract* 2009;10:58-65.

17. Meyer-Lueckel H, Paris S & Kielbassa AM. Surface layer erosion of natural caries lesions with phosphoric and hydrochloric acid gels in preparation for resin infiltration. *Caries Res* 2007;41:223-230.

18. Amizuka N UT, Nozawa-Inoue K, Kawano Y, Suzuki A, Li M, Nasu M, Kojima T, Sakagami N, Ozawa H, Maeda T Ultrastructural images of enamel tufts in human permanent teeth. *J Oral Biosci* 2005;57:

19. Avery JK. Oral development and histology. George Thieme Verlag. Artmed, 2005.

20. Magalhaes JG, Marimoto AR, Torres CR, Pagani C, Teixeira SC & Barcellos DC. Microhardness change of enamel due to bleaching with in-office bleaching gels of different acidity. *Acta Odontol Scand* 2012;70:122-126.
21. Wiegand A, Bliggenstorfer S, Magalhaes AC, Sener B & Attin T. Impact of the in situ formed salivary pellicle on enamel and dentine erosion induced by different acids. *Acta Odontol Scand* 2008;66:225-230.
22. Honorio HM, Rios D, Santos CF, Magalhaes AC, Delbem AC, Buzalaf MA, *et al.* Cross-sectional microhardness of human enamel subjected to erosive, cariogenic or combined erosive/cariogenic challenges. *Caries Res* 2010;44:29-32.
23. Gotz H, Duschner H, White DJ & Klukowska MA. Effects of elevated hydrogen peroxide 'strip' bleaching on surface and subsurface enamel including subsurface histomorphology, micro-chemical composition and fluorescence changes. *J Dent* 2007;35:457-466.
24. Behnan SM, Arruda AO, Gonzalez-Cabezas C, Sohn W & Peters MC. In-vitro evaluation of various treatments to prevent demineralization next to orthodontic brackets. *Am J Orthod Dent Orthop* 2010;138:712 e711-717.
25. Gonzalez-Cabezas C, Fontana M, Dunipace AJ, Li Y, Fischer GM, Proskin HM, *et al.* Measurement of enamel remineralization using microradiography and confocal microscopy. A correlational study. *Caries Res* 1998;32:385-392.

***In situ* investigation of salivary exposition time on tooth enamel following
microabrasion treatments**

Running title: Salivary effect on enamel after microabrasion

Clinical Relevance

The enamel surface treated with microabrasion using 6.6% hydrochloric acid and silica was more prone to remineralizing action of saliva in 7 days than the treatment with 35% phosphoric acid and pumice.

SUMMARY

Objective: This study examined the effect of remineralizing time on the enamel surface of teeth after various microabrasion techniques under in situ conditions. **Methods:** Enamel blocks (16 mm²), from bovine incisors, were divided into nine groups (n=19): G1, no treatment (control); G2, G3, G4 and G5, microabrasion with 35% phosphoric acid (H₃PO₄) and pumice without, 1 hour, 24 hours or 7 days of , respectively; G6, G7, G8 and G9, 6.6% hydrochloric acid (HCl) and silica without; 1 hour, 24 hours, and 7 days of saliva exposure, respectively. Nineteen volunteers wore a palatal appliance containing the blocks for 7 days. Enamel surface microhardness (SMH) and cross-sectional microhardness (CSMH) were tested before and after treatment, and after saliva exposure. Scanning electron microscopy (SEM) was used to qualitatively evaluate enamel morphology. SMH was analyzed variance analysis of repeated-measures (PROC MIXED), Tukey and Dunnet tests. CSMH was analyzed with ANOVA with subdivided parcels and tukey (p<0.05). **Results:** According to the SMH analysis, all the microabrasion-treated groups presented significantly reduced mineral content

compared to the control. Regarding saliva exposure, HCl+silica was more prone to the remineralizing effect of saliva, even in CSMH analysis, because saliva exposure efficiently reestablished the mean microhardness values for the most superficial layers. These results were confirmed by SEM, which presented the remineralizing effect over time. **Conclusion:** Enamel surface treated with 6.6% HCl and silica was more susceptible to the remineralizing action of saliva than that treated with H₃PO₄ and pumice.

Keywords: Enamel, microabrasion, microhardness, saliva.

INTRODUCTION

Enamel microabrasion is used to improve surface texture, remove superficial intrinsic stains, and repair enamel decalcifications and defects¹⁻⁴, leading to color and surface regularization of the tooth^{5, 6}. This technique is considered a conservative and esthetic treatment^{4, 7, 8} and consists of removing a thin layer of the superficial enamel with a combination of an acid and an abrasive⁹. Nowadays, the common products used are 35% phosphoric acid (H₃PO₄) with pumice and 6.6% hydrochloric acid (HCl) coupled with silica^{3, 4, 10}.

The type and concentration of the acid employed in the microabrasion technique play a role in the amount of enamel reduction¹¹. The acid component of the microabrasion system may cause mineral loss in the enamel surface¹¹⁻¹³. In addition, the abrasive component may increase mineral loss, which is characterized by tooth wear¹⁴⁻¹⁶. Moreover, the mechanical application recommended for the microabrasion technique can emphasize these effects. Enamel microhardness is a property that can be influenced by a combination of the abovementioned factors, as described in previous studies^{11, 14-18}. However, most of these studies have not considered the protective capacity of the oral environment due to the presence of saliva and its components.

In situ studies are considered as an intermediate between *in vitro* and *in vivo* studies because they allow some clinical variables to be controlled^{12, 19}. These

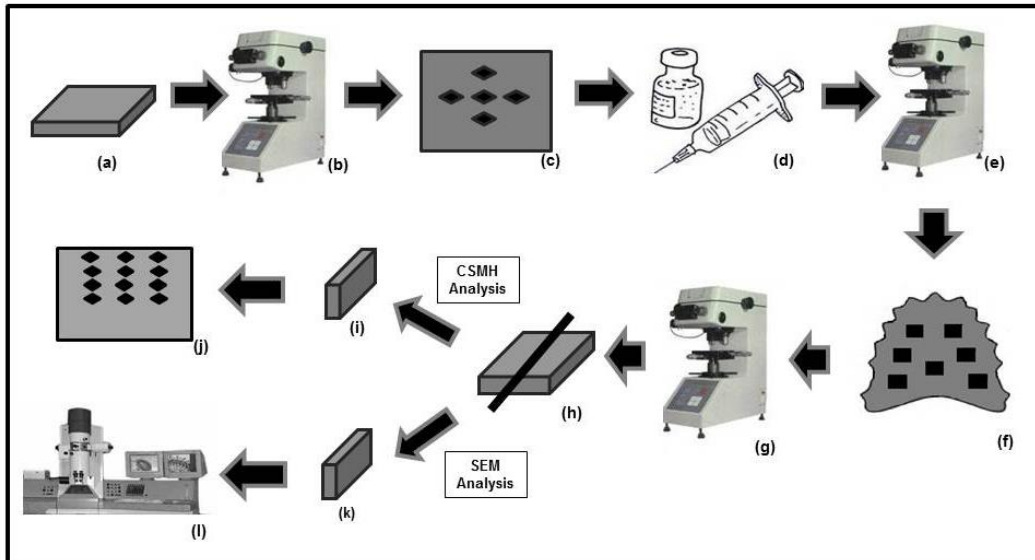
types of studies are important because saliva acts against the demineralization process and may be able to recover the slight mineral loss of enamel²⁰. The presence of fluoride in the oral environment is another factor that may cause remineralization of the enamel surface²¹. Besides the fluoride present in saliva, fluoride from toothpaste can prevent demineralization by forming a layer of calcium fluoride on the enamel surface^{12, 22}. Most investigations of enamel alterations due to the microabrasion technique have an *in vitro* design^{11, 15, 17, 18, 23} and have not considered the protective properties of the oral environment, mainly related to saliva¹⁴. Thus, an *in situ* model may simultaneously simulate intraoral events and standardize the experimental conditions^{12, 14}. Analysis of the enamel surface by microhardness determination is a very sensitive method to assess the mineral content level²⁴ at a specific site where most of the mineral exchanges are likely to occur in the de- or remineralization process of enamel.

It is unclear how much time is necessary for enamel to reestablish its natural properties after microabrasion with exposure to the oral environment. Therefore, the aim of this *in situ* study was to investigate the effects of different periods of saliva exposure on enamel treated with microabrasion techniques using two different agents.

MATERIAL AND METHODS

This *in situ* study was approved by the Research and Ethics Committee (037/2011), and all volunteers signed an informed written consent form. Nineteen volunteers wore acrylic palatal appliances containing seven bovine dental enamel specimens, representing different experimental groups. The study had just one experimental phase of 7 d, as represented in Figure 1.

Figure 1. Experimental design of the study.



(a) Enamel blocks; (b-c) Microhardness analysis before treatment; (d) Enamel microabrasion treatment; (e) Microhardness analysis after treatment; (f) Intraoral appliance; (g) Microhardness analysis after salivary exposition; (h) Sectioning of the specimens; (i-j) Cross-sectional microhardness analysis after salivary exposition; (k-l) Analysis in scanning electron microscopy.

Preparation of specimens

Bovine incisor teeth were selected and stored in formaldehyde solution for at least 1 month, and enamel/dentin slabs (4 mm x 4 mm x 2 mm) were obtained from them using a precision saw (Isomet 1000; Buehler, Illinois, USA) and a high-concentration diamond disc (4" x 012 x 1/2, Buehler, Illinois, USA). The enamel surface of the blocks was planned and flattened using silicon carbide papers of decreasing granulation (#300, #600 and #1200), felts, and diamond paste of 6, 3, and 1 µm granulation; greased with a specific oil (Arotec, Cotia; SP, Brazil); and coupled to a circular polishing machine, under water cooling (Aropol E, Arotec, Cotia; São Paulo, SP, Brazil). Between the polishing steps and after the final polishing, all slabs were placed in an ultrasonic device (Marconi, Piracicaba, SP, Brazil) containing distilled water for 15 min to remove polish debris. The specimens were sterilized by ethylene oxide (ACECIL – Central de Esterilização, Comércio e Indústria LTDA, Campinas, São Paulo, Brazil – ISO 9001:2000).

Volunteers

Nineteen volunteers, 10 males and 9 females, aged 21–30 years old, who fulfilled the exclusion criteria (i.e., no use of a fixed or removable orthodontic appliance, good general and oral health, nonsmoking, not pregnant or nursing, and no antibiotic use during 2 months prior to the study) took part in this study. For standardization reasons, volunteers were instructed to use fluoridated toothpaste (Colgate Total, 12–1450 ppm of fluoride, Colgate-Palmolive, Sao Paulo, Brazil) and manual toothbrushes (Colgate Professional Clean, Colgate-Palmolive, Sao Paulo, Brazil) for 7 d prior to and during the course of the experiment.

Surface treatment

Enamel microabrasion was performed with an equal amount of 35% H_3PO_4 (Ultra Etch™ – Ultradent Products Inc, Utah, USA) and pumice (SS White; Rio de Janeiro, RJ, Brazil) measured with a measuring spoon (0.240 g); or 6.6% HCl associated with silica (Opalustre™ – Ultradent Products Inc, Utah, USA). The products were placed on the enamel surface with a syringe until the sample was covered (0.0200 g). The procedure was achieved with specific rubber cups (OpalCups - Ultradent Products Inc, Utah, USA) coupled with an electric micromotor set at low rotation (LB-2000, Beltec Indústria e Comércio de Equipamentos Odontológicos Ltda, São Paulo/Brazil). Ten applications of 10 s each were performed. After each application, the enamel surface was rinsed and dried for 10 s using a dental sprayer and compressed air, respectively.

Groups

The samples were divided into nine groups (n=19) in randomized order according to the microabrasion technique and the time of storage in human saliva (in situ phase).

Table 1. Groups of study

Groups	Treatment	Salivary Exposition
G1	No treatment (control)	7 days
G2	H ₃ PO ₄ - 35 % + Pumice	Without
G3	H ₃ PO ₄ - 35 % + Pumice	1 hour
G4	H ₃ PO ₄ - 35 % + Pumice	24 hours
G5	H ₃ PO ₄ - 35 % + Pumice	7 days
G6	HCl + Silica - Opalustre™	Without
G7	HCl + Silica - Opalustre™	1 hour
G8	HCl + Silica – Opalustre™	24 hours
G9	HCl + Silica – Opalustre™	7 days

Palatal appliances

Custom-made acrylic palatal appliances, containing seven cavities (5 mm x 5 mm x 3 mm; three at each side and one in the center of the appliance), were made for each volunteer. In these cavities, the slabs were fixed with wax and remained in the cavity for the previously determined time. The enamel surface of the specimen was maintained at the same level as the appliance. After 1 h and 24 h, the respective specimens of each group were removed and the cavities were filled with wax. With the appliances placed in their mouths, the participants were instructed not to eat and only were allowed to drink water.

Microhardness analysis

The surface microhardness (SMH) of the enamel was analyzed three times: before and after the microabrasion treatment, and after the specified saliva exposure time. A Knoop indenter at a load of 25 g and an indentation time of 10 s

in a microhardness tester (HMV-2000 Shimadzu, Tokyo, Japan) was used. Five indentations, spaced 100 μm apart, were made in the center of the enamel block, and the mean values of the measuring points were then determined. For the cross-sectional microhardness (CSMH) tests, the blocks were longitudinally sectioned through the center. One of the halves had its cut face exposed and gradually polished with silicon carbide papers, felts, and diamond paste, as previously explained. Four rows of three indentations spaced 100 μm apart were made at 10, 25, 50, and 75 μm from the outer enamel surface. The mean values at all three measuring points at each distance from the surface were then determined.

Scanning Electron Microscopy (SEM)

For SEM analysis, representative specimens of each group were placed in an acrylic stub under aluminum tape (3M Adhesives Ltd., St. Paul, MN, USA) and subjected to vacuum in a sputter (Balzers – SCD 050 sputter coter, Germany) by the deposit of a thin layer of gold, equivalent to 10^{-6} mm, in order to increase the surface reflectance. Then, photomicrographs (4000x) of representative areas of the specimens under a SEM (JEOL.JSM 5600LV, Tokyo, Japan) were obtained.

Statistical Analysis

The data obtained were submitted to statistical analysis. For SMH data analysis, PROC MIXED for repeated measures was used, followed by Tukey's and Dunnett's tests. For CSMH data analysis, analysis of variance (Split Plot) of subdivided parcels and Tukey's test were used. The parcels under evaluation were the type of microabrasion treatment and the time of saliva exposure; the subdivided parcels were the layer depths analyzed. The control group was considered as an additional treatment in the respective layers analyzed. For both analyses, the significance level was 5%.

