



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE CLÍNICA INFANTIL



JÉSSICA DANTAS ABREU

**INCORPORAÇÃO DE BIOSILICATO EM ÓLEO DE COCO PARA
REMINERALIZAÇÃO DE LESÕES CARIOSAS INCIPIENTES**



Ribeirão Preto

2022

JÉSSICA DANTAS ABREU

**INCORPORAÇÃO DE BIOSILICATO EM ÓLEO DE COCO PARA
REMINERALIZAÇÃO DE LESÕES CARIOSAS INCIPIENTES**

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração em Odontopediatria, junto ao Programa de Pós-Graduação em Odontopediatria.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Fernanda de Carvalho Panzeri
Pires de Souza

VERSÃO ORIGINAL

Ribeirão Preto

2022

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pela Biblioteca Central do Campus USP – Ribeirão Preto

Abreu, Jéssica Dantas

Incorporação de Biosilicato em óleo de coco para remineralização de lesões cáries incipientes/ Jéssica Dantas Abreu; Orientadora, Profa. Dra. Fernanda de Carvalho Panzeri Pires de Souza, Ribeirão Preto, 2022.

49p.: il.; 30cm

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração Odontopediatria, junto ao Programa de Pós-Graduação em Odontopediatria.

Versão Original

1. Cárie dentária. 2. Biomaterial. 3. Biosilicato. 4. Lesão de mancha branca. 5. Remineralização dentária.

FOLHA DE APROVAÇÃO

ABREU, JA. Incorporação de Biosilicato em óleo de coco para remineralização de lesões cariosas incipientes.

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Odontologia, área de concentração Odontopediatria, junto ao Programa de Pós-Graduação em Odontopediatria.

Aprovado em: ___/___/2022

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DADOS CURRICULARES

JÉSSICA DANTAS ABREU

- Nascimento** 19 de abril 1991, Manaus, AM
- Filiação** Mônica Maria Ferreira Dantas Abreu
Luiz Carlos Abreu
- 2008 - 2016** Graduação
Universidade do Estado do Amazonas (UEA)
- 2013 - 2014** Graduação Sanduíche em Ciências da Saúde
University of Ottawa
- 2017 - 2019** Especialização em Odontopediatria
Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo- FORP/USP
- Título:** Relato de caso: Fratura Radicular Horizontal em Incisivo Central Superior
- Orientador(a):** Prof^a. Dr^a. Alexandra Mussolino de Queiroz
- 2020 - 2022** Mestrado em Odontologia
Área de Concentração: Odontopediatria
Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo- FORP/USP
- Título:** Incorporação de Biosilicato em óleo de coco para remineralização de lesões cariosas incipientes.
- Orientador(a):** Prof^a. Dr^a. Fernanda de Carvalho Panzeri Pires de Souza

DEDICATÓRIA

À minha mãe, Mônica. Meu porto seguro, minha pessoa preferida e minha melhor amiga para sempre.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À Prof^ª. Dra. Fernanda de Carvalho Panzeri Pires de Souza, que para mim deu sentido à palavra "orientadora". Serei eternamente grata por toda a sua paciência e esmero em me passar parte de todo o seu conhecimento e experiência na pesquisa científica. A senhora foi essencial para que esse trabalho fosse finalizado. É um exemplo de pesquisadora, professora, mulher e mãe.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, que foi minha casa por muitos anos durante a especialização em Odontopediatria e posteriormente no Mestrado. Os aprendizados, experiências e amigos que fiz aqui são inesquecíveis.

À minha família, pelo apoio incondicional que sempre deram à minha educação. Ela sempre foi colocada em primeiro lugar e isso influenciou diretamente no meu crescimento profissional e pessoal.

À minha amiga, **Stephanie de Oliveira Silva**. Esse trabalho definitivamente não teria saído do papel sem a sua ajuda, não tenho palavras para agradecer tudo o que fizeste. Saiba que tens o meu carinho e amizade para sempre. Te admiro muito como dentista, pesquisadora, pessoa e mãe.

Aos pós-graduandos em Reabilitação Oral da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, em especial ao **Ayodele Alves Amorim** e à **Rebeca Franco de Lima Oliveira** pela orientação e paciência durante a fase laboratorial do meu projeto.

Ao **Laboratório de Materiais Dentários e Prótese**, pela colaboração durante a fase de testes da minha pesquisa.

À **Rafaella Marchi**, minha amiga-irmã e anjo da guarda que me acolhe com amor e carinho todas as vezes que vou para Ribeirão Preto. Serei eternamente grata pela sua amizade, pelos momentos em que me apoiaste e em que tornaste meus dias mais alegres.

À **Andrea Arantes Fernandes**, minha parceira de especialização querida e amiga do coração, por tornar meu período em Ribeirão Preto tão leve e prazeroso. Gratidão pela sua amizade e por todo o apoio mesmo à distância.

ABREU, JA. **Incorporação de Biosilicato em óleo de coco para remineralização de lesões cariosas incipientes.** Ribeirão Preto, 2022. 49p. Dissertação. (Mestrado em Odontopediatria) - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo; 2022.

RESUMO

Este estudo avaliou a eficácia da incorporação de diferentes concentrações de Biosilicato ao óleo de coco no potencial remineralizador e na rugosidade de superfície de lesões de mancha branca. Fragmentos (6x6x2mm) de dentes bovinos foram seccionados e leituras iniciais de microdureza e rugosidade de superfície foram obtidas. As amostras foram submetidas a desafio cariogênico para formação de cárie artificial e separadas em 6 grupos, conforme o tipo de tratamento a que foram submetidas: 1) Saliva Artificial; 2) Óleo de Coco (OC); 3) OC + 2% de Biosilicato (OC + 2% Bio); 4) OC + 5% de Biosilicato (OC + 5% Bio); 5) Suspensão de Biosilicato a 2% (Bio2%) e 6) Suspensão de Biosilicato a 5% (Bio5%). Os tratamentos foram realizados por 5 minutos e ao final de 3, 7 e 14 dias, foram realizadas leituras de microdureza e rugosidade de superfície. Os dados de alteração de rugosidade de superfície e microdureza relativa foram analisados (Kruskal-Wallis, pós-teste de Dunn, $p < 0,05$) e demonstraram que amostras tratadas com OC+2% Bio apresentaram menor rugosidade após 7 dias e quando tratadas com OC+5% Bio após 14 dias em relação ao grupo Controle. Quanto à microdureza, após tratamento com Bio2% e Bio 5% resultaram em valores semelhantes ao controle após 7 dias. O potencial remineralizador foi analisado (ANOVA, Tukey, $p < 0,05$) e não houve diferença entre os tratamentos, mas quanto maior o tempo de tratamento, maior a remineralização do esmalte. Concluiu-se que o Biosilicato associado ou não ao OC apresentaram potencial remineralizador no tratamento da lesão de mancha branca.

Palavras-Chave: Cárie dentária, Biomaterial, Biosilicato, Lesão de mancha branca, Remineralização dentária.

ABREU, JA. **Biosilicate incorporation in coconut oil for remineralization of incipient carious lesions**. Ribeirão Preto, 2022. 49p. Dissertation. (Master in Pediatric Dentistry) - School of Dentistry of Ribeirão Preto, University of São Paulo; 2022.

ABSTRACT

This study evaluated the efficacy of incorporating different concentrations of Biosilicate to coconut oil on the remineralizing potential and surface roughness of white spot lesions. Fragments (6x6x2mm) of bovine teeth were sectioned and initial microhardness and surface roughness readings were obtained. The samples were submitted to cariogenic challenge for artificial caries formation and separated into 6 groups, according to the type of treatment to which they were submitted: 1) Artificial Saliva; 2) Coconut Oil (CO); 3) OC + 2% Biosilicate (CO + 2% Bio); 4) CO + 5% Biosilicate (CO + 5% Bio); 5) 2% Biosilicate Suspension (Bio 2%) and 6) 5% Biosilicate Suspension (Bio 5%). The treatments were carried out for 5 minutes and at the end of 3, 7 and 14 days, microhardness and surface roughness readings were taken. The data on changes in surface roughness and relative microhardness were analyzed (Kruskal-Wallis, Dunn post-test, $p < 0.05$) and showed that samples treated with CO + 2% Bio showed lower surface roughness after 7 days and when treated with CO + 5% Bio after 14 days compared to the Control group. As for microhardness, after treatment with Bio 2% and Bio 5% resulted in values similar to the control group after 7 days. The remineralization potential was analyzed (ANOVA, Tukey, $p < 0.05$) and there was no difference between the treatments, but the longer the treatment time, the greater the enamel remineralization. It was concluded that Biosilicate associated or not with CO showed remineralizing potential in the treatment of white spot lesion.

