

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**

**EFEITO REMINERALIZADOR E PROTETOR DE  
DENTIFRÍCIOS COM TECNOLOGIA REFIX<sup>®</sup> EM  
LESÕES CARIOSAS: UM ESTUDO *IN VITRO***

**Bianne Maria de Melo Costa**

**SAPIENTIA AEDIFICAT**

**Bianne Maria de Melo Costa**

**EFEITO REMINERALIZADOR E PROTETOR DE DENTIFRÍCIOS  
COM TECNOLOGIA REFIX® EM LESÕES CARIOSAS: UM ESTUDO  
*IN VITRO***

**REMINERALIZING AND PROTECTIVE EFFECT OF TOOTHPASTES  
WITH REFIX® TECHNOLOGY ON CARIOUS LESIONS: AN *IN*  
*VITRO* STUDY**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia – Área de Concentração Ciências Odontológicas.

Orientador: Prof. Dra. Andressa Feitosa Bezerra de Oliveira

João Pessoa

2024





UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA



43

44

45

ATA DA DEFESA PÚBLICA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO  
(DOCUMENTO ANEXO – 1)

46

47

48 A Comissão Examinadora do Trabalho Final (dissertação) de Curso de Mestrado do Programa de Pós-graduação em  
49 Odontologia da Universidade Federal da Paraíba, em sessão pública, após apreciação da apresentação oral e arguição  
50 do trabalho:

51

52 **CANDIDATO:** BIANNE MARIA DE MELO COSTA

53 **ORIENTADOR:** Prof. Dr. ANDRESSA FEITOSA BEZERRA DE OLIVEIRA

54

55 **BANCA EXAMINADORA:**

56 1º Examinador: Prof. Dr. RODRIGO BARROS ESTEVES LINS (Membro Externo)

57 2º Examinador: Prof. Dr. FABIO CORREIA SAMPAIO (Membro Interno)

58 3º Examinador: Prof. Dr. ANDRESSA FEITOSA BEZERRA DE OLIVEIRA (orientadora e presidente)

59

60 **TÍTULO DA DISSERTAÇÃO:** “Efeitos Remineralizador e Protetor de Dentifrícios com Tecnologia REFIX® em  
61 Lesões Cariosas: Um Estudo in vitro”.

62

Houve sugestão de alteração do título do trabalho final? ( ) Sim (X) Não

63

Se sim, qual o novo título sugerido?

64

65

66

67

68

69

70

71

72

73 no dia 26 de Julho de 2024, e observando o que determina a Resolução do Colegiado do Programa de Pós-graduação

74 em Odontologia atribuem o conceito final:

75 (X) Aprovado ( ) Insuficiente ( ) Reprovado

76 ao candidato o que lhe permitirá fazer jus ao título de Mestre em Odontologia, após a tramitação pertinente.

77

78

79

80

81

82

83

84

85

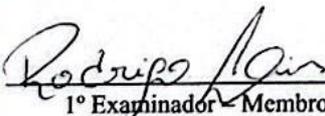
86

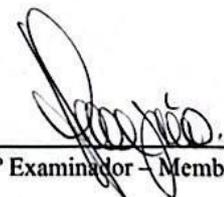
87

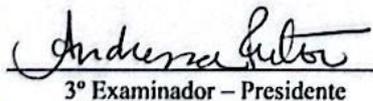
88

89

90

  
1º Examinador – Membro Externo

  
2º Examinador – Membro interno

  
3º Examinador – Presidente



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA



91  
92  
93  
94  
95  
96  
97  
98  
99  
100  
101  
102  
103  
104  
105  
106  
107  
108  
109  
110  
111  
112  
113  
114  
115  
116  
117  
118  
119  
120  
121  
122  
123  
124  
125  
126  
127  
128  
129  
130

ATA DA DEFESA PÚBLICA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO  
(DOCUMENTO ANEXO – 2)

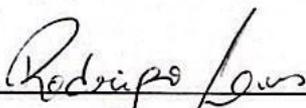
João Pessoa, 26 de julho de 2024.

CANDIDATO: BIANNE MARIA DE MELO COSTA

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: “Efeitos Remineralizador e Protetor de Dentífricos com Tecnologia REFIX® em Lesões Cariosas: Um Estudo in vitro”

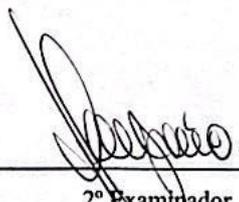
1º EXAMINADOR: Prof. Dr. RODRIGO BARROS ESTEVES LINS

Parecer:  Aprovado ( ) Insuficiente ( ) Reprovado

  
\_\_\_\_\_  
1º Examinador

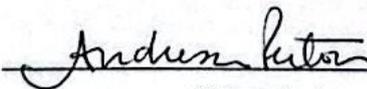
2º EXAMINADOR: Prof. Dr. FABIO CORREIA SAMPAIO

Parecer:  Aprovado ( ) Insuficiente ( ) Reprovado

  
\_\_\_\_\_  
2º Examinador

3º EXAMINADOR: Prof. Dr. ANDRESSA FEITOSA BEZERRA DE OLIVEIRA

Parecer:  Aprovado ( ) Insuficiente ( ) Reprovado

  
\_\_\_\_\_  
3º Examinador

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA SETORIAL DO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

C838e Costa, Bianne Maria de Melo.

Efeito remineralizador e protetor de dentifrícios com tecnologia Refix® em lesões cariosas : um estudo in vitro / Bianne Maria de Melo Costa. - João Pessoa, 2024.

65 f. : il.

Orientação: Andressa Feitosa Bezerra de Oliveira.  
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS.

1. Cárie dentária. 2. Remineralização dentária. 3. Dentifrícios. I. Oliveira, Andressa Feitosa Bezerra de. II. Título.

UFPB/BC

CDU 616.314-002(043)

**Informações Complementares:**

Título em outro idioma: Remineralizing and Protective Effect of Toothpastes with Refix® Technology on Carious Lesions: An In Vitro Study

Palavras-chave em outro idioma: Tooth Remineralization. Dentifrices. Dental Caries.

Área de concentração: Ciências Odontológicas

Linha de Pesquisa: Biomateriais em Odontologia

Banca examinadora: Andressa Feitosa Bezerra de Oliveira (Orientador, Universidade Federal da Paraíba- UFPB); Fábio Correia Sampaio (Universidade Federal da Paraíba -UFPB); Rodrigo Barros Esteves Lins (Universidade Federal de Alagoas)

Data de defesa: 26-07-2024

**Informações acadêmicas e profissionais da aluna**

- ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2323-3072>

- Link do Currículo Lattes: <http://lattes.cnpq.br/5629409103069626>

## AGRADECIMENTOS

Não posso deixar de iniciar expressando minha gratidão a Deus. Ele é o principal responsável por esta realização, em todos os momentos mostrou que tudo acontece no tempo certo.

À minha família, principalmente a minha mãe e ao meu pai pelo apoio incondicional, paciência e encorajamento durante os desafios enfrentados nesta jornada. Vocês sempre serão as pessoas mais preciosas na minha vida e que me motivaram a nunca desistir.

Sou profundamente grata à minha orientadora, Andressa Feitosa, por toda orientação, apoio constante e conhecimentos valiosos ao longo deste percurso. Quando me senti perdida, me trouxe tranquilidade com o seu amor pela docência. Sua dedicação e encorajamento foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho. Serei eternamente grata.

Gostaria de expressar minha profunda gratidão aos meus amigos. Seu apoio, companheirismo e encorajamento foram essenciais ao longo desta jornada. À Nayanna, dedico toda minha gratidão por ter me incentivado nesta nova área e por ter segurado minha mão durante todo o percurso. Aos novos amigos do grupo de pesquisa que compartilharam suas ideias e experiências ao longo deste percurso. Anderson, amigo que fiz na UFPB, seu constante incentivo foi fundamental para mim nesta caminhada; sei que você irá longe. Compartilhar momentos, risos e desafios ao lado de vocês tornou esta experiência ainda mais especial. Obrigado por estarem sempre ao meu lado.

Agradeço também aos membros da banca examinadora, Prof Fábio Sampaio e Prof Rodrigo Lins, por suas contribuições e sugestões construtivas. Seus comentários são extremamente enriquecedores e enriquecem significativamente este estudo.

Agradecer à FAPESQ, ao PPGO-UFPB e à Universidade Federal da Paraíba, pelo apoio institucional recebido e por proporcionar um ambiente acadêmico propício ao aprendizado e à pesquisa, além de recursos essenciais para a realização deste projeto. O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Paraíba (FAPESQ), processo nº 16/2022.

A todos que de forma de direta ou indireta me fizeram chegar aqui, agradeço.

## EPÍGRAFE

*“Mude, mas comece devagar, porque a direção é mais importante que a  
velocidade”.*

*Clarice Lispector*

## RESUMO

**Introdução:** A tecnologia REFIX®, incorporada em dentifrícios, é composta por fluoreto, sílica e fosfatos, formando complexos estáveis que atuam na remineralização de tecidos dentários cariados em ambientes ácidos, como a saliva.

**Objetivo:** Avaliar, *in vitro*, o efeito remineralizador e protetor de dentifrícios com tecnologia REFIX®, associados ou não aos fluoretos, em esmalte bovino com e sem lesões iniciais de cárie.

**Materiais e métodos:** Foram realizados dois modelos de ciclagem de pH independentes: um para o efeito remineralizador (com lesão prévia inicial de cárie) e outro para o efeito protetor (sem lesão inicial de cárie). Para cada modelo, foram utilizados 60 blocos de esmalte de incisivos bovinos (4x4x2mm), distribuídos em cinco grupos (n=12/grupo): DRS1 - Dentifrício Regenerador + Sensitivo - (1450 ppm de NaF + silicato - Tecnologia REFIX®); DRS2 - (1100 ppm de NaF + silicato - Tecnologia REFIX®); DRS3 - (silicato - Tecnologia REFIX® sem fluoreto); CN - Controle Negativo (Dentifrício sem fluoreto e sem Tecnologia REFIX®); e CP - Controle Positivo (Dentifrício Oral B - 1.450 ppm de NaF sem Tecnologia REFIX®). No modelo remineralizador, o esmalte superficial foi dividido em três partes: (1) área hígida, (2) área desmineralizada e (3) área teste. Para o modelo protetor, a superfície do esmalte foi dividida em duas áreas: (1) hígida e (2) área teste. Os espécimes foram submetidos a dois modelos de ciclagem de pH remineralizante cariogênico, durante seis dias (efeito remineralizador) e cinco dias (efeito protetor). Os blocos foram tratados com *slurries* dos dentifrícios (proporção 1:3) em uma máquina de escovação padronizada durante dois minutos, antes e após o desafio cariogênico. Ao final, os blocos foram analisados por meio da Quantificação de Fluorescência Induzida por Luz (QLF) para avaliar as variáveis proteção/remineralização ( $\Delta F$ ) e profundidade da lesão ( $\Delta F_{max}$ ). Os dados apresentaram distribuição normal e foram analisados pelos testes de ANOVA, seguido de Tukey, e correlação de Pearson, com  $p < 0,05$ .

**Resultados:** Diferenças significativas foram observadas entre os grupos nos dois modelos estudados, para ambas as variáveis. No modelo remineralizador, analisando a variável  $\Delta F_{RE}$ , os grupos DRS2 e DRS3 apresentaram a melhor eficácia na remineralização da cárie, seguidos do DRS1 e do CP. Os grupos tratados com a Tecnologia REFIX® mostraram uma redução substancial na profundidade da lesão ( $\Delta F_{max_{RE}}$ ), comparável ao CP. O CN demonstrou perda

mineral e aumento da profundidade da lesão após o tratamento. Correlação significativa positiva foi observada entre as variáveis  $\Delta F_{RE}$  e  $\Delta F_{maxRE}$  ( $p < 0,05$ ). No efeito protetor, a análise da variável  $\Delta F$  demonstrou que os grupos DRS1, DRS2 e CP ( $p > 0,05$ ) foram mais eficazes na proteção do esmalte após desafio cariogênico, enquanto que o DRS3 e o CN diferiram significativamente dos primeiros ( $p < 0,05$ ) e apresentaram as maiores perdas minerais. Para a variável  $\Delta F_{max}$ , no mesmo modelo, a eficácia na proteção de formação de lesões menos profundas pode ser classificada como DRS1= DRS2 > CP > DRS3=CN. **Conclusão:** A tecnologia REFIX® combinada com fluoreto demonstrou eficácia tanto na remineralização de lesões cáries quanto na proteção contra desafios ácidos cariogênicos. No modelo protetor, a concentração de fluoreto teve maior influência na formação de um esmalte mais resistente, enquanto no modelo remineralizador, o ganho mineral também foi observado nos dentifrícios com tecnologia REFIX® sem fluoreto. Esses achados destacam o potencial da tecnologia REFIX® como uma opção terapêutica a mais para a prevenção e remineralização da cárie dentária.

**Palavras-chave:** Remineralização Dentária; Dentifrícios; Cárie Dentária.

## ABSTRACT

**Introduction:** The REFIX® technology, incorporated into toothpaste, consists of fluoride, silica, and phosphates, forming stable complexes that act in the remineralization of carious dental tissues in acidic environments, such as saliva.

**Objective:** To evaluate, in vitro, the remineralizing and protective effects of toothpaste containing REFIX® technology, with or without fluoride, on bovine enamel with and without initial caries lesions.

**Materials and Methods:** Two independent pH cycling models were performed: one for the remineralizing effect (with initial caries lesions) and the other for the protective effect (without initial caries lesions). For each model, 60 blocks of bovine incisor enamel (4x4x2mm) were used, distributed into five groups (n=12/group): DRS1 - Regenerating + Sensitive Toothpaste - (1450 ppm NaF + silicate - REFIX® Technology); DRS2 - (1100 ppm NaF + silicate - REFIX® Technology); DRS3 - (silicate - REFIX® Technology without fluoride); CN – Negative Control (Toothpaste without fluoride and without REFIX® Technology); and CP - Positive Control (Oral B Toothpaste - 1450 ppm NaF without REFIX® Technology). In the remineralizing model, the enamel surface was divided into three parts: (1) sound area, (2) demineralized area, and (3) test area. For the protective model, the enamel surface was divided into two areas: (1) sound and (2) test area. The specimens were subjected to two models of cariogenic remineralizing pH cycling for six days (remineralizing effect) and five days (protective effect). The blocks were treated with toothpaste slurries (1:3 ratio) in a standardized brushing machine for two minutes, before and after the cariogenic challenge. At the end, the blocks were analyzed by Quantitative Light-induced Fluorescence (QLF) to evaluate the protection/remineralization variables ( $\Delta F$ ) and lesion depth ( $\Delta F_{max}$ ). The data showed normal distribution and were analyzed using ANOVA, followed by Tukey's test, and Pearson correlation, with  $p < 0.05$ .

**Results:** Significant differences were observed between the groups in both models studied, for both variables. In the remineralizing model, analyzing the  $\Delta F_{RE}$  variable, the DRS2 and DRS3 groups showed the best efficacy in caries remineralization, followed by DRS1 and CP. The groups treated with REFIX® Technology showed a substantial reduction in lesion depth ( $\Delta F_{max_{RE}}$ ), comparable to CP. The CN group showed mineral loss and increased lesion depth after treatment. A significant positive correlation was observed between the  $\Delta F_{RE}$  and  $\Delta F_{max_{RE}}$  variables ( $p < 0.05$ ). In the protective effect, analysis of the  $\Delta F$  variable showed that the DRS1, DRS2, and CP groups

( $p > 0.05$ ) were more effective in protecting enamel after the cariogenic challenge, while DRS3 and CN differed significantly from the first groups ( $p < 0.05$ ) and showed the greatest mineral loss. For the  $\Delta F_{max}$  variable, in the same model, the efficacy in protecting against the formation of less deep lesions can be classified as  $DRS1 = DRS2 > CP > DRS3 = CN$ . **Conclusion:** REFIX® technology combined with fluoride demonstrated efficacy in both remineralizing carious lesions and protecting against cariogenic acidic challenges. In the protective model, fluoride concentration had a greater influence on the formation of more resistant enamel, while in the remineralizing model, mineral gain was also observed in toothpastes with REFIX® technology without fluoride. These findings highlight the potential of REFIX® technology as an additional therapeutic option for the prevention and remineralization of dental caries.

