

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 15/12/2023



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



João Felipe Besegato

Avaliação de dispositivo de ultrassom associado à terapia fotodinâmica e vidros bioativos na remoção, descontaminação e remineralização de lesões artificiais de cárie em dentina

Araraquara

2021



UNESP - Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”
Faculdade de Odontologia de Araraquara



João Felipe Besegato

Avaliação de dispositivo de ultrassom associado à terapia fotodinâmica e vidros bioativos na remoção, descontaminação e remineralização de lesões artificiais de cárie em dentina

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara para obtenção do título de Doutor em Ciências Odontológicas, na Área de Dentística Restauradora

Orientadora: Profa. Dra. Alessandra Nara de Souza Rastelli

Araraquara

2021

B554a Besegato, João Felipe
Avaliação de dispositivo de ultrassom associado à terapia fotodinâmica e vidros bioativos na remoção, descontaminação e remineralização de lesões artificiais de cárie em dentina / João Felipe Besegato. -- Araraquara, 2021
142 p. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara
Orientadora: Alessandra Nara de Souza Rastelli

1. Ultrassom. 2. Fotoquimioterapia. 3. Cárie dentária. I.
Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Odontologia, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

João Felipe Besegato

Avaliação de dispositivo de ultrassom associado à terapia fotodinâmica e vidros bioativos na remoção, descontaminação e remineralização de lesões artificiais de cárie em dentina

Comissão julgadora

Tese para obtenção do grau de Doutor em Ciências Odontológicas

Presidente e orientador: Profa. Dra. Alessandra Nara de Souza Rastelli

2º Examinador: Profa. Dra. Michelli Alexandra Chinelatti

3º Examinador: Prof. Dr. Marcelo Ferrarezi de Andrade

4º Examinador: Dra. Caroline Coradi Tonon

5º Examinador: Prof. Dr. Clovis Wesley Oliveira de Souza

Araraquara, 15 de dezembro de 2021.

DADOS CURRICULARES

João Felipe Besegato

NASCIMENTO: 16/10/1993 – São João – Paraná

FILIAÇÃO: Edilson Besegato e Suzana Brusamarello Besegato

2011 – 2015: Graduação em Odontologia

Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, Paraná, Brasil.

2016 – 2018: Mestrado em Clínica Odontológica

Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, Paraná, Brasil.

2018 – 2021: Doutorado em Ciências Odontológicas

Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FOAr/UNESP), Araraquara, São Paulo, Brasil.

*Dedico este trabalho à minha família, amigos e a todos aqueles que de alguma
maneira tornaram este sonho possível.*

AGRADECIMENTOS

À **Deus**, por me conceder o dom da vida, por não me deixar desanimar e me manter firme nos meus propósitos. Sem a graça divina, de nada valeria um título de doutor.

Aos meus pais, **Edilson Besegato e Suzana Besegato**, o meu mais sincero e genuíno agradecimento. Desde que saí de casa para estudar, encontrei dificuldades, amadureci, me tornei cirurgião-dentista, mestre e agora doutor. Entretanto, nenhuma dessas conquistas ou títulos seriam possíveis, ou fariam sentido, sem o apoio incondicional que recebo de vocês. Por diversas vezes vocês renunciaram ao conforto e estabilidade para prover a mim o melhor possível. Sendo assim, nenhuma palavra ou agradecimento serão capazes de expressar a minha gratidão por tudo isso. De qualquer forma, preciso dizer que todas as minhas conquistas são consequências dos princípios, exemplos e ensinamentos que recebi de vocês. Por isso, obrigado por serem vocês, cada um a seu modo. Espero um dia retribuir cada incentivo, motivação, subsídio, palavras de carinho e gestos de amor. Pai, mãe... eu amo vocês com todo o meu coração, todos os dias de minha vida. Obrigado por tudo e por tanto.

Ao meu irmão, **José Vitor Besegato**, que mesmo tão diferente de mim, sempre me apoiou, entendeu e incentivou minhas escolhas. Desejo que o mundo descubra e reconheça a pessoa maravilhosa que és e o coração enorme que tens. Seu irmão te ama e estará contigo em todos os momentos.

Aos meus avós, **Euclides, Izaías, Leonira e Realda**. Obrigado por entenderem minha ausência durante todo este período. E principalmente, obrigado por serem exemplos de humildade, generosidade, carinho e admiração.

À toda a minha **família**, que sempre me apoiou incondicionalmente. Sou eternamente grato a Deus por tê-los em minha vida.

À minha orientadora, **Profa. Dra. Alessandra Nara de Souza Rastelli**, pela orientação deste trabalho, pela confiança em mim depositada e por me ensinar a importância do comprometimento, da dedicação e da autossuficiência.