RESULTS

Based on the SMH analysis (Table 2), both microabrasion treatments, H_3PO_4 + pumice and 6.6% HCl + silica, significantly reduced the enamel microhardness ($p < 0.05$) after microabrasion compared to the initial measurement and the control group (Group 1). The SMH analysis after saliva exposure showed that all groups treated with HCl + silica were the most effective at reestablishing the original enamel microhardness means. With the H_3PO_4 and pumice treatment, only the groups exposed to saliva for 24 h and 7 d presented increasing values of enamel microhardness, which were statistically different compared to the values after the microabrasion treatment. With the HCl + silica treatment, all of the groups with saliva exposure demonstrated greater microhardness means with significant differences compared to the means after treatment. In addition, the HCl + silica treatment groups exposed to saliva for 24 h and 7 d did not have statistically different microhardness values than the initial microhardness values. Furthermore, the groups treated with HCl + silica and with 7 d of saliva exposure did not have statistically different microhardness values than that of the control group at the same time. Comparing the salivary effect for both microabrasion systems, the group treated with HCl + silica and with 1 h of exposure to the intrabuccal environment presented significant enamel microhardness than the group treated with H_3PO_4 and pumice and the same saliva exposure.

Table 2. Results for Knoop surface microhardness (SMH) according to the treatment groups (mean \pm SD, n = 19)

Microabrasion	Salivary Exposition	Time		
		Before treatment	After treatment	After saliva
H ₃ PO ₄ + Pumice	Without	541.06 (31.75) Aa	#475.48 (31.36) Ba	#470.63 (28.06) Bc
	1 hour	560.59 (23.53) Aa	#466.52 (23.50) Ba	*#477.99 (37.26) Bbc
	24 hours	553.53 (25.65) Aa	#466.25 (29.83) Ca	#507.62 (30.49) Bb
	7 days	537.83 (30.89) Aa	#473.42 (22.34) Ca	#577.38 (30.51) Ba
HCl+silica (Opalustre™)	Without	530.68 (15.69) Aa	#463.81 (29.97) Bb	#468.09 (17.17) Bb
	1 hour	548.69 (15.69) Aa	#478.24 (17.40) Cab	#514.85 (32.03) Bb
	24 hours	542.25 (23.90) Aa	#501.42 (32.03) Ba	#533.82 (26.77) Ab
	7 days	541.58 (30.90) Aa	#495.72 (38.14) Bab	607.10 (27.92) Aa
Control		525.38 (30.56) A	537.49 (24.10) A	616.85 (32.28) A

Means followed by different letters (uppercase in horizontal and lowercase in vertical comparing time within each category of microabrasion) differ ($p \leq 0.05$). *Differ from the group treated with HCl+silica with the same time of salivary exposition. #Differ from the control in the same time of analysis.

For the CSMH analysis (Table 3), the groups treated with microabrasion systems and without saliva exposure presented lower enamel microhardness values in all layers, with statistically significant differences compared to those of the control group. However, there were no statistically significant differences in CSMH values between the two treatments. Regarding the saliva exposure, for enamel microabrasion using H₃PO₄ + pumice, all groups had statistically lower CSMH values than the control in all layers tested. In addition, for this treatment, it was not verified that the microhardness values increased over time because there were no significant differences in CSMH values compared to the group without exposure to the oral environment. In general, there were statistical differences between the mean microhardness values in the deeper (50 μ m and 75 μ m) and the outer (10 μ m and 25 μ m) layers analyzed. For the groups treated with HCl + Silica, saliva exposure for 1 h, 24 h, and 7 d resulted in increasing microhardness values

in all layers with statistically significant differences compared to the group without saliva exposure. For the same treatment, being in the presence of the in situ regimen for 7 d led to mean microhardness values that were statistically similar to those of the control group for the most superficial layers (10 μm and 25 μm). Comparing the layers tested for these groups, statistical differences were visualized in the 75 μm and 50 μm layers, and between these layers and the outer layers (10 μm and 25 μm), as found in the control group. Comparing both microabrasion treatments, saliva exposure for 24 h and 7 d showed greater mean microhardness values with HCl + silica treatment, which were statistically different from the same groups treated with H_3PO_4 + pumice, for the most superficial layers (10 μm and 25 μm).

Table 3. Results for Knoop cross-sectional microhardness (CSMH) according to the treatment groups (mean \pm SD, n = 19)

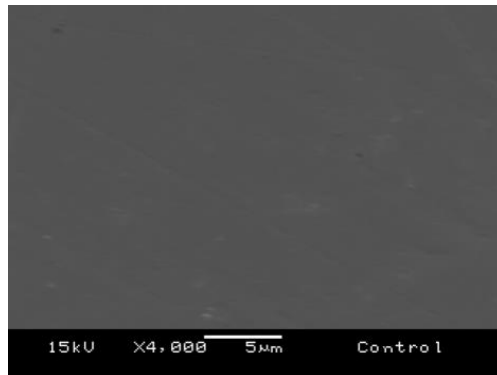
Microabrasion	Salivary Exposition	Layer			
		10 μm	25 μm	50 μm	75 μm
H_3PO_4 + Pumice	Without	[§] 413,98(29.68)Aa	[§] 424,65(33.13)Aa	[§] 368,88(20.99)Ba	[§] 312,24(23.98) Ca
	1 hour	[§] 439,68(22.10)Aa	[§] 445,30(31.66)Aa	[§] 379,54(26.73)Ba	[§] 336,16(29.28)Ca
	24 hours	[§] *442,30(30.78)Aa	[§] *437,70(34.88)Aa	[§] 386,00(25.71)Ba	[§] 340,30(28.23)Ca
	7 days	[§] *447,07(30.17)Aa	[§] *460,28(28.49)Aa	[§] *392,18(25.39)Ba	[§] 340,63(27.91)Ba
HCl + Silica Opalustre™	Without	[§] 414,14(26.02)Ab	[§] 412,96(25.10)Ac	[§] 360,35(20.89)Bb	[§] 304,35(21.55)Cb
	1 hour	[§] 473,70(32.84)Aa	[§] 470,74(29.55)Ab	[§] 411,28(30.57)Ba	[§] 343,28(28.99)Ca
	24 hours	[§] 482,65(30.05)Aa	[§] 479,95(31.65)Aab	[§] 401,33(33.55)Ba	[§] 339,74(38.60)Cab
	7 days	505,19(34.64)Aa	515,39(25.76)Aa	[§] 430,53(35.18)Ba	[§] 356,44(27.87)Ca
Control		520,21(40.55) A	528,65(43.00) A	462,21(26.09) B	421,91(28.99) C

Means followed by different letters (uppercase in horizontal and lowercase in vertical comparing time within each category of microabrasion) differ ($p \leq 0.05$). *Differ from the group treated with HCl + silica with the same time of salivary exposition. [§]Differ from the control in the same layer of analysis.

SEM analysis showed that microabrasion treatment generated alterations in morphological patterns when compared with the control group (Figure 2). Figure 3 shows the conditioning pattern using only H_3PO_4 and HCl, for

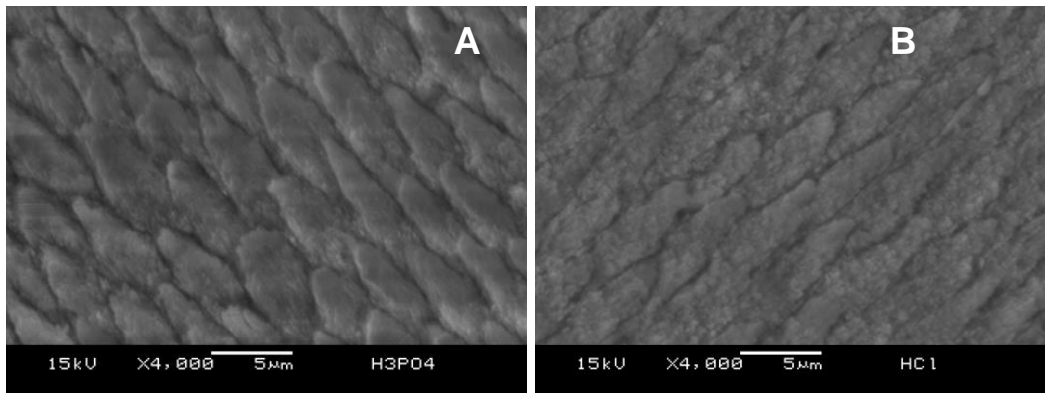
comparison with the microabrasion systems using these acids. The H_3PO_4 and pumice treatment presented characteristics of etching patterns with 35% H_3PO_4 , demonstrating dissolution of the prisms on the periphery and in the interprismatic spaces (Figure 4A). However, these spaces were progressively filled over the course of time of saliva exposure (Figure 4B–D). Based on the SEM analysis of the HCl + Silica-treated samples, exposure of the interprismatic region of the enamel was evident, although the dissolution was less evident than that produced by the H_3PO_4 and pumice treatment (Figure 5A). Likewise, this dissolution was progressively reduced over time, i.e. with 7 d of saliva exposure, the enamel was similar to that of the control group (Figure 5B–D).

Figure 2. SEM analysis of the control group (G1)



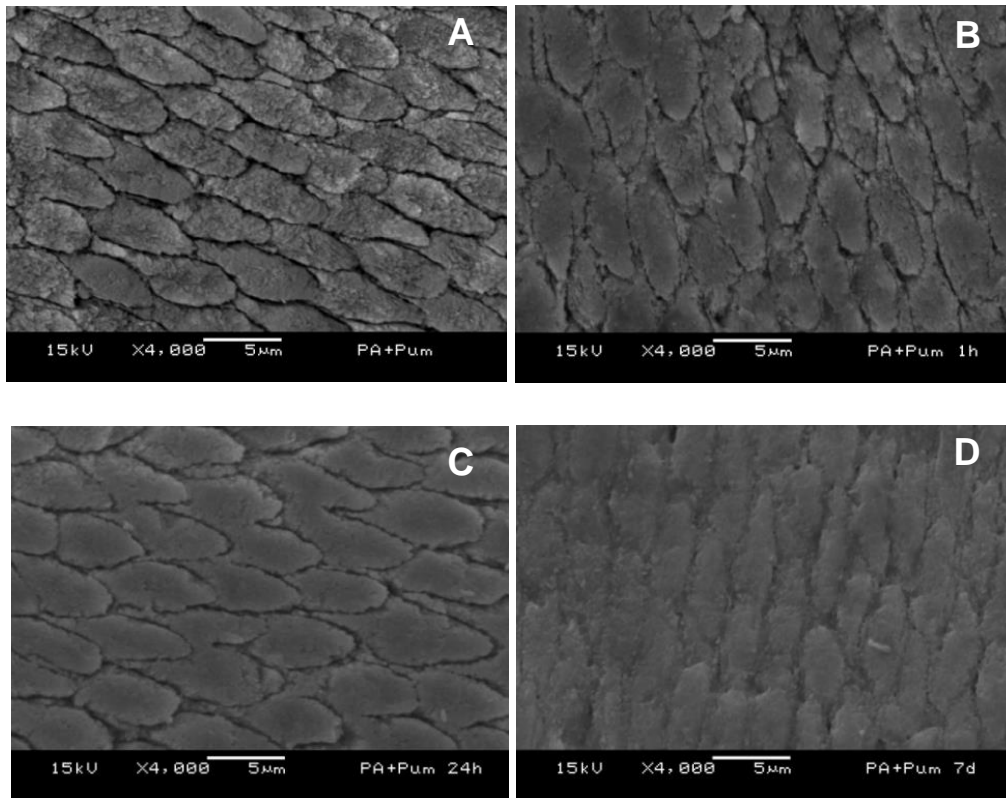
SEM analysis of the control group (G1), without treatment, and with 7 d of saliva exposure shows the characteristics of a healthy enamel surface.

Figure 3. SEM analysis of the application of only acid on the enamel surface.



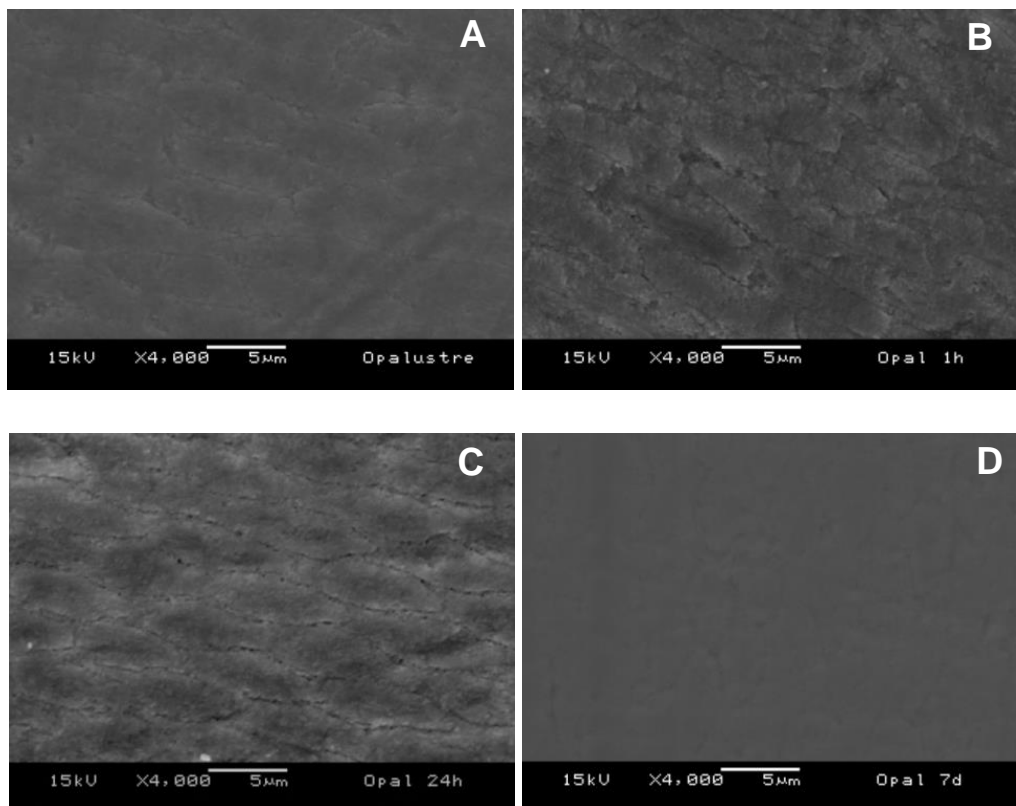
(A) 35% H_3PO_4 and (B) 6.6% HCl treatment. Exposure of the interprismatic spaces is more evident in (A).

Figure 4. SEM analysis of the groups treated with H₃PO₄ and pumice.



SEM images for the groups treated with H₃PO₄ + pumice according to the time of the in situ regimen: (A) without (G2), (B) 1 h (G3), (C) 24 h (G4), and (D) 7 d (G5) of saliva exposure, showing the evolution of the filling of interprismatic spaces over time.

Figure 5. SEM analysis of the groups treated with HCl + Silica.



SEM images for the groups treated with HCl + Silica according to the time of the in situ regimen: (A) without (G6), (B) 1 h (G7), (C) 24 h (G8), and (D) 7 d (G9) of saliva exposure, showing the evolution of the filling of interprismatic spaces over time and the full filling with 7 d of saliva exposure.