Keywords: Dental caries, Biomaterial, Biosilicate, White spot lesion, Dental remineralization.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Processamento de dentes bovinos para obtenção das amostras. A) Dente bovino completo, incluído em cera cortado e amostra concluída. B) Cortadeira metalográfica.....	25
Figura 2.	Rugosímetro.....	26
Figura 3.	Microdurômetro.....	27
Figura 4.	Pirâmide inversa formada após compressão por ponta penetradora do Microdurômetro.....	28
Figura 5.	Gel de metilcelulose 8% e ácido láctico sendo aplicado.....	29
Figura 6.	Óleo de coco.....	30
Figura 7.	Tween 20.....	30
Figura 8.	A. Adição de de óleo de coco. B. Adição de água destilada. C. Mistura dos líquidos de A e B com Tween 20 e biosilicato.....	31
Figura 9.	Espécimes imersos em tratamento. A. Espécimes em placa de Petri. B. Grupos recebendo tratamento em mesa agitadora.....	31
Figura 10.	Phmetro de mesa.....	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Grupos de estudo.....	29
Tabela 2.	Resultados da avaliação de pH dinâmica dos grupos.....	35
Tabela 3.	Comparação das médias (desvio-padrão) da microdureza relativa das amostras (%) após os respectivos tratamentos (Kruskal-Wallis, Dunn, $p < 0,05$).....	35
Tabela 4.	Comparação das médias (desvio-padrão) do potencial remineralizador (%) dos tratamento sobre as amostras (2-way ANOVA, Tukey, $p < 0,05$).....	36
Tabela 5.	Comparação das medianas (desvio-padrão) e intervalo de valores (Mínimo e Máximo) da alteração de rugosidade de superfície das amostras após os respectivos tratamentos (Kruskal-Wallis, Dunn, $p < 0,05$).....	37

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
2. PROPOSIÇÃO.....	21
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
3.1 Confeção das Amostras.....	24
3.2 Análise de Rugosidade de superfície.....	24
3.3 Análise de Microdureza.....	26
3.4 Desafio Cariogênico	27
3.5 Obtenção das suspensões de tratamento	29
3.6 Avaliação de pH dinâmica.....	30
3.7 Alteração de rugosidade de superfície e de microdureza superficial.....	30
3.8 Análise estatística	31
4. RESULTADOS	33
4.1 Avaliação de pH dinâmica	34
4.2 Microdureza Relativa	34
4.3 Rugosidade de superfície	36
5. DISCUSSÃO	37
6. CONCLUSÃO	42
REFERÊNCIAS	44

1. Introdução

1. INTRODUÇÃO

A cárie dentária é uma doença multifatorial e de progressão lenta, atualmente é considerada uma disbiose. Ela promove uma alteração da composição bacteriana da cavidade bucal consequente da ingestão excessiva e frequente açúcares na dieta, fluxo e composição salivares, higiene bucal, exposição ao flúor, além de fatores comportamentais e socioeconômicos. Estes aumentam o risco de desmineralização da superfície do dente e pode levar à lesão de cárie (TANNER et al., 2018).

O processo cariogênico ocorre lentamente e requer uma exposição prolongada a condições ácidas abaixo do pH crítico (5,5) para a desmineralização do esmalte com períodos de retorno ao pH normal (7,0) quando ocorre a remineralização. Em caso de falha na remoção do biofilme das áreas retentivas dos dentes, uma dieta rica e ingestão frequente de carboidratos, o desequilíbrio entre desmineralização e remineralização promoverá o desenvolvimento de lesões de mancha branca clinicamente visíveis (FEATHERSTONE, 2000; BISHARA e OTSBY, 2008; HEMADI et al., 2017).

As lesões da mancha branca (LMB) são caracterizadas pela desmineralização da superfície do esmalte, sem cavitação. Elas têm coloração branca e opaca, comumente localizadas em fossas, fissuras e superfícies lisas dos dentes. O esmalte fica com a camada superficial frágil e tem porosidade aumentada. As LMB representam o primeiro sinal clínico da cárie dentária e nesse estágio há possibilidade de reversão do quadro da doença (PAULA et al., 2017; TEMEL e KAYA, 2019).

A saliva é um dos sistemas de defesa inato do corpo que promove a remineralização do esmalte, neutraliza o pH bucal, dificulta o acúmulo de restos alimentares e microrganismos. Flúido corporal complexo composto por substâncias orgânicas e inorgânicas, a saliva é essencial para a saúde da cavidade oral. Ela consiste principalmente em 99,5% de água, 0,3% de proteínas e 0,2% de substâncias vestigiais e inorgânicas (ALVES e SEVERI, 2016; HEMADI et al., 2017).

Esse flúido tem um papel crítico na prevenção ou reversão do processo de cárie. Ele fornece cálcio, fosfato, proteínas que mantêm a supersaturação de cálcio

na placa, formam uma película protetora na superfície do dente, substâncias antibacterianas e tampões. Os componentes da saliva neutralizam os ácidos produzidos pelo metabolismo bacteriano na placa bacteriana, aumenta o pH e inverte o gradiente de difusão de cálcio e fosfato. Esta inversão promove a devolução de cálcio e fosfato à lesão perdidos durante a desmineralização (STOOKEY, 2008; TEMEL e KAYA, 2019).

A forma mais eficiente de prevenção da doença cárie, além do controle da dieta, é a remoção do biofilme através da higiene bucal com produtos de higiene oral, dentre eles o dentífrico. Entretanto, para que esse tratamento seja eficaz, é necessário que esses produtos apresentem em sua composição o fluoreto (O'MULLANE et al., 2016; HORST et al., 2018).

O efeito preventivo do flúor está associado à formação de reservatórios de F⁻ na superfície de esmalte dentário na forma de cristais precipitados de fluoretos de cálcio (CaF₂) ou fluoroapatita, uma forma mais resistente da apatita (NÓBREGA et al., 2019), retardando o processo de desmineralização e promovendo a remineralização de lesões incipientes no esmalte. Eles são capazes de interferir no processo de metabolização de carboidratos por bactérias cariogênicas (PAES LEME et al., 2007; VALE et al., 2011).

Após a ingestão de açúcares, ocorre sua conversão em ácidos promovendo a queda do pH da cavidade bucal. Ao atingir o pH crítico para a dissolução dos minerais à base de apatita (5,5), ocorre a formação de fluorapatita. Isso é resultado da perda de Ca e PO₄ da hidroxiapatita para o meio bucal subsequente à ligação entre eles e o flúor disponível. O pH crítico na presença de flúor na forma de água, solução para bochecho ou dentífrico é de 4,5 (VALE et al., 2011; POLLICK, 2018).

Entretanto, apesar da eficiência deste método, o acúmulo de atividades diárias, a dificuldade de estar presente em casa por períodos longos após as refeições, têm levado as pessoas a diminuir a frequência dos hábitos de higiene oral, o que tem contribuído para o aumento da incidência de cárie. Assim, métodos complementares para controle dos fatores causadores da doença cárie seriam importantes como coadjuvantes a esse processo (BOUSTEDT et al., 2020).

Técnica amplamente aplicada na medicina Ayuverda, a prática de oil pulling consiste em fazer bochechos com óleos vegetais para eliminar bactérias e toxinas armazenadas na boca devido as suas propriedades antibacterianas e anti-inflamatórias que trazem benefícios à saúde bucal (SHANBHAG, 2016; WOOLLEY et al., 2020).

O óleo de coco (*Cocos nucifera*) é um óleo vegetal obtido a partir da prensagem da polpa da fruta; este possui propriedades anti-inflamatórias, antibacterianas, antivirais e antimicóticas (DEBMANDAL e MANDAL, 2011). Em sua composição apresenta 92% de ácidos saturados, dos quais 49% é representado pelo ácido láurico, um ácido gordo saturado de cadeia média que é eficaz na destruição lipídica de membranas de ampla gama de bactérias (DAYRIT, 2015).

O ácido láurico age sobre bactérias gram-positivas e vírus revestidos de lipídios por processos físico-químicos, interferência com processos celulares, como transdução de sinal e transcrição, e estabilização de membranas celulares humanas. Esses múltiplos mecanismos podem explicar o motivo pelo qual as bactérias não conseguiram desenvolver resistência contra a ação desses compostos (DAYRIT, 2015).