Ao **Magnífico Reitor Prof. Dr. Pasqual Barreti e Vice-Reitora Profa. Dra. Maysa Furlan** da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

À **Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”**, representada pelo diretor **Prof. Dr. Edson Alves de Campos** e pela vice-diretora **Profa. Dra. Patrícia Petromilli Nordi Sasso Garcia**, por oferecer estrutura física e de pessoal, assim como condições adequadas para a realização de nossas atividades.

Ao **Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas**, representado pela coordenadora Profa. Dra. Andreia Bufalino.

À **Seção Técnica de Pós-Graduação**, pela atenção, empenho e organização dispendida para cada um dos discentes. Agradeço em especial ao assistente administrativo **Sr. Cristiano Afonso Lamounier**, pela gentileza, educação, empatia e solicitude com quem trata todos os discentes, sendo um exemplo de servidor público e ser humano.

A todos os **servidores** da Faculdade de Odontologia de Araraquara, que se empenham diariamente de maneira primorosa para fornecer um ambiente de trabalho adequado.

À assistente administrativa do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Araraquara, **Sra. Creusa Maria Hortenci**. Minha querida e amada Creusa, obrigado pela convivência diária, pelos conselhos e palavras de amparo, por zelar do Departamento como se fosse sua casa, e por cuidar dos alunos como se fossem seus filhos. Você estará eternizada em meu coração pela sua sensibilidade, empatia, e talento nato em acolher. Obrigado por tudo e por tanto. Te amo!

Aos docentes da disciplina de Dentística Restauradora, **Profa. Dra. Alessandra Nara de Souza Rastelli, Profa. Dra. Andrea Abi Rached Dantas, Prof. Dr. Edson Alves de Campos, Prof. Dr. José Roberto Cury Saad, Prof. Dr. Marcelo Ferrarezi de**

Andrade, Prof. Dr. Osmir Batista de Oliveira Júnior, pelas oportunidades e convívio diário ao longo deste período.

A **todos os docentes** da Faculdade de Odontologia de Araraquara, por compartilharem seus conhecimentos e contribuir para o meu crescimento técnico-científico. Agradeço em especial à **Profa. Dra. Josimeri Hebling, Profa. Dra. Elaine Maria Sgavioli Massucato, Profa. Dra. Gisele Faria, Prof. Dr. Paulo Cerri**, por me ajudarem e me incentivarem em momentos marcantes do doutorado.

Ao **Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Araraquara**, representado pela chefe Profa. Dra. Alessandra Nara de Souza Rastelli.

À **Profa. Dra. Andrea Abi Rached Dantas**, pela confiança em meu trabalho, por me dar a oportunidade de ministrar aulas durante o doutorado, e principalmente, pela humildade e empatia com quem trata a todos.

Ao **Prof. Dr. Marcelo Ferrarezi de Andrade**, por estimular e dar oportunidades da prática clínica.

À **Dra. Caroline Coradi Tonon**, que mesmo distante, me ajudou sempre que possível e de quem tenho um grande carinho. Você vai longe, Carol. Espero um dia lhe encontrá-la pessoalmente. Obrigado por aceitar o convite de fazer parte de minha banca avaliadora.

Ao **Prof. Dr. Clovis Wesley Oliveira de Souza**, por aceitar fazer parte da banca avaliadora. Mesmo não o conhecendo pessoalmente, estou certo que seu conhecimento e competência irão contribuir significativamente para a melhoria deste trabalho. Muito obrigado.

À **Profa. Dra. Michelli Alexandra Chinelatti**, pela agradável colaboração durante as reuniões do grupo de pesquisa e por aceitar o convite de fazer parte de minha banca avaliadora. Mesmo não a conhecendo pessoalmente, saiba que tenho uma grande admiração e respeito pela professora.

Ao **Prof. Dr. Adilson César Abreu Bernardi**, pelas contribuições ao longo do doutorado, principalmente nas bancas de pré-qualificação e qualificação. Obrigado pela maneira humilde, acessível e gentil que sempre me tratou.

À **Profa. Dra. Angela Cristina Cilense Zuanon**, pelas contribuições em minha banca de pré-qualificação.

À **Profa. Dra. Elisa Maria Aparecida Giro**, por gentilmente emprestar o dispositivo para análise de microcislamento.

Ao técnico **Diego**, por dobrar os fios ortodônticos utilizados para indução de lesão de cárie.

À **Dra. Paula Aboud Barbugli**, por todo o suporte técnico nas análises de microscopia confocal, pela atenção e disponibilidade em ajudar, e principalmente, pela agradável companhia.

Ao **Prof. Dr. Milton Carlos Kuga**, pela confiança em mim depositada e por toda a ajuda e amparo que me deu sem qualquer obrigação.