DISCUSSION

The microabrasion treatments with H_3PO_4 + pumice as well as with HCl + Silica raised the decreasing SMH values, with statistically significant differences in comparison with the analysis performed before the microabrasion treatments. Although enamel microabrasion resulted in a compact mineralized surface due to the “Abrasion Effect”^{1, 2, 4}, the erosive and abrasive challenges^{14-16, 25} arising from the products used caused mineral loss, reducing the mean microhardness values.

SMH analysis after different times of saliva exposure showed that it was possible to observe the remineralizing action of saliva^{14, 24}, since the exposed

surface was less mineralized. There was a significant increase in the SMH value, which varied according to the amount of time in the presence of the in situ regimen and the microabrasion system used. The HCl + silica treatment results showed that saliva exposure was able to improve the SMH value in only 1 h, and, over the course of the time, the remineralizing action of saliva efficiently reestablished the control SMH level. For the H₃PO₄ + pumice treatment, only after 24 h of saliva exposure was the decrease of mineral loss observed. Not even with the 7 d in situ regimen did the mineral composition match that of the control group.

Since dental erosion results in surface softening and subsurface damage^{26, 27}, knowledge of the subsurface changes in hardness could help to clarify which aspect of lesion formation is predominant in each microabrasion system used. The results showed that both microabrasion techniques efficiently reached the deeper layers of enamel and caused a reduction in their microhardness values. These results could be explained by the presence of acid, which presents a low pH¹³, and the abrasive agent^{16, 25}, whose action is potentiated by mechanical application and consequently pressure^{23, 28}. For both microabrasion systems, there were differences between the deeper and outer layers of the enamel. A reduction of microhardness values was observed with increasing depth, which occurs due to the greater susceptibility to demineralization events that the enamel layers near the dentin-enamel junction present^{29, 30}, as it was also found in the control group.

The CSMH results showed that HCl + silica treatment was more prone to the remineralizing action of saliva than the H₃PO₄ + pumice treatment. For the group with 7 d of in situ regimen, only the outer layers of 10 and 25 µm presented mean microhardness values that were statistically similar to the control group. These results indicate that the remineralizing process occurs first in the outer layers, possibly due to the topographic characteristics of this region, where Retzius lines have a regular periodicity^{31, 32}. Probably, the complete remineralization of enamel, mainly in the deeper layers, would occur in a few days, as reported in several in situ studies with an experimental phase of 15 d, when cariogenic

challenges were evaluated^{12, 19}. On the other hand, treatment with H₃PO₄ + pumice did not present increasing CSMH values with statistical differences in relation to the control. In addition, only for 7 d of saliva exposure did the layers of 10, 25, and 50 µm reach mean microhardness values that were statistically similar to those found at the same time for the group treated with HCl + Silica. Clinically, this difference between the microabrasion systems might be even greater because enamel microabrasion with H₃PO₄ and pumice is more sensitive to formulation variations as this mixture can have varying proportions of abrasive and acid agents, strengthening the action of the one of these compounds.

The greater susceptibility of enamel treated with HCl + Silica to the remineralizing action of saliva may be related to its composition of HCl and silica. The amount of chloride and sodium ions in dental enamel has been found to be associated with the suppression of hydroxyapatite dissolution³³. It could be correlated with this study, since it was possible to occur on the enamel treated with HCl + Silica. These ions account for more than 60% of the ionic strength of saliva^{20, 33}. Another possible reason for the greater susceptibility of enamel treated with HCl + Silica may be that HCl has a lower pH value (-0.14) than H₃PO₄ (0.71)¹³, which favors surface rehardening and fluoride uptake^{24, 34}. Once silica (SiO₂) is a compound from HCl + Silica, it may be also incorporated on enamel after microabrasion, and this component is known to compose a bioactive material (Ca₃SiO₅) that efficiently induces a new apatite layer on acid-etched enamel³⁵. So, the presence of this component on enamel may enhance the mineralization process once it can link with the calcium from hydroxyapatite and from saliva²⁰, leading to the formation of new apatite crystals that can reduce the demineralization process from early stages^{35, 36}. This hypothesis was supported by the 1 h of saliva exposure data in the HCl + Silica - treated group, which showed significantly greater enamel microhardness values compared to the values immediately after microabrasion and compared to the group with the same treatment but without saliva exposure.

In the present study, the specimens submitted to enamel microabrasion were exposed to an oral environment that simulated all conditions present in an *in vivo* treatment, such as the presence of fluoride (e.g. from toothpaste); in addition, the volunteers used the same fluoridated dentifrice and used the appliance all the time, except while eating. Treatment with acidic compounds and enamel microabrasion, combined with acidic challenges from the oral environment, not only increases the porosity of the enamel but also enhances the possibility for fluoride uptake^{21, 25}. Since this exposed surface was less mineralized, saliva had a remineralizing action, causing a significant decrease in mineral loss; therefore, this eroded surface was more prone to chemically receiving minerals (calcium and phosphate) from saliva, allowing the enamel to recover minerals^{14, 25}. Moreover, these findings suggest that daily use of fluoridated dentifrice probably potentiated the reduction of enamel demineralization, as described by Paes Leme et al.¹⁹. Fluoride has been reported to draw free mineral ions from the erosive lesion body towards the surface, a process that results in redistribution of the mineral in the lesion^{21, 24}.

The quantitative findings were also confirmed by SEM images, which showed various demineralizing patterns in different levels, depending on the microabrasion technique and the saliva exposure time employed. Although a conditioning pattern with exposure of interprismatic spaces was determined, this observation was more evident for the groups treated with H₃PO₄ and pumice than for the groups treated with HCl + Silica. Over time, the filling of these spaces was observed; however, HCl + Silica treatment was more successful as shown by the 7 d *in situ* regimen data, which presented the same surface characteristics as found in the control group. Thus, remineralization had already occurred in the oral environment that simulated the clinical situation, which was evident by the SEM images²⁷.

Based on the results of this study, special attention must to be given in choosing the most adequate microabrasion system. The microhardness determination and SEM analysis revealed that enamel microabrasion with HCl +

silica reestablished the enamel characteristics, displaying similar morphology as the sound enamel (control) at the end of the experiment. Because saliva plays an important role in reestablishing microhardness and the morphological characteristics of the enamel surface, clinicians should use adequate treatment conditions to preview and control the microabrasive effects on the enamel.

CONCLUSION

The findings of this in situ study demonstrated that enamel after microabrasion with HCl + silica and saliva exposure for 7 d showed a greater increase of microhardness values than with H₃PO₄ and pumice treatment. Saliva was able to remineralize the enamel treated with HCl + silica, reaching the mean microhardness values found in the sound enamel (control) at the surface (0 µm) and outer layers (10 µm and 25 µm) of the enamel. Thus, HCl + silica should be considered the best choice as a microabrasion system to repair tooth enamel.

Acknowledgments

The authors would like to gratefully acknowledge all the volunteers who participated in this study. This study was supported by FAPESP (2011/004067-7).

REFERENCES

1. Croll TP (1997) Enamel microabrasion: observations after 10 years *J Am Dent Assoc* 128 Suppl 45S-50S.
2. Donly KJ, O'Neill M & Croll TP (1992) Enamel microabrasion: a microscopic evaluation of the "abrosion effect" *Quintessence Int* 23(3) 175-179.
3. Nahsan FP, da Silva LM, Baseggio W, Franco EB, Francisconi PA, Mondelli RF & Wang L (2011) Conservative approach for a clinical resolution of enamel white spot lesions *Quintessence Int* 42(5) 423-426.

4. Sundfeld RH, Croll TP, Briso AL, de Alexandre RS & Sundfeld Neto D (2007) Considerations about enamel microabrasion after 18 years *Am J Dent* 20(2) 67-72.
5. da Silva SM, de Oliveira FS, Lanza CR & Machado MA (2002) Esthetic improvement following enamel microabrasion on fluorotic teeth: a case report *Quintessence Int* 33(5) 366-369.
6. Sundfeld RH, Rahal V, Croll TP, De Alexandre RS & Briso AL (2007) Enamel microabrasion followed by dental bleaching for patients after orthodontic treatment-
-case reports *J Esthet Restor Dent* 19(2) 71-77; discussion 78.
7. Loguercio AD, Correia LD, Zago C, Tagliari D, Neumann E, Gomes OM, Barbieri DB & Reis A (2007) Clinical effectiveness of two microabrasion materials for the removal of enamel fluorosis stains *Oper Dent* 32(6) 531-538.
8. Wang Y, Sa Y, Liang S & Jiang T (2012) Minimally Invasive Treatment for Esthetic Management of Severe Dental Fluorosis: A Case Report *Oper Dent*.
9. Ardu S, Benbachir N, Stavridakis M, Dietschi D, Krejci I & Feilzer A (2009) A combined chemo-mechanical approach for aesthetic management of superficial enamel defects *Br Dent J* 206(4) 205-208.
10. Sundfeld RH SND, Rahal V, Pita DS, Okida RCO, Alexandre RS. (2010) Different esthetic techniques used in combination to recover smile - On line. *Compendium of continuing education in dentistry* 31(6).
11. Dalzell DP, Howes RI & Hubler PM (1995) Microabrasion: effect of time, number of applications, and pressure on enamel loss *Pediatr Dent* 17(3) 207-211.
12. Calvo AF, Tabchoury CP, Del Bel Cury AA, Tenuta LM, da Silva WJ & Cury JA (2012) Effect of acidulated phosphate fluoride gel application time on enamel demineralization of deciduous and permanent teeth *Caries Res* 46(1) 31-37.
13. Meyer-Lueckel H, Paris S & Kielbassa AM (2007) Surface layer erosion of natural caries lesions with phosphoric and hydrochloric acid gels in preparation for resin infiltration *Caries Res* 41(3) 223-230.
14. Graziotin GB, Rios D, Honorio HM, Silva SM & Lima JE (2011) In situ investigation of the remineralizing effect of saliva and fluoride on enamel following prophylaxis using sodium bicarbonate *Eur J Dent* 5(1) 40-46.

15. Paic M, Sener B, Schug J & Schmidlin PR (2008) Effects of microabrasion on substance loss, surface roughness, and colorimetric changes on enamel in vitro *Quintessence Int* 39(6) 517-522.
16. Ribeiro HZ, Lima JE, Vono BG, Machado MA & da Silva SM (2006) Airpolishing effect on bovine enamel and the posterior remineralizing effect of saliva. An in vitro study *J Appl Oral Sci* 14(3) 193-197.
17. Bertoldo CES FL, Lima DANL, Ambrosano GMB, Aguiar FHB, Lovadino JR (2013) Evaluation of the effect of different methods of microabrasion and polishing on surface roughness of dental enamel *Indian J Dent Res* In press.
18. Fragoso LS, Lima DA, de Alexandre RS, Bertoldo CE, Aguiar FH & Lovadino JR (2011) Evaluation of physical properties of enamel after microabrasion, polishing, and storage in artificial saliva *Biomed Mater* 6(3) 035001.
19. Paes Leme AF, Dalcico R, Tabchoury CP, Del Bel Cury AA, Rosalen PL & Cury JA (2004) In situ effect of frequent sucrose exposure on enamel demineralization and on plaque composition after APF application and F dentifrice use *J Dent Res* 83(1) 71-75.
20. Humphrey SP & Williamson RT (2001) A review of saliva: normal composition, flow, and function *J Prosthet Dent* 85(2) 162-169.
21. Al-Khateeb S, Exterkate R, Angmar-Mansson B & ten Cate JM (2000) Effect of acid-etching on remineralization of enamel white spot lesions *Acta Odontol Scand* 58(1) 31-36.
22. Navimipour EJ, Mohammadi N, Mostafazadeh S, Ghojazadeh M & Oskoe PA (2012) Effect of Delaying Toothbrushing During Bleaching on Enamel Surface Roughness: An In Vitro Study *Oper Dent* 38(1) In press.
23. Tong LS, Pang MK, Mok NY, King NM & Wei SH (1993) The effects of etching, micro-abrasion, and bleaching on surface enamel *J Dent Res* 72(1) 67-71.
24. Gonzalez-Cabezas C, Jiang H, Fontana M & Eckert G (2012) Effect of low pH on surface rehardening efficacy of high concentration fluoride treatments on non-cavitated lesions *J Dent* 40(6) 522-526.

25. Honorio HM, Rios D, Abdo RC & Machado MA (2006) Effect of different prophylaxis methods on sound and demineralized enamel *J Appl Oral Sci* 14(2) 117-123.
26. Honorio HM, Rios D, Santos CF, Magalhaes AC, Delbem AC, Buzalaf MA & Machado MA (2010) Cross-sectional microhardness of human enamel subjected to erosive, cariogenic or combined erosive/cariogenic challenges *Caries Res* 44(1) 29-32.
27. Rios D, Honorio HM, Magalhaes AC, Silva SM, Delbem AC, Machado MA & Buzalaf MA (2008) Scanning electron microscopic study of the in situ effect of salivary stimulation on erosion and abrasion in human and bovine enamel *Braz Oral Res* 22(2) 132-138.
28. Magalhaes JG, Marimoto AR, Torres CR, Pagani C, Teixeira SC & Barcellos DC (2012) Microhardness change of enamel due to bleaching with in-office bleaching gels of different acidity *Acta Odontol Scand* 70(2) 122-126.
29. Amizuka N UT, Nozawa-Inoue K, Kawano Y, Suzuki A, Li M, Nasu M, Kojima T, Sakagami N, Ozawa H, Maeda T (2005) Ultrastructural images of enamel tufts in human permanent teeth *J Oral Biosci* 57(1).
30. Avery JK (2002) Oral development and histology George Thieme Verlag.
31. Li C & Risnes S (2004) SEM observations of Retzius lines and prism cross-striations in human dental enamel after different acid etching regimes *Arch Oral Biol* 49(1) 45-52.
32. Torres-Rodriguez C, Gonzalez-Lopez S, Bolanos-Carmona V, Sanchez-Sanchez P, Rodriguez-Navarro A & Attin T (2011) Demineralization effects of phosphoric acid on surface and subsurface bovine enamel bleached with in-office hydrogen peroxide *J Adhes Dent* 13(4) 315-321.
33. Jager DH, Vieira AM, Ligtenberg AJ, Bronkhorst E, Huysmans MC & Vissink A (2011) Effect of salivary factors on the susceptibility of hydroxyapatite to early erosion *Caries Res* 45(6) 532-537.
34. Buzalaf MA, Hannas AR, Magalhaes AC, Rios D, Honorio HM & Delbem AC (2010) pH-cycling models for in vitro evaluation of the efficacy of fluoridated

dentifrices for caries control: strengths and limitations *J Appl Oral Sci* 18(4) 316-334.

35. Wang Y, Li X, Chang J, Wu C & Deng Y (2012) Effect of tricalcium silicate (Ca₃SiO₅) bioactive material on reducing enamel demineralization: An in vitro pH-cycling study *J Dent* 40(12) 1119-1126.

36. Dong ZC, J.; Deng, Y.; Joiner, A. (2010) In vitro remineralization of acid-etched human enamel with Ca₃SiO₅ *Applied Surface Science* 256 3.