Estudos mostraram que o óleo de coco apresenta atividade antimicrobiana contra vários organismos gram positivos e gram negativos, como *Escherichia vulneris*, *Enterococcer spp*, *Helicobater pylori*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* e *Candia albicans* (PEEDIKAYIL et al., 2016; SHINO et al., 2016; VERALLO-ROWELL et al., 2008).

O óleo de coco se apresenta como alternativa para incorporação de componentes ativos e sua dissolução e posterior liberação na mucosa bucal. A elevada área de contato entre o óleo e mucosa fornece uma vantagem que garante maior liberação do componente em comparação a outros métodos (DIXIT e PUTHLI; 2009).

Assim, o uso do óleo de coco como veículo para um produto que auxilie no controle da doença cárie poderia diminuir a sua incidência. O fluoreto não é dissolvido em óleo. Sua solubilidade em água é na ordem de 4% e apresenta solubilidade parcial em etanol (REYNOLDS e BELSHER, 2017). Assim, um produto alternativo seria uma

vitrocerâmica bioativa, que apresenta propriedades antimicrobianas e remineralizadoras (CROVACE et al., 2016), cujo mecanismo de ação seria o aumento do pH local.

Biomateriais tem a propriedade de interagir diretamente com os sistemas biológicos para tratar, aumentar ou substituir um tecido, órgão ou função do corpo. A composição química desses materiais promove uma resposta biológica do organismo. Eles foram classificados de primeira à terceira geração, sendo que a última é definida pela estimulação de respostas celulares específicas no nível molecular e ativação de genes que estimulam a regeneração de tecidos vivos (HENCH e POLAK, 2002; HENCH, 2006; DORLAND, 2012).

Vidros bioativos e vitrocerâmicas pertencem à terceira geração de biomateriais. Estes podem realizar a ligação efetiva ao osso e estimular a diferenciação e proliferação de osteoblastos. Esses biomateriais mostram o melhor resultado no tratamento de lesões ósseas, substituição óssea e regeneração óssea (CROVACE et al., 2016).

O Biosilicato é uma cerâmica de vidro que apresenta inúmeras propriedades relevantes para aplicação odontológica. Esse material é eficiente na regeneração de tecido ósseo (JONES et al., 2007) além de ser bioativo, osteocondutor, osteoindutor, não citotóxico, não genotóxico e possuir propriedades antibacterianas em bactérias aeróbicas e anaeróbicas, inclusive *Streptococcus mutans* (MARTINS et al., 2011).

Quando em contato com fluidos corporais, os vidros de silicato bioativo sofrem reações em cinco estágios, que levam à formação de uma camada de apatita de hidroxicarbonato (HCA) em sua superfície. O HCA é quimicamente e estruturalmente semelhante à fase de apatita mineral encontrada no tecido ósseo (CROVACE et al., 2016).

Em Odontologia, estudos têm demonstrado que o Biosilicato apresenta eficiência na remineralização e controle da erosão e lesões de cárie (CHINELATTI et al., 2017), além de ser uma terapia eficaz para reparar danos causados pelo clareamento da dentina e condicionamento ácido (UBALDINI et al., 2020). Esse material tem capacidade de remineralizar dentina desmineralizada e ocluir os túbulos

dentinários com estrutura semelhante à hidroxiapatita (HUANG et al., 2018), sendo eficaz no tratamento de hipersensibilidade dentinária (TIRAPELLI et al., 2010).

Considerando que uma das primeiras reações químicas que ocorrem quando da utilização do Biosilicato na presença de fluidos é o aumento do pH, a utilização dele como um agente terapêutico para controle do pH bucal, na presença de biofilme, poderia auxiliar na manutenção da saúde bucal, além de diminuir a incidência de lesões de cárie principalmente em casos onde há ingestão de sacarose frequente.

2. Proposição

2. PROPOSIÇÃO

O presente estudo tem como objetivo avaliar a eficácia da incorporação de diferentes concentrações de Biosilicato ao óleo de coco, ou sua aplicação na forma de suspensão, no potencial remineralizador e na rugosidade de superfície de lesões de mancha branca.

Partiu-se das seguintes hipóteses:

- o tratamento com Biosilicato seria capaz de aumentar a microdureza do esmalte desmineralizado artificialmente;
- o tratamento com Biosilicato seria capaz de manter a rugosidade de superfície do esmalte dental desmineralizado artificialmente.

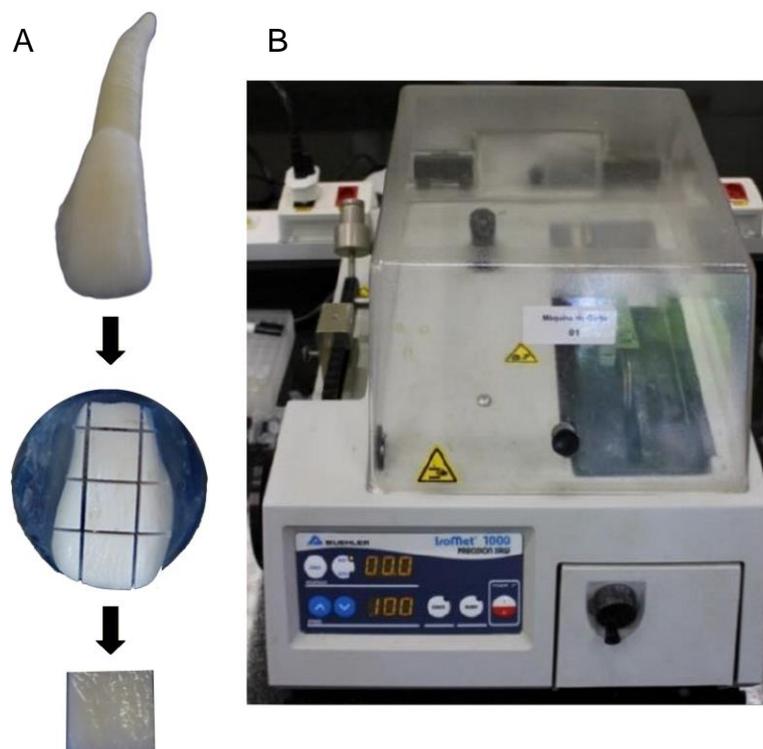
3. Materiais e Métodos

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Confeção de Amostras

O estudo *in vitro* foi realizado em espécimes obtidos a partir de 78 fragmentos de dentes bovinos hígidos, isentos de trincas e/ou fraturas. As superfícies vestibulares desses dentes foram seccionadas em cortadeira metalográfica de precisão (Isomet 100 Buehler, Illinois, EUA) por meio de cortes longitudinais e transversais nas dimensões de 6mm x 6mm x 2 mm.

Figura 1. Processamento de dentes bovinos para obtenção das amostras. **A)** Dente bovino completo, incluído em cera cortado e amostra concluída. **B)** Cortadeira metalográfica.



Após a conclusão dos cortes, os fragmentos foram planificados e polidos com lixas d'água 600 e 1200 a fim de remover dos sulcos presentes nos dentes bovinos e padronizar a rugosidade de superfície das amostras.

3.2. Análise de Rugosidade Superficial

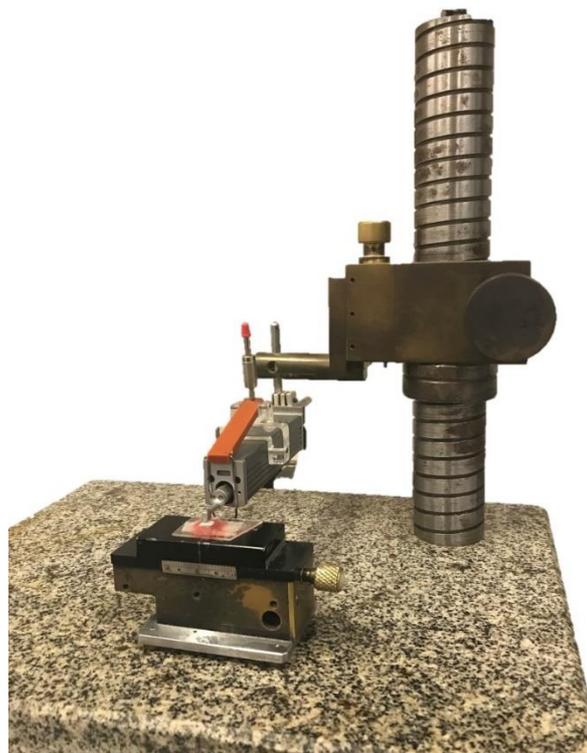
Para padronização das amostras, a rugosidade de superfície do esmalte foi o parâmetro de verificação. O teste foi realizado utilizando o Rugosímetro Surfscorder SE 1700 (Kosakalab, Toquio, Japão). Esse equipamento permitiu a

análise das condições rugosimétricas da superfície dos padrões, sendo composto por duas partes principais:

- Unidade Programadora de Controle e Registro da Leitura: onde ficam localizados os comandos para o acionamento do aparelho e o seletor do programa utilizado.