Ao **Prof. Dr. Márcio Grama Hoepfner**, por ser meu maior exemplo profissional e incentivador. Meu eterno orientador, que se faz presente mesmo longe e continua me dando todo o suporte mesmo após o mestrado. Obrigado por acreditar, desde muito cedo, em meu potencial no ambiente acadêmico. Jamais serei grato o suficiente por todos os ensinamentos e ajuda. Espero um dia ser um profissional, e ser humano, tão bom quanto o senhor.

Ao **Laboratório de Análise Histopatológica para cortes não descalcificados** da Faculdade de Odontologia de Araraquara, por permitir acesso para realização das análises de microscopia de luz polarizada.

Ao **Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto (FORP) da Universidade de São Paulo (USP)**. Agradeço em especial ao **Laboratório de Pesquisa em Dentística**, à **Profa. Dra. Regina Guenka**

Palma Dibb, e à servidora **Patrícia Marchi**, por permitirem a utilização do microdurômetro.

Ao **Instituto de Química de Araraquara da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (IQ-UNESP)** e ao **Laboratório Multiusuário de Análises Químicas**, em especial aos servidores **Naira Canevarolo Pesquero** e **Alberto Camilo Alécio**, por todo o suporte técnico oferecido durante as análises de FT-Raman.

À **Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara (FCFAR) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP)**, em especial ao **Laboratório CMAF (Ciência dos Materiais Aplicada à Farmácia)**, por permitir o acesso e fornecer subsídios para preparação das micelas poliméricas.

Ao **Prof. Dr. Marlus Chorilli**, do Departamento de Fármacos e Medicamentos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara (FCFAR) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), por confiar em meu trabalho e estar sempre disposto a ajudar com sua gentileza e humildade.

À mestre **Amanda Letícia Polli Silvestre**, por me dar oportunidades de participar em seus trabalhos e por ter se tornado uma grande amiga.

Ao amigo **Gabriel Garcia de Carvalho**, por sanar muitas dúvidas durante os meus experimentos. Não tenho dúvidas do seu sucesso profissional, pois ele será consequência da sua competência e dedicação.

À amiga **Vivian Tellaroli Minhaco**, com quem tive o prazer de conhecer melhor durante os empréstimos da Biotable. Sua simpatia, educação e generosidade me fizeram ser um grande admirador de sua pessoa. Que sua vida seja repleta das melhores coisas que este mundo possa oferecer.

À **Faculdade de Odontologia de Bauru (FOB) da Universidade de São Paulo (USP)**, em especial ao **Laboratório de Bioquímica**, e à técnica **Larissa Grizzo**, pelo suporte técnico durante as análises de microrradiografia transversal.

Ao **Instituto de Física de São Carlos (IFSC) da Universidade de São Paulo (USP)**, pelo desenvolvimento, fornecimento e manutenção do dispositivo de ultrassom. Agradeço especialmente ao **Laboratório de Apoio Tecnológico (LAT)**, e aos servidores **Thiago Moretti** e **Paulo Estevão**, por sempre prestarem apoio técnico quando necessário.

Ao **Laboratório de Materiais Vítreos (LaMav) da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar)**, pelo preparo e fornecimento dos vidros bioativos. Agradeço em especial à **Dra. Marina Trevelin Souza**, pela atenção, solicitude e gentileza de sempre. Foi um grande prazer conhecê-la Marina, mesmo que virtualmente.

À **CAPES**: O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001.

À **FAPESP** – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processo nº 2013/07276-1) pelo apoio financeiro essencial para realização dessa pesquisa.

Aos colegas e amigos de pós-graduação, por tornarem o doutorado mais leve e feliz. Agradeço em especial aos amigos **Camila Lebre, Diego Dantas, Eran Almeida, Joatan Costa, Jessica Katarine, Lucas Portela, Thais Piragine, Juliana Proença e Lorena Gutierrez**. Levarei cada um de vocês em meu coração, assim como os momentos marcantes e felizes que vivemos.

Aos amigos **César Cuniyochi** e **Keli Frondaroli**, pela inesperada, porém agradável amizade. Entre treinos e exercícios, vocês ouviram meus desabafos, me aconselharam, e se tornaram pessoas especiais em minha vida.

Aos **alunos da graduação**, com quem tive a oportunidade de aprender e ensinar.

À minha inseparável amiga de infância, **Luana Pires Pinheiro**, que mesmo longe se fez presente. Obrigado por ouvir meus desabafos e torcer pelas minhas conquistas desde sempre. Que nossa amizade perdure e se fortaleça ao longo do tempo.

Às amigas de longa data, **Laiane Navarro, Nathana Wendy e Gabriella Sieni**, por continuarem me incentivando e me ouvindo. Meus presentes da graduação que guardo em meu coração independentemente de onde estiver.