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos e dentro das limitações dos estudos realizados, pode-se concluir que:

1. Os sistemas microabrasivos testados, ácido fosfórico + pedra pomes e ácido clorídrico + sílica (Opaluste[®]) causaram injúrias ao tecido dental, uma vez que foi observada redução de microdureza superficial e subsuperficial do esmalte dental após o tratamento de microabrasão.
2. A ação erosiva dos ácidos foi comprovada, já que, quando aplicados sozinhos, seja com aplicação ativa (mecânica) ou passiva, eles causaram alteração significativa na microdureza do esmalte, tanto em superfície quanto em profundidade. Comparando as duas formas de aplicação, ainda foi possível observar que a aplicação mecânica é importante para diminuir o tempo de contato do ácido sobre o esmalte, o que resulta em menor redução nos valores de microdureza do esmalte remanescente.
3. Comparando as alterações de microdureza resultantes da aplicação dos sistemas abrasivos e dos ácidos, fica evidente que a presença do componente abrasivo é importante para evitar perda mineral em excesso pelo esmalte durante a técnica de microabrasão.
4. Em relação ao processo de remineralização do esmalte microabrasionado, pode-se perceber que a saliva apresentou ação efetiva em restituir as características da estrutura dental no decorrer do período experimental (7 dias), uma vez que pôde-se observar aumento da microdureza superficial e subsuperficial (10 e 25 μm), e mudanças microscópicas nas características do esmalte dental.
5. O tratamento com ácido clorídrico 6,6 % e sílica (Opaluste[®]) mostrou-se mais propenso à ação remineralizante da saliva, uma vez que com uma hora de

exposição ao regime *in situ*, já foi observado resultado significativo em relação a análise após a microabrasão.

6. Ambos os tratamentos demonstraram redução das alterações de microdureza superficial, sendo que, apenas para o tratamento com ácido clorídrico 6,6 % e sílica (Opalustre[®]) com exposição salivar de 7 dias, foi possível restituir a microdureza do esmalte e as características morfológicas, sem diferenças em relação ao grupo controle (sem tratamento).

REFERÊNCIAS*

Allen K, Agosta C & Estafan D. Using microabrasive material to remove fluorosis stains. *J Am Dent Assoc.* 2004; 135(3):319-323.

Arends J & ten Bosch JJ. Demineralization and remineralization evaluation techniques. *J Dent Res* 1992; 71 Spec:924-928.

Attin T, Schmidlin PR, Wegehaupt F & Wiegand A. Influence of study design on the impact of bleaching agents on dental enamel microhardness: a review. *Dent Mater.* 2009; 25(2):143-157.

Behnan SM, Arruda AO, Gonzalez-Cabezas C, Sohn W & Peters MC. In-vitro evaluation of various treatments to prevent demineralization next to orthodontic brackets. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2010; 138(6): 712 e711-717; discussion 712-713.

Benbachir N, Ardu S & Krejci I. Indications and limits of the microabrasion technique *Quintessence Int.* 2007; 38(10):811-815.

Bertoldo CES. Avaliação das propriedades físico-químicas do esmalte após diferentes técnicas de microabrasão [dissertação]. Piracicaba: Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas.

Catelan AB, Bertoldo CES, Pini NP, Miranda DA, Lovadino JR, Aguiar FHB. Microabrasão do esmalte – Comparação de técnicas através de relatos de casos clínicos. *Rev Dental Press Estet.* 2012; 9(3):106-118.

Croll TP & Segura A. Tooth color improvement for children and teens: enamel microabrasion and dental bleaching. *ASDC J Dent Child.* 1996; 63(1):17-22.

Croll TP. Enamel microabrasion: the technique. *Quintessence Int.* 1989; 20(6):395-400.

Croll TP & Cavanaugh RR. Hydrochloric acid-pumice enamel surface abrasion for color modification: results after six months. *Quintessence Int.* 1986; 17(6):335-341.

*De acordo com a normativa da FOP/Unicamp baseada na norma International Committee of Medical Journal Editors – Grupo de Vancouver. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o Medline.

De Vasconcelos AA, Cunha AG, Borges BC, Vitoriano Jde O, Alves-Junior C, Machado CT & dos Santos AJ. Enamel properties after tooth bleaching with hydrogen/carbamide peroxides in association with a CPP-ACP paste. *Acta Odontol Scand.* 2012; 70(4):337-343.

Ferreira SS, Araujo JL, Morhy ON, Tapety CM, Youssef MN & Sobral MA. The effect of fluoride therapies on the morphology of bleached human dental enamel. *Microsc Res Tech.* 2011; 74(6):512-516.

Lovadino JRM, Martins LRM, Francischone CE, Navarro MFL. Remoção de manchas do esmalte dentário usando ácido clorídrico. *Rev Bras Odontol.* 1989; 46(4):32-5.

Marson FC, Sensi LG, Araújo FO. Clareamento dental associado à microabrasão do esmalte para remoção de manchas brancas. *Revista Dental Press Estét.* 2007; 4(1):89-96.

McCloskey RJ. A technique for removal of fluorosis stains. *J Am Dent Assoc.* 1984; 109(1):63-64.

Meireles SS, Andre Dde A, Leida FL, Bocangel JS & Demarco FF. Surface roughness and enamel loss with two microabrasion techniques. *J Contemp Dent Pract.* 2009; 10(1):58-65.

Mondelli JM, R.L.; Alves, M.T.A.; Franco, E.B. Microabrasão com ácido fosfórico. *Rev Bras Odont.* 1995; 52(3):20-22.

Murphy TC, Willmot DR & Rodd HD. Management of postorthodontic demineralized white lesions with microabrasion: a quantitative assessment *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2007; 131(1):27-33.

Paris S, Bitter K, Renz H, Hopfenmuller W & Meyer-Lueckel H. Validation of two dual fluorescence techniques for confocal microscopic visualization of resin penetration into enamel caries lesions. *Microsc Res Tech.* 2009; 72(7):489-494.

Ritter AV. Talking with Patients. Microabrasion. *J Esthet Restor Dent.* 2005; 17(6): 384.

Schlueter N, Hara A, Shellis RP & Ganss C. Methods for the measurement and characterization of erosion in enamel and dentine. *Caries Res.* 2011; 45: Suppl 1 13-23.

Segura A, Donly KJ & Wefel JS. The effects of microabrasion on demineralization inhibition of enamel surfaces. *Quintessence Int.* 1997; 28(7):463-466.

Sundfeld RH, Croll TP, Killian CM. Recuperação do sorriso - A comprovação da eficiência e versatilidade da técnica de microabrasão do esmalte dental. *JBD* 2002; 1(1):77-86.

Sundfeld RH, Croll TP, Mauro SJ, Komatsu J, Holland Junior C. Novas considerações clínicas sobre microabrasão do esmalte dental: efeitos da técnica e tempo de análise. *Rev Bras Odontol.* 1995; 52(3):30-36.

Watson TF. Fact and artefact in confocal microscopy. *Adv Dent Res.* 1997; 11(4):433-441.

Zuanon AC, Santos-Pinto L, Azevedo ER & Lima LM. Primary tooth enamel loss after manual and mechanical microabrasion. *Pediatr Dent.* 2008; 30(5):420-423.

Detalhamento das Metodologias

1. Delineamento Experimental

Capítulo 1:

Unidades experimentais: 70 fragmentos de dentes bovinos

Fatores em estudo:

- Sistemas erosivos/ abrasivos em cinco níveis:

→ Ácido fosfórico a 35% (Ultra-Etch, Ultradent Products Inc. Utah, USA) associado à pedra-pomes (Quimidrol LTDA, Joinville, SC, Brasil);

→ Ácido clorídrico a 6,6% e carbeto de silício (Opalustre, Ultradent Products Inc. Utah, USA);

→ Ácido fosfórico a 35% (Ultra-Etch, Ultradent Products Inc. Utah, USA);

→ Ácido clorídrico 6,6% (Drogal Medicamentos, Piracicaba, SP, Brasil);

→ Sem tratamento – Controle.

- Formas de aplicação em dois níveis:

→ Ativa: aplicação com taça de borracha específica para microabrasão (Opalcups, Ultradent Products Inc. Utah, USA) acoplada a um micro-motor elétrico de baixa rotação (LB-2000, Beltec Indústria e Comércio de Equipamentos Odontológicos Ltda, São Paulo, SP, Brazil);

→ Passiva: Apenas colocação do produto sobre a amostra.

- Profundidade em relação à superfície em 5 níveis: 0, 10, 25, 50, 75 micrômetros.

Variável de resposta:

→ Dureza de Knoop pelo Teste de Microdureza (KHN).

Forma de designar o tratamento das unidades experimentais: processo aleatório, por meio de sorteio.

Tabela I. Grupos de Estudo:

Grupos	Tratamento
G1	Nenhum tratamento
G2	Ácido fosfórico 35 % associado à pedra-pomes
G3	Ácido clorídrico 6,6 % associado à carbeta de sílico (Opalustre)
G4	Ácido fosfórico 35 % - aplicação ativa
G5	Ácido clorídrico 6,6 % - aplicação ativa
G6	Ácido fosfórico 35 % - aplicação passiva
G7	Ácido clorídrico 6,6 % - aplicação passiva

Capítulo 2:

Unidades experimentais: 171 fragmentos de dentes bovinos – 19 voluntários (21-30 anos) selecionados a partir dos seguintes critérios de inclusão:

- Pacientes sem utilização de aparelho ortodôntico (fixo ou removível);
- Pacientes que não apresentassem doença periodontal e atividade de cárie;
- Pacientes livres de doença sistêmica;
- Pacientes não fumantes;

- Pacientes em uso de medicamentos que alterem o fluxo salivar.

Fatores em estudo:

- Sistemas microabrasivos em três níveis:
 - Ácido fosfórico a 35% (Ultra-Etch, Ultradent Products Inc. Utah, USA) associado à pedra-pomes (Quimidrol LTDA, Joinville, SC, Brasil);
 - Ácido clorídrico a 6,6% e carbeto de silício (Opalustre, Ultradent Products Inc. Utah, USA);
 - Sem tratamento – Controle.
- Tempo em quatro níveis:
 - Sem exposição à saliva (controle);
 - 1h de exposição à saliva;
 - 24h de exposição à saliva;
 - 7 dias de exposição à saliva.
- Profundidade em relação à superfície, em 4 níveis: 10, 25, 50, 75 micrômetros.

Variável de resposta:

- Dureza de Knoop pelo Teste de Microdureza (KHN);

Forma de designar o tratamento das unidades experimentais: Randomizado.

Tabela II. Divisão dos grupos:

Grupos	Tratamento	Exposição Salivar
G1	Nenhum tratamento	7 dias
G2	Ácido fosfórico 35 % associado à pedra-pomes	Sem exposição
G3	Ácido clorídrico a 6,6 % e carbeto de silício	Sem exposição
G4	Ácido fosfórico 35 % associado à pedra-pomes	1 hora
G5	Ácido fosfórico 35 % associado à pedra-pomes	24 horas
G6	Ácido fosfórico 35 % associado à pedra-pomes	7 dias
G7	Ácido clorídrico a 6,6 % e carbeto de silício	1 hora
G8	Ácido clorídrico a 6,6 % e carbeto de silício	24 horas
G9	Ácido clorídrico a 6,6 % e carbeto de silício	7 dias

*Ácido clorídrico a 6,6 % e carbeto de silício (Opalustre).

2. Preparo dos espécimes

Para a realização dos estudos, foram utilizados incisivos bovinos (Figura 1-a) que, após a coleta, foram armazenados em solução aquosa de timol a 0,1 % (Dinâmica, Piracicaba, São Paulo, Brasil), tamponado. Após a desinfecção, os dentes foram submetidos à raspagem manual com cureta periodontal para remoção de debris orgânicos e foram polidos com taças de borracha e pasta de pedra-pomes (SS White Ltda; Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e água. Após este procedimento, os dentes foram armazenados em água destilada e mantidos em estufa até o momento de sua utilização. A porção coronária (Figura 1-b) foi separada da porção radicular a 1 mm da junção cimento-esmalte por meio de um disco diamantado dupla face (KG Sorensen, Ind. Com. Ltda., Barueri, SP, Brasil) acoplado a contra ângulo de baixa rotação.

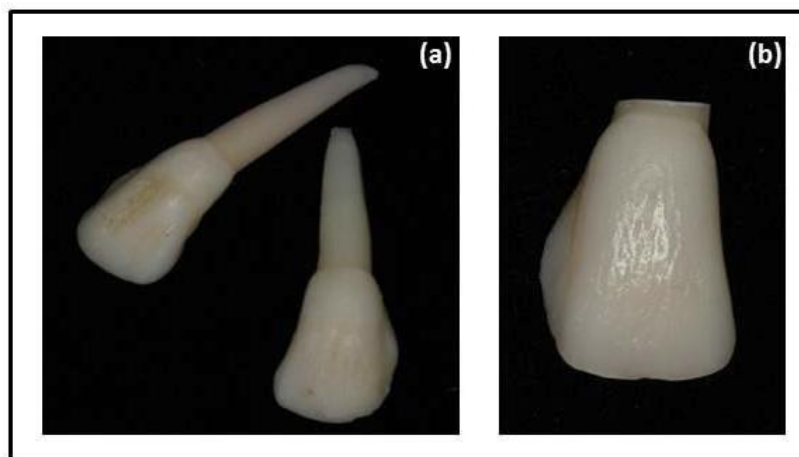


Figura 1: Incisivos bovinos utilizados no estudo: (a) dentes selecionados após desinfecção; (b) porção coronária após a separação da porção radicular.

A partir da porção coronária, foram obtidos blocos de esmalte/dentina de 25 mm² (Artigo 1) e de 16 mm² (Artigo 2) utilizando disco diamantado de alta concentração (4 "x 012 x ½, Buehler, Illinois, EUA) acoplado à cortadeira metalográfica de precisão (Isomet 1000, Buehler, Illinois , EUA) (Figura 2).

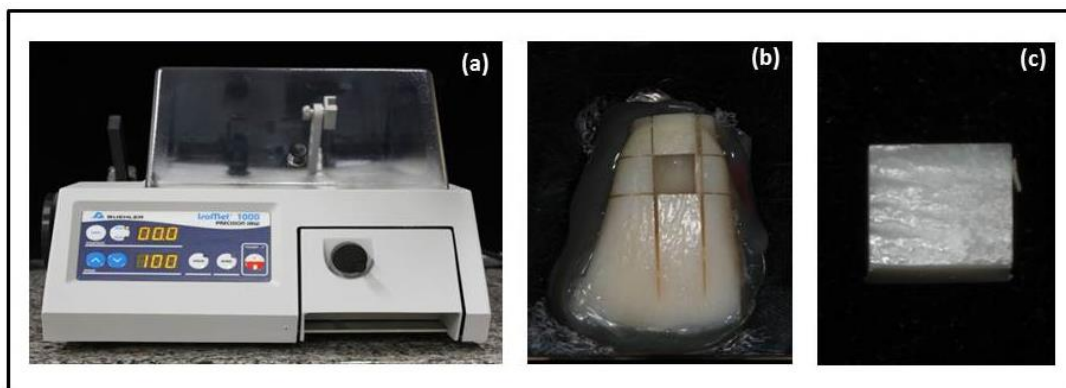


Figura 2: Obtenção de blocos de esmalte/dentina: (a) cortadeira metalográfica; (b) cortes realizados na porção coronária; (c) bloco de esmalte/dentina.