- Unidade Transversal Motorizada Precursora de Leitura: composta por um motor e uma agulha, que se movimenta, realizando a sondagem da superfície da restauração de acordo com o programa pré-estabelecido. A unidade motora é fixada a uma haste vertical que, por sua vez, prende-se a uma base sólida de granito, oferecendo estabilidade ao conjunto. A base de granito fica paralela à unidade motorizada, que é passível de regulação nos sentidos vertical e horizontal.

Figura 2. Rugosímetro



Após ser acionado pelo display do controle, a agulha de leitura do rugosímetro percorre a distância de 3,2 mm com 3 cut-off de 0,8 mm, totalizando um comprimento de leitura de 2,4 mm, à velocidade de 0,25 mm/s. A agulha é movimentada em uma única direção e detecta as irregularidades da superfície que correspondem aos picos, vales e ondas. Este é definido como a média dos

afastamentos do pick-up tanto para cima como para baixo, em relação a uma linha central. Foram realizadas três leituras, em locais diferentes na superfície das regiões de interesse do estudo: uma central, uma 1 mm para direita e uma 1 mm para esquerda e a média desses valores foram utilizadas como medidas de rugosidade de superfície.

A rugosidade de superfície foi padronizada de forma que a diferença de rugosidade entre as amostras não excedia $0,2 \mu\text{m}$. Em seguida, as amostras passaram por leituras iniciais de microdureza superficial.

3.3. Análise da Microdureza

Para análise de microdureza Knoop foi utilizado um microdurômetro Micro Hardness Tester HMV-2 (Shimadzu®, Tóquio, Japão) antes e após os tratamentos determinados para cada grupo. O equipamento aciona uma ponta penetradora de diamante de forma piramidal e base losangular sob carga vertical estática de 25g aplicada por 5 segundos. Foram realizadas leituras com a objetiva de 40x para as amostras.

Figura 3. Microdurômetro



Quando acionada, a ponta penetradora realiza uma compressão na superfície do padrão, gerando uma figura geométrica em forma de pirâmide inversa. O losango possibilita a determinação da microdureza superficial do material a partir da mensuração da sua maior diagonal, cujo o valor é aplicado na fórmula:

$$\text{KHN} = 1,451 \text{ F}/d^2$$

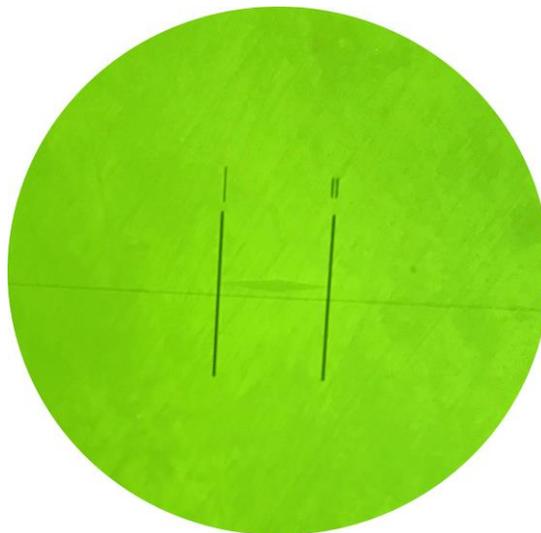
Onde:

KHN = Valor de dureza Knoop

F = 25 gramas

d = comprimento da maior diagonal na endentação

Figura 4. Pirâmide inversa formada após compressão por ponta penetradora do Microdurômetro.



Foram realizadas 3 leituras iniciais distintas nos padrões: uma central e as demais equidistantes em 1mm em relação à marcação central. A média das três leituras foi considerada como valor inicial de microdureza.

Em seguida, as amostras foram submetidas a desafio cariogênico para formação de lesão de mancha branca.

3.4. Desafio Cariogênico

As amostras foram submetidas à formação de lesão de mancha branca por meio de desafio cariogênico. Os espécimes foram desmineralizados em pH 4,6 a 37°C em 1,5 mL de gel de metilcelulose 8% por 12 horas em câmara fria (4°C) e cobertos com um igual volume de ácido láctico 0,1M, pH ajustado com KOH, por 14 dias. As faces de dentina do fragmento foram protegidas por esmalte cosmético de cor vermelha.

Figura 5. Gel de metilcelulose 8% e ácido láctico sendo aplicado.



Após a conclusão do desafio cariogênico, as amostras foram lavadas com água destilada e deionizada e armazenados em Eppendorfs contendo saliva artificial em estufa a 37°C e separadas em grupos (n=13), segundo o tipo de tratamento a que foram submetidas (Tabela 1). O cálculo amostral foi realizado após estudo piloto e comparação das médias (www.openepi.com), com intervalo de confiança de 95% e poder da amostra em 80%.

Tabela 1. Grupos de estudo.

GRUPO	TRATAMENTO
G1	Saliva Artificial
G2	Óleo de Coco
G3	Óleo de Coco + 2% de Biosilicato
G4	Óleo de Coco + 5% de Biosilicato
G5	Suspensão de 2% de Biosilicato
G6	Suspensão de 5% Biosilicato

3.5. Obtenção das suspensões de tratamento

Inicialmente, foi determinada a quantidade de vitrocerâmica necessária para incorporação no óleo de coco e em água destilada. Para isso, foi determinado um volume de suspensão compatível com o necessário para o tratamento a ser realizado e em seguida foi calculada a massa necessária para obter a concentração de Biosilicato desejada na suspensão. Para o cálculo da massa em água destilada, a densidade foi considerada 1,0 e o óleo de coco apresenta densidade 0,92g/mL.

Figura 6. Óleo de coco.



Duas concentrações de Biosilicato foram testadas: 2% e 5%. Como o óleo de coco tem alta densidade e o Biosilicato necessita de água ou solução que tenha água para reagir, foram adicionados Tween 20 (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Alemanha) e saliva artificial à suspensão de óleo de coco.

Figura 7. Tween 20.



O Biosilicato foi pesado balança eletrônica analítica (Unibloc ATY224, Shimadzu, cidade, Estado, País) nas concentrações de 2% e 5% de peso e foi adicionado à solução de óleo de coco (Copra, Copra Indústria Alimentícia Ltda., Maceió, Alagoas, Brasil) e em água destilada e deionizada. A adição do Biosilicato nas duas suspensões (óleo de coco e água destilada) foi realizada imediatamente antes de sua aplicação.

Figura 8. A. Adição de de óleo de coco. B. Adição de água destilada. C. Mistura dos líquidos de A e B com tween 20 e biosilicato.

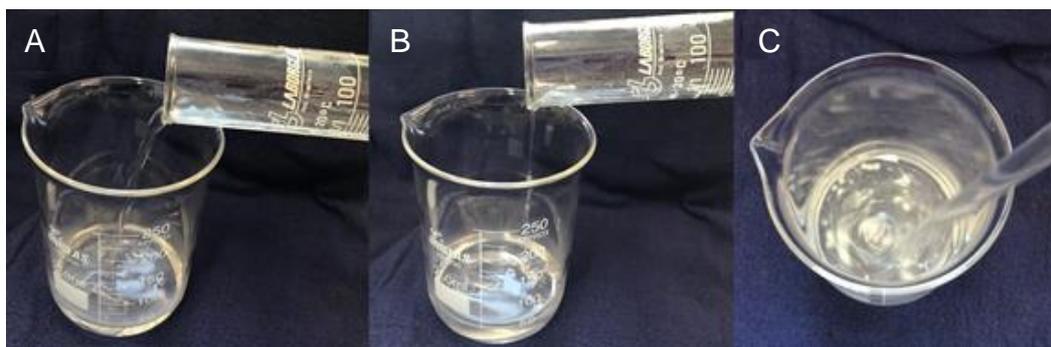
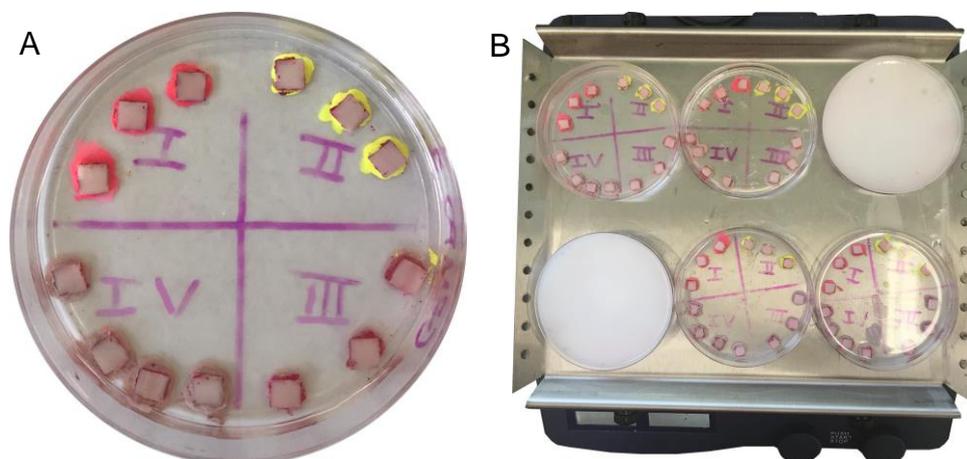


Figura 9. Espécimes imersos em tratamento. A. Espécimes em placa de Petri. B. Grupos recebendo tratamento em mesa agitadora.