**Keywords:** Tooth Remineralization; Dentifrices; Dental Caries.

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	13
2.1	Esmalte dental: Aspectos Morfológicos.....	13
2.2	Etiologia da cárie dentária.....	14
2.3	Materiais bioativos.....	15
2.4	Quantificação de Fluorescência Induzida por Luz (Quantitative light-induced fluorescence – QLF) .....	17
3	OBJETIVOS.....	19
4	ARTIGO 1 .....	20
5	ARTIGO 2 .....	40
6	CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	55
7	CONCLUSÃO.....	58
	REFERÊNCIAS.....	59

## 1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, mesmo diante dos avanços no diagnóstico e tratamento precoce, a cárie dentária permanece sendo a doença bacteriana crônica não transmissível mais comum (Pitts et al., 2021), onde cerca de metade da população mundial sofre de lesões não tratadas (Wen et al., 2022). A patologia da cárie, portanto, é um processo complexo que se inicia com uma desmineralização que leva à dissolução dos cristais de hidroxiapatita e, conseqüentemente, a perda de cálcio e fosfato da estrutura dental (Chen et al., 2021). A progressão do processo de desmineralização ocorre de forma lenta, no entanto, quando detectado precocemente e tratado de maneira adequada, é possível a reversão do mecanismo desmineralizador (Fernandes et al., 2022; Malcangi et al., 2023; Tomaz et al., 2020).

A saliva é um agente remineralizador natural, mas sua ação é insuficiente para proteger contra a cárie sem o auxílio de agentes adicionais (Amaechi et al., 2019; Fernandes et al., 2021). Um exemplo é o fluoreto, amplamente documentado na literatura, promove a remineralização incorporando íons cálcio e fosfato ao esmalte dentário e diminui a solubilidade ácida do esmalte (Bossú et al., 2019; Epple; Enax; Meyer, 2022; Malcangi et al., 2023). Além disso, o fluoreto forma uma camada de fluoreto de cálcio na superfície dentária, servindo como proteção contra futuros ataques ácidos (Guntermann et al., 2022; Malcangi et al., 2023).

Novos agentes remineralizantes têm sido desenvolvidos para complementar a ação dos fluoretos e ampliar as possibilidades de remineralização (Philip, 2018). Diversos produtos que protegem contra a desmineralização do esmalte já estão sendo comercializados (Fernandes et al., 2022; Tomaz et al., 2020). Neste contexto, a sílica, presente em algumas formulações de dentifrícios, destaca-se por seu potencial remineralizador, aumentando a capacidade bioativa e promovendo a formação de hidroxiapatita nas superfícies dentárias (Amaechi et al., 2021; Fernandes et al., 2022; Vilhena et al., 2021; Zhang et al., 2023).

O dentifrício que incorpora a tecnologia REFIX® combina fluoreto com pirofosfato de tetrassódio e sílica. A inclusão de fosfato na formulação visa saturar os tecidos dentais com cálcio e fosfato, o que reduz os íons na superfície do esmalte previamente desmineralizado, aumentando assim a resistência ao processo

cariogênico na presença de fluoreto (Tomaz et al., 2020). Por outro lado, os silicatos têm sido utilizados em dentifrícios para promover a formação de silicato de cálcio, potencializando os mecanismos naturais de mineralização da saliva por meio da nucleação de hidroxiapatita e formação mineral (Vilhena et al., 2020).

Dessa maneira, essa formulação é capaz de formar complexos estáveis de fosfato/flúor/sílica em meio ácido, especialmente na saliva, o que é essencial para a proteção e regeneração da estrutura dental (Fernandes et al., 2021; Vilhena et al., 2021). Esses complexos podem promover a remineralização das lesões cáries iniciais e reparar o esmalte dental ao gerar novos minerais, como cálcio, fosfato e flúor. Acredita-se que a interação sinérgica entre os componentes da tecnologia REFIX® resulta em uma reestruturação dos tecidos, tornando-os mais resistente aos desafios químicos impostos pela dieta e pela microbiota oral, proporcionando uma abordagem inovadora e eficaz na prevenção e tratamento da cárie dentária (Tomaz, et al., 2020). Além disso, a presença desses complexos estáveis pode melhorar a integridade estrutural do esmalte, fornecendo uma barreira protetora adicional contra futuros ataques ácidos (Fernandes et al., 2022; Vilhena; Lonni; D'alpino, 2021).

Embora existam estudos que comprovem a capacidade remineralizadora dos dentifrícios com tecnologia REFIX®, a literatura ainda é escassa (Fernandes et al., 2022; Vilhena et al., 2021). Além de sua ação remineralizadora, os fatores de proteção proporcionados por esta tecnologia também são de interesse. No entanto, não há estudos que testem essa tecnologia associada a uma concentração de 1100 ppm de fluoreto ou sua eficácia de forma isolada na ausência de fluoreto. Esta lacuna nas pesquisas destaca a necessidade de estudos adicionais para compreender plenamente o potencial da tecnologia REFIX® em diferentes concentrações de fluoretos e sua capacidade de atuar independentemente como agente remineralizador e protetor.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Esmalte Dental: Aspectos Morfológicos

O esmalte dental é o tecido mais mineralizado do corpo humano, desempenhando um papel crucial na proteção dos dentes contra desgastes mecânicos e ataques químicos (Lacruz et al., 2017). Composto por aproximadamente 96% de material inorgânico, 3% de água e 1% de material orgânico, o esmalte é uma estrutura altamente organizada e complexa (Arshad; Khan, 2020; Volponi et al, 2018). A matriz inorgânica do esmalte é composta por sais de fosfato de cálcio em forma de grandes cristais hexagonais de hidroxiapatita (HA),  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , organizados em prismas que se estendem da junção amelodentinária até a superfície externa do dente. Cada prisma é composto por milhões de cristais de HA, organizados de maneira compacta e paralela, o que é crucial para a resistência mecânica do esmalte (Lacruz et al., 2017).

A HA, o principal componente mineral do esmalte dental, possui uma estrutura hexagonal com dois tipos principais de sítios de troca iônica, conhecidos como sítios A e B. Nos sítios A, os íons hidroxila ( $\text{OH}^-$ ) podem ser substituídos por íons flúor ( $\text{F}^-$ ) ou cloreto ( $\text{Cl}^-$ ), o que é fundamental para o processo de fluoretação do esmalte e a melhora da resistência ao ataque ácido (Meyer et al., 2024; Silva et al., 2009). Nos sítios B, os íons  $\text{PO}_4^{3-}$  podem ser substituídos por íons  $\text{CO}_3^{2-}$  (carbonato), o que pode ocorrer naturalmente ou em resposta a alterações no ambiente bucal, influenciando a solubilidade e a reatividade dos cristais de HA. Além disso, íons silicato ( $\text{SiO}_4^{4-}$ ) podem substituir os íons fosfato nos sítios B, formando uma estrutura de hidroxiapatita enriquecida com silício (Silva et al., 2009). Essa substituição tem sido associada ao aumento da bioatividade e da capacidade remineralizadora do esmalte, pois o silício pode promover a formação de uma camada mineral mais resistente e menos solúvel (Vilhena et al, 2021).

Embora o esmalte seja a estrutura mais dura do corpo, a sua porosidade permite a difusão de íons e moléculas pequenas, essencial para o processo de remineralização (Epple; Enax; Meyer, 2022; Lacruz et al., 2017). Portanto, compreender a estrutura e a dinâmica do esmalte é essencial para o estudo da cárie dentária.

## 2.2 Etiologia da cárie dentária

Manter uma saúde bucal satisfatória é essencial para o bem-estar geral, influenciando a capacidade de mastigar, falar e até mesmo na autoestima e nas interações sociais do indivíduo (Prasad et al., 2024). A cárie dentária é a doença crônica não transmissível mais prevalente mundialmente, impactando significativamente os custos da saúde pública e a qualidade de vida dos indivíduos (Bossù et al., 2019; Meyer et al., 2024). É uma doença mediada pelo biofilme e modulada pela dieta, resultando na perda mineral dos tecidos duros dentais e manifestando-se clinicamente como lesões cariosas (Machiulkiene et al., 2019).

As lesões de cárie podem ser classificadas pela sua localização no dente (coronal ou radicular/cementária), severidade (não cavitada ou cavitada), estado de atividade (ativo ou inativo) e profundidade de penetração nos tecidos (polpa, dentina e esmalte) (Cai et al., 2022; Machiulkiene et al., 2019). A estrutura cristalina do esmalte consiste em cristais de hidroxiapatita (HA) e sua estrutura é influenciada por um ciclo natural de desmineralização e remineralização. Este equilíbrio entre desmineralização e remineralização é fundamental para a manutenção da integridade estrutural do esmalte (Tosco et al., 2023).

Na cavidade oral, microrganismos como *Streptococcus mutans* e *Lactobacilli* prosperam na presença de açúcares da dieta. A metabolização desses açúcares por bactérias resulta na produção de ácidos (principalmente láctico e acético), que reduzem o pH oral para  $\leq 5,5$ , promovendo a desmineralização ao dissolver os minerais na subsuperfície do dente (Dai et al., 2021; Prasad et al., 2024).

A remineralização é um processo natural de reparação que envolve a deposição de fosfato de cálcio, principalmente da saliva, criando uma nova camada na superfície da lesão (Dai et al., 2021). Sob condições saudáveis, os íons cálcio e fosfato na saliva promovem constantemente a remineralização das superfícies dentárias. No entanto, este processo deve equilibrar-se com a desmineralização constante causada por ácidos bacterianos ou dietéticos. Embora a saliva seja rica em íons  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{PO}_4^{3-}$ , a remineralização natural é frequentemente lenta e insuficiente para prevenir o desenvolvimento de cáries (Grohe; Mittler, 2021; Meyer et al., 2024).

A saliva e seus componentes demoram a penetrar na camada densa de placa para atingir a superfície do dente e induzir a remineralização. Em ambientes

ricos em sacarose e outros monossacarídeos, as bactérias da placa dentária metabolizam rapidamente esses açúcares em ácidos orgânicos, que dissolvem os cristais de hidroxiapatita no esmalte dentário (Meyer et al., 2024).

Portanto, a suplementação externa com íons  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{PO}_4^{3-}$  é necessária para favorecer a remineralização. Os cremes dentais são um método eficaz de fornecer esses princípios ativos aos tecidos duros dentais. Conseqüentemente, a adição de compostos remineralizantes em cremes dentais tornou-se uma prática comum para prevenir e tratar cáries (Ionescu et al., 2022).

### **2.3 Materiais bioativos**

O esmalte dentário, por ser um tecido acelular que não se regenera ou remodela como outros tecidos mineralizados, é um candidato ideal para a utilização de materiais bioativos visando sua regeneração (Lacruz et al., 2017). A nova filosofia no tratamento da cárie é a intervenção mínima, focada na preservação da estrutura dentária e da vitalidade pulpar para prolongar a longevidade do dente. Essa abordagem enfatiza técnicas "mínimas" ou "não restauradoras" para controlar a cárie e prevenir a perda mineral. Assim, pesquisadores desenvolveram materiais bioativos que promovem ligações químicas na interface entre os tecidos e o material (Melo et al., 2022; Zhang et al., 2023).

A diferenciação entre materiais biomiméticos e bioativos é essencial na odontologia regenerativa. Enquanto os materiais biomiméticos buscam imitar a estrutura e função dos tecidos naturais, os materiais bioativos promovem a remineralização liberando íons que estimulam a formação de novos minerais no esmalte e na dentina. Essa distinção é crucial, pois os materiais biomiméticos são projetados para funcionar de maneira semelhante ao tecido natural, enquanto os bioativos são formulados para interagir com os tecidos existentes para promover a regeneração e o reparo (Singer; Fouda; Bourauel, 2023).

O uso de agentes remineralizantes, como o fluoreto, é reconhecido como uma abordagem eficaz na prevenção de lesões precoces no esmalte. Materiais que liberam fluoreto são exemplos de materiais bioativos devido à sua capacidade de promover remineralização por meio da liberação de íons que se aderem ao tecido dentário (Tosco et al., 2023; Zhang et al., 2023). Dentifrícios com fluoreto representam mais de 95% de todas as vendas de dentifrícios na América e na Europa (Gorseta et al., 2018). O fluoreto promove remineralização ao incorporar

íons cálcio e fosfato e é absorvido pelo esmalte, protegendo contra a desmineralização, pois reduz a solubilidade ácida do esmalte. A hidroxiapatita original, relativamente solúvel em ácido, é convertida em fluorapatita, que é mais estável em meio ácido. Além disso, forma-se uma camada de fluoreto de cálcio na superfície do dente, servindo como uma “camada protetora” contra futuros ataques ácidos (Guntermann et al., 2022).

Embora seja eficaz na prevenção da cárie, a ingestão crônica de doses elevadas de fluoreto pode resultar em fluorose dentária, principalmente em crianças menores de seis anos (Bossù et al., 2019). Além disso, produtos com fluoreto têm um limite máximo de eficácia (Dai et al., 2021). Apesar de ser um agente remineralizador amplamente documentado, novas estratégias de remineralização estão sendo desenvolvidas para promover uma remineralização mais profunda das lesões e facilitar o controle da cárie ao longo da vida (Dai et al., 2021; Guntermann et al., 2022; Philip, 2018).

Essas estratégias incorporam outros agentes à terapia de remineralização, aumentando a eficácia do fluoreto ou até mesmo na sua ausência como por exemplo: Sistema de Fosfato de Cálcio, que são usados para melhorar a eficácia do fluoreto, especialmente em casos de hipossalivação, onde fornecem íons de cálcio e fosfato para a recuperação do esmalte, Caseína Fosfopeptídeo-Fosfato de Cálcio Amorfo (CPP-ACP) utiliza fosfopeptídeos de caseína para estabilizar íons de cálcio e fosfato, facilitando sua liberação e absorção na placa dental, Nano-hidroxiapatita (nHA) é um material que imita a estrutura do esmalte dental e ajuda na remineralização de lesões dentárias. Suas pequenas partículas se ligam bem ao esmalte e a fragmentos de placa, preenchendo pequenos defeitos e promovendo a remineralização (Philip, 2018).

Outra abordagem é a tecnologia NR-5, que combina silicato de cálcio, sais de fosfato de sódio e fluoreto, e que parece potencializar a remineralização da hidroxiapatita por meio da nucleação de minerais no esmalte dentário na presença de saliva (TOMAZ et al., 2020). Já a tecnologia NOVAMIN, composta por um fosfosilicato de sódio e cálcio amorfo inorgânico, promove uma série de reações químicas quando o vidro bioativo entra em contato com uma solução aquosa, resultando na formação de uma camada mineralizada de hidroxiapatita carbonatada insolúvel na superfície do tecido dentinário. No esmalte, essa

tecnologia fortalece a estrutura da hidroxiapatita em vez de formar uma camada mineralizada superficial (FERNANDES et al., 2022).

Um exemplo de componente bioativo é a sílica, incorporada em algumas fórmulas de dentifrícios para aumentar a bioatividade e a capacidade de formação de apatita da hidroxiapatita. A sílica funciona como um sítio para deposição de íons cálcio e fosfato, resultando na formação de silicato de cálcio, que promove a nucleação da hidroxiapatita e subsequente mineralização, fortalecendo o processo de remineralização (Fernandes et al., 2022; Silva et al., 2009). A tecnologia REFIX® consiste em um dentifrício contendo fluoreto associado a fosfatos e sílica, que, segundo o fabricante, facilita a formação de apatita fluoretada e deposição de silicato, penetrando profundamente na hidroxiapatita (Vilhena et al., 2021). Um estudo *in vitro* constatou que o dentifrício com tecnologia REFIX® promove eficazmente a remineralização dentro da lesão cariosa, quando comparado a outros dentifrícios comerciais contendo 1.450 ppm de fluoreto (Tomaz et al., 2020).

#### **2.4 Quantificação de Fluorescência Induzida por Luz (Quantitative light-induced fluorescence – QLF)**

Existem diversos testes para a detecção de lesão de cárie que permitem intervenção imediata. Além da avaliação visual, muitas vezes subjetiva, o uso de procedimentos auxiliares, como a radiografia, pode trazer vantagens adicionais na detecção da desmineralização, fornecendo uma avaliação qualitativa inicial (Ghodastra; Brizuela, 2023; Jablonski-Momeni et al., 2020). Ferramentas de diagnóstico mais recentes, como a Quantificação de Fluorescência Induzida por Luz (QLF), oferecem uma avaliação mais precisa das lesões cariosas. O QLF é um método visual não destrutivo que avalia a atividade de lesões iniciais de cárie, destacando-se entre as tecnologias ópticas disponíveis (Ghodastra; Brizuela, 2023; Park et al., 2022).

O princípio do QLF baseia-se na absorção de luz por várias substâncias na cavidade oral, que em seguida reemitem essa energia em um comprimento de onda diferente. O tecido dentário com áreas desmineralizadas aparece como manchas escuras, onde a diminuição da fluorescência está relacionada à perda mineral. A luz azul penetra no esmalte translúcido e atinge a junção esmalte-dentina, sendo absorvida por fluoróforos e reemitida em diferentes direções como luz de cor diferente, detectada pelo olho ou pela câmera através do esmalte

(autofluorescência). Em áreas onde o esmalte é menos transparente, como manchas brancas, menos luz azul atinge a junção esmalte-dentina, resultando em uma resposta fluorescente reduzida, aparecendo como áreas mais escuras na imagem QLF (Q-Ray, 2019).