Para planificação, regularização e polimento da superfície de esmalte, os espécimes foram posicionados em discos de acrílico de modo que a superfície do esmalte ficasse paralela à base do disco e, assim, permitisse o posicionamento do conjunto (espécime e disco de acrílico) paralelamente à superfície da lixa ou feltro utilizado (Figura 3).

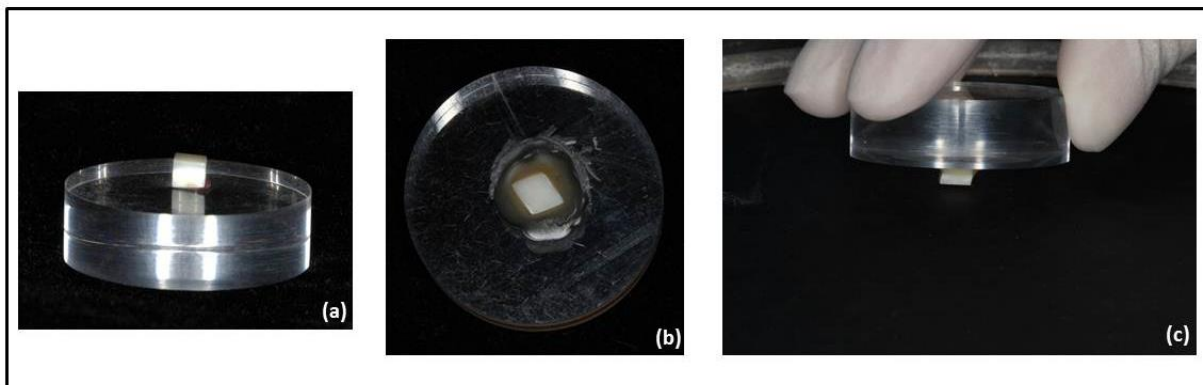


Figura 3: Polimento dos espécimes: (a-b) posicionamento e fixação do espécime sobre o disco de acrílico; (c) polimento da superfície de esmalte.

Para essa etapa, foram utilizadas lixas de carbeto de silício de granulação decrescente (#320, #600 e #1200 – Carborundum Abrasivos, São Paulo, SP, Brasil) e feltros (TOP, RAM e SUPRA - Arotec, Cotia; São Paulo, SP, Brasil), associados às pastas diamantadas metalográficas (6 μm – TOP, 3 μm – RAM, 1 μm – SUPRA - Arotec, Cotia; São Paulo, SP, Brasil), juntamente com o lubrificante específico (Arotec, Cotia; São Paulo, SP, Brasil) (Figura 4) acoplados a politriz giratória (Aropol E, Arotec, Cotia; São Paulo, SP, Brasil) (Figura 5). Entre cada etapa de planificação e polimento, bem como ao final desta etapa, as amostras foram lavadas com água destilada em cuba ultrassônica (Marconi, Piracicaba, SP, Brasil) para que fossem removidos quaisquer debris presentes na superfície de esmalte (Figura 5).

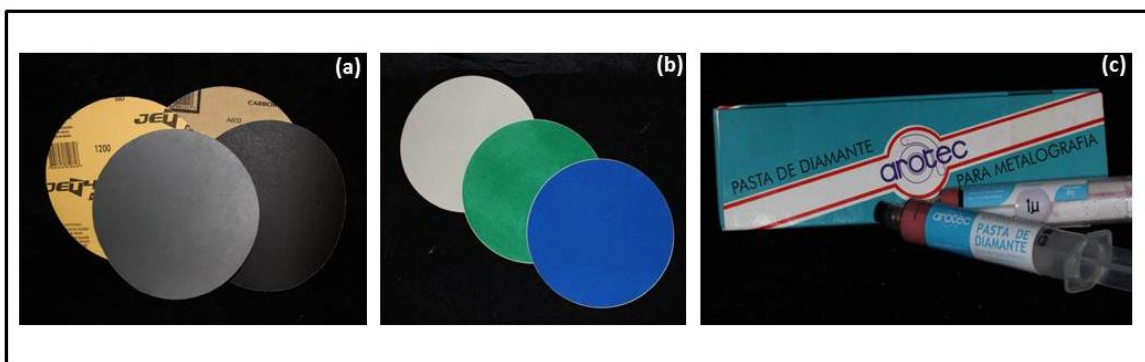


Figura 4: Materiais usados para o polimento dos espécimes: (a) lixas abrasivas; (b) feltros; (c) pasta de diamante.

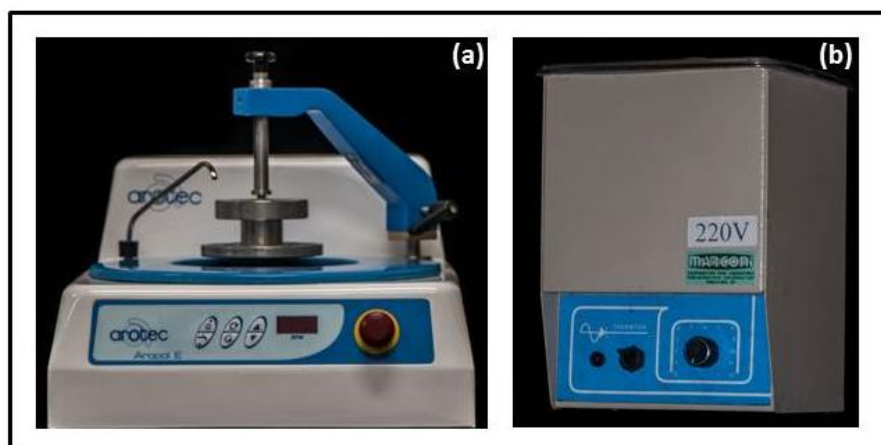


Figura 5: Politriz giratória (a) e cuba ultrassônica (b).

3. Esterilização dos espécimes (Estudo *in situ* – Capítulo 2)

Para a realização do estudo *in situ*, os espécimes foram submetidos ao procedimento de esterilização química, por meio do composto Óxido de Etileno (ACECIL – Centro de Esterilização, Comércio e Indústria LTDA – Campinas, São Paulo, Brasil).



Figura 6. Espécimes embalados em grau cirúrgico para o procedimento de esterilização química.

4. Aplicação dos tratamentos

Os tratamentos de microabrasão (Capítulos 1 e 2) e a aplicação ativa dos ácidos (Capítulo 1) foram realizados com taça de borracha específica para microabrasão (OpalCups, Ultradent Products Inc. Utah, USA) acoplada a um motor elétrico de rotação padronizada (LB-2000, Beltec Indústria e Comércio de Equipamentos Odontológicos LTDA, São Paulo, Brasil)) (Figura 7).

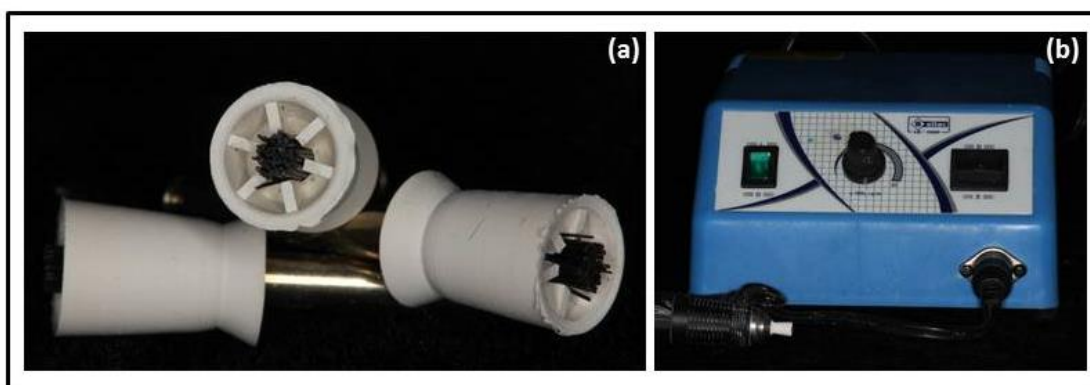


Figura 7: Taças de borracha específicas para microabrasão (a) e motor elétrico utilizado (b).

4.1. Microabrasão com ácido fosfórico associado à pedra-pomes

Para a microabrasão com ácido fosfórico 35% (Ultra-etch, Ultradent Products Inc. Utah, USA) associado à pedra-pomes (Quimidrol LTDA, Joinvile, SC, Brasil), partes iguais de cada produto, medidas com auxílio de uma colher dosadora (0,240 g), foram misturadas para a formação do sistema microabrasivo (Figura 8).

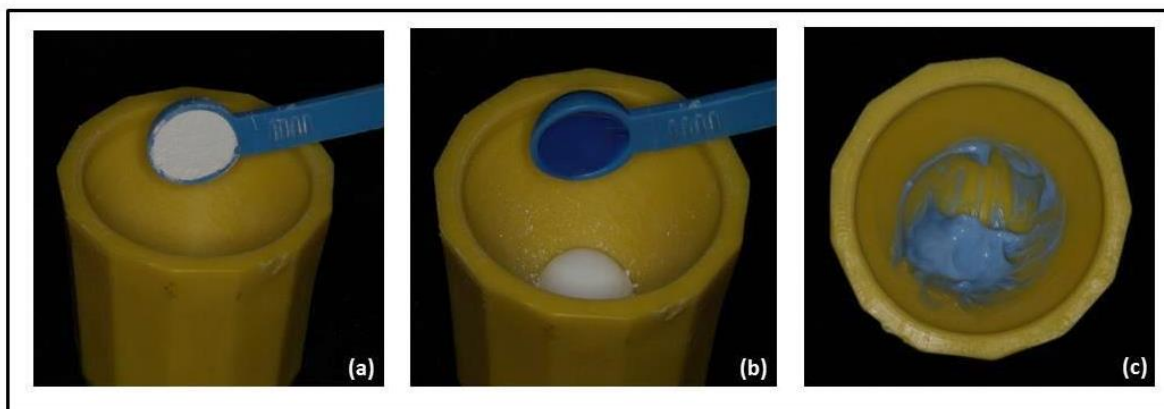


Figura 8: Proporcionamento da mistura microabrasiva: (a) pedra-pomes; (b) ácido fosfórico; (c) pasta para microabrasão.

Para o tratamento do espécime, a mistura foi dispensada sobre a amostra, com auxílio de uma seringa, de maneira que toda a superfície de esmalte fosse envolvida pelo produto, totalizando uma quantidade de 0,0200 g, mensurada em balança de precisão (Shimadzu AUJ, Shimadzu Corp., Kyoto, Japan). Para a microabrasão, o conjunto motor elétrico e taça de borracha foram posicionados perpendicularmente à superfície de esmalte (Figura 9). As aplicações foram realizadas em regime de 10 aplicações de 10 segundos cada, com lavagem e secagem da amostra entre as aplicações.

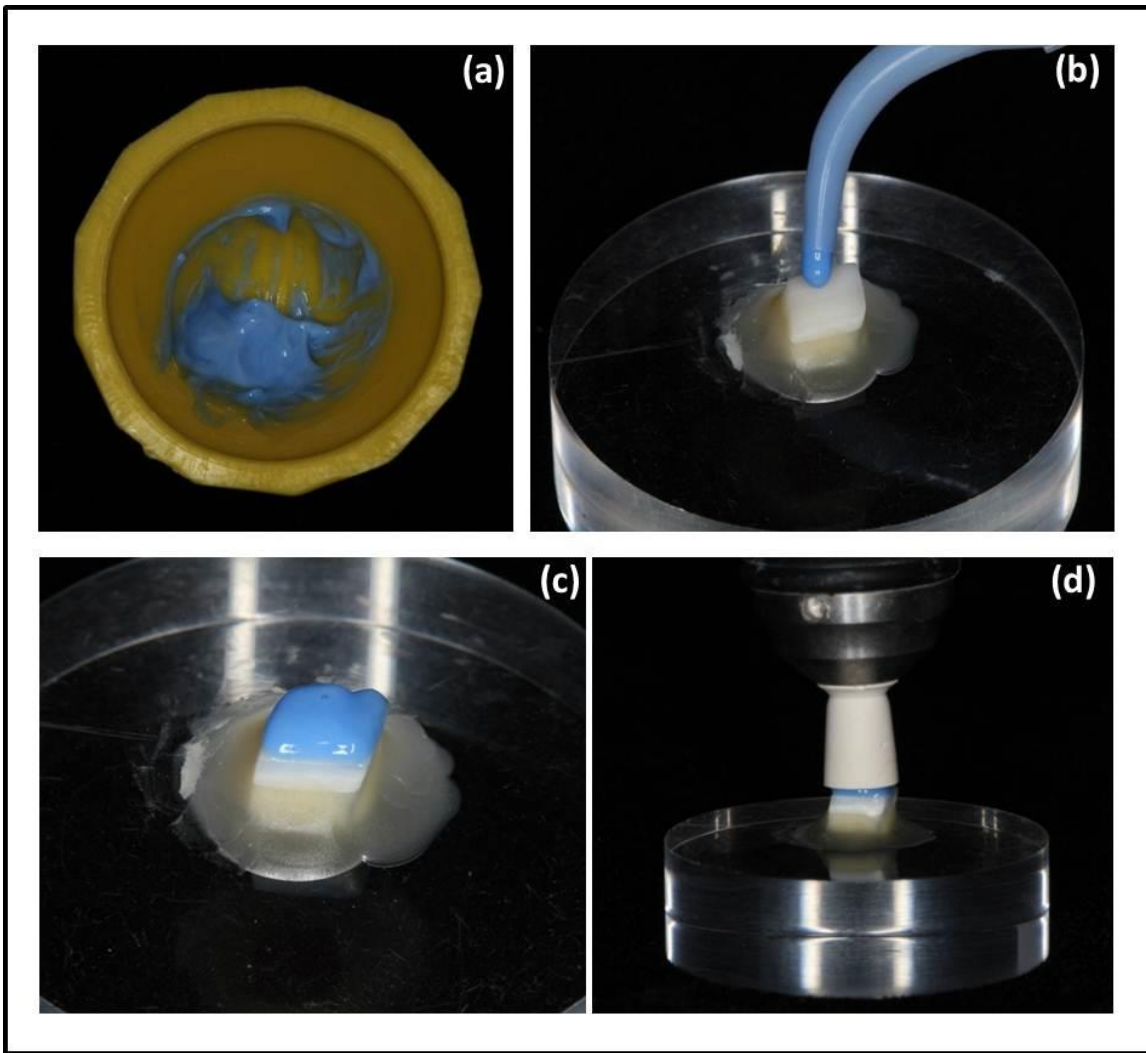


Figura 9: Tratamento de microabrasão: (a) pasta microabrasiva; (b-c) aplicação da mistura sobre o espécime; (d) posicionamento do motor elétrico sobre o espécime.