3.6. Avaliação de pH dinâmica

O pH das suspensões utilizadas para tratamento foi avaliado para todos os grupos de tratamento utilizando o pHmetro (PHS3BW, Bel Engineering, Milão, Itália). Para os grupos controle (saliva artificial e óleo de coco) foi realizada uma medida única para cada solução, entretanto para as soluções com Biosilicato, as

medidas de pH foram realizadas após 1 minuto da mistura da vitrocerâmica ao veículo testado e após 5, 15 e 25 minutos.

Figura 10. Phmetro de mesa.



3.7. Alteração de rugosidade de superfície e de microdureza superficial

Os ensaios de rugosidade de superfície e de microdureza foram realizados antes e após os tratamentos propostos. Os tratamentos foram realizados pelo período de 14 dias, sendo realizadas novos ensaios após 3, 7 e 14 dias de tratamento para análise morfológica da superfície do esmalte.

A variação de rugosidade de superfície foi calculada pela diferença entre os valores finais e iniciais e a alteração de microdureza foi calculada considerando as diferenças relativas em relação aos valores iniciais pela fórmula:

$\Delta KHN = ((KHNf - KHNI)/KHNI) \times 100$ onde: KHNI se relacionam às medições iniciais e KHNf como medições finais de microdureza. Além disso, foi calculado o potencial remineralizador dos tratamentos aplicados, a partir da fórmula: $PR (\%) = (KHNf - KHNC) / (KHNI - KHNC) \times 100$, onde KHNf corresponde à leitura final de microdureza, KHNC é a leitura de microdureza após a desmineralização e KHNI corresponde aos valores iniciais de microdureza.

3.8. Análise estatística

Os dados quantitativos foram analisados, inicialmente quanto à normalidade, através do teste Shapiro-Wilk. A distribuição dos dados foi considerada não-normal para os parâmetros de microdureza relativa e rugosidade de superfície, e normal em

relação ao potencial mineralizador. Assim, os dados de microdureza e rugosidade foram analisados segundo o teste de Kruskal-Wallis e o pós-teste de Dunn. Os dados de potencial remineralizador foram analisados segundo o teste ANOVA e pós-teste de Tukey, todos com nível de significância de 95%.

4. Resultados

4. RESULTADOS

4.1 Avaliação de pH dinâmica

Os resultados de pH dos tratamentos foram descritos na Tabela 2:

Tabela 2. Resultados da avaliação de pH dinâmica dos grupos.

Tempo após mistura	Saliva	Óleo de Coco	Óleo de Coco + 2% Biosilicato	Óleo de Coco + 5% Biosilicato	Suspensão 2% Biosilicato	Suspensão 5% Biosilicato
5 min	6,8	6,1	9,3	9,7	9,0	9,3
15 min	6,8	6,1	8,8	9,6	9,0	9,3
25 min	6,8	6,1	9,4	9,6	9,0	9,6

A adição de Biosilicato produz aumento do pH imediatamente após a mistura, em todas as formas de tratamento testadas, e o pH básico permanece por todo o tempo de análise.

4.2 Microdureza Relativa

A comparação das médias de microdureza relativa pode ser vista na Tabela 3.

Tabela 3. Comparação das médias (desvio-padrão) da microdureza relativa das amostras (%) após os respectivos tratamentos (Kruskal-Wallis, Dunn, $p < 0,05$).

Tempo de Tratamento	Óleo de Coco	Óleo de Coco + 2% Biosilicato	Óleo de Coco + 5% Biosilicato	Suspensão 2% Biosilicato	Suspensão 5% Biosilicato
3 dias	-79 (0,1) aA	- 71 (0,1) aA	- 71 (0,1) aA	- 80 (0,1) aA	-80 (0,1) aA
7 dias	29 (0,4) aB	37 (0,4) aB	26 (0,2) aB	15 (0,3) aB	19 (0,4) aB
14 dias	66 (0,7) aB	37 (0,3) aB	57 (0,5) aB	71 (0,4) aC	87 (1,0) aC

Letras diferentes, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, indicam que há diferença estatisticamente significante ($p < 0,05$)

Não houve diferença estatisticamente significativa na microdureza relativa entre os tratamentos aplicados, independentemente do tempo de aplicação. Quanto à comparação da microdureza relativa dos tratamentos entre os tempos de aplicação, verificou-se que houve aumento de microdureza entre 3 e 7 dias, com diferença significativa para todos os grupos. Não houve diferença da microdureza relativa entre 7 e 14 dias de aplicação dos tratamentos, com exceção para a suspensão de Biosilicato a 2% e 5%.

A relação entre a microdureza final e após o desafio cariogênico foi calculada e foi considerado o potencial remineralizador dos tratamentos. A comparação das médias (2-way-ANOVA, Tukey, $p < 0,05$) pode ser vista na Tabela 4.

Tabela 4. Comparação das médias (desvio-padrão) do potencial remineralizador (%) dos tratamentos sobre as amostras (2-way ANOVA, Tukey, $p < 0,05$).

Tempo de Tratamento	Óleo de Coco	Óleo de Coco + 2% Biosilicato	Óleo de Coco + 5% Biosilicato	Suspensão 2% Biosilicato	Suspensão 5% Biosilicato
3 dias	1 (0,10) aA	6 (0,07) aA	5 (0,13) aA	1 (0,07) aA	4 (0,06) aA
7 dias	26 (0,10) acB	37 (0,15) aB	126 (0,21) bB	22 (0,07) cB	22 (0,07) cB
14 dias	41 (0,18) aC	50 (0,17) aC	53 (0,18) aC	43 (0,25) aC	38 (0,11) aC

Letras diferentes, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, indicam que há diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$)

Comparando os grupos em função do tempo de tratamento, houve diferença estatisticamente significativa no potencial remineralizador entre todos os tempos, sendo que quanto maior o tempo de aplicação, maior o potencial remineralizador, com exceção do grupo Óleo de Coco + 5% Biosilicato, que apresentou maior potencial remineralizador após 7 dias. Não houve diferença no potencial remineralizador dos tratamentos testados após 3 e 14 dias. Após 7 dias de tratamento, o maior potencial remineralizador ocorreu após o uso de Óleo de coco com Biosilicato 5%, diferente de todos os demais grupos. O potencial remineralizador do Óleo de Coco + 2% Biosilicato foi semelhante ($p > 0,05$) ao Óleo de Coco isoladamente e este foi semelhante ($p > 0,05$) aos tratamentos com suspensão de Biosilicato, independente da concentração testada, que não apresentaram diferença entre si ($p > 0,05$).

4.3 Rugosidade de Superfície

As médias de alteração de rugosidade de superfície e a suas comparações (Kruskal-Wallis, Dunn, $p < 0,05$) podem ser vistas na Tabela 5.

Tabela 5. Comparação das medianas (desvio-padrão) e intervalo de valores (Mínimo e Máximo) da alteração de rugosidade de superfície das amostras após os respectivos tratamentos (Kruskal-Wallis, Dunn, $p < 0,05$).