A tecnologia QLF demonstrou maior sensibilidade na detecção de lesões cáries precoces (Jablonski-Momeni et al., 2020; Yadav et al., 2022). Pode servir como um parâmetro para a detecção de desmineralização, sendo considerada uma referência em estudos tanto *in vivo* quanto *in vitro* (Jablonski-Momeni et al., 2022). Além disso, sua precisão é similar à da microradiografia transversal, considerada o padrão-ouro, que requer a seção das amostras (Heukamp et al., 2022). Portanto, o QLF é uma técnica de imagem eficaz para detectar lesões de cáries incipientes, monitorar sua progressão e regressão usando princípios de fluorescência, além de auxiliar na quantificação de cáries (Yadav et al., 2022).

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Geral

Avaliar, *in vitro*, o desempenho remineralizador (esmalte cariado) e protetor (esmalte hígido) de dentifrícios com tecnologia REFIX®, em esmalte bovino, utilizando formulações com diferentes concentrações de fluoreto ou na sua ausência, após ciclagem de pH cariogênico. A avaliação será realizada empregando a Quantificação de Fluorescência Induzida por Luz (QLF).

#### 3.2 Específicos

- Quantificar e comparar a eficácia dos dentifrícios testados na proteção do esmalte hígido, submetido a desafio cariogênico, utilizando a perda de conteúdo mineral ( $\Delta F$ ) e a profundidade da lesão cariosa ( $\Delta F_{max}$ );
- Quantificar e comparar a eficácia dos dentifrícios testados na remineralização do esmalte cariado, submetido a desafio cariogênico, utilizando a perda de conteúdo mineral ( $\Delta F_{RE}$ ) e a profundidade da lesão cariosa ( $\Delta F_{max_{RE}}$ );
- Determinar e comparar o percentual de ganho de fluorescência ( $\% \Delta F_{RE}$ ) e a diminuição da profundidade da lesão ( $\% \Delta F_{max_{RE}}$ ) no esmalte cariado após o tratamento com os dentifrícios testados.
- Correlacionar a perda do conteúdo mineral ( $\Delta F$ ) e a profundidade da lesão cariosa ( $\Delta F_{max}$ ) nos modelos de ciclagem efeito protetor (esmalte hígido) e remineralizador (esmalte cariado)

#### **4. ARTIGO 1**

O manuscrito a seguir será submetido para publicação no periódico Brazilian Oral Research.

Área Temática: Cariologia

Título: O Potencial da Tecnologia REFIX® na lesão cáriosa: uma análise *in vitro* de suas propriedades remineralizadoras

**Resumo:**

Avaliar, *in vitro*, o efeito remineralizador de dentifrícios com e sem fluoreto, que utilizam a tecnologia REFIX®, em lesões iniciais de cárie em esmalte. Foram utilizados 60 blocos (4x4x2mm) de esmalte de incisivos bovinos, distribuídos em cinco grupos (n=12/grupo): DRS1-Dentifrício Regenerador+Sensitivo (1450 ppm de NaF+Tecnologia REFIX®); DRS2-Dentifrício Regenerador+Sensitivo (1100 ppm de NaF+Tecnologia REFIX®); DRS3-Dentifrício Regenerador+Sensitivo (Tecnologia REFIX® sem fluoreto); CN–Controle Negativo (Dentifrício sem fluoreto); e CP-Controle Positivo (1.450 ppm de NaF). Os espécimes foram submetidos a um modelo de ciclagem de pH remineralizante durante seis dias e tratados com *slurries* dos dentifrícios (proporção 1:3) em uma máquina de escovação durante dois minutos. Os espécimes foram analisados por meio da Quantificação de Fluorescência Induzida por Luz (QLF) para avaliar a perda de fluorescência ( $\Delta F$ ) e a profundidade da lesão cariiosa ( $\Delta F_{max}$ ). O percentual de perda mineral ( $\% \Delta F_{RE}$ ) e profundidade da lesão ( $\% \Delta F_{maxRE}$ ) antes e após o tratamento também foram calculados. Os dados foram analisados pelo teste ANOVA, seguido de Tukey, e pela correlação de Pearson. O nível de significância foi de 0,05. Os grupos DRS2 e DRS3 apresentaram os melhores desempenhos remineralizadores, comparáveis ao CP, sugerindo uma eficácia notável da tecnologia REFIX® mesmo com 1100 ppm ou nenhuma concentração de fluoreto. O CN não demonstrou efeito remineralizador ( $p < 0,05$ ). A eficácia na recuperação da fluorescência pode ser resumida da seguinte forma: DRS2 = DRS3 = DRS1 = CP > CN. A tecnologia REFIX® demonstrou ser eficaz na remineralização de lesões cariosas iniciais tanto associada ao fluoreto quanto na sua ausência.

**Palavras-chave:** Remineralização Dentária; Dentifrícios; Cárie Dentária; Fluorescência Quantitativa Induzida por Luz

## INTRODUÇÃO:

A cárie dentária é a doença crônica não transmissível que possui a maior prevalência no mundo tendo bastante influência na qualidade de vida, principalmente quando ocorre consequências como dor, problemas mastigatórios, limitações estéticas e, até mesmo a perda do elemento dentário. Antes da fase irreversível, ela passa pela fase inicial durante o ciclo de desmineralização e remineralização. É nessa fase que sua progressão pode ser interrompida, ou até mesmo, revertida<sup>1</sup>.

O processo de desmineralização-remineralização (des-re) ocorre concomitantemente na superfície do esmalte, e a perda de cristais de hidroxiapatita (HA) durante esse fenômeno não causa destruição de sua integridade<sup>2</sup>. Porém, quando há uma predominância da desmineralização, a integridade da rede de HA é afetada e surge a cavitação. Em contrapartida, a desmineralização parcial dos cristais de HA pode ser melhorada e restaurada se houver condições bucais que promovam a remineralização, e, conseqüentemente, o reparo da lesão<sup>3</sup>. Por isso, a abordagem conservadora na Odontologia tem sido aplicada ao processo de remineralização como um meio ideal para reconstruir a estrutura dentária<sup>4,5</sup>.

Os produtos que contêm fluoreto, como agente remineralizador, são eficazes na remineralização do esmalte, mas não têm potencial para promover a formação de novas fases minerais<sup>6</sup>. Por isso, a mudança nas terapias de biomineralização reparadoras para regenerativas tornam-se promissoras na tentativa de substituição de tecidos lesionados por outros biologicamente semelhantes<sup>7</sup>.

Nos últimos anos, ocorreu um aumento na busca do desenvolvimento de tecnologias que possuem potencial remineralizador as estruturas dentais. Assim, são comercializados produtos de higiene bucal com diversos princípios ativos em associação com o fluoreto em que afirmam elevar o potencial de remineralização e regeneração dessas formulações<sup>8</sup>.

Esses novos compostos propõem-se a reforçar o processo de remineralização, além de elevar o potencial de regeneração tecidual. Nessa linha, esses compostos funcionam como carreadores de  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{PO}_4^{2-}$  para o esmalte dentário, promovendo a remineralização natural e formação de uma hidroxiapatita menos solúvel e porosa<sup>3,9</sup>.

Modificações na formulação de dentifrícios possibilitaram a adição de uma variedade de novos ingredientes ativos. O silício, ou silicato, quando adicionado como composto é capaz de elevar a bioatividade da hidroxiapatita e a capacidade de gerar apatitas da hidroxiapatita. Com isso, o surgimento da tecnologia REFIX®, trata-se de um dentifrício, que segundo o fabricante, tem capacidade de formar complexos estáveis de fosfato/flúor/silício em meio ácido, especialmente saliva, sendo capaz de remineralizar a lesão cáriosa e reparar o esmalte dental. As estruturas dentárias, em conjunto com a saliva, ajudam a geração de novos minerais contendo cálcio/fosfato/flúor, e, dessa maneira, promove a remineralização da subsuperfície da lesão de cárie <sup>7,8</sup>.

Desse modo, este estudo tem por objetivo avaliar, *in vitro*, a atuação da tecnologia REFIX® no processo de remineralização da lesão incipientes de cárie em esmalte e na redução da sua profundidade, associado a dentifrício com diferentes concentrações de fluoretos ou não fluoretados. E, portanto, tem-se como hipótese nula (H0) que a tecnologia REFIX® não apresenta potencial remineralizador e nem redutor na profundidade das lesões de cárie de esmalte e como hipótese alternativa (H1) que os dentifrícios da tecnologia REFIX® apresentam potencial remineralizador e redutor da profundidade das lesões de cárie em esmalte.

## **METODOLOGIA:**

O estudo laboratorial, *in vitro*, com seleção aleatória, adotou uma abordagem indutiva com procedimentos estatísticos e comparativos.

### **Universo e amostra**

Foram utilizados 30 dentes incisivos bovinos, coletados e armazenados em solução tamponada de formol a 10%, à temperatura ambiente, por no máximo 30 dias. Os dentes foram examinados sob uma lupa de 5x de aumento para identificação de possíveis trincas, rachaduras, cáries e/ou alterações no esmalte. Os dentes com quaisquer dessas condições foram excluídos da amostra.

### **Preparação dos espécimes**

A cada dente incisivo foi possível a confecção de dois blocos de esmalte. Um total de 60 blocos de esmalte, de aproximadamente 4x4x2mm, foram

preparados, usando um disco diamantado dupla face na cortadeira de precisão (Labcut 1010), sob irrigação constante. Os espécimes foram embebidos em resina acrílica para planificação em politriz metalográfica, utilizando-se lixas de acabamento de granulações variadas, sob irrigação constante. O polimento da superfície do esmalte foi realizado com feltros umedecidos e suspensão de diamante de 1 µm. Após a preparação dos espécimes, os blocos de esmalte foram aleatoriamente divididos entre os grupos, conforme a média da microdureza superficial (SMH).

### **Formação da lesão de cárie artificial**

Antes da formação da lesão inicial de cárie, a superfície do esmalte de cada espécime foi dividida em três partes: uma área controle - hígida (1), uma área desmineralizada - lesão inicial de cárie (2) e outra área teste - tratamento (3). Antes da formação da lesão inicial de cárie, a área controle (1), foi coberta com dupla camada de esmalte de unha (Risqué, Niasi, Taboão da Serra, São Paulo, Brasil). Após a formação da lesão de cárie a área correspondente a desmineralizada (2) também foi coberta por uma dupla camada de esmalte de cor diferente da área controle (1). A área teste (3) ficou descoberta para a realização do tratamento com *slurries* dos dentifrícios.

Para a formação da lesão de cárie inicial em esmalte: os espécimes foram imersos em solução desmineralizadora (1,3 mM/L  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 0,78mM/L  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  em 0.05 M/L de tampão de acetato, 0,03µgF/mL (NaF), pH 5.0, 32 mL/bloco) para a formação da lesão artificial de cárie por 16h, conforme descrito por estudo anterior <sup>10</sup>.

### **Seleção dos dentifrícios e preparação dos *slurries***

Foram utilizados cinco tipos de dentifrícios, conforme descrito no Quadro 1. Os dentifrícios foram acondicionados em recipientes e identificados por um pesquisador independente. As misturas de dentifrício e água deionizada foram preparadas na proporção de 1:3. As misturas foram realizadas diariamente, com agitação constante durante 4 minutos até completa homogeneização<sup>11</sup>.

**Quadro 1** – Dentifrícios selecionados para o estudo, com os seus respectivos ingredientes ativos.

<b>Produto (grupo)</b>	<b>Ingredientes ativos</b>	<b>Fabricante</b>
Dentifrício Regenerador + Sensitivo (DRS <sub>1</sub> )	1450 ppm de fluoreto de sódio, glicerina, sílica, sorbitol, lauril sulfato de sódio, água, aroma, PEF-12, goma de celulose, ácido fosfórico, xilitol, pirofosfato tetrassódico, sacarina sódica, triclosan, mentol, mica, benzoato de sódio, Tecnologia REFIX®	Rabbit Corp, Londrina, PR, Brasil (Lot number: 73045)
Dentifrício Regenerador + Sensitivo (DRS <sub>2</sub> )	1110 ppm de fluoreto de sódio, glicerina, sílica, sorbitol, lauril sulfato de sódio, água, aroma, PEF-12, goma de celulose, ácido fosfórico, xilitol, pirofosfato tetrassódico, sacarina sódica, triclosan, mentol, mica, benzoato de sódio, Tecnologia REFIX®	Rabbit Corp, Londrina, PR, Brasil (Lot number: 020/2023)
Dentifrício Regenerador + Sensitivo (DRS <sub>3</sub> )	Creme dental sem flúor, glicerina, sílica, sorbitol, lauril sulfato de sódio, água, aroma, PEF-12, goma de celulose, ácido fosfórico, xilitol, pirofosfato tetrassódico, sacarina sódica, triclosan, mentol, mica, benzoato de sódio, Tecnologia REFIX®	Rabbit Corp, Londrina, PR, Brasil (Lot number: 083/2023)
Controle Negativo (CN)	Sem ingredientes ativos. Creme dental sem flúor.	Rabbit Corp, Londrina, PR, Brasil (Lot number: 74071)
Controle Positivo (CP)	1450 ppm de fluoreto de sódio, água, sorbitol, sílica, lauril sulfato de sódio, aroma, carragenina, gluconato de sódio, cloreto estanoso, goma xantana, citrato de zinco, Cl 77891, sacarina sódica, hidróxido de sódio, limoneno	Oral B - Procter & Gamble, Brasil (Lot number: 31653662C1)

### **Tratamento e Ciclagem de pH**

Os espécimes, que apresentaram a mesma média de microdureza superficial, foram alocados aleatoriamente nos cinco diferentes grupos (n=12/grupo), de acordo com o dentifrício a ser testado (Quadro 1). Antes do início da ciclagem, as amostras foram armazenadas em solução remineralizadora durante 24 horas <sup>11</sup>.

Os blocos foram submetidos a um regime de ciclagem de pH durante 6 dias, conforme descrito por estudos anteriores<sup>11-12</sup>. Os blocos foram imersos, individualmente, na solução remineralizadora (1,5 mM.L-1 de cálcio, 0,9 mM.L-1 de fosfato, 150 mM.L-1 de cloreto de potássio em tampão cacodílico 0,02 mM.L-1, pH = 7,0; 0,02 µgF/mL e 1 mL/mm<sup>2</sup>), durante 22 horas. Para reproduzir os desafios ácidos do biofilme bacteriano, foi realizada a imersão dos espécimes na solução desmineralizadora (2,0 mM.L-1 de cálcio e fosfato em 75 mM.L-1 de tampão acetato, pH = 4,7; 0,03 µgF/mL e 3 mL/mm<sup>2</sup>) durante 2 horas/dia. Duas vezes ao dia, antes do desafio cariogênico e duas horas após o seu término, os blocos foram expostos ao tratamento com *slurries* dos dentifrícios (1:3 w/w água deionizada; 30 mL/espécime de esmalte) associado a processo abrasivo durante 15s, em uma máquina de escovação, e mais 105s de exposição aos dentifrícios, até completar 2 minutos de tratamento<sup>12</sup>. A máquina de escovação (MEV 3T-8XY, Odeme - Joaçaba, SC, Brasil) foi padronizada a uma temperatura média de 37°C e 11 ciclos. As escovas dentais utilizadas apresentaram cerdas macias (Colgate Classic - Colgate - São Paulo, SP, Brasil), adaptadas à máquina de escovação, com movimentos de zigue-zague vertical, com amplitude (vertical e horizontal) de 20 nm e um carga axial de 150g.

Entre as trocas de soluções e os tratamentos, os blocos foram enxaguados com água deionizada durante 10s. Após a última escovação, os espécimes permaneceram imersos na solução remineralizadora até o dia seguinte. As soluções foram repostas diariamente<sup>13</sup>. Após a finalização dos 6 dias de ciclagem, os espécimes permaneceram por mais 24 horas na solução remineralizadora.

### **Análise da microdureza superficial**

A microdureza superficial do esmalte (SMH) foi medida utilizando um microdurômetro (Shimadzu HVM - AD Easy Test Version 3.0) com um penetrador tipo Vickers. Aplicou-se uma pressão de 50g por 10 segundos em três áreas distintas da amostra, separadas por 100 µm para padronização. A média dos valores de microdureza de cada espécime foi calculada, e os blocos de esmalte foram aleatoriamente divididos entre os grupos com base nesses valores (n=12).