3.2. Microabrasão com Opalustre

O Opalustre (Ultradent Products Inc. Utah, USA) foi dispensado sobre a amostra por meio da própria seringa, na qual o produto é comercializado, de maneira que a superfície de esmalte fosse envolvida pela mistura microabrasiva, totalizando uma quantidade de 0,0200 g, mensurada em balança de precisão (Shimadzu AUY, Shimadzu Corp., Kyoto, Japan). Para a microabrasão, o conjunto motor elétrico e taça de borracha foram posicionados perpendicularmente à superfície de esmalte (Figura 10). As aplicações foram realizadas em regime de 10 aplicações de 10 segundos cada, com lavagem e secagem da amostra entre as aplicações.

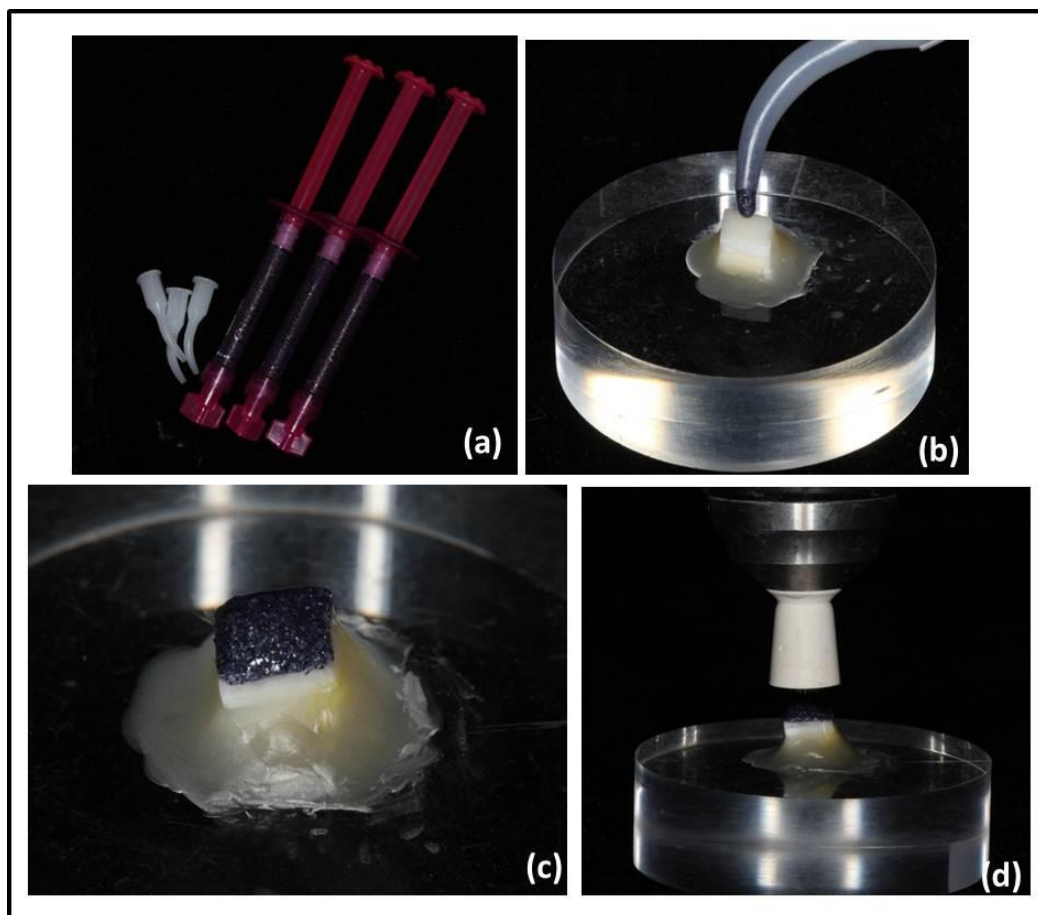


Figura 10: Tratamento de microabrasão: (a) Opalustre; (b-c) aplicação do produto sobre o espécime; (d) posicionamento do motor elétrico sobre o espécime.

4.3. Aplicação ativa do ácido fosfórico

O ácido fosfórico 35% (Ultra-etch, Ultradent Products Inc. Utah, USA) foi dispensado sobre a amostra por meio da própria seringa, na qual o produto é comercializado, de maneira que a superfície de esmalte fosse envolvida pela mistura microabrasiva, totalizando uma quantia de 0,0150 g, mensurada em balança de precisão (Shimadzu AU7, Shimadzu Corp., Kyoto, Japan). A aplicação ativa consistiu simulação do procedimento de microabrasão utilizando a ação mecânica realizada com taça de borracha acoplada a um motor elétrico, em regime de 10 aplicações de 10 segundos cada, com lavagem e secagem da amostra entre as aplicações (Figura 11).

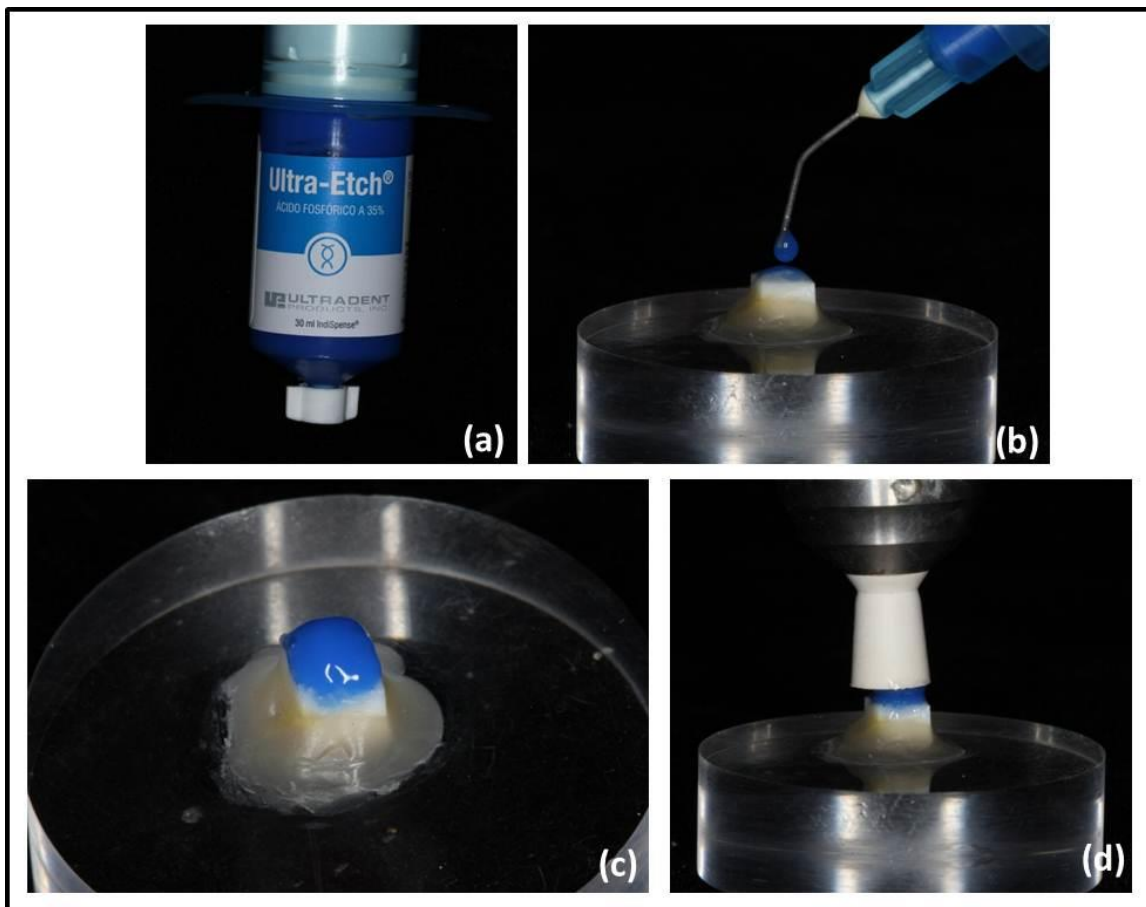


Figura 11: Aplicação ativa do ácido: (a) ácido fosfórico; (b-c) aplicação do ácido sobre o espécime; (d) posicionamento do motor elétrico sobre o espécime.

4.4. Aplicação ativa do ácido clorídrico

O ácido clorídrico foi obtido a partir de manipulação em farmácia especializada (Drogal Medicamentos, Piracicaba, SP, Brasil). O produto continha ácido clorídrico 6,6% (concentração utilizada no Opalustre) diluído em 50 g de gel de natrosol qsp. O produto se apresentava na forma líquida e sua aplicação foi realizada por meio de seringa, de maneira que toda a superfície de esmalte fosse envolvida pelo produto, totalizando uma quantidade de 0,0150 g, mensurada em balança de precisão (Shimadzu AUY, Shimadzu Corp., Kyoto, Japan). A simulação do procedimento de microabrasão (aplicação ativa) foi realizada com taça de borracha acoplada a um motor elétrico, em regime de 10 aplicações de 10 segundos cada, com lavagem e secagem da amostra entre as aplicações (Figura 12).

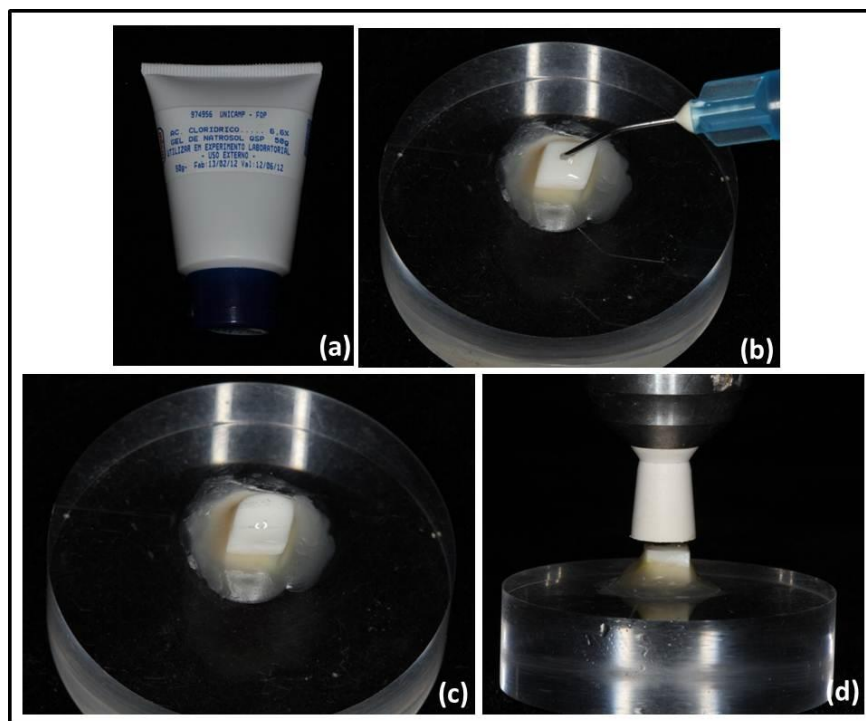


Figura 12: Aplicação ativa do ácido: (a) ácido clorídrico; (b-c) aplicação do ácido sobre o espécime; (d) posicionamento do motor elétrico sobre o espécime.

4.5. Aplicação passiva do ácido fosfórico

O ácido fosfórico 35% (Ultra-etch, Ultradent Products Inc. Utah, USA) foi apenas dispensado sobre a amostra, sem qualquer ação mecânica na sua aplicação, com auxílio da seringa no qual é comercializado, em uma porção de aproximadamente 0,0150 g, mensurada em balança de precisão (Shimadzu AUY, Shimadzu Corp., Kyoto, Japan) (Figura 13). Foram realizadas 10 aplicações de 10 segundos cada, com lavagem e secagem da amostra entre as aplicações.

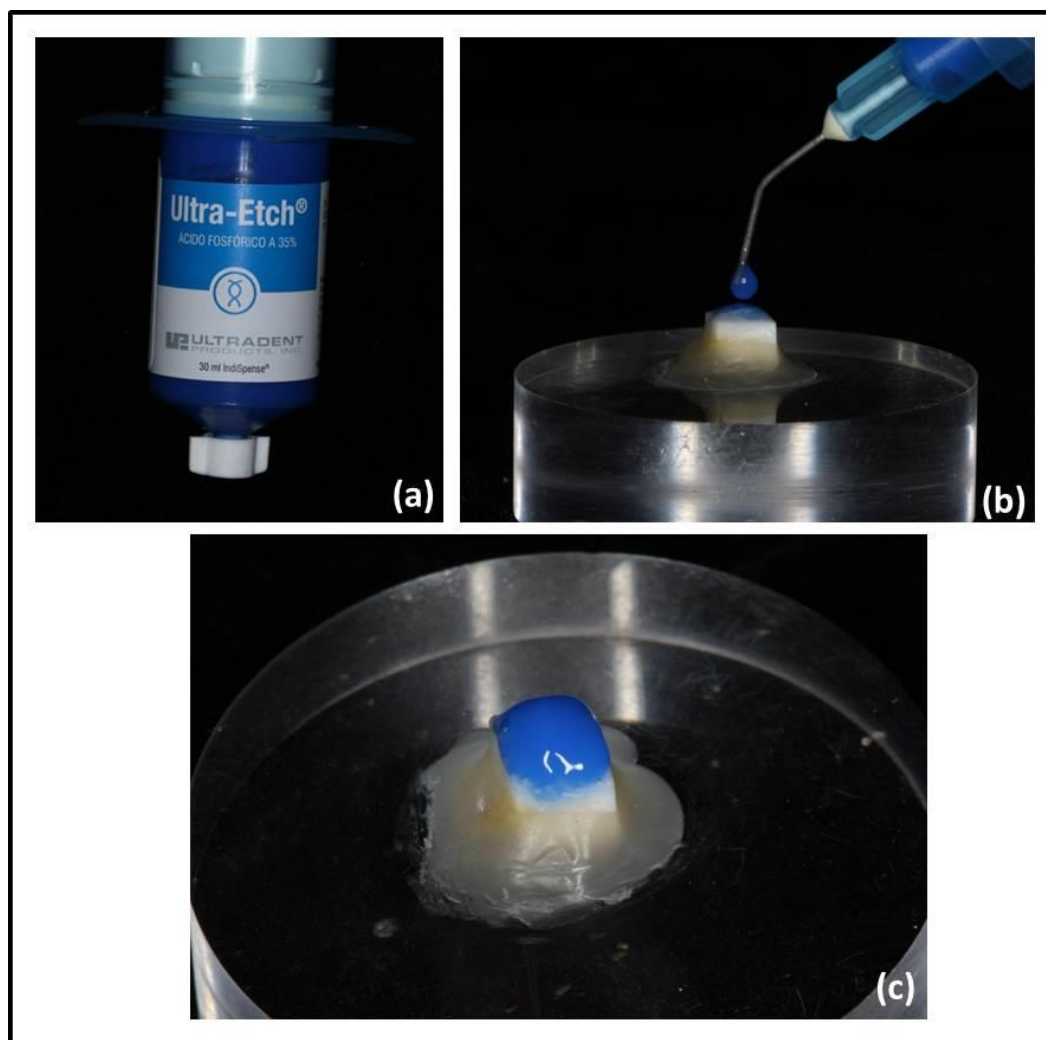


Figura 13: Aplicação passiva do ácido: (a) ácido fosfórico; (b-c) aplicação do ácido sobre o espécime.