Tempo de Tratamento	Saliva	Óleo de Coco	Óleo de Coco + 2% Biosilicato	Óleo de Coco + 5% Biosilicato	Suspensão 2% Biosilicato	Suspensão 5% Biosilicato
3 dias	-0,01 (0,17) aA (-0,13/0,39)	0,07 (0,17) aA (-0,05/0,47)	0,12 (0,17) aA (0,0/0,51)	0,10 (0,17) aA (-0,02/0,49)	0,09 (0,17) aA (-0,03/0,48)	0,09 (0,17) aA (-0,03/0,48)
7 dias	-0,06 (0,12) aA (-0,14/0,24)	0,02 (0,12) abA (-0,06/0,32)	0,07 (0,12) bA (-0,02/0,37)	0,05 (0,12) abA (-0,04/0,35)	0,04 (0,12) abA (-0,05/0,34)	0,04 (0,12) abA (-0,05/0,33)
14 dias	-0,06 (0,08) aA (-0,14/0,11)	0,02 (0,08) aA (-0,06/0,19)	0,07 (0,08) bA (-0,01/0,24)	0,05 (0,08) bA (-0,03/0,22)	0,04 (0,08) abA (-0,04/0,21)	0,03 (0,08) abA (-0,04/0,20)

Letras diferentes, minúsculas na linha e maiúsculas na coluna, indicam que há diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$)

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os tempos de análise, para todos os grupos testados. Quando comparados os tratamentos em um mesmo tempo de análise, Óleo de coco + 2% Biosilicato resultou em maior alteração de rugosidade que o grupo Controle (Saliva), após 7 e 14 dias, o mesmo ocorrendo para o Óleo de Coco + 5% de Biosilicato após 14 dias. Todas as outras comparações entre grupos não apresentaram diferença estatisticamente significativa.

5. Discussão

5. DISCUSSÃO

Este estudo teve por objetivo avaliar o efeito de diferentes concentrações de Biosilicato (2% e 5%) aplicados na forma de solução ou adicionado ao óleo de coco, no potencial remineralizador e na rugosidade de superfície de lesões de mancha branca. Partiu-se da hipótese que o tratamento com Biosilicato seria capaz de aumentar a microdureza do esmalte com lesão de mancha branca e manter a sua rugosidade.

Com base nos resultados encontrados, com relação à microdureza, foi possível aceitar a hipótese testada, uma vez que houve aumento da microdureza do esmalte em relação ao tecido desmineralizado para todos os tratamentos com Biosilicato, sem diferença entre eles. Porém, quando comparado o potencial remineralizador dos tratamentos, que é resultado da relação da microdureza inicial e final em tecido hígido e desmineralizado, verificou-se que o Óleo de coco + 5% de Biosilicato apresentou valores diferentes dos demais grupos, com maior potencial remineralizador após 7 dias. Mas, ainda assim, é possível aceitar a hipótese testada.

Além do aumento da microdureza, resultante da aplicação do Biosilicato, verificou-se que as amostras tratadas com Óleo de coco, sem Biosilicato, também resultou em aumento da microdureza ao longo do tempo.

O óleo de coco é um óleo vegetal que tem 92% de ácidos saturados, sendo 50% de ácido láurico (SRIVASTAVA e DURGAPRASAD, 2008). Este é um ácido graxo de cadeia média que, em contato com as enzimas se transforma em monolaurina, um agente antimicrobiano, que tem efeito inclusive contra *S. mutans* e *C. albicans* (THAWEBON et al., 2011). O efeito antimicrobiano exato do óleo de coco ainda não é totalmente conhecido, mas estudos indicam que os ácidos graxos têm capacidade de alterar a parede celular dos microrganismos, penetrar e causar a ruptura de sua membrana celular, causando a morte do microrganismo (THAWEBON et al., 2011).

No presente estudo, a desmineralização superficial do dente ocorreu sem a presença de microrganismos, mas o óleo de coco apresenta altos valores de saponificação (MEDEIROS DE AZEVEDO et al., 2020). Além disso, o ácido láurico reage com o hidróxido de sódio da saliva e forma laureato de sódio, que é responsável pela ação de limpeza (PEEDIKAYIL et al., 2015). A saliva é o fator biológico mais importante na proteção do dente (VUKOSAVLJEVIC et al., 2014) a partir da formação

da película adquirida, formada pela adsorção de proteínas, peptídeos e lipídeos sobre a superfície do esmalte dental (HANNIG e HANNIG, 2014), sendo que os lipídeos consistem quase 25% da película adquirida (HANNIG et al., 2003). Assim, ao produzir a limpeza da superfície do esmalte, o ácido láurico pode permitir maior ação protetora da saliva, utilizada no tratamento e no meio onde as amostras foram armazenadas após os ciclos de tratamento, diminuindo a perda mineral.

Esses resultados corroboram estudos anteriores que demonstraram que tecidos dentais, quando submetidos a óleos vegetais, tornaram a camada superficial da película adquirida rica em micelas de lipídios (DAS et al., 1976; HANNIG et al., 2013), entretanto ainda não é completamente conhecido o método de proteção do óleo de coco sobre processos desmineralizadores (IONTA et al., 2017).

Na literatura, existem inúmeros relatos quanto ao uso do Biosilicato na Odontologia, na remineralização e controle da erosão e lesões de cárie (CHINELATTI et al., 2017), no tratamento de hipersensibilidade dentinária (TIRAPELLI et al., 2010) devido a sua capacidade de remineralizar dentina desmineralizada e ocluir os túbulos dentinários (HUANG et al., 2018), no reparo de danos causados pelo clareamento da dentina e condicionamento ácido (UBALDINI et al., 2020). e em substrato dentinário cariado, com resultados positivos para remineralização (MORAIS et al., 2018; GENG VIVANCO et al., 2021).

Seu mecanismo de ação prevê a formação de hidroxicarbonato apatita na superfície do tecido duro em que é aplicado. Inicialmente, íons alcalinos são liberados no fluido em que ele é dissolvido e essa reação resulta em um rápido aumento do pH na solução, conforme achados da Tabela 2, em que todos os tratamentos com adição de Biosilicato resultaram em pH acima de 8,8, sendo assim um ambiente alcalino.

Nesse ambiente a sílica é liberada no fluido na forma de radicais silanóis, formando uma camada de sílica gel, permitindo a troca iônica entre o vidro e o meio. Íons cálcio e fosfato difundem do vidro e formam uma camada de fosfato de cálcio amorfo sobre a sílica gel e o carbonato incorporado cristaliza sobre a sílica gel em hidroxicarbonato apatita (CROVACE et al., 2016).

Como o óleo de coco apresenta altos valores de saponificação e para isso depende da hidrólise alcalina, em ambiente alcalino produzido pela adição de Biosilicato, esse efeito pode ter sido potencializado, apesar de ter resultado em

limpeza maior da superfície do esmalte. Sobre esta superfície os produtos da dissolução das partículas do Biosilicato podem ter sido depositados e causado remineralização do esmalte afetado pela desmineralização.

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os valores de microdureza relativa entre os tratamentos testados, apesar dos testes de dureza serem considerados adequados para avaliar o enfraquecimento da superfície do esmalte (HARA e ZERO, 2008; STENHAGEN et al., 2010). Porém comparando o potencial remineralizador, que considera a microdureza relativa aos valores finais, iniciais e cariados artificialmente, o óleo de coco com 5% de Biosilicato resultou em maior potencial remineralizador que os demais tratamentos após 7 dias de tratamento, demonstrando que essa concentração de Biosilicato adicionada ao óleo de coco pode ter sido mais eficiente que as demais. Além disso, resultados de um estudo demonstraram que o tratamento de óleo de coco virgem pode remineralizar a subsuperfície do esmalte dental (RAHAMAT et al., 2019) devido à alta biodisponibilidade do cálcio no óleo de coco (BELEWU e BELEWU, 2007; DEBMANDAL e MANDAL, 2011).

A suspensão de Biosilicato em água destilada, tradicionalmente utilizada em diversos estudos para a Odontologia (TIRAPELLI et al., 2010; MORAIS et al., 2018; CHINELATTI et al., 2019; SILVEIRA et al., 2019; GENG VIVANCO et al., 2021), não apresentou a mesma eficiência que o óleo de coco como veículo para o Biosilicato após 7 dias. O potencial remineralizador das suspensões, independente da concentração de Biosilicato adicionado, foi menor do que os tratamentos com óleo de coco com Biosilicato, demonstrando, assim, que pode haver um efeito sinérgico entre os produtos, mais benéfico que a aplicação do Biosilicato na forma de suspensão.

Não foi calculada a microdureza relativa e o potencial remineralizador para o grupo Controle (saliva) uma vez que não houve desmineralização do substrato.