## **Análise da Quantificação de Fluorescência Induzida por Luz (Quantitative light-induced fluorescence – QLF)**

Os blocos de esmalte foram avaliados quanto à perda de fluorescência em lesões de cárie e áreas tratadas, usando o dispositivo Qraycam Pro (Inspektor Research System BV, Amsterdã, Holanda). O esmalte de unha foi cuidadosamente removido com cotonetes embebidos em acetona diluída. Em seguida, os espécimes foram lavados com água deionizada durante um período de dois minutos usando um aparelho ultrassônico e secos com rolo de algodão. Uma câmera foi acoplada a um suporte na mesma posição para todas as imagens para padronizar as medidas do QLF. As imagens foram feitas em uma sala escura, com exposição 0, contraste 0 e distância entre o aparelho e a amostra de 8 cm. Um software (Q-ray versão 1.38, (Inspektor Research System BV, Amsterdã, Holanda) analisou as mudanças na quantidade de mineral no esmalte com base no valor  $\Delta F$  e a profundidade da lesão pelo  $\Delta F_{max}$ . As medições foram feitas em duas etapas: (1)  $\Delta F_0$ , que representa uma perda de fluorescência inicial, passando pela diferença entre o esmalte hígido e esmalte cariado, e (2)  $\Delta F_1$ , que representa uma diferença na fluorescência final, usando a diferença entre o esmalte hígido e o tratado com os dentifrícios<sup>3</sup>. O  $\Delta F_{RE}$  é obtido através da diferença entre  $\Delta F_0$  e  $\Delta F_1$  fornecendo informações sobre a mudança na quantidade mineral total. O  $\Delta F_{maxRE}$  representa a mudança da profundidade da lesão e é obtido através da diferença entre o  $\Delta F_{max0}$  que representa a profundidade máxima da lesão entre o esmalte hígido para o cariado e  $\Delta F_{max1}$  que representa a profundidade máxima da lesão entre o esmalte hígido para o tratado com os dentifrícios. Em seguida, o percentual de fluorescência foi calculado, tanto para o ganho mineral (1) quanto para a profundidade da lesão (2), usando as fórmulas baseadas em estudo anterior<sup>14</sup>:

$$(1) \% \Delta F_{RE} = (\Delta F_0 - \Delta F_1) / \Delta F_0 \times 100$$

$$(2) \% \Delta F_{maxRE} = (\Delta F_{max0} - \Delta F_{max1}) / \Delta F_{max0} \times 100$$

### **Análise estatística**

Os dados foram analisados estatisticamente utilizando o pacote SPSS para Windows, versão 21.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, EUA). O teste de Shapiro-Wilk e o teste de Levene foram utilizados para determinar a normalidade e a

homogeneidade das variâncias, respectivamente. Como os dados apresentaram variâncias iguais e distribuição Gaussiana, não foi necessária nenhuma transformação de dados. A One-Way ANOVA seguida pelo teste de Tukey foi usada para analisar as diferenças entre os grupos em relação às variáveis  $\Delta F_{RE}$ ,  $\Delta F_{maxRE}$ ,  $\% \Delta F_{RE}$  e  $\% \Delta F_{maxRE}$ . Além disso, a correlação de Pearson foi utilizada para avaliar a relação entre  $\Delta F_{RE}$  e  $\Delta F_{maxRE}$ . O nível de significância para todas as análises foi de 5%.

## RESULTADOS:

A análise dos resultados de remineralização do esmalte e profundidade das lesões cariosas foi realizada utilizando a Quantificação de Fluorescência Induzida por Luz (QLF).

### Análise de Remineralização do Esmalte

Os resultados da fluorescência qualitativa são apresentados na Tabela 1. As medições de fluorescência inicial ( $\Delta F_0$ ) e final ( $\Delta F_1$ ) após o tratamento indicam a eficácia dos dentifrícios em modificar o conteúdo mineral do esmalte quando analisada a variável  $\Delta F_{RE}$ .

**Tabela 1** - Valores de fluorescência (Média  $\pm$  DP) pelo QLF nos diferentes tempos de análise  $\Delta F_0$  (hígido-cariado) e  $\Delta F_1$  (hígido-tratado) e  $\Delta F_{RE}$  ( $\Delta F_0 - \Delta F_1$ ).

GRUPOS	$\Delta F_0$ (Média $\pm$ DP)	$\Delta F_1$ (Média $\pm$ DP)	$\Delta F_{RE}$ (Média $\pm$ DP) *
DRS1	-13.21 $\pm$ 4.04	-10.64 $\pm$ 3.37	2,56 $\pm$ 1.90 <sup>a</sup>
DRS2	-16.05 $\pm$ 4.65	-10.52 $\pm$ 2.53	5,53 $\pm$ 2.89 <sup>c</sup>
DRS3	-12.21 $\pm$ 2.19	-9.06 $\pm$ 1.72	3,15 $\pm$ 1.78 <sup>a,c</sup>
CN	-11.52 $\pm$ 3.31	-14.66 $\pm$ 3.52	-3,14 $\pm$ 2.34 <sup>b</sup>
CP	-13.50 $\pm$ 6.28	-11.96 $\pm$ 8.85	1,63 $\pm$ 0.92 <sup>a</sup>

\* Letras minúsculas diferentes demonstram diferença significativa entre os grupos (ANOVA,  $p < 0,05$ ). Abreviações: DRS1, Dentifrício Regenerador + Sensitivo (1450 ppm e Tecnologia REFIX®); DRS2, Dentifrício Regenerador + Sensitivo (1100 ppm de NaF + Tecnologia REFIX®); DRS3, Dentifrício Regenerador + Sensitivo (Tecnologia REFIX® sem fluoreto); CN – Controle Negativo (Dentifrício sem fluoreto); e CP - Controle Positivo (Dentifrício Oral B - 1.450 ppm de NaF).

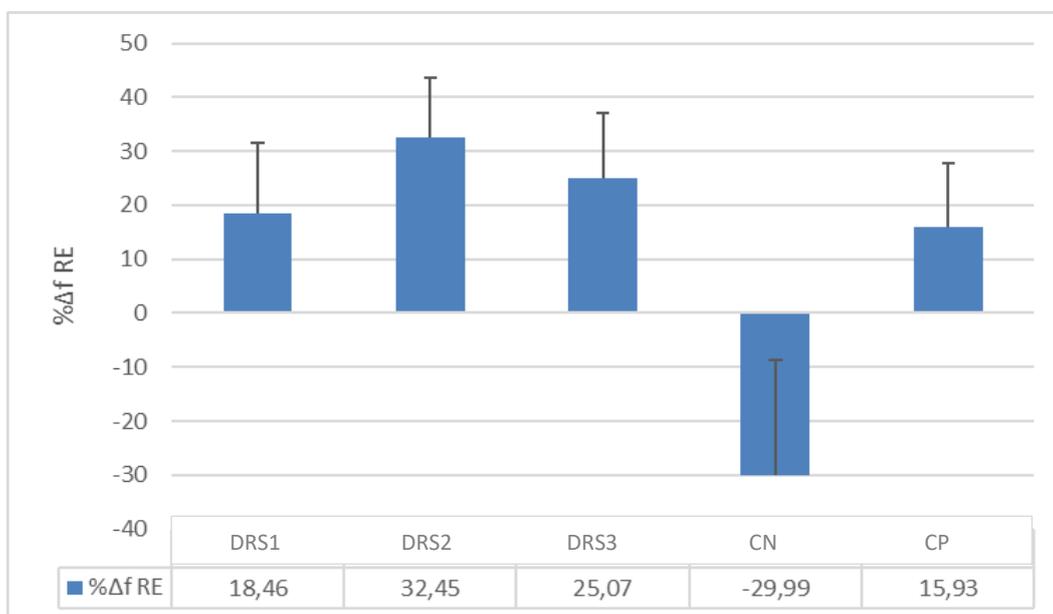
Os resultados mostraram que os dentifrícios DRS2 e DRS3, ambos incorporando a tecnologia REFIX® com e sem fluoreto, apresentaram melhorias

significativas na fluorescência ( $\Delta F_{RE}$  e  $\% \Delta F_{RE}$ ) indicando uma remineralização efetiva (Tabela 1 e Gráfico 1). O DRS2 (1100 ppm de NaF + Tecnologia REFIX®) teve um aumento médio em  $\Delta F_0$  de -16.05 para  $\Delta F_1$  de -10.52, sugerindo uma alta eficácia na remineralização. O grupo DRS3 (Tecnologia REFIX® sem fluoreto) apresentou um aumento de -12.21 para -9.06 em  $\Delta F_{RE}$ , resultados comparáveis aos de DRS2, indicando uma eficácia remineralizadora da tecnologia REFIX® sem a adição de fluoreto.

Os dentifrícios convencionais, incluindo o Controle Positivo (Oral B com 1450 ppm de NaF), mostraram menor eficácia, com  $\Delta F_0$  mudando de -13.50 para  $\Delta F_1$  de -11.96. O CN demonstrou perda significativa de fluorescência ( $p < 0,05$ ) em comparação com todos os grupos estudados, incluindo o CP.

A eficácia na recuperação da fluorescência pode ser resumida da seguinte forma: DRS2= DRS3= DRS1=CP>CN.

**Gráfico 1** – Percentual de fluorescência/remineralização da lesão de cárie após tratamento com dentifrícios\*.



\* Diferenças significativas (ANOVA,  $p < 0,05$ ) foram observadas apenas do CN com todos os outros grupos. Abreviações: DRS1, Dentifrício Regenerador + Sensitivo (1450 ppm e Tecnologia REFIX®); DRS2, Dentifrício Regenerador + Sensitivo (1100 ppm de NaF + Tecnologia REFIX®); DRS3, Dentifrício Regenerador + Sensitivo (Tecnologia REFIX® sem fluoreto); CN – Controle Negativo (Dentifrício sem fluoreto); e CP - Controle Positivo (Dentifrício Oral B - 1.450 ppm de NaF).

Fonte: Dados da própria autora

## Profundidade da Lesão de Cárie

A análise de  $\Delta F_{max}$ , que representa a profundidade das lesões cariosas, também mostrou resultados significativos. Os grupos tratados com a tecnologia REFIX® demonstraram uma redução substancial na profundidade da lesão, indicando eficácia na reparação de lesões profundas (Tabela 2 e Gráfico 2).

**Tabela 2** - Valores de profundidade da lesão (Média  $\pm$  DP) pelo QLF nos diferentes tempos de análise  $\Delta F_{max_0}$  (hígido-cariado) e  $\Delta F_{max_1}$  (hígido-tratado) e  $\Delta F_{max_{RE}}$  ( $\Delta F_{max_0} - \Delta F_{max_1}$ ).

GRUPOS	$\Delta F_{max_0}$ (Média $\pm$ DP)	$\Delta F_{max_1}$ (Média $\pm$ DP)	$\Delta F_{max_{RE}}$ (Média $\pm$ DP) *
DRS1	-20,87 $\pm$ 4,3	-16,28 $\pm$ 4,2	4,58 $\pm$ 0,9 <sup>a,c</sup>
DRS2	-22,60 $\pm$ 4,4	-17,14 $\pm$ 3,8	5,46 $\pm$ 0,7 <sup>c</sup>
DRS3	-19,70 $\pm$ 3,1	-15,02 $\pm$ 3,2	4,68 $\pm$ 1,0 <sup>a,c</sup>
CN	-17,79 $\pm$ 3,5	-23,95 $\pm$ 3,8	-6,16 $\pm$ 1,4 <sup>b</sup>
CP	-20,10 $\pm$ 6,9	-16,91 $\pm$ 7,8	3,16 $\pm$ 1,7 <sup>a</sup>

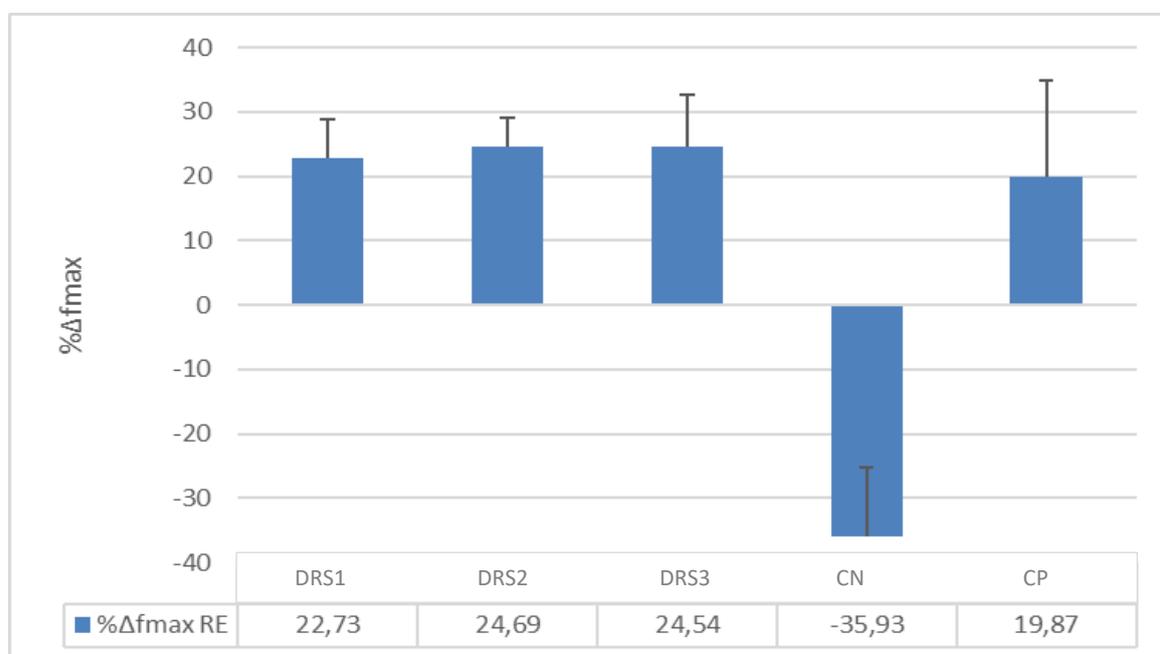
\* Letras minúsculas diferentes demonstram diferença significativa entre os grupos (ANOVA,  $p < 0,05$ ). Abreviações: DRS1, Dentifrício Regenerador + Sensitivo (1450 ppm e Tecnologia REFIX®); DRS2, Dentifrício Regenerador + Sensitivo (1100 ppm de NaF + Tecnologia REFIX®); DRS3, Dentifrício Regenerador + Sensitivo (Tecnologia REFIX® sem fluoreto); CN – Controle Negativo (Dentifrício sem fluoreto); e CP - Controle Positivo (Dentifrício Oral B - 1.450 ppm de NaF).

Os grupos tratados com a tecnologia REFIX® apresentaram uma redução significativa na profundidade da lesão cariosa. O grupo DRS2 registrou uma diminuição em  $\Delta F_{max_0}$  de -22,6 para  $\Delta F_{max_1}$  de -17,14, refletindo sua eficácia em reduzir a profundidade da lesão cariosa. De maneira similar, o DRS3 mostrou uma redução significativa com  $\Delta F_{max_0}$  mudando de -19,7 para -15,02. O grupo DRS1 também apresentou uma redução relevante de  $\Delta F_{max_0}$  de -20,87 para  $\Delta F_{max_1}$  de -16,28. Em contraste, o CN apresentou um aumento na profundidade da lesão cariosa, com  $\Delta F_{max_0}$  aumentando de -17,79 para -23,95, evidenciando a ausência de efeito remineralizador.

Embora os dentifrícios com tecnologia REFIX® tenham demonstrado alta eficácia, o dentifrício convencional fluoretado (CP) também apresentou resultados positivos, com uma redução de  $\Delta F_{max_0}$  de -20,10 para  $\Delta F_{max_1}$  de -16,91. No entanto, o DRS2 foi o único grupo que mostrou uma superioridade significativa em relação ao CP de  $\Delta F_{max_0}$  -20,1 para  $\Delta F_{max_1}$  de -16,91. No entanto, o DRS2 foi o

único grupo que mostrou uma superioridade significativa em relação ao CP ( $p < 0,05$ ).

**Gráfico 2** – Percentual da profundidade da lesão de cárie ( $\% \Delta F_{maxRE}$ ) após tratamento com dentifrícios\*.



\* Diferenças significativas (ANOVA,  $p < 0,05$ ) foram observadas apenas entre o CN com todos os outros grupos. Abreviações: DRS1, Dentifrício Regenerador + Sensitivo (1450 ppm e Tecnologia REFIX®); DRS2, Dentifrício Regenerador + Sensitivo (1100 ppm de NaF + Tecnologia REFIX®); DRS3, Dentifrício Regenerador + Sensitivo (Tecnologia REFIX® sem fluoreto); CN – Controle Negativo (Dentifrício sem fluoreto); e CP - Controle Positivo (Dentifrício Oral B - 1.450 ppm de NaF).