4.5. Aplicação passiva do ácido clorídrico

O ácido clorídrico 6,6% (Drogal Medicamentos, Piracicaba, São Paulo, Brasil) foi apenas dispensado sobre a amostra, sem qualquer ação mecânica na sua aplicação, com auxílio de uma seringa, em uma porção de aproximadamente 0,0150 g, mensurada em balança de precisão (Shimadzu AUY, Shimadzu Corp., Kyoto, Japan) (Figura 14). Foram realizadas 10 aplicações de 10 segundos cada, com lavagem e secagem da amostra entre as aplicações.

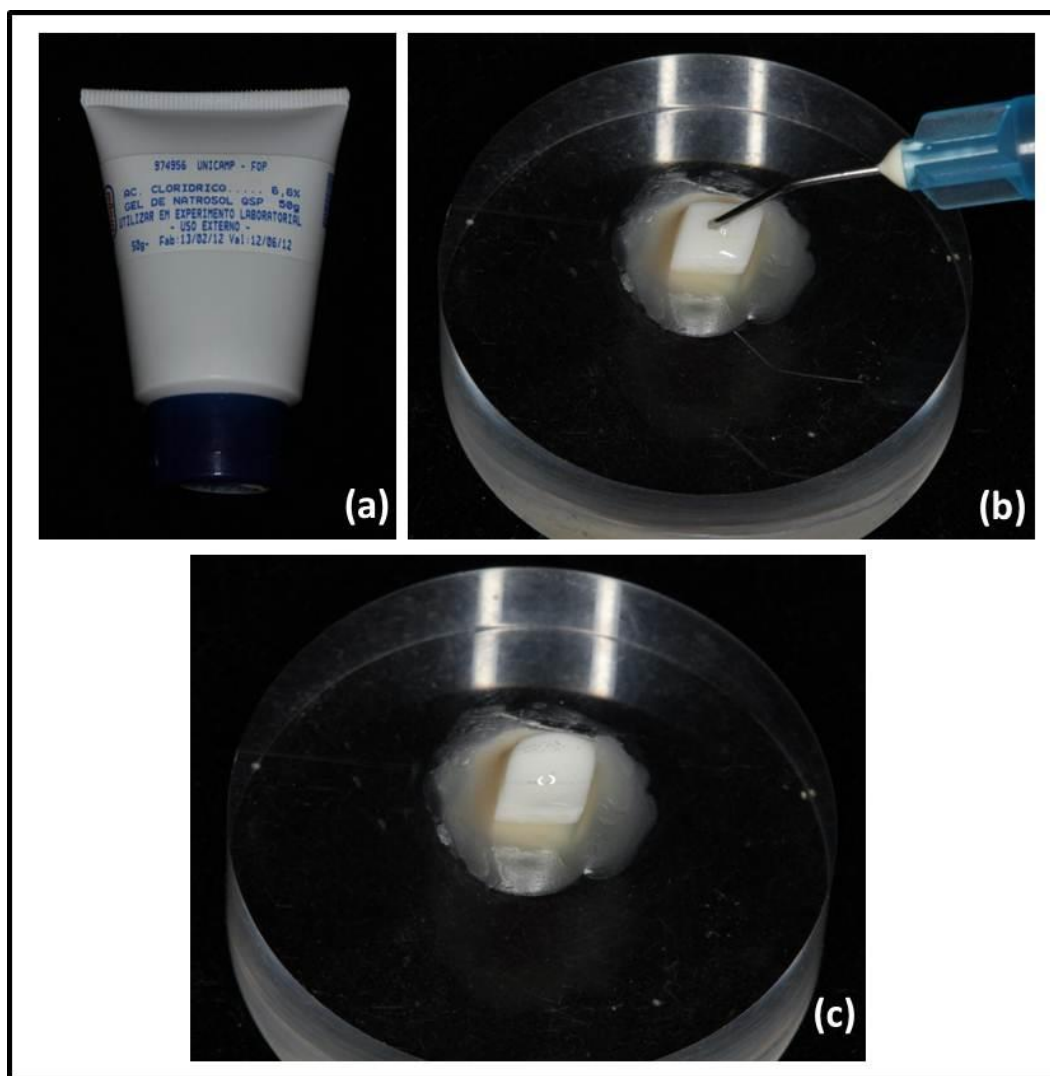


Figura 14: Aplicação passiva do ácido: (a) ácido clorídrico; (b-c) aplicação do ácido sobre o espécime.

5. Confeção dos dispositivos intrabucais

Os dispositivos intrabucais palatinos foram confeccionados em resina acrílica autopolimerizável (VIPIFlash. VIPI Indústria, Comércio e Exportação de Produtos Odontológicos Ltda, Pirassununga, São Paulo, Brasil) obtidos a partir dos modelos em gesso (Asfer Indústria Química Ltda, São Caetano do Sul, SP, Brasil) dos voluntários. Para a confecção dos aparelhos, inicialmente, aplicou-se isolante para resina acrílica sobre os modelos (Cel-Lac, SSWhite, Rio de Janeiro, RJ, Brasil). Em seguida, a resina acrílica foi colocada sobre o modelo de modo a envolver toda a superfície palatina dos dentes e recobrir toda a região do palato. Antes mesmo da completa polimerização da resina, moldes de silicone de condensação (Speedex, Vigodent Indústria e Comércio, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) com dimensões 4 x 4 mm foram posicionados simulando os espécimes e, assim, formando a loja para receber uma amostra de cada grupo, conforme delineado. Após a completa polimerização da resina, foram feitos os ajustes o polimento dos dispositivos (Figura 15).

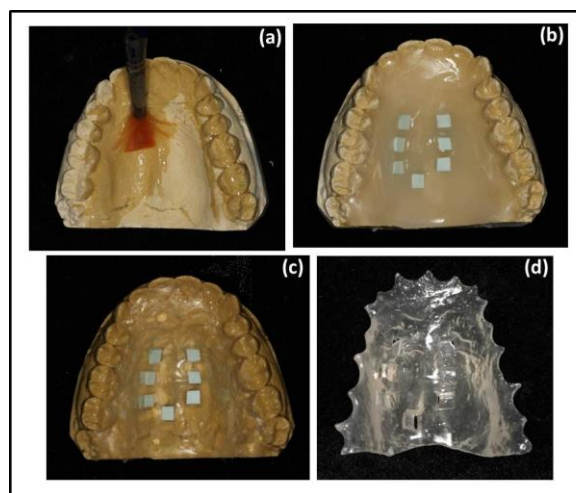


Figura 15: Confeção dos dispositivos intrabucais: (a) aplicação de isolante de gesso no modelo; (b-c) colocação de resina acrílica sobre o modelo e posicionamento dos moldes de silicone simulando os espécimes; (d) dispositivo intrabucal após o acabamento e polimento.

Os espécimes foram fixados com cera pegajosa (Asfer Industria Química Ltda, São Paulo, SP, Brasil) em posição previamente determinada de modo que sua superfície de esmalte ficasse no mesmo nível da resina acrílica e em contato com o ambiente bucal durante a utilização do dispositivo pelo voluntário.

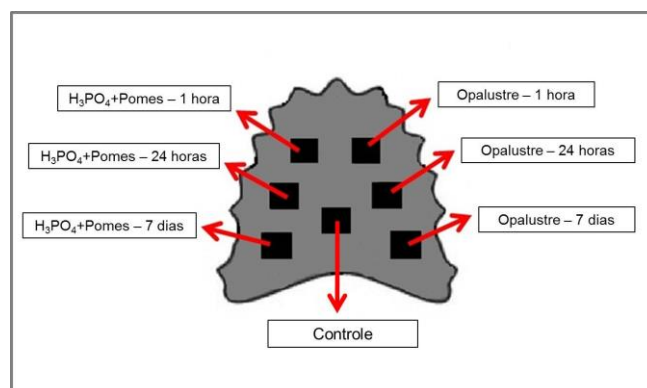


Figura 16: Posicionamento dos espécimes no dispositivo intrabucal.

Os dispositivos foram distribuídos aos voluntários, e, conforme o tempo estabelecido, os espécimes foram retirados do dispositivo e a janela referente ao mesmo era preenchida com cera pegajosa (Figura 17).

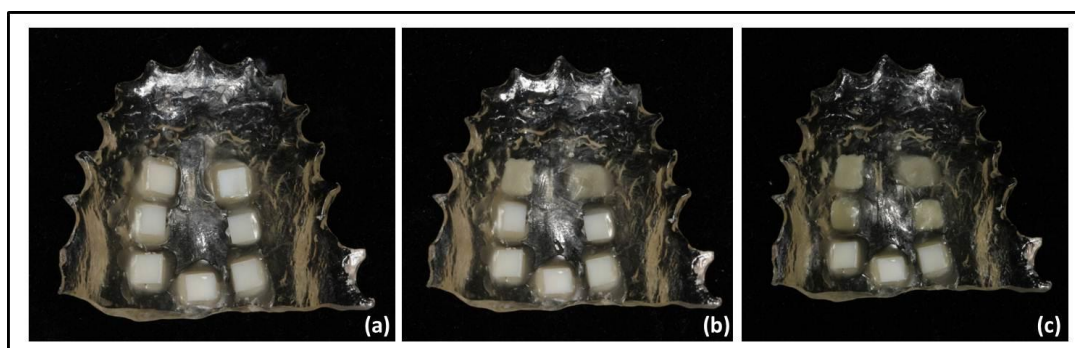


Figura 17: Dispositivo intrabucal durante o experimento: (a) dispositivos com todos os espécimes fixados; (b) dispositivo após 1 hora com remoção dos espécimes do referido grupo; (c) dispositivo intrabucal após 24 horas com remoção dos espécimes do referido grupo e como permanece até o fim do período experimental (7 dias).

6. Análises

6.1. Microdureza de superfície

A análise de microdureza superficial do esmalte foi realizada por meio de microdurômetro com edentador Knoop (Shimadzu HMV-2000, Shimadzu Corp., Kyoto, Japan) (Figura 18), com carga estática de 25 gramas por 10 segundos.



Figura 18. Microdurômetro Shimadzu HMV-2000.

Foram realizadas cinco indentações com distância 100 μm entre elas, na região central do espécime (Figura 19). As leituras foram realizadas nos tempos inicial, após tratamento e após exposição à saliva (Capítulo 2) (Figura 19).



Figura 19. Esquema gráfico das indentações na região central da amostra, mostrando as medidas das distâncias entre elas.

6.2. Microdureza de subsuperfície

Para a análise de microdureza subsuperficial, os espécimes foram seccionados longitudinalmente, sendo uma das metades reservada para esta análise e a outra para confecção de fatias e posterior análise em microscópio confocal de varredura a laser (Figura 20).

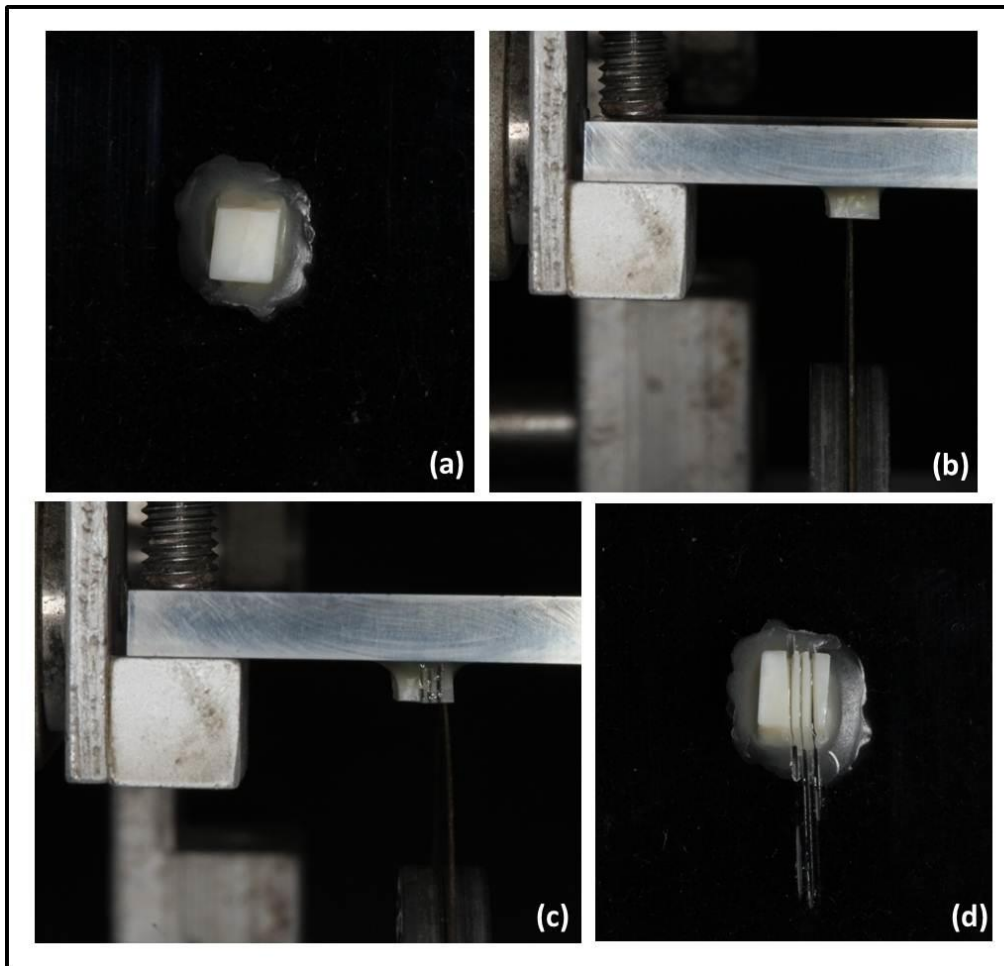


Figura 20: Corte longitudinal do espécime: (a) Fixação do espécime em placa de acrílico com cera pegajosa; (b) posicionamento do espécime na cortadeira metalográfica e seccionamento deste ao meio; (c-d) obtenção de fatias.

Após a secção do espécime, a face longitudinal, expondo esmalte e dentina, foi polida com lixas abrasivas e discos de feltro conforme o protocolo já descrito (Figura 21).