Quanto à rugosidade de superfície, não é possível aceitar a hipótese testada, de que a rugosidade seria mantida, uma vez que os tratamentos com Biosilicato, adicionado ao Óleo de Coco resultaram em superfícies mais rugosas que as demais após 7 dias, na concentração de 2% e após 14 dias em ambas as concentrações.

Isso pode ser justificado pois, previamente ao tratamento, foi realizada a desmineralização da superfície das amostras por meio de desafio cariogênico e,

mesmo após tratamento, a remineralização total das superfícies não foi atingida, como pode ser comprovado pelos valores de microdureza encontrados. Apesar disso, os valores de alteração de rugosidade de superfície foram baixos. O limite crítico para retenção de biofilme sobre a superfície dental é um aumento da rugosidade de superfície maior ou igual a 0,2 μm (BOLLEN et al., 1997). Verificando os valores apresentados na Tabela 3, nenhuma alteração de rugosidade de superfície alcançou este valor crítico.

Dessa forma, este estudo *in vitro* apresentou uma alternativa para uma situação clínica muito comum em crianças: o consumo de alimentos, principalmente doces, entre as refeições pode levar a uma diminuição do pH bucal frequentemente. O consumo de bebidas açucaradas, como refrigerantes, em países desenvolvidos está estimado em sendo 50% de todas as bebidas consumidas (TAHMASSEBI et al., 2006) e o consumo dessas bebidas tem aumentado em cerca de 2 a 3% anualmente (HOOPER et al., 2007). Apesar da saliva ser considerada o fator biológico mais importante para neutralizar os efeitos ácidos (ABOU NEEL et al., 2016), em ambientes com pH abaixo de 5,5 a concentração de fosfato e cálcio na saliva é reduzida e sua capacidade tampão fica reduzida (BISHARA e OTSBY, 2008; BUZALAF et al., 2012; HEMADI et al., 2017). Assim, para casos como esses, uma solução que aumentasse o pH rapidamente e tivesse propriedades antimicrobianas poderia ser uma boa alternativa. Além disso, se houvesse um efeito remineralizador, poderia diminuir a perda mineral, mesmo sem realizar a higiene bucal com dentífrico fluoretado.

Apesar disso, os resultados apresentados no presente estudo apresentam limitações, uma vez que não foi realizada a desmineralização do esmalte quando na situação controle, ou seja, quando imerso em saliva. A realização do desafio cariogênico nesse substrato poderia colaborar com o entendimento de quanto de remineralização a saliva poderia realizar.

Os resultados do presente estudo são encarados como sendo promissores, entretanto mais estudos são necessários para sedimentar esta evidência científica, principalmente um estudo *in situ*, a fim de analisarmos o comportamento de fragmentos em ambiente clínico real.

6. Conclusão

6. CONCLUSÃO

Com base nos resultados encontrados e apesar da limitação do estudo, foi possível concluir que a adição de 5% de Biosilicato ao óleo de coco utilizado por 7 dias apresentou um alto potencial remineralizador, superando o efeito dos demais tratamentos. Além disso, nenhum dos tratamentos foi capaz de alterar a rugosidade de superfície do esmalte em níveis críticos.

Referências

REFERÊNCIAS

Abou Neel EA, Aljabo A, Strange A, Ibrahim S, Coathup M, Young AM, Bozec L, Mudera V. Demineralization-remineralization dynamics in teeth and bone. *Int J Nanomedicine*. 2016 Sep 19;11:4743-4763.

Ali S, Farooq I, Al-Thobity AM, Al-Khalifa KS, Alhooshani K, Sauro S. An in-vitro evaluation of fluoride content and enamel remineralization potential of two toothpastes containing different bioactive glasses. *Biomed Mater Eng*. 2020;30(5-6):487-496.

Alves KT, Severi LSP. Salivary components associated with prevention of dental caries – literature review. *Rev. Odontol*. 2016;28(1):37-42.

Belewu MA, Belewu KY. Comparative physico-chemical evaluation of tiger-nut, soybean and coconut milk sources. *Int. J. Agri. Biol*. 2007;9(5):785-787.

Bishara SE, Ostby AW. White Spot Lesions: Formation, Prevention, and Treatment. *Seminars in Orthodontics*. 2008;14(3):174-182.

Bollen CM, Lambrechts P, Quirynen M. Comparison of surface roughness of oral hard materials to the threshold surface roughness for bacterial plaque retention: a review of the literature. *Dent Mater*. 1997 Jul;13(4):258-69.

Boustedt K, Dahlgren J, Twetman S, Roswall J. Tooth brushing habits and prevalence of early childhood caries: a prospective cohort study. *Eur Arch Paediatr Dent*. 2020;21(1):155-159.

Buzalaf MA, Hannas AR, Kato MT. Saliva and dental erosion. *J Appl Oral Sci*. 2012 Sep-Oct;20(5):493-502.

Chinelatti MA, Santos EL, Tirapelli C, Pires-de-Souza FCP. Effect of Methods of Biosilicate Microparticle Application on Dentin Adhesion. *Dent J (Basel)*. 2019 Apr 1;7(2):35.

Chinelatti MA, Tirapelli C, Corona SAM, et al. Effect of a Bioactive Glass Ceramic on the Control of Enamel and Dentin Erosion Lesions. *Braz Dent J*. 2017;28(4):489-497.

Cochrane NJ, Cai F, Huq NL, Burrow MF, Reynolds EC. New approaches to enhanced remineralization of tooth enamel. *J Dent Res*. 2010 Nov;89(11):1187-97.

Crovace MC, Souza MT, Chinaglia CR, Peitl O, Zanotto ED. Biosilicate® - A multipurpose, highly bioactive glass-ceramic. In vitro, in vivo and clinical trials. *Journal of Non-crystalline Solids*. 2016;432:90-110.

Das SK, Adhikary PK, Bhattacharyya DK. Effects of dietary fats on the fatty acid composition of enamel and dentinal lipids of rabbit molars. *J Dent Res*. 1976 Nov-Dec;55(6):1061-6.

Dayrit FM. The Properties of Lauric Acid and Their Significance in Coconut Oil. *J Am OilChemists'oc*. 2015;92:1–15.

DebMandal M, Mandal S. Coconut (*Cocos nucifera* L.: Arecaceae): in health promotion and disease prevention. *Asian Pac J Trop Med*. 2011 Mar;4(3):241-7.

- Dixit RP, Puthli SP. Oral strip technology: overview and future potential. *J Control Release* 2009;139(2):94-107.
- Dorland DA. *Dorland's Illustrated Medical Dictionary*. Philadelphia: Saunders; 2012.
- Featherstone JD. The science and practice of caries prevention. *J Am Dent Assoc*. 2000;131(7):887-899.
- Ferreira AC, de Lima Oliveira RF, Amorim AA, Geng-Vivanco R, de Carvalho Panzeri Pires-de-Souza F. Remineralization of caries-affected dentin and color stability of teeth restored after treatment with silver diamine fluoride and bioactive glass-ceramic. *Clin Oral Investig*. 2022 Mar 17. doi: 10.1007/s00784-022-04445-6. Epub ahead of print. PMID: 35301597.
- Geng Vivanco R, Tonani-Torrieri R, Souza ABS, Marquele-Oliveira F, Pires-de-Souza FCP. Effect of natural primer associated to bioactive glass-ceramic on adhesive/dentin interface. *J Dent*. 2021 Mar;106:103585.
- Hannig C, Kirsch J, Al-Ahmad A, Kensche A, Hannig M, Kümmerer K. Do edible oils reduce bacterial colonization of enamel in situ? *Clin Oral Investig*. 2013 Mar;17(2):649-58.
- Hannig M, Hannig C. The pellicle and erosion. *Monogr Oral Sci*. 2014;25:206-14.
- Hannig M, Hess NJ, Hoth-Hannig W, De Vrese M. Influence of salivary pellicle formation time on enamel demineralization--an in situ pilot study. *Clin Oral Investig*. 2003 Sep;7(3):158-61.
- Hara AT, Zero DT. Analysis of the erosive potential of calcium-containing acidic beverages. *Eur J Oral Sci*. 2008;116:60-5.
- Hemadi AS, Huang R, Zhou Y, Zou J. Salivary proteins and microbiota as biomarkers for early childhood caries risk assessment. *Int J Oral Sci*. 2017;9(11):e1.
- Hench LL, Polak JM. Third-generation biomedical materials. *Science*. 2002;295(5557):1014-1017.
- Hench LL. The story of Bioglass. *J Mater Sci Mater Med*. 2006;17(11):967-978.
- Hooper SM, Newcombe RG, Faller R, Eversole S, Addy M, West NX. The protective effects of toothpaste against erosion by orange juice: studies in situ and in vitro. *J Dent*. 2007;35(6):476-481.
- Horst JA, Tanzer JM, Milgrom PM. Fluorides and Other Preventive Strategies for Tooth Decay. *Dent Clin North Am*. 2018;62(2):207-234.
- Huang X, Li R, Feng Y, Wang Y. Remineralization of Demineralized Dentin Induced by Bioactive Glass NovaMin. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2018;43(6):619-624.
- Ionta FQ, Alencar CRB, Val PP, Boteon AP, Jordão MC, Honório HM, Buzalaf MAR, Rios D. Effect of vegetable oils applied over acquired enamel pellicle on initial erosion. *J Appl Oral Sci*. 2017 Jul-Aug;25(4):420-426.
- Jones JR, Gentleman E, Polak J. Bioactive glass scaffolds for bone regeneration. *Elements*. 2007;3(6):393-399.