Fonte: Dados da própria autora

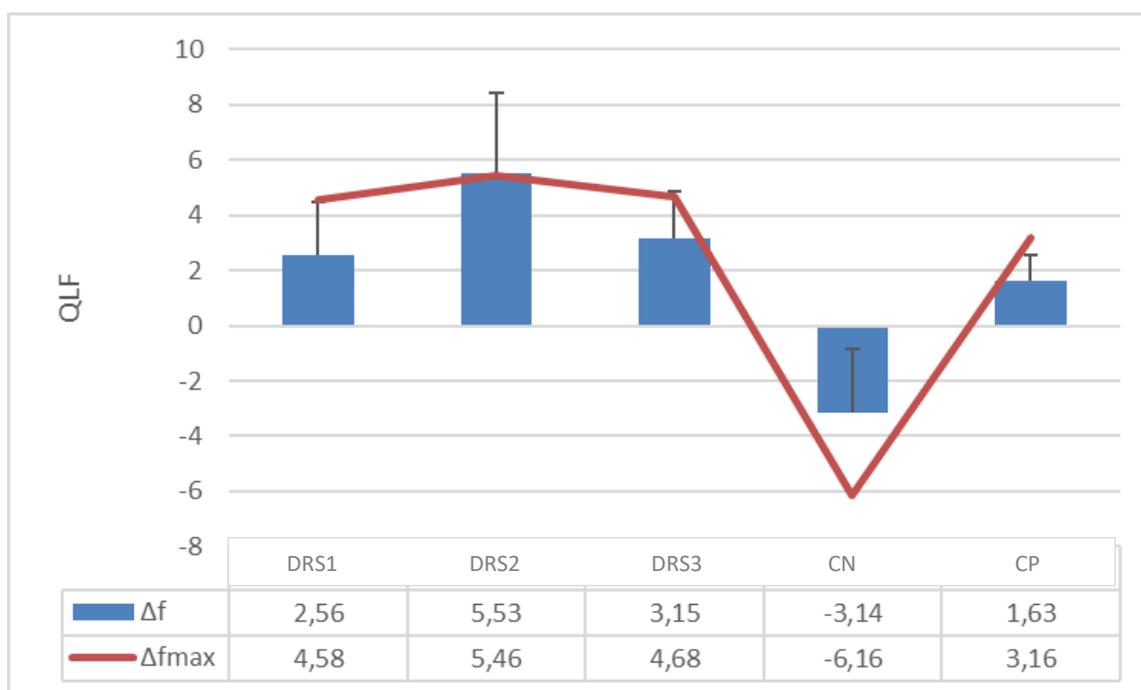
Os dados analisados refletem a eficiência de cada dentifrício testado na redução da profundidade das lesões cariosas. Os maiores valores de  $\% \Delta F_{maxRE}$  sugerem que o tratamento foi eficaz em diminuir a severidade das lesões de cárie, resultando em uma recuperação substancial da densidade mineral do esmalte nas áreas mais profundamente afetadas. Os tratamentos que incorporaram a tecnologia REFIX® (DRS1, DRS2 e DRS3) mostraram um aumento significativo no  $\% \Delta F_{maxRE}$ , indicando uma melhoria notável na profundidade das lesões de cárie. O controle positivo (CP) apresentou uma redução na profundidade da lesão ( $\% \Delta F_{maxRE}$ ); no entanto, a redução observada não foi a mais significativa entre

todos os grupos, com exceção do DRS2, que se destacou. Em contraste, o valor negativo do  $\% \Delta F_{\max RE}$  obtido no CN sugere que o tratamento foi ineficaz.

### Correlação entre Remineralização Superficial ( $\Delta F_{RE}$ ) e Profundidade da Lesão ( $\Delta F_{\max RE}$ )

A análise revelou uma correlação positiva significativa ( $r = 0.89$ ,  $p < 0.01$ ) entre a remineralização ( $\Delta F_{RE}$ ) e a redução da profundidade das lesões ( $\Delta F_{\max RE}$ ). O Gráfico 3 ilustra essa correlação, sugerindo que melhorias na remineralização superficial estão associadas a reduções significativas na profundidade das lesões cariosas.

**Gráfico 3** – Correlação entre remineralização superficial ( $\Delta F_{RE}$ ) e profundidade da lesão ( $\Delta F_{\max RE}$ ).



Abreviações: DRS1, Dentífrico Regenerador + Sensitivo (1450 ppm e Tecnologia REFIX®); DRS2, Dentífrico Regenerador + Sensitivo (1100 ppm de NaF + Tecnologia REFIX®); DRS3, Dentífrico Regenerador + Sensitivo (Tecnologia REFIX® sem fluoreto); CN – Controle Negativo (Dentífrico sem fluoreto); e CP - Controle Positivo (Dentífrico Oral B - 1.450 ppm de NaF).

Fonte: Dados da própria autora

## DISCUSSÃO:

A utilização de fluoretos é uma das estratégias preventivas e terapêuticas contra a cárie dentária<sup>15,16</sup>, devido à sua eficácia na remineralização e na redução da desmineralização do esmalte dentário<sup>17,18</sup>. Cury<sup>19</sup> destaca a limitação na incorporação de fluoreto ao esmalte, que pode restringir sua eficácia contra ataques ácidos. Adicionalmente, a inclusão de novos agentes pode potencializar os efeitos dos fluoretos, ampliando a proteção do esmalte dentário<sup>6</sup>. A terapia de remineralização, especialmente aquela que utiliza materiais bioativos, oferece um potencial significativo tanto na presença quanto na ausência de fluoreto<sup>20,22</sup>.

A tecnologia REFIX®, integrando íons fosfato e sílica numa matriz fluoretada, é uma inovação nesse contexto. Esta tecnologia facilita a formação de apatita fluoretada e promove a deposição de silicato, que pode penetrar mais profundamente no esmalte, melhorando a remineralização da subsuperfície<sup>3,7-8,22-23</sup>. O silício, componente de vidros bioativos, promove a criação de sítios de nucleação para a precipitação de íons cálcio e fosfato durante a formação da hidroxiapatita, essencial para melhorar os processos de mineralização salivar<sup>3,8,22-21</sup>.

Este estudo investigou os impactos de dentifrícios que incorporam a tecnologia REFIX®, explorando suas capacidades de remineralização do esmalte em diferentes concentrações de fluoreto ou na sua ausência. Os resultados indicam que a eficácia da remineralização não está exclusivamente ligada às altas concentrações de fluoreto, mas pode ser significativamente influenciada pela presença de sílica e fosfato<sup>7,24</sup>.

Os dentifrícios DRS2 e DRS3, com baixa ou nenhuma concentração de fluoreto, demonstraram eficácia comparável ao controle positivo, destacando a importância da sílica na remineralização do esmalte, mesmo sem fluoreto<sup>3,8</sup>. Esta observação é relevante, pois sugere que a tecnologia REFIX® pode representar uma nova abordagem na prevenção e tratamento das lesões de cárie, independente da presença de fluoreto.

O dentifrício DRS2, com 1100 ppm de fluoreto e a tecnologia REFIX®, mostrou os melhores resultados em recuperação mineral, comparável ao DRS3 sem fluoreto. A interação dos íons fosfato e sílica na matriz fluoretada do DRS1 parece ter limitado a disponibilidade dos íons salivares necessários para a

remineralização<sup>8</sup>. No entanto, a menor concentração de fluoreto no DRS2 pareceu promover uma sinergia entre esses íons, favorecendo a formação de uma camada de apatita fluoretada e uma camada protetora de sílica, destacando o potencial de combinar fluoreto com outros elementos bioativos como a sílica para otimizar a remineralização dentária<sup>25-26</sup>. Estudos recentes, como os de Tomaz et al.<sup>7</sup> e Fernandes et al.<sup>5</sup>, também apoiam essa visão, indicando que a adição de vidro bioativo contendo sílica ao fluoreto pode potencializar os efeitos de remineralização.

A comparação com o controle positivo (1450 ppm de fluoreto de sódio) revelou que, embora a eficácia remineralizadora deste seja comparável aos experimentais, o DRS2 se destacou com uma eficácia superior na promoção da remineralização. Isso demonstra a viabilidade de combinar fluoreto com outros bioativos como a sílica, sugerindo que fórmulas alternativas como a do DRS2 podem ser mais eficazes em certas condições, corroborando estudos anteriores que destacam a eficácia do fluoreto de sódio na remineralização dentária<sup>2,24</sup>.

A tecnologia REFIX® demonstrou eficácia tanto na superfície quanto nas camadas mais profundas do esmalte, proporcionando uma solução abrangente para o tratamento de cáries. A redução significativa em  $\% \Delta F_{maxRE}$  observada em diferentes formulações sugere que tratamentos personalizados podem ser desenvolvidos para atender às necessidades específicas de remineralização dos pacientes, dependendo da severidade e profundidade das lesões cariosas.

Além disso, os resultados enfatizam a potencial superioridade dos tratamentos que combinam fluoretos com outros bioativos, como a sílica, sugerindo que tais combinações podem ser mais eficazes do que as abordagens que dependem exclusivamente do fluoreto. Estes achados são consistentes com estudos recentes que observaram que a combinação de fluoreto com vidro bioativo contendo sílica pode potencializar significativamente os efeitos de remineralização<sup>5,7</sup>. A análise da Quantificação de Fluorescência Induzida por Luz (QLF) como ferramenta de diagnóstico complementa essas descobertas, evidenciando a eficácia dos dentifrícios em promover a remineralização e em medir com precisão as mudanças na densidade mineral do esmalte<sup>27-29</sup>.

Ensaio *in vitro* oferecem condições experimentais controladas, essenciais para avaliar os efeitos preventivos da remineralização. No entanto, é importante considerar as limitações desses modelos, que não conseguem reproduzir fielmente

o ambiente complexo da cavidade oral, incluindo a capacidade de tamponamento salivar e a influência de microrganismos<sup>30</sup>. Portanto, estudos clínicos são necessários para validar esses resultados *in vivo*. A tecnologia REFIX® demonstrou um potencial remineralizador promissor, mas novas pesquisas são necessárias para entender a dinâmica e a estabilidade dessa nova camada de apatita no esmalte remineralizado.

## **CONCLUSÃO:**

Os resultados mostram que os dentifrícios com tecnologia REFIX® apresentam uma alta capacidade de remineralização do esmalte dental bovino, eficaz tanto com 1100 ppm de fluoreto quanto sem fluoreto. A sílica, sozinha ou combinada com fluoreto, demonstrou potencial na remineralização e na redução da profundidade de lesões cáries. Em comparação com os grupos controle, os dentifrícios REFIX® se destacaram pela maior eficácia remineralizadora, sugerindo que essa tecnologia pode ser uma alternativa ou complemento ao uso tradicional de fluoretos na prevenção e tratamento da cárie dentária.

## **REFERÊNCIAS:**

1. Heukamp J, Korbmacher-Steiner H, Schmidt S, Neumann CM, Bottenberg P, Jablonski-Momeni A. Remineralisation capability of silver diamine fluoride in artificial enamel lesions on smooth surfaces using quantitative light-induced fluorescence measurements in-vitro. *Scientific Reports*. 2022 May 19;12(1). doi: 10.1038/s41598-022-12498-6.
2. Malcangi G, Patano A, Morolla R, De Santis, M Piras, F.; Settanni, V.; Mancini, A.; Di Venere, D.; Inchingolo, F.; Inchingolo, A.D.; et al. Analysis of Dental Enamel Remineralization: A Systematic Review of Technique Comparisons. *Bioengineering* 2023, 10, 472. doi: 10.3390/bioengineering10040472.
3. Fernandes NLS, Silva JGVC, de Sousa EBG, D'Alpino PHP, de Oliveira AFB, de Jong E de J, et al. Effectiveness of fluoride-containing toothpastes associated with different technologies to remineralize enamel after pH cycling: an in vitro study. *BMC Oral Health*.2022; 22(1). doi: 10.1186/s12903-022-02429-2.

4. Juntavee A, Juntavee N, Hirunmoon P. Remineralization Potential of Nanohydroxyapatite Toothpaste Compared with Tricalcium Phosphate and Fluoride Toothpaste on Artificial Carious Lesions. Pagano S, editor. *International Journal of Dentistry*. 2021; 1–14. doi: 10.1155/2021/5588832.
5. Fernandes NLS, Cunha JL, Oliveira AFB, D'Alpino, HPP, Sampaio CF. Resistance against Erosive Challenge of Dental Enamel Treated with 1,450-PPM Fluoride Toothpastes Containing Different Biomimetic Compounds. *European Journal Of Dentistry*. 2021; 15 (03): 433-439. doi: 10.1055/s-0041-1725576.
6. Epple, M.; Enax, J.; Meyer, F. Prevention of Caries and Dental Erosion by Fluorides—A Critical Discussion Based on Physico-Chemical Data and Principles. *Dent. J.* 2022, 10, 6. doi: 10.3390/dj10010006.
7. Tomaz PLS, Sousa LA de, Aguiar KF de, Oliveira T de S, Matochek MHM, Polassi MR, et al. Effects of 1450-ppm Fluoride-containing Toothpastes Associated with Boosters on the Enamel Remineralization and Surface Roughness after Cariogenic Challenge. *European Journal of Dentistry*. 2020;14(01):161–70. doi: 10.1055/s-0040-1705072.
8. Vilhena FV, de Oliveira SM, Matochek MH, Tomaz PL, Oliveira TD, D'Alpino PH. Biomimetic Mechanism of Action of Fluoridated Toothpaste Containing Proprietary REFIX Technology on the Remineralization and Repair of Demineralized Dental Tissues: An in vitro Study. *Eur J Dent*. 2021, 1;15(02):236–41. doi: 10.1055/s-0040-1716781.
9. Amaechi BT, Phillips TS, Evans V, Ugwokaegbe CP, Luong MN, Okoye LO, Meyer F, Enax J. The Potential of Hydroxyapatite Toothpaste to Prevent Root Caries: A pH-Cycling Study. *Clin Cosmet Investig Dent*. 2021 Jul 21;13:315-324. doi: 10.2147/CCIDE.S319631.
10. Queiroz CS, Hara AT, Paes Leme AF, Cury JA. pH-cycling models to evaluate the effect of low fluoride dentifrice on enamel de- and remineralization. *Braz Dent J*. 2008;19(01):21–27.
11. Amaechi BT. Protocols to Study Dental Caries In Vitro: pH Cycling Models. *Methods in Molecular Biology*. 2019;379–92.

12. Wierichs Richard J, Rupp K, Meyer-Lueckel H, Apel C, Esteves-Oliveira M. Effects of Dentifrices Differing in Fluoride Content on Remineralization Characteristics of Dentin in vitro. *Caries Research*. 2019 Nov 27;54(1):75-86. doi:10.1159/000504165.
13. Vieira A E, Delbem A C, Sasaki K T, Rodrigues E, Cury J A, Cunha R F. Fluoride dose response in pH-cycling models using bovine enamel. *Caries Res*. 2005;39(06):514–520. doi:10.1159/000088189
14. Kim HE, Cho YK, Kim BR, Jung EH, Kim BI. [Cutoff fluorescence loss for the recovery of incipient carious lesions after fluoride application in primary teeth: A clinical study]. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*. 2018;3:367–72.
15. Schiffner U. Verwendung von Fluoriden zur Kariesprävention. *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz*. 2021 Jun 11;64(7):830–7. doi: 10.1007/s00103-021-03347-4
16. Unterbrink P, Schulze zur Wiesche E, Meyer F, Fandrich P, Amaechi BT, Enax J. Prevention of Dental Caries: A Review on the Improvements of Toothpaste Formulations from 1900 to 2023. *Dentistry Journal*. 2024;12(3):64. doi: 10.3390/dj12030064
17. Walsh T, Worthington HV, Glenny AM, Marinho VC, Jeroncic A. Fluoride toothpastes of different concentrations for preventing dental caries. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2019;3(3). doi: 10.1002/14651858.CD007868.pub3.
18. Pranno N, Zumbo G, Tranquilli M, Stamegna L, Zara F, Voza I. Oral Hygiene Habits and Use of Fluoride in Developmental Age: Role of Parents and Impact on their Children. *BioMed Research International*. 2022;2022:6779165 doi: 10.1155/2022/6779165.
19. Cury, JA. *Cariologia & fluoretos em odontologia: da pediatria à geriatria*. São Paulo: Santos Publicações, 2024.

20. Dai LL, Mei ML, Chu CH, Lo ECM. Remineralizing effect of a new strontium-doped bioactive glass and fluoride on demineralized enamel and dentine. *Journal of Dentistry*. 2021;108:103633. doi: 10.1016/j.jdent.2021.103633.
21. Jafari N, Habashi MS, Hashemi A, Shirazi R, Tanideh N, Tamadon A. Application of bioactive glasses in various dental fields. *Biomaterials Research*. 2022 Jul 6;26(1). doi: 10.1186/s40824-022-00274-6
22. Vicente A, Ortiz-Ruiz AJ, González-Paz BM, Martínez-Beneyto Y, Bravo-González LA. Effectiveness of a toothpaste and a serum containing calcium silicate on protecting the enamel after interproximal reduction against demineralization. *Scientific Reports*. 2021 Jan 12;11(1). doi: 10.1038/s41598-020-80844-7
23. Parker AS, Patel AN, Al Botros R, Snowden ME, McKelvey K, Unwin PR, et al. Measurement of the efficacy of calcium silicate for the protection and repair of dental enamel. *Journal of Dentistry*. 2014;42:S21–9. doi: 10.1016/S0300-5712(14)50004-8.
24. Oliveira PHC, Oliveira MRC, Oliveira LHC, Sfalcin RA, Pinto MM, Rosa EP, et al. Evaluation of Different Dentifrice Compositions for Increasing the Hardness of Demineralized Enamel: An in Vitro Study. *Dentistry Journal*. 2019 Feb 4;7(1):14. doi: 10.3390/dj7010014.
25. Farooq I, Ali S, Farooqi FA, AlHumaid J, Binhasan M, Shabib S, et al. Enamel Remineralization Competence of a Novel Fluoride-Incorporated Bioactive Glass Toothpaste—A Surface Micro-Hardness, Profilometric, and Micro-Computed Tomographic Analysis. *Tomography*. 2021;7(4):752–66. doi: 10.3390/tomography7040063.
26. Hsu SM, Alsafadi M, Vasconez C, Fares C, Craciun V, O'Neill E, et al. Qualitative Analysis of Remineralization Capabilities of Bioactive Glass (NovaMin) and Fluoride on Hydroxyapatite (HA) Discs: An In Vitro Study. *Materials*. 2021 Jul 8;14(14):3813. doi: 10.3390/ma14143813.
27. Park SW, Kang SM, Lee HS, Kim SK, Lee ES, Kim BR, et al. Lesion activity assessment of early caries using dye-enhanced quantitative light-induced

fluorescence. *Scientific Reports*. 2022 Jul 13;12(1). doi: 10.1038/s41598-022-15862-8.