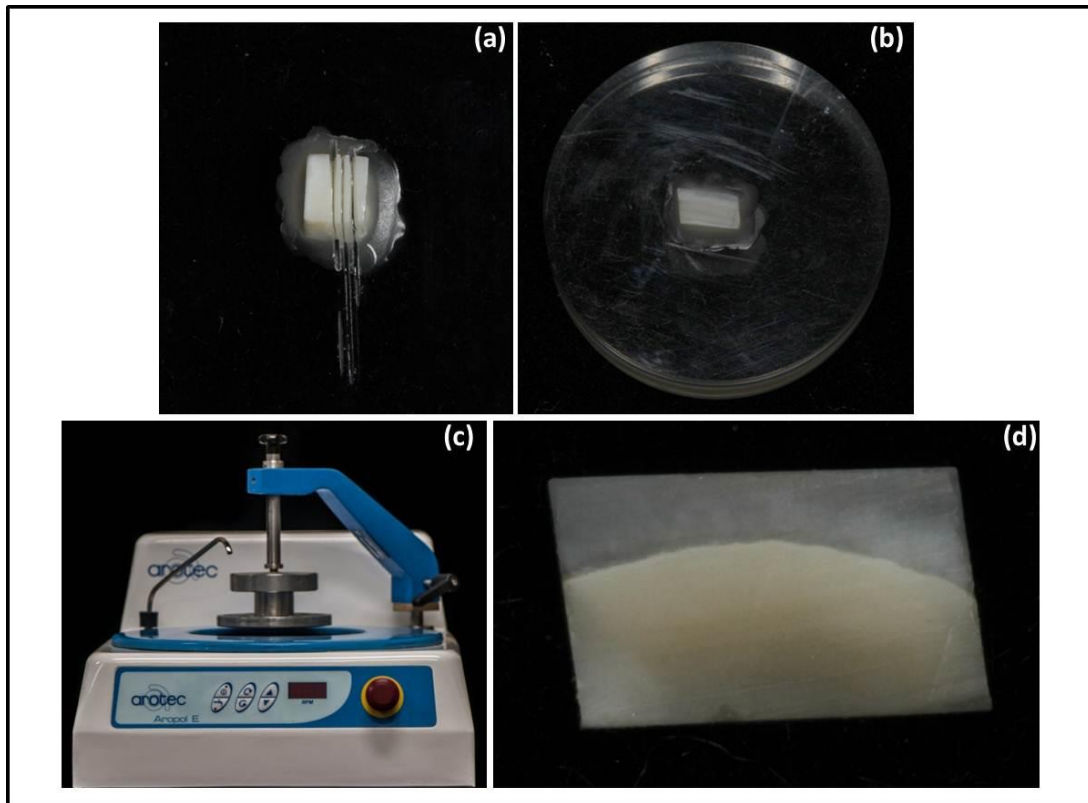


Figura 21: Polimento da face longitudinal do espécime: (a) corte longitudinal do espécime; (b) fixação do hemi-espécime em disco de acrílico; (c) polimento em politriz metalográfica; (d) aspecto da face longitudinal do espécime após o polimento.

Foram realizadas doze indentações em cada espécime, sendo três em cada uma das diferentes profundidades – 10, 25, 50 e 75 μm com 100 μm de distância entre elas (Figura 22).

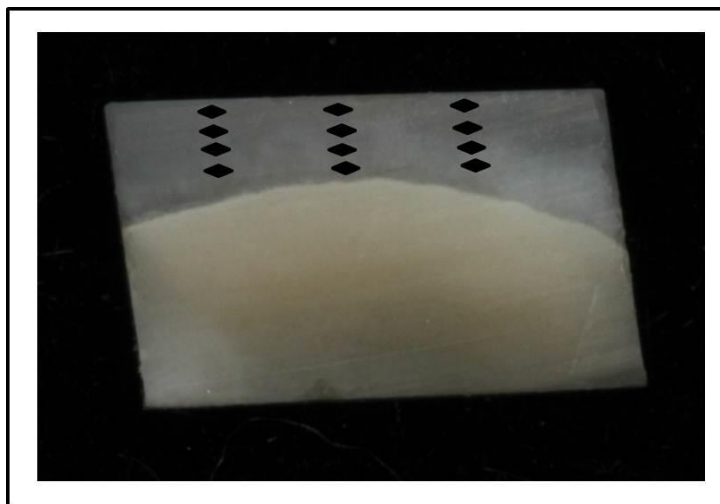


Figura 22. Esquema gráfico das indentações nas camadas subsuperficiais do esmalte.

6.3. Microscopia confocal de varredura a laser (Capítulo 1)

Para análise em microscopia confocal de varredura a laser, as fatias obtidas a partir do seccionamento longitudinal dos espécimes foram polidas conforme o protocolo anteriormente descrito (Figura 23).

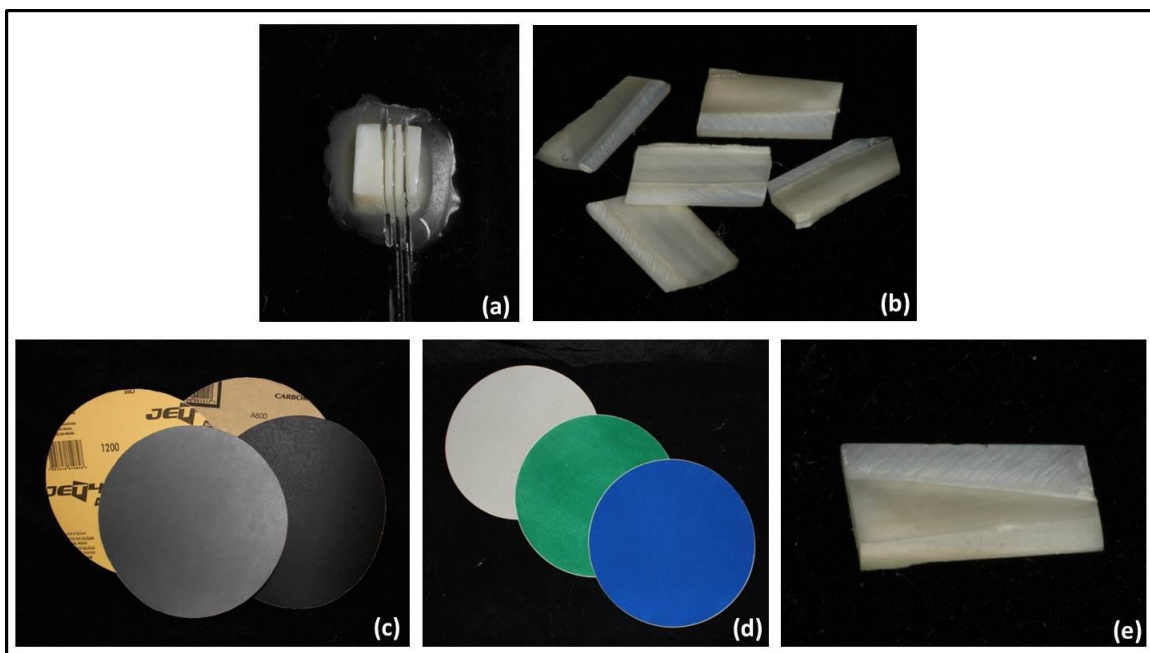


Figura 23. Polimento das fatias de esmalte: (a-b) obtenção das fatias por meio do corte longitudinal da amostra; (c-d) lixas abrasivas e feltros para polimento; (e) aspecto da fatia após o polimento.

Após o polimento, as fatias foram armazenadas em solução 0,1mmol/L de isoticianato de rodamina B a 0,1% (RITC; Sigma-Aldrich Co. LLC, Steinheim, Alemanha), por 1 hora, previamente a análise no microscópio (Figura 24). As imagens obtidas foram analisadas por meio do Software Confocal LCS Lite (Leica, modelo TCS SP5AOBS).



Figura 24. Armazenamento das fatias em solução de rodamina B.

6.5. Microscopia eletrônica de varredura (Capítulo 2)

Para avaliação qualitativa das amostras, estas foram preparadas para análise em Microscópio Eletrônico de Varredura – MEV (Jeol.jsm 5600LV, Tokyo, Japão). Para tanto, as amostras foram lavadas em cuba ultrassônica (Marconi, Piraciava, SP, Brasil) e foram realizados três banhos em solução aquosa de álcool absoluto nas amostras com diferentes proporções (50%, 75% e 95%) com duração de 50 minutos cada um. Feito isso, as amostras foram fixadas em disco de acrílico para serem metalizadas (Bal-Tex SCD 050 sputter coter, Alemanha) com uma camada de ouro paládio (Figura 25). Por meio do MEV, foram obtidas imagens representativas (4000x) de cada grupo.

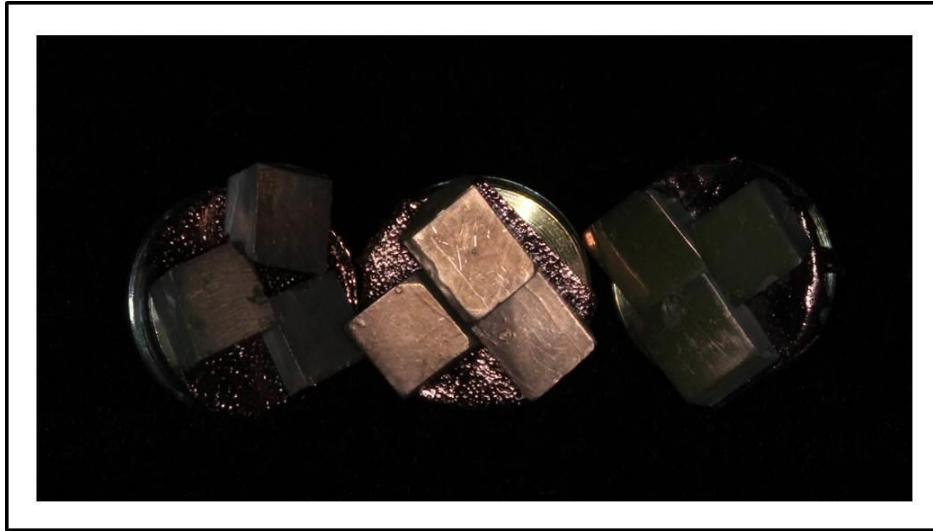


Figura 25. Amostras metalizadas para análise em MEV.

Certificado de Aprovação no Comitê de Ética

	<p>COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS</p>	
<h2>CERTIFICADO</h2>		
<p>O Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP certifica que o projeto de pesquisa "Avaliação da influência dos ácidos utilizados para microabrasão na microdureza superficial e subsuperficial do esmalte dental", protocolo nº 037/2011, dos pesquisadores José Roberto Lovadino, Débora Alves Nunes Leite Lima e Núbia Inocencya Pavese Pini, satisfaz as exigências do Conselho Nacional de Saúde - Ministério da Saúde para as pesquisas em seres humanos e foi aprovado por este comitê em 08/06/2011.</p>		
<p>The Ethics Committee in Research of the School of Dentistry of Piracicaba - State University of Campinas, certify that the project "Effect of the acids used in the microabrasion technique on superficial and subsuperficial microhardness of enamel", register number 037/2011, of José Roberto Lovadino, Débora Alves Nunes Leite Lima and Núbia Inocencya Pavese Pini, comply with the recommendations of the National Health Council - Ministry of Health of Brazil for research in human subjects and therefore was approved by this committee at 06/08/2011.</p>		
 Profa. Dra. Livia Maria Andaló Tenuta Secretária CEP/FOP/UNICAMP	 Prof. Dr. Jacks Jorge Junior Coordenador CEP/FOP/UNICAMP	
<p><small>Nota: O título do protocolo aparece como fornecido pelos pesquisadores, sem qualquer edição. Notice: The title of the project appears as provided by the authors, without editing.</small></p>		

Comprovantes de Encaminhamento dos Artigos

- Capítulo 1

The International Journal of Prosthodontics

--Mensagem Original--

From: **International Journal of Prosthodontics** <ijp@manuscriptmanager.com>

Date: 2013/2/23

Subject: manuscript - Submission confirmation

To: nubiapini01@gmail.com

Manuscript title: Effects of acids used in the microabrasion technique: microhardness and confocal microscopy analysis

The above manuscript has been successfully submitted online. You will receive a further receipt email directly from the journals editorial office when your submission has been checked and your manuscript files verified.

Quick login link:

http://www.manuscriptmanager.com/mm3/ql.php?pw=ijp*44*aad49*6899

International Journal of Prosthodontics

Dept. of Prosthodontics

Faculty of Dentistry - University of Toronto

124 Edward Street

Toronto

M5G 1G6 – Ontario – Canada

ijp@manuscriptmanager.com

- Capítulo 2

Operative Dentistry

HOME

Manuscript #	13-064-L
Current Revision #	0
Submission Date	2013-03-02
Current Stage	Editorial Office Processing
Title	In situ investigation of remineralizing time on tooth enamel following microabrasion treatments
Running Title	Salivary effect on enamel after microabrasion
Manuscript Type	Laboratory Research
Corresponding Author	Nubia Pini (Piracicaba Dental School, State University of Campinas - FOP/Unicamp)
Financial Disclosure	I certify that all financial and material support for this research and work are clearly acknowledged in the manuscript.
Abstract	Objective: This study examined the effect of remineralizing time on the enamel surface of teeth after various microabrasion techniques under in situ conditions. Methods: Enamel blocks (16 mm ²), from bovine incisors, were divided into nine groups (n=19): G1, no treatment (control); G2, microabrasion with 35% phosphoric acid (H ₃ PO ₄) and pumice without saliva exposure; G3, 6.6% hydrochloric acid (HCl) and silica (Opalustre TM) without saliva exposure; G4, G5, and G6, microabrasion with 35% H ₃ PO ₄ and pumice with saliva exposure for 1 hour, 24 hours, and 7 days, respectively; G7, G8, and G9, microabrasion with Opalustre TM and saliva exposure for 1 hour, 24 hours, and 7 days, respectively. Nineteen volunteers wore a palatal appliance containing the blocks for 7 days. Enamel surface microhardness (SMH) and cross-sectional microhardness (CSMH) were tested before and after treatment, and after saliva exposure. Scanning electron microscopy (SEM) was used to qualitatively evaluate enamel morphology. Results: According to the SMH analysis, all the microabrasion-treated groups presented with significantly reduced mineral content compared to the control. Opalustre TM treatment presented a lower reduction, which was statistically different from the H ₃ PO ₄ + pumice treatment. Regarding saliva exposure, Opalustre TM was more prone to the remineralizing effect of saliva, which was confirmed by CSMH analysis, because saliva exposure efficiently reestablished the mean microhardness values for the most superficial layers. These results were confirmed by SEM, which presented the remineralizing effect over time. Conclusion: Enamel surface treated with Opalustre TM was more susceptible to the remineralizing action of saliva than that treated with H ₃ PO ₄ and pumice.
Associate Editor	Not Assigned
Key Words	enamel, microabrasion, microhardness, saliva
Topic	CLINICAL OPERATIVE DENTISTRY, ENAMEL EROSION, ESTHETIC DENTISTRY, PRACTICE-BASED STUDIES IN OPERATIVE DENTISTRY
Clinical Relevance	Enamel microabrasion with 6.6% and silica may be considered a best choice to improve the appearance of teeth with stains or texture defects. The surface treated with this compound was more prone to remineralizing action of saliva in 7 days.
Copyright Release Date	Not Received