Lahaye M. Marine algae as sources of fibres: Determination of soluble and insoluble dietary fibre contents in some 'sea vegetables'. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 1991;54(4):587-594.

Martins CHG, Carvalho TC, Souza MGM, Ravagnani C, Peitl O, Zanotto ED, Panzeri H, Casemiro LA. Assessment of antimicrobial effect of Biosilicate® against anaerobic, microaerophilic and facultative anaerobic microorganisms. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2011;22(6):1439–1446.

Medeiros de Azevedo W, Ferreira Ribeiro de Oliveira L, Alves Alcântara M, Tribuzy de Magalhães Cordeiro AM, Florentino da Silva Chaves Damasceno, KS, Kelly de Araújo N, Fernandes de Assis C, Sousa Junior FC. Physicochemical characterization, fatty acid profile, antioxidant activity and antibacterial potential of cacay oil, coconut oil and cacay butter. *PloS one*. 2020;15(4):e0232224.

Morais RC, Silveira RE, Chinelatti M, Geraldeli S, Pires-de-Souza F de CP. Bond strength of adhesive systems to sound and demineralized dentin treated with bioactive glass ceramic suspension. *Clin Oral Investig*. 2018;22(5):1923-1931.

Nóbrega DF, Leitão TJ, Cury JA, Tenuta LMA. Fluoride Binding to Dental Biofilm Bacteria: Synergistic Effect with Calcium Questioned. *Caries Res*. 2019;53(1):10-15.

O'Mullane DM, Baez RJ, Jones S, et al. Fluoride and Oral Health. *Community Dent Health*. 2016;33(2):69-99.

Paes Leme AF, Tabchoury CP, Zero DT, Cury JA. Effect of fluoridated dentifrice and acidulated phosphate fluoride application on early artificial carious lesions. *Am J Dent*. 2003;16(2):91-95.

Pajor K, Pajchel L, Kolmas J. Hydroxyapatite and Fluorapatite in Conservative Dentistry and Oral Implantology-A Review. *Materials (Basel)*. 2019 Aug 22;12(17):2683.

Paula AB, Fernandes AR, Coelho AS, Marto CM, Ferreira MM, Caramelo F, do Vale F, Carrilho E. Therapies for White Spot Lesions-A Systematic Review. *J Evid Based Dent Pract*. 2017 Mar;17(1):23-38.

Peedikayil FC, Remy V, John S, Chandru TP, Sreenivasan P, Bijapur GA. Comparison of antibacterial efficacy of coconut oil and chlorhexidine on *Streptococcus mutans*: An in vivo study. *J Int Soc Prev Community Dent*. 2016;6(5):447-452.

Peedikayil FC, Sreenivasan P, Narayanan A. Effect of coconut oil in plaque related gingivitis - A preliminary report. *Niger Med J*. 2015 Mar-Apr;56(2):143-7.

Pires-de-Souza FCP, Tonani-Torrieri R, Geng Vivanco R, Arruda CNF, Geraldeli S, Sinhoreti MAC, Roulet JF. Effect of Incorporation of Bioactive Glass-Ceramic into Self-etch Adhesives. *J Adhes Dent*. 2022 Apr 13;24(1):195-202.

Pollick H. The Role of Fluoride in the Prevention of Tooth Decay. *Pediatr Clin North Am*. 2018;65(5):923-940.

Praiboon J, Chirapart A, Akakabe Y, Bhumibhamond O, Kajiwara T. Physical and chemical characterization of agaropolysaccharides extracted from the Thai and Japanese species of *Gracilaria*. *Science Asia*. 2006;32(1):11-17.

Rahamat SF, Nor Hayati Wan Abd Manan W, Anil Azura J, Abllah Z. Enamel subsurface remineralization potential of virgin coconut oil, coconut milk and coconut water. *Materials Today*. 2019;16(4):2238-2244.

Reynolds EC. Calcium phosphate-based remineralization systems: scientific evidence? *Aust Dent J*. 2008 Sep;53(3):268-73.

Reynolds J, Belsher J. A Review of Sodium Fluoride Solubility in Water. *Journal of Chemical & Engineering*. 2017;62(6):1743-1748.

Shanbhag VK. Oil pulling for maintaining oral hygiene - A review. *J Tradit Complement Med*. 2016 Jun 6;7(1):106-109.

Shino B, Peedikayil FC, Jaiprakash SR, Bijapur GA, Kottayi S, Jose D. Comparison of Antimicrobial Activity of Chlorhexidine, Coconut Oil, Probiotics, and Ketoconazole on *Candida albicans* Isolated in Children with Early Childhood Caries: An In Vitro Study. *Scientific Study*. Scientifica 2016. 2016:7061587.

Silveira RE, Vivanco RG, de Morais RC, Da Col Dos Santos Pinto G, Pires-de-Souza FCP. Bioactive glass ceramic can improve the bond strength of sealant/enamel? *Eur Arch Paediatr Dent*. 2019 Aug;20(4):325-331.

Srivastava P, Durgaprasad S. Burn wound healing property of *Cocos nucifera*: An appraisal. *Indian J Pharmacol*. 2008 Aug;40(4):144-6.

Stenhagen KR, Hove LH, Holme B, Taxt-Lamolle S, Tveit AB. Comparing different methods to assess erosive lesion depths and progression in vitro. *Caries Res*. 2010;44(6):555-61.

Stookey GK. The effect of saliva on dental caries. *J Am Dent Assoc*. 2008;139 Suppl:11S-17S.

Tahmassebi JF, Duggal MS, Malik-Kotru G, Curzon ME. Soft drinks and dental health: a review of the current literature. *J Dent*. 2006 Jan;34(1):2-11.

Tanner ACR, Kressirer CA, Rothmiller S, Johansson I, Chalmers NI. The Caries Microbiome: Implications for Reversing Dysbiosis. *Adv Dent Res*. 2018;29(1):78-85.

Temel SS, Kaya B. Diagnosis, Prevention and Treatment of White Spot Lesions Related to Orthodontics. *Int J Oral Dent Health*. 2019;5(2):085.

Thaweboon S, Nakaparksin J, Thaweboon B. Effect of oil pulling on oral microorganisms in biofilm models. *Asia J Public Health*. 2011 Aug;2(2):62-66.

Tirapelli C, Panzeri H, Soares RG, Peitl O, Zanotto ED. A novel bioactive glass-ceramic for treating dentin hypersensitivity. *Braz. oral res*. 2010;24(4):381-387.

Ubal dini A, Pascotto RC, Sato F, Soares VO, Zanotto ED, Baesso ML. Effects of Bioactive Agents on Dentin Mineralization Kinetics After Dentin Bleaching. *Oper Dent*. 2020;45(3):286-296.

Vale GC, Tabchoury CP, Del Bel Cury AA, Tenuta LM, ten Cate JM, Cury JA. APF and dentifrice effect on root dentin demineralization and biofilm. *J Dent Res*. 2011 Jan;90(1):77-81.

Verallo-Rowell VM, Dillague KM, Syah-Tjundawan BS. Novel antibacterial and emollient effects of coconut and virgin olive oils in adult atopic dermatitis. *Dermatitis*. 2008;19:308-315.

Vukosavljevic D, Custodio W, Buzalaf MA, Hara AT, Siqueira WL. Acquired pellicle as a modulator for dental erosion. *Arch Oral Biol*. 2014 Jun;59(6):631-8.

Woolley J, Gibbons T, Patel K, Sacco R. The effect of oil pulling with coconut oil to improve dental hygiene and oral health: A systematic review. *Heliyon*. 2020;6(8):e04789.