28. Ghodasra R, Brizuela M. *Dental Caries Diagnostic Testing*. PubMed. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023.

29. Mukherjee K, Chakraborty A, Sandhu G, Naim S, Bauza Nowotny E, Moradian-Oldak J. Amelogenin Peptide-Chitosan Hydrogel for Biomimetic Enamel Regrowth. *Frontiers in Dental Medicine*. 2021 Jun 16;2. doi: 10.3389/fdmed.2021.697544

30. Buzalaf MAR, Hannas AR, Magalhães AC, Rios D, Honório HM, Delbem ACB. pH-cycling models for in vitro evaluation of the efficacy of fluoridated dentifrices for caries control: strengths and limitations. *Journal of Applied Oral Science*. 2010;18(4):316–34. doi: 10.1590/S1678-77572010000400002

## 5. ARTIGO 2

O manuscrito a seguir será submetido para publicação no periódico Brazilian Dental Journal.

Título: Efeitos bioativos da tecnologia REFIX® na proteção do esmalte dental: uma análise *in vitro*

**Resumo:**

Avaliar, *in vitro*, o efeito protetor de dentifrícios com e sem fluoreto, que utilizam a tecnologia REFIX®. Foram utilizados 60 blocos (4x4x2mm) de esmalte de incisivos bovinos, distribuídos de acordo com a microdureza superficial, em cinco grupos (n=12/grupo): DRS1-Dentifrício Regenerador+Sensitivo (1450 ppm de NaF + Tecnologia REFIX®); DRS2-Dentifrício Regenerador+Sensitivo (1100 ppm de NaF + Tecnologia REFIX®); DRS3-Dentifrício Regenerador+Sensitivo (Tecnologia REFIX® sem fluoreto); CN–Controle Negativo (Dentifrício sem fluoreto); e CP-Controle Positivo (1.450 ppm de NaF). Os espécimes foram submetidos a um modelo de ciclagem de pH remineralizante durante cinco dias e mais 48h em solução remineralizadora, tratados com *slurries* dos dentifrícios (proporção 1:3) em uma máquina de escovação padronizada durante dois minutos. Os espécimes foram analisados por meio da Quantificação de Fluorescência Induzida por Luz (QLF) para avaliar a perda de fluorescência/mineral ( $\Delta F$ ) e a profundidade da lesão cariiosa ( $\Delta F_{max}$ ). Os dados foram analisados pelo teste ANOVA, seguido de Tukey, com  $p < 0,05$ . Os grupos DRS1, DRS2 e o CP apresentaram os melhores desempenhos quanto a proteção da perda mineral ( $\Delta F$ ) e menor profundidade da lesão ( $\Delta F_{max}$ ) cariiosa. O grupo DRS3, com tecnologia REFIX® sem fluoreto, foi ineficaz na proteção tanto quanto o CN. A eficácia na proteção quanto a perda da fluorescência pode ser resumida da seguinte forma: DRS1 = DRS2 = CP > DRS3 = CN. Conclui-se que a tecnologia REFIX® demonstrou ter potencial na proteção do esmalte, quando em desafio cariogênico, quando associada ao fluoreto, destacando seu potencial como uma alternativa viável para a proteção contra a desmineralização.

**Palavras-chave:** Dentifrícios; Esmalte Dentário; Fluorescência Quantitativa Induzida por Luz

## **Introdução:**

A cárie dentária é uma das doenças crônicas mais comuns que afeta pessoas de todas as idades ao redor do mundo (1,2). Ela se desenvolve a partir da desmineralização do esmalte dental devido à ação de ácidos produzidos por bactérias na placa dental, que resultam na perda de minerais essenciais e na deterioração progressiva das estruturas dentárias (3,4). A formação da lesão inicial da cárie começa com a remoção dos minerais do esmalte, criando microporosidades na superfície dental e caracterizando-se pela desmineralização sem cavitação visível (5), mas com a formação de uma camada superficial distinta que pode ser revertida se identificada e tratada precocemente (6).

A abordagem atual para o tratamento das lesões cariosas enfatiza a preservação máxima da estrutura dental e a estimulação de respostas biológicas do dente e do ambiente circundante, adotando tratamentos minimamente invasivos (7,8). Dessa forma, medidas preventivas visam reduzir os fatores de risco, sendo a aplicação de fluoretos uma estratégia fundamental para fortalecer as estruturas dentárias e protegê-las contra a cárie (8). O fluoreto atua retardando o processo de desmineralização ao formar uma camada de fluoreto de cálcio ( $\text{CaF}_2$ ) na superfície do esmalte, que é resistente à ação ácida (5,6). Esta camada protege o esmalte durante períodos de quedas do pH, além de liberar íons fluoreto e cálcio para o ambiente circundante, aumentando a saturação mineral, inibindo a desmineralização e promovendo a remineralização (9,10).

Os fluoretos utilizados tradicionalmente na remineralização do esmalte possuem um mecanismo de ação amplamente estudado, facilitando o desenvolvimento de novos sistemas de remineralização mediados por fluoretos (5,11). Assim, existe uma demanda significativa por combinações ou compósitos de fluoretos que possam desempenhar múltiplas funções para alcançar resultados clínicos mais satisfatórios no futuro (12). Estudos indicam que utilização combinada de agentes remineralizantes pode potencializar o processo de remineralização do esmalte devido ao efeito sinérgico entre eles, além de aumentar a dureza, estabilizando os cristais de hidroxiapatita e conferindo proteção contra mudanças de pH na cavidade oral (13-15).

Os fabricantes de produtos dentários têm reformulado os dentifrícios, incorporando uma variedade de ingredientes ativos para melhorar a sua eficácia

(16,17). Sabe-se que a substituição de silício na estrutura molecular da hidroxiapatita remineralizadora tem sido identificada como um meio de aumentar sua bioatividade (18). A tecnologia REFIX® destaca-se por sua capacidade de promover a formação de apatita fluorada e a deposição de uma camada de silicato nos dentes. Este processo envolve a combinação de fluoreto, fosfatos e sílica, que juntos contribuem para a penetração mais profunda nos tecidos do esmalte. A deposição de silicato não apenas diminui a solubilidade da hidroxiapatita, mas também melhora as propriedades mecânicas do esmalte, tornando-o mais resistente à ação ácida e às variações de pH na cavidade oral (19).

Contudo, ainda há necessidade de melhorias nas funcionalidades desses compostos. Além disso, apesar dos avanços significativos, nenhum estudo até o momento comparou o efeito protetor da tecnologia REFIX® em diferentes concentrações de fluoreto ou na sua ausência. Diante disso, o presente estudo *in vitro* teve como objetivo avaliar a capacidade protetora de dentifrícios que utilizam a tecnologia REFIX® com diferentes concentrações de fluoreto e sem fluoreto, por meio da análise de Quantificação de Fluorescência Induzida por Luz (Quantitative light-induced fluorescence – QLF). A hipótese foi que a tecnologia REFIX®, mesmo na ausência de fluoreto, seria eficaz na proteção do esmalte dental, oferecendo uma alternativa viável aos dentifrícios tradicionais com fluoreto.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

O estudo laboratorial, *in vitro*, com seleção aleatória, adotou uma abordagem indutiva com procedimentos estatísticos e comparativos.

### **Universo e amostra**

Foram utilizados 30 dentes incisivos bovinos, coletados e armazenados em solução tamponada de formol a 10%, à temperatura ambiente, por no máximo 30 dias, para a preparação dos espécimes. Os dentes foram examinados sob uma lupa de 5x de aumento para identificação de possíveis trincas, rachaduras, cáries e/ou alterações no esmalte. Os dentes com quaisquer dessas condições foram excluídos da amostra.

## **Preparação dos espécimes**

Um total de 60 blocos de esmalte, de aproximadamente 4x4x2mm, foram preparados, utilizando um disco diamantado dupla face na cortadeira de precisão (Labcut 1010), sob irrigação constante. Os espécimes foram embutidos em resina acrílica autopolimerizável, utilizando moldes circulares de 16 mm de diâmetro e 3 mm de profundidade. A superfície externa do esmalte foi exposta e planificada com lixas abrasivas (granulações 600–1500), sob refrigeração com água, e polidas com pasta diamantada de 1 $\mu$ m (Extec Corporation, Enfield, CT) e feltros umedecidos em máquina de polimento rotativa PSK-2 V (Skill-tec Comércio e Manutenção Ltda, São Paulo, SP, Brasil).

Após a preparação dos espécimes, a microdureza superficial (SH) foi medida usando um microdurômetro (HMV, Microhardness tester, Shimadzu, Kyoto, Japão) com um penetrador Vickers, sob uma carga estática de 50 g por 10 segundos. Esse procedimento foi realizado para selecionar blocos de esmalte com valores de dureza Vickers (VHN) de  $285 \pm 30$ , no qual foram distribuídos entre os grupos por conveniência.

## **Seleção dos dentifrícios e preparação dos *slurries***

Foram utilizados cinco tipos de dentifrícios conforme descrito no Quadro 1. Um produto sem fluoreto foi designado como controle negativo (CN), enquanto o dentifrício Oral B (CP), contendo 1450ppm de NaF, foi escolhido como controle positivo. Os dentifrícios foram armazenados em recipientes identificados por um pesquisador independente. As misturas de dentifrício e água deionizada foram preparadas na proporção de 1:3. Essas soluções foram feitas diariamente com agitação contínua por 4 minutos até atingirem completa homogeneização (20).

**Quadro 1** – Dentifrícios selecionados para o estudo, com os seus respectivos ingredientes ativos.

<b>Produto (Grupo)</b>	<b>Ingredientes ativos</b>	<b>Fabricante</b>
Dentifrício Regenerador + Sensitivo (DRS <sub>1</sub> )	1450 ppm de fluoreto de sódio, glicerina, sílica, sorbitol, lauril sulfato de sódio, água, aroma, PEF-12, goma de celulose, ácido fosfórico, xilitol, pirofosfato tetrassódico, sacarina sódica, triclosan, mentol, mica, benzoato de sódio, Tecnologia REFIX®	Rabbit Corp, Londrina, PR, Brasil (Lot number: 73045)
Dentifrício Regenerador + Sensitivo (DRS <sub>2</sub> )	1110 ppm de fluoreto de sódio, glicerina, sílica, sorbitol, lauril sulfato de sódio, água, aroma, PEF-12, goma de celulose, ácido fosfórico, xilitol, pirofosfato tetrassódico, sacarina sódica, triclosan, mentol, mica, benzoato de sódio, Tecnologia REFIX®	Rabbit Corp, Londrina, PR, Brasil (Lot number: 020/2023)
Dentifrício Regenerador + Sensitivo (DRS <sub>3</sub> )	Creme dental sem flúor, glicerina, sílica, sorbitol, lauril sulfato de sódio, água, aroma, PEF-12, goma de celulose, ácido fosfórico, xilitol, pirofosfato tetrassódico, sacarina sódica, triclosan, mentol, mica, benzoato de sódio, Tecnologia REFIX®	Rabbit Corp, Londrina, PR, Brasil (Lot number: 083/2023)
Controle Negativo (CN)	Sem ingredientes ativos. Creme dental sem flúor.	Rabbit Corp, Londrina, PR, Brasil (Lot number: 74071)
Controle Positivo (CP)	1450 ppm de fluoreto de sódio, água, sorbitol, sílica, lauril sulfato de sódio, aroma, carragenina, gluconato de sódio, cloreto estanoso, goma xantana, citrato de zinco, Cl 77891, sacarina sódica, hidróxido de sódio, limoneno	Oral B - Procter & Gamble, Brasil (Lot number: 31653662C1)

### **Tratamento e Ciclagem de pH**

Os blocos, antes da realização do experimento, tiveram metade da superfície do esmalte coberta com duas camadas de esmalte de unhas (Risqué, Niasi, Taboão da Serra, São Paulo, Brasil), como proteção da área de referência (área hígida-controle). Cada espécime foi imerso, individualmente, em saliva artificial por 24 horas antes do início da ciclagem de pH e tratamento (20).

A área do esmalte exposta (área experimental) foi submetida a um modelo de ciclagem de pH a 37 °C, descrito por Vieira et al. (21), durante 5 dias, com permanência de mais 48 horas em solução remineralizadora. Diariamente, os

espécimes foram expostos a uma solução desmineralizadora (2,0 mM.L-1 de cálcio e fosfato em tampão acetato 75 mM.L-1, pH 4,7; 0,03 µgF/mL, 3 mL/mm<sup>2</sup>) por 6 horas, a 37°C. A solução contendo 1,5 mM.L-1 de cálcio, 0,9 mM.L-1 de fosfato, 150 mM.L-1 de cloreto de potássio em tampão cacodilato 0,02 mM.L-1 (pH = 7,0; 0,02 µgF/mL e 1 mL/mm<sup>2</sup>) foi utilizada durante 18 horas, a 37°C. A escovação com as pastas foi realizada duas vezes ao dia, antes e após a solução desmineralizadora, utilizando um tempo de escovação de 10 segundos na máquina, seguido de 110 segundos de espera, completando um total de 2 minutos (22). As pastas foram preparadas misturando água deionizada e dentífrico na proporção de 1:3 (30 mL/amostra).

Entre as trocas das soluções e dos tratamentos, os blocos foram enxaguados com água deionizada por 10 segundos. Após a última escovação, os espécimes foram mantidos em imersão na solução remineralizadora até o dia seguinte. As soluções foram renovadas diariamente.

### **Análise da Quantificação de Fluorescência Induzida por Luz (Quantitative light-induced fluorescence – QLF)**

Os blocos de esmalte foram avaliados quanto à perda de fluorescência em lesões de cárie e áreas tratadas, usando o dispositivo Qraycam Pro (Inspektor Research System BV, Amsterdã, Holanda). O esmalte de unha foi cuidadosamente removido com cotonetes embebidos em acetona diluída. Em seguida, os espécimes foram lavados com água deionizada durante um período de dois minutos usando um aparelho ultrassônico e secos com rolo de algodão. Uma câmera foi acoplada a um suporte na mesma posição para todas as imagens para padronizar as medidas do QLF. As imagens foram feitas em uma sala escura, com exposição 0, contraste 0 e distância entre o aparelho e a amostra de 8 cm. Um software (Q-ray versão 1.38, (Inspektor Research System BV, Amsterdã, Holanda) analisou as mudanças na quantidade de mineral no esmalte com base no valor  $\Delta F$  e a profundidade da lesão pelo  $\Delta F_{max}$ .

### **Análise estatística**

Os dados foram analisados estatisticamente utilizando o pacote SPSS para Windows, versão 21.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, EUA). O teste de Shapiro-Wilk e o

teste de Levene foram utilizados para determinar a normalidade e a homogeneidade das variâncias, respectivamente. Como os dados apresentaram variâncias iguais e distribuição Gaussiana, não foi necessária nenhuma transformação de dados. A One-Way ANOVA seguida pelo teste de Tukey foi usada para analisar as diferenças entre os grupos em relação às variáveis  $\Delta F$  e  $\Delta F_{max}$ . O nível de significância para todas as análises foi de 5%.

## RESULTADOS:

Os resultados das alterações na fluorescência, baseados na mudança mineral ( $\Delta F$ ) e na profundidade das lesões ( $\Delta F_{max}$ ) cariosas foram analisados usando a Quantificação de Fluorescência Induzida por Luz (QLF). A Tabela 1 apresenta os valores de fluorescência ( $\Delta F$ ) e profundidade da lesão ( $\Delta F_{max}$ ) para cada grupo.

**Tabela 1** - Valores de fluorescência (Média  $\pm$  DP) pelo QLF para as variáveis  $\Delta F$  e  $\Delta F_{max}$ .

Grupos	$\Delta F$ (Média $\pm$ DP)*	$\Delta F_{max}$ (Média $\pm$ DP)*
DRS1	-10,03 $\pm$ 2,08 <sup>a</sup>	-15,41 $\pm$ 2,50 <sup>a</sup>
DRS2	-8,97 $\pm$ 2,74 <sup>a</sup>	-15,96 $\pm$ 4,02 <sup>a</sup>
DRS3	-33,84 $\pm$ 6,39 <sup>b</sup>	-40,11 $\pm$ 6,12 <sup>b</sup>
CN	-28,67 $\pm$ 13,10 <sup>b</sup>	-40,21 $\pm$ 9,14 <sup>b</sup>
CP	-17,44 $\pm$ 5,71 <sup>a</sup>	-24,73 $\pm$ 5,74 <sup>c</sup>

\* Letras minúsculas diferentes demonstram diferença significativa entre os grupos (ANOVA,  $p < 0,05$ ). Abreviações: DRS1, Dentifrício Regenerador + Sensitivo (1450 ppm e Tecnologia REFIX®); DRS2, Dentifrício Regenerador + Sensitivo (1100 ppm de NaF + Tecnologia REFIX®); DRS3, Dentifrício Regenerador + Sensitivo (Tecnologia REFIX® sem fluoreto); CN – Controle Negativo (Dentifrício sem fluoreto); e CP - Controle Positivo (Dentifrício Oral B - 1.450 ppm de NaF).

A análise da proteção do esmalte dentário bovino, com base na variável de mudança mineral ( $\Delta F$ ), mostrou que os dentifrícios DRS1 e DRS2, ambos contendo a tecnologia REFIX® associada ao fluoreto, apresentaram um desempenho protetor semelhante ao controle positivo (CP), que continha 1450 ppm de NaF.

Por outro lado, o grupo DRS3, que utilizou a tecnologia REFIX® sem adição de fluoreto, apresentou uma menor fluorescência ( $\Delta F$ ) de -33,84  $\pm$  6,39, comparável

ao Controle Negativo (CN). O controle negativo (CN), que não contém fluoreto nem a tecnologia REFIX®, apresentou um  $\Delta F$  de  $-28,67 \pm 13,10$ , comportando-se de maneira semelhante ao DRS3 ( $p > 0,05$ ).

A análise da profundidade das lesões cariosas, representada pelo  $\Delta F_{max}$ , revelou que os grupos DRS1 e DRS2, ao final da ciclagem, tiveram as menores profundidades de lesão, com valores de  $-15,41 \pm 2,50$  e  $-15,96 \pm 4,02$ , respectivamente. Diferenças significativas na variável  $\Delta F_{max}$  foram observadas entre o CP e os demais grupos ( $p < 0,05$ ). Seguindo o padrão de comportamento da variável  $\Delta F$ , os grupos DRS3 e CN apresentaram as maiores profundidades de lesão ( $\Delta F_{max}$ ).

## **DISCUSSÃO**

A desmineralização do esmalte ocorre quando o pH na superfície do dente cai abaixo do nível crítico ( $< 5,5$ ), resultando na dissolução da hidroxiapatita (23). A exposição repetida ao ácido torna a remineralização apenas com agentes à base de fluoreto muitas vezes ineficiente (5,6). Portanto, tecnologias que disponibilizam agentes bioativos e/ou biomiméticos para a remineralização, com ou sem a presença do fluoreto, podem oferecer soluções inovadoras para esses desafios (25).

Diante da eficácia da tecnologia REFIX® em estudos anteriores (16-17,19), esta pesquisa se torna inovadora pela ausência de dados na literatura relacionados ao desempenho da tecnologia associada a diferentes concentrações de fluoreto ou mesmo na sua ausência. A tecnologia REFIX® é um exemplo de agente bioativo composto de sílica e fosfato, adicionado a dentífrício fluoretado.

Os achados deste estudo indicaram que os dentífrícios contendo a tecnologia REFIX® associada ao fluoreto (DRS1 e DRS2) oferecem uma proteção significativa contra a desmineralização tanto do esmalte superficial quanto nas camadas mais profundas na formação de lesões cariosas. A combinação de fluoreto com a tecnologia REFIX® demonstrou ser altamente eficaz na remineralização do esmalte dental e na prevenção da progressão da cárie, criando uma barreira protetora mais resistente à ação ácida (17).

A importância do fluoreto na formulação dos dentífrícios destacou-se pela ineficácia dos dentífrícios DRS3 e CN no presente estudo. Isso indica que, embora

a tecnologia REFIX® contribua para a proteção do esmalte, a presença de fluoreto é essencial para maximizar a eficácia na proteção do esmalte em processos de Des-Re iniciais. O fluoreto, portanto, promove a formação de fluoreto de cálcio ( $\text{CaF}_2$ ) na superfície do esmalte, que é mais resistente à desmineralização (9-10).

A sinergia entre o fluoreto e a tecnologia REFIX® potencializa a formação de uma camada protetora robusta no esmalte dental. A presença de sílica na formulação atua como um ponto de nucleação para a precipitação de íons de cálcio e fosfato, facilitando a formação de cristais de hidroxiapatita e fluorapatita. Esses cristais são fundamentais para a recuperação estrutural do esmalte e para a proteção contra a ação ácida (26). A atuação da sílica presente na tecnologia REFIX® está fundamentada na premissa de que ela funciona como um sítio para deposição de íons cálcio e fosfato, resultando na formação de silicato de cálcio, que promove a nucleação da hidroxiapatita e fortalece o processo de remineralização (17,19,27). Corroborando os achados do presente estudo, acredita-se que a atuação deste composto não apenas reforce a superfície com uma camada protetora de hidroxiapatita, mas também ajude na nucleação dos cristais em níveis mais profundos do esmalte (16), facilitando a deposição de minerais adicionais e diminuindo os efeitos da desmineralização (26). Além disso, a HA, possui os sítios A e B que são capazes de realizar trocas iônicas. Os íons silicato ( $\text{SiO}_4^{4-}$ ) podem substituir os íons fosfato nos sítios B, formando uma estrutura de hidroxiapatita enriquecida com silício (27). Essa substituição está relacionada ao aumento da bioatividade e da capacidade remineralizadora do esmalte, uma vez que o silício pode incentivar a formação de uma camada mineral mais resistente e menos propensa à solubilidade (16).

Esses achados sugerem que dentifrícios contendo a tecnologia REFIX® associada ao fluoreto podem ser uma alternativa viável e eficaz aos dentifrícios tradicionais com fluoreto. A combinação de componentes bioativos que promovem a remineralização e a formação de camadas protetoras pode oferecer uma proteção dupla contra a cárie dental. Isso é particularmente relevante em ambientes clínicos, onde a prevenção da desmineralização e a promoção da remineralização são cruciais para a saúde bucal dos pacientes (5). A aplicação isolada de fluoreto, em comparação com a associação de compostos bioativos, mostrou-se menos eficaz em mais de 230% no presente estudo, evidenciando suas limitações na prevenção de lesões cáries. Essas limitações podem ser explicadas pela eficácia reduzida

do fluoreto em pH abaixo de 4,5, pela necessidade de íons cálcio e fosfato biodisponíveis na saliva e outras fontes para a eficácia do fluoreto, além da tendência do fluoreto em remineralizar principalmente os 30 µm externos da lesão. Isso pode resultar na remineralização da superfície em detrimento do interior da lesão, dificultando a completa remineralização (28).

Apesar dos resultados promissores, é importante ressaltar que este estudo foi realizado *in vitro* e apresenta suas limitações, eles são incapazes de simular completamente as complexas condições intraorais (29). Portanto, estudos clínicos se fazem necessários para se verificar a durabilidade e a eficácia dos efeitos protetores observados a longo prazo. A Quantificação de Fluorescência Induzida por Luz (QLF) demonstrou ser uma ferramenta com alta sensibilidade na quantificação da perda mineral, apresentando uma forte correlação com as variações no conteúdo mineral (30-32).

Portanto, os resultados deste estudo fornecem evidências promissoras de que a tecnologia REFIX®, especialmente quando combinada com fluoreto, pode oferecer uma proteção significativa contra a desmineralização do esmalte e a formação de lesões cáries mais profundas. No entanto, pesquisas adicionais são necessárias para validar esses achados e explorar plenamente o potencial clínico dessa tecnologia inovadora.

## **CONCLUSÃO:**

Dentro das limitações deste estudo, os dentifrícios DRS1 e DRS2 não mostraram diferença significativa em comparação com o Controle Positivo em relação a  $\Delta F$ . No entanto, quando analisados com base em  $\Delta F_{max}$ , DRS1 e DRS2 apresentaram diferenças estatísticas em relação ao Controle Positivo, indicando capacidades protetoras superiores. O grupo DRS3, sem adição de fluoreto, foi ineficaz na proteção do esmalte no desafio cariogênico. A adição de fluoreto à tecnologia REFIX® aumentou significativamente sua eficácia, promovendo a remineralização do esmalte com hidroxiapatita e fluorapatita e prevenindo a desmineralização. Em contraste, o Controle Negativo não apresentou nenhuma capacidade protetora sobre o esmalte dentário bovino.

## REFERÊNCIAS:

1. Pitts NB, Twetman S, Fisher J, Marsh PD. Understanding dental caries as a non-communicable disease. *British Dental Journal*. 2021;231(12):749–53.
2. Wen, P.Y.F.; Chen, M.X.; Zhong, Y.J.; Dong, Q.Q.; Wong, H.M. Global Burden and Inequality of Dental Caries, 1990 to 2019. *J. Dent. Res*. 2022, 101, 392–399.
3. Bordani N, Salgado P, Squassi A. Comparison between indexes for diagnosis and guidance for treatment of dental caries. *Acta Odontológica Latinoamericana*. 2021;34(3):289–97.
4. Cai J, Guang M, Zhou J, Qu Y, Xu H, Sun Y, Xiong H, Liu S, Chen X, Jin J, Wu X. Dental caries diagnosis using terahertz spectroscopy and birefringence. *Opt Express*. 2022;30(8):13134-13147
5. Malcangi G, Patano A, Morolla R, De Santis M, Piras F, Settanni V, Mancini A, Di Venere D, Inchingolo F, Inchingolo AD, Dipalma G, Inchingolo AM. Analysis of Dental Enamel Remineralization: A Systematic Review of Technique Comparisons. *Bioengineering (Basel)*. 2023 Apr 12;10(4):472.
6. Juntavee A, Juntavee N, Hirunmoon P. Remineralization Potential of Nanohydroxyapatite Toothpaste Compared with Tricalcium Phosphate and Fluoride Toothpaste on Artificial Carious Lesions. Pagano S, editor. *International Journal of Dentistry*. 2021; 1–14
7. Grohe B, Mittler S. Advanced non-fluoride approaches to dental enamel remineralization: The next level in enamel repair management. *Biomater Biosyst*. 2021 Oct 29;4:100029.
8. Cabalén MB, Molina GF, Bono A, Burrow MF. Nonrestorative Caries Treatment: A Systematic Review Update. *Int Dent J*. 2022.
9. Chen L, Al-Bayatee S, Khurshid Z, Shavandi A, Brunton P, Ratnayake J. Hydroxyapatite in Oral Care Products—A Review. *Materials*. 2021;14 (17): 1-9.

10. Bijle MNA, Tung LP, Wong J, Ekambaram M, Lo EC, Yiu CKY. Enhancing the Remineralization Potential of Child Formula Dentifrices: An In Vitro Study. *J Clin Pediatr Dent.* 2019;43(5):337-344.
11. Epple, M.; Enax, J.; Meyer, F. Prevention of Caries and Dental Erosion by Fluorides—A Critical Discussion Based on Physico-Chemical Data and Principles. *Dent. J.* 2022, 10, 6.
12. Xu J, Shi H, Luo J, Yao H, Wang P, Li ZH, et al. Advanced materials for enamel remineralization. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology.* 2022; 13;10.
13. Bijle M.N., Ekambaram M., Lo E.C., Yiu C.K.Y. The enamel remineralization potential of fluoride varnishes containing arginine. *J. Dent.* 2020;99:103411.
14. Pajor K, Pajchel L, Kolmas J. Hydroxyapatite and Fluorapatite in Conservative Dentistry and Oral Implantology—A Review. *Materials.* 2019;12(17).
15. Li X, Wang J, Joiner A, Chang J. The remineralisation of enamel: a review of the literature. *Journal of Dentistry.* 2014 Jun;42:S12–20.
16. Vilhena, FV; Lonni, AASG; D'Alpino, PHP Hidroxiapatita enriquecida com silício formada induzida por creme dental à base de REFIX na superfície do esmalte. *Braz. Dente. Ciência.* 2021 , 24 , 1–9.
17. Fernandes NLS, Silva JGVC, de Sousa EBG, D'Alpino PHP, de Oliveira AFB, de Jong E de J, et al. Effectiveness of fluoride-containing toothpastes associated with different technologies to remineralize enamel after pH cycling: an in vitro study. *BMC Oral Health.*2022; 22(1).
18. Carrouel F, Viennot S, Ottolenghi L, Gaillard C, Bourgeois D. Nanoparticles as antimicrobial, anti-inflammatory, and remineralizing agents in oral care cosmetics: a review of the current situation. *Nanomaterials.* 2020;10(1):140.
19. Vilhena FV, de Oliveira SM, Matochek MH, Tomaz PL, Oliveira TD, D'Alpino PH. Biomimetic Mechanism of Action of Fluoridated Toothpaste Containing Proprietary REFIX Technology on the Remineralization and Repair of Demineralized Dental Tissues: An in vitro Study. *Eur J Dent.* 2021, 1;15(02):236–41.

20. Amaechi BT. Protocols to Study Dental Caries In Vitro: pH Cycling Models. *Methods in Molecular Biology*. 2019;379–92.
21. Vieira A E, Delbem A C, Sasaki K T, Rodrigues E, Cury J A, Cunha R F. Fluoride dose response in pH-cycling models using bovine enamel. *Caries Res*. 2005;39(06):514–520.
22. Wierichs Richard J, Rupp K, Meyer-Lueckel H, Apel C, Esteves-Oliveira M. Effects of Dentifrices Differing in Fluoride Content on Remineralization Characteristics of Dentin in vitro. *Caries Research*. 2019 Nov 27;54(1):75-86
23. Lacruz RS, Habelitz S, Wright JT, Paine ML. Dental enamel formation and implications for oral health and disease. *Physiol Rev*. 2017 Jul 1;97(3):939-993.
24. Philip N. State of the Art Enamel Remineralization Systems: the next frontier in caries management. *Caries Research*. 2018, 53 (3): 284-295.
25. Moras CG, Acharya SR, Adarsh UK, Unnikrishnan VK. Regenerative biomineralization potential of commercially available remineralizing agents as a preventive treatment approach for tooth erosion – An in vitro laser-induced breakdown spectroscopy analysis. *Journal of Conservative Dentistry : JCD*. 2023;26(2):165–9.
26. Parker AS, Patel AN, Al Botros R, Snowden ME, McKelvey K, Unwin PR, et al. Measurement of the efficacy of calcium silicate for the protection and repair of dental enamel. *Journal of Dentistry*. 2014;42:S21–9.
27. Silva, H.M. da, Soares, G.A., Mateescu, M., Anselme, K., Palard, M., & Champion, E. (2009). Characterization of hydroxyapatite substituted with silicon. 53 Brazilian congress on ceramics, Brazil
28. Amaechi BT, AbdulAzees PA, Alshareif DO, Shehata MA, Lima PP, Abdollahi A, Kalkhorani PS, Evans V. Comparative efficacy of a hydroxyapatite and a fluoride toothpaste for prevention and remineralization of dental caries in children. *BDJ Open* .2019;5(1).
29. Buzalaf MAR, Hannas AR, Magalhães AC, Rios D, Honório HM, Delbem ACB. pH-cycling models for in vitro evaluation of the efficacy of fluoridated dentifrices for

caries control: strengths and limitations. *Journal of Applied Oral Science*. 2010;18(4):316–34.

30. Park SW, Kang SM, Lee HS, Kim SK, Lee ES, Kim BR, et al. Lesion activity assessment of early caries using dye-enhanced quantitative light-induced fluorescence. *Scientific Reports*. 2022 Jul 13;12(1).

31. Ghodasra R, Brizuela M. *Dental Caries Diagnostic Testing*. PubMed. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023.

32. Mukherjee K, Chakraborty A, Sandhu G, Naim S, Bauza Nowotny E, Moradian-Oldak J. Amelogenin Peptide-Chitosan Hydrogel for Biomimetic Enamel Regrowth. *Frontiers in Dental Medicine*. 2021 Jun 16;2.

## 6 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Os dois artigos apresentados nesta dissertação destacam a importância e a eficácia da tecnologia REFIX® de forma isolada ou associado a fluoretos, na remineralização do esmalte dental e na proteção contra desmineralização. Os estudos *in vitro* realizados forneceram evidências valiosas sobre a capacidade protetora e remineralizadora dos dentifrícios que incorporam essa tecnologia, com e sem a adição de fluoreto.

No primeiro estudo, foi avaliada a eficácia da tecnologia REFIX® em diferentes concentrações, incluindo a ausência de fluoreto no processo de remineralização da lesão cáriosa. Os resultados mostraram que, mesmo sem a adição de fluoreto, a tecnologia REFIX® (DRS3) teve um desempenho eficaz, superior ao controle negativo. Estes achados indicaram que a presença de sílica e fosfato na formulação contribui significativamente para a remineralização do esmalte, mesmo na ausência do fluoreto. No entanto, a adição de fluoreto (DRS1 e DRS2) resultou em uma proteção ainda maior, corroborando a importância do fluoreto na composição dos dentifrícios.

Em estudos anteriores (Fernandes et al., 2022; Vilhena et al., 2021), a tecnologia REFIX demonstrou-se promissora, especialmente quando combinada com fluoreto para a remineralização, demonstrando superioridade em relação a outras tecnologias remineralizantes. A combinação de tecnologia avançada com ingredientes conhecidos pela sua eficácia pode realmente ter um impacto significativo na saúde bucal.

No segundo estudo, foi avaliada a eficácia de diferentes concentrações de fluoreto combinadas com a tecnologia REFIX® em comparação a um controle positivo (fluoreto de sódio) e um controle negativo (sem fluoreto) na proteção do esmalte hígido exposto a desafios cariogênicos ácidos. Os resultados demonstraram que os dentifrícios DRS1 e DRS2, contendo tecnologia REFIX® associada a fluoreto, apresentaram uma capacidade protetora superior ao controle positivo, evidenciando uma significativa remineralização do esmalte e menor profundidade das lesões cárias. A presença de fluoreto, em sinergia com a tecnologia REFIX®, mostrou-se essencial para maximizar a proteção e remineralização do esmalte dental. Os dentifrícios sem fluoreto (DRS3 e CN) foram ineficazes nesta proteção.

Alguns autores relatam que o fluoreto de cálcio, atua como um potencial reservatório de fluoreto, aumentando a remineralização e retardando a desmineralização (Cury; Tenuta; Tabchouryt, 2017; Rosin-Grget; Lincir, 2001; Ogaard, 2001).

Esses resultados sugerem que a tecnologia REFIX®, especialmente quando associada ao fluoreto, oferece uma solução eficaz para a proteção e remineralização da lesão de cárie dental. A formação de uma camada protetora de hidroxiapatita e fluorapatita, promovida pela tecnologia REFIX® em combinação com fluoreto, proporciona uma barreira contra a desmineralização ácida, essencial para a manutenção da integridade do esmalte dental.

Dentifrícios contendo a tecnologia REFIX® associada ao fluoreto podem ser uma alternativa eficaz aos dentifrícios tradicionais com fluoreto. A combinação de componentes bioativos que promovem a remineralização e a formação de camadas protetoras pode oferecer uma proteção dupla contra a cárie dental. Isso é particularmente relevante em ambientes clínicos, onde a prevenção da desmineralização e a promoção da remineralização são cruciais para a saúde bucal dos pacientes.

Apesar dos resultados promissores, é importante reconhecer as limitações dos estudos *in vitro* e a ausência das condições complexas encontradas no meio intrabucal, o que limita a extrapolação dos resultados para situações reais. Estudos clínicos de longo prazo são necessários para confirmar a eficácia dos dentifrícios contendo a tecnologia REFIX® em ambientes reais e para avaliar a durabilidade dos efeitos protetores observados. A avaliação clínica permitirá verificar a estabilidade e a eficácia da tecnologia REFIX® diante dos desafios intrabucais, bem como sua aplicabilidade em diferentes cenários clínicos.

Dentro das limitações deste estudo, os dentifrícios DRS1 e DRS2 demonstraram capacidades protetoras superiores ao Controle Positivo tanto em termos de  $\Delta F$  quanto  $\Delta F_{max}$ . O grupo DRS3, sem adição de fluoreto, foi menos eficaz na proteção do esmalte. A adição de fluoreto à tecnologia REFIX® aumentou significativamente sua eficácia, promovendo a remineralização do esmalte com hidroxiapatita e fluorapatita e prevenindo a desmineralização. Em contraste, o Controle Negativo não apresentou nenhuma capacidade protetora sobre o esmalte dentário bovino. Estes achados incentivam a continuidade das pesquisas para melhor compreensão e aplicação clínica desta tecnologia inovadora, além do que,

dentifrícios com diferentes formulações como as apresentadas neste trabalho, fornecem potencial para personalizar tratamentos baseados nas necessidades específicas de cada paciente, dependendo do estilo de vida, do risco à cárie dentária e da atividade de lesões cárie já existentes.

## **7 CONCLUSÃO**

O presente estudo concluiu que os dentifrícios com tecnologia REFIX® apresentaram alta capacidade de remineralização do esmalte, mesmo com 1100 ppm fluoreto ou sem ele. Acredita-se que a sílica, isoladamente ou com 1100 ppm de fluoreto, pode ser uma alternativa eficaz no tratamento de lesões iniciais de cáries, desafiando a ideia de que apenas o fluoreto é essencial. No entanto, quanto à capacidade protetora, observou-se que a tecnologia REFIX® obteve melhores resultados quando associada ao fluoreto, fornecendo uma solução mais eficaz do que o uso isolado do fluoreto.

## REFERÊNCIAS

Amaechi BT, Abdulazees PA, Alshareif DO, Shehata MA, Lima PPCS, Abdollahi A, et al. Comparative efficacy of a hydroxyapatite and a fluoride toothpaste for prevention and remineralization of dental caries in children. *Bdj Open*.2019; 5 (1): 2-9. doi: 10.1038/s41405-019-0026-8.

Amaechi BT, Phillips TS, Evans V, Ugwokaegbe CP, Luong MN, Okoye LO, Meyer F, Enax J. The Potential of Hydroxyapatite Toothpaste to Prevent Root Caries: A pH-Cycling Study. *Clin Cosmet Investig Dent*. 2021 Jul 21;13:315-324. doi: 10.2147/CCIDE.S319631.

Arshad A, Khan AF. 12 - Silicon-substituted hydroxyapatite [Internet]. Khan AS, Chaudhry AA, editors. ScienceDirect. Woodhead Publishing; 2020. p. 283–305. doi: 10.1016/B978-0-08-102834-6.00012-4

Bossù M, Saccucci M, Salucci A, Giorgio G, Bruni E, Uccelletti D, et al. Enamel remineralization and repair results of Biomimetic Hydroxyapatite toothpaste on deciduous teeth: an effective option to fluoride toothpaste. *Journal Of Nanobiotechnology*.2019; 17(1):1-13. doi: 10.1186/s12951-019-0454-6.

Cai J, Cai J, Cai J, Guang M, Guang M, Zhou J, et al. Dental caries diagnosis using terahertz spectroscopy and birefringence. *Optics Express*. 2022 Apr 11;30(8):13134–47. doi: 10.1364/OE.452769.

Chen L, Al-Bayatee S, Khurshid Z, Shavandi A, Brunton P, Ratnayake J. Hydroxyapatite in Oral Care Products—A Review. *Materials*.2021;14 (17): 1-9. doi: 10.3390/ma14174865.

Cury JA, Tenuta LMA, Tabchoury CPM. Bioquímica oral [recurso eletrônico] – São Paulo : Artes Médicas, 2017.

Dai LL, Mei ML, Chu CH, Lo ECM. Remineralizing effect of a new strontium-doped bioactive glass and fluoride on demineralized enamel and dentine. *Journal of Dentistry*. 2021;108:103633. 10.1016/j.jdent.2021.103633.

Epple, M.; Enax, J.; Meyer, F. Prevention of Caries and Dental Erosion by

Fluorides—A Critical Discussion Based on Physico-Chemical Data and Principles. Dent. J. 2022, 10, 6. doi: 10.3390/dj10010006.

Fernandes NLS, Cunha JL, Oliveira AFB, D'Alpino, HPP, Sampaio FC. Resistance against Erosive Challenge of Dental Enamel Treated with 1,450-PPM Fluoride Toothpastes Containing Different Biomimetic Compounds. European Journal Of Dentistry.2021; 15 (03): 433-439. doi: 10.1055/s-0041-1725576.

Fernandes NLS, Silva JGVC, de Sousa EBG, D'Alpino PHP, de Oliveira AFB, de Jong E de J, et al. Effectiveness of fluoride-containing toothpastes associated with different technologies to remineralize enamel after pH cycling: an in vitro study. BMC Oral Health.2022; 22(1). doi: 10.1186/s12903-022-02429-2.

Ghodasra R, Brizuela M. Dental Caries Diagnostic Testing. PubMed. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023.

Gorseta K, Gavic L, Borzabadi-Farahani A, Tadin A, Glavina D. Influence of toothpaste pH on its capacity to prevent enamel demineralization. Contemporary Clinical Dentistry . 2018;9(4):554. doi: 10.4103/ccd.ccd\_667\_18.

Grohe B, Mittler S. Advanced non-fluoride approaches to dental enamel remineralization: The next level in enamel repair management. Biomater Biosyst. 2021;4:100029. doi: 10.1016/j.bbiosy.2021.100029.

Guntermann L, Rohrbach A, Schäfer E, Dammaschke T. Remineralization and protection from demineralization: effects of a hydroxyapatite-containing, a fluoride-containing and a fluoride- and hydroxyapatite-free toothpaste on human enamel in vitro. Head & Face Medicine.2022; 18(1). doi: 10.1186/s13005-022-00330-5.

Heukamp J, Korbmacher-Steiner H, Schmidt S, Neumann CM, Bottenberg P, Jablonski-Momeni A. Remineralisation capability of silver diamine fluoride in artificial enamel lesions on smooth surfaces using quantitative light-induced fluorescence measurements in-vitro. Scientific Reports. 2022 May 19;12(1). doi: 10.1038/s41598-022-12498-6.

Ionescu AC, Degli Esposti L, Iafisco M, Brambilla E. Dental tissue remineralization by bioactive calcium phosphate nanoparticles formulations. *Scientific Reports*. 2022;12(1):5994. doi: 10.1038/s41598-022-09787-5

Jablonski-Momeni A, Nothelfer R, Morawietz M, Kiesow A, Korbmacher-Steiner H. Impact of self-assembling peptides in remineralisation of artificial early enamel lesions adjacent to orthodontic brackets. *Scientific Reports*. 2020 Sep 15;10(1):15132. doi: 10.1038/s41598-020-72185-2.

Jablonski-Momeni A, Müller M, Korbmacher-Steiner H, Bottenberg P. Ability of a Blue Hemoglobin-Based Liquid as a Novel Technology to Stain Initial Enamel Demineralization: A Proof-of-Concept in vitro Study. *Caries Research*. 2022;56(5-6):555–65. doi: 10.1159/000528413.

Lacruz RS, Habelitz S, Wright JT, Paine ML. Dental enamel formation and implications for oral health and disease. *Physiol Rev*. 2017 Jul 1;97(3):939-993. doi: 10.1152/physrev.00030.2016.

Machiulskiene V, Campus G, Carvalho J, Dige I, Ekstrand K, Jablonski-Momeni A, et al. Terminology of Dental Caries and Dental Caries Management: Consensus Report of a Workshop Organized by ORCA and Cariology Research Group of IADR. *Caries Research* [Internet]. 2019 Oct 7;54(1):1–8. Doi: 10.1159/000503309

Malcangi G, Patano A, Morolla R, De Santis, M Piras, F.; Settanni, V.; Mancini, A.; Di Venere, D.; Inchingolo, F.; Inchingolo, A.D.; et al. Analysis of Dental Enamel Remineralization: A Systematic Review of Technique Comparisons. *Bioengineering* 2023, 10, 472. doi: 10.3390/bioengineering10040472.

Melo MA, Mei ML, Li KC, Hamama HH. Editorial: The Use of Bioactive Materials in Caries Management. *Frontiers in Oral Health*. 2022;3.doi: 10.3389/froh.2022.832285.

Meyer F, Schulze Zur Wiesche E, Amaechi BT, Limeback H, Enax J. Caries Etiology and Preventive Measures. *European Journal of Dentistry*. 2024. doi: 10.1055/s-0043-1777051

Ogaard B. CaF<sub>2</sub> formation: cariostatic properties and factors of enhancing the effect. *Caries research*. 2001;35 Suppl 1:40-4.

Park SW, Kang SM, Lee HS, Kim SK, Lee ES, Kim BR, et al. Lesion activity assessment of early caries using dye-enhanced quantitative light-induced fluorescence. *Scientific Reports*. 2022 Jul 13;12(1). doi: 10.1038/s41598-022-15862-8.

Philip N. State of the Art Enamel Remineralization Systems: the next frontier in caries management. *Caries Research*. 2018, 53 (3): 284-295. doi: 10.1159/000493031.

Pitts NB, Twetman S, Fisher J, Marsh PD. Understanding dental caries as a non-communicable disease. *British Dental Journal*. 2021;231(12):749–53. doi: 10.3389/froh.2022.764479.

Prasad PS, Pasha MB, Rao RN, Rao RV, Madaboosi N, Özcan M. A Review on Enhancing the Life of Teeth by Toothpaste Containing Bioactive Glass Particles. *Current oral health reports*. 2024;11(2):87–94. doi: 10.1007/s40496-024-00366-3.

Q-Ray. User Manual Dental software for the capture and analysis of Quantitative Light-induced Fluorescence images Inspektor Research Systems BV, 2019.

Rosin-Grget K, Lincir I. Current concept on the anticaries fluoride mechanism of the action. *Collegium antropologicum*. 2001;25(2):703-12.

Silva, H.M. da, Soares, G.A., Mateescu, M., Anselme, K., Palard, M., & Champion, E. (2009). Characterization of hydroxyapatite substituted with silicon. 53 Brazilian congress on ceramics, Brazil

Singer L, Fouda A, Bourauel C. Biomimetic approaches and materials in restorative and regenerative dentistry: review article. *BMC oral health* [Internet]. 2023 Feb 16;23(1):105.

Tosco V, Vitiello F, Monterubbianesi R, Gatto ML, Orilisi G, Mengucci P, et al. Assessment of the Remineralizing Potential of Biomimetic Materials on Early

Artificial Caries Lesions after 28 Days: An In Vitro Study. *Bioengineering* (Basel, Switzerland) [Internet]. 2023;10(4):462. doi: 10.3390/bioengineering10040462.

Tomaz PLS, Sousa LA de, Aguiar KF de, Oliveira T de S, Matochek MHM, Polassi MR, et al. Effects of 1450-ppm Fluoride-containing Toothpastes Associated with Boosters on the Enamel Remineralization and Surface Roughness after Cariogenic Challenge. *European Journal of Dentistry*.2020;14(01):161–70. doi: 10.1055/s-0040-1705072.

Vilhena FV, Polassi MR, Paloco EAC, et al. Effectiveness of Toothpaste Containing REFIX Technology Against Dentin Hypersensitivity: A Randomized Clinical Study. *J Contemp Dent Pract* 2020;21(6):609–614.

Vilhena FV, de Oliveira SM, Matochek MH, Tomaz PL, Oliveira TD, D'Alpino PH. Biomimetic Mechanism of Action of Fluoridated Toothpaste Containing Proprietary REFIX Technology on the Remineralization and Repair of Demineralized Dental Tissues: An in vitro Study. *Eur J Dent*. 2021, 1;15(02):236–41.

Vilhena, FV; Lonni, AASG; D'Alpino, PHP. Silicon-enriched hydroxyapatite formed induced by REFIX-based toothpaste on the enamel surface. *Braz. Dente. Ciência*. 2021, 24, 1–9.

Volpini AA, Zaugg LK, Neves V, Liu Y, Sharpe PT. Tooth Repair and Regeneration. *Current Oral Health Reports*. 2018;5 (4): 295-303. doi: 10.1007/s40496-018-0196-9.

Wen, P.Y.F.; Chen, M.X.; Zhong, Y.J.; Dong, Q.Q.; Wong, H.M. Global Burden and Inequality of Dental Caries, 1990 to 2019. *J. Dent. Res*. 2022, 101, 392–399. doi: 10.1177/00220345211056247.

Yadav R, Bharti D, Tikku A, Verma P, Shakya V, Pandey P. Comparative evaluation of remineralizing effect of fluoride and nonfluoride agents on artificially induced caries using different advanced imaging techniques. *Journal of Conservative Dentistry*. 2022;25(1):26. doi: 10.4103/jcd.jcd\_426\_21.

Zhang OL, Niu JY, Yin IX, Yu OY, Mei ML, Chu CH. Bioactive materials for caries management: a literature review. *Dent J* 2023;11: 59. doi: 10.3390/dj11030059.

---

\* De acordo com as normas do PPGO/UFPB, baseadas na norma do *International Committee of Medical Journal Editors* - Grupo de Vancouver. Abreviatura dos periódicos em conformidade com o *Medline*.