À minha querida amiga **Básia Rabelo Nogueira**. Dona de uma personalidade única e coração imenso, você soube me ouvir, apoiar e ajudar. Sentirei saudade da sua companhia diária e até mesmo das implicações mútuas que dividíamos. Saiba que você ganhou um amigo para a vida. Obrigado!

À fiel colega de pesquisa e grande amiga, **Priscila Borges Gobbo de Melo**. Ninguém conhece melhor os caminhos percorridos ao longo do doutorado do que você, com quem dividi praticamente tudo. Você viveu e sentiu na pele cada dificuldade que tivemos que enfrentar. Mas você também comemorou comigo cada conquista. Obrigado pelas milhares de horas ao meu lado no laboratório, escrevendo artigos, realizando análises e tendo a paciência e humildade de ensinar e aprender. Pri, você é um ser humano lindo. Sua generosidade, paciência, comprometimento e competência me encantam. Eu não conseguiria ter feito nada disso sem a sua ajuda e companhia. Por isso, desejo que em todos os lugares que passar, ou que todas as pessoas que encontrar, saibam reconhecer e aproveitar todas as suas qualidades e competências. Saiba que sou eternamente grato pela amizade que construímos. Obrigado por tudo e por tanto.

Ao meu grande amigo, **Aryvelto Miranda Silva**. Estivemos lado a lado desde o primeiro dia do doutorado, literalmente. Até chegar a este agradecimento, vivemos muita coisa juntos, e me orgulho de cada uma delas. Juntos percorremos terrenos desconhecidos, e muitas vezes desafiadores, que eu jamais iria percorrer sozinho. Obrigado por cada incentivo e conselho, mas principalmente por estar ao meu lado em todos os momentos. Orgulho de quem você é e de tudo aquilo que ainda irá se tornar. Estarei sempre aqui por você. Obrigado!

Alguns laços são tão fortes, bonitos e intensos, que ao tentar explicar, conseguimos apenas agradecer. Por isso, meu mais sincero agradecimento às inseparáveis e queridas amigas, **Joissi Ferrari Zaniboni e Tatiane Miranda Manzoli**. Vocês já

sabem da minha gratidão e carinho por tudo o que fizeram e pelo tanto que nossa amizade representa para mim. Por isso, quando ouvirem meu nome, peço que se lembrem de cada risada no sofá, de cada festa, de cada desabafo coletivo, de cada momento compartilhado. E após lembrarem, tenham a certeza que boa parte desta conquista e desta etapa de minha vida, eu devo a vocês, minhas grandes amigas. Obrigado por cruzarem meu caminho. Amo vocês.

Por fim, o meu mais sincero agradecimento a cada um que me ajudou a chegar até aqui e me fez enxergar claramente que não importa **o que** você tem na vida, mas **quem** você tem na vida.

Obrigado!

“Construirás os labirintos impermanentes que sucessivamente habitarás. Todos os dias estarás refazendo o teu desenho. Não te fatigues logo. Tens trabalho para toda a vida... Somos sempre um pouco menos do que pensávamos. Raramente, um pouco mais.”

Cecília Meireles*

* Meireles C. Retrato natural. São Paulo: Editora Global; 1949.

Besegato JF. Avaliação de dispositivo de ultrassom associado à terapia fotodinâmica e vidros bioativos na remoção, descontaminação e remineralização de lesões artificiais de cárie em dentina [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2021.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia do uso de aparelho de ultrassom na remoção de tecido cariado, da terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFDA) na descontaminação da dentina e da aplicação de materiais bioativos na remineralização dentinária, assim como as influências dessas terapias na resistência adesiva, em lesões artificiais de cárie induzidas por modelo biológico. Espécimes de dentina bovina (4x4x2 mm) foram obtidos e aleatorizados em grupos de acordo com o método de remoção do tecido cariado: fresa (FR) ou ultrassom (ULT); método de descontaminação: com ou sem a aplicação de TFDA; e a aplicação de vidros bioativos para remineralização dentinária (45S5 ou F-18). Sendo assim, os espécimes foram aleatorizados em 14 grupos: cárie dentária (controle); dentina hígida (controle); FR; FR+TFDA; ULT; ULT+TFDA; FR+45S5, FR+F-18; ULT+45S5, ULT+F-18; FR+TFDA+45S5; FR+TFDA+F-18; ULT+TFDA+45S5; ULT+TFDA+F-18. Após os tratamentos, os espécimes foram avaliados por meio de microradiografia transversal, microdureza longitudinal, FT-Raman e microscopia confocal. Os dados foram submetidos à avaliação dos pressupostos de normalidade e homoscedasticidade. Para comparação entre os grupos, ANOVA dois fatores seguido de pós-teste de Tukey foram utilizados em nível de significância de 5%. A análise das imagens de microscopia confocal foi realizada qualitativamente. De acordo com os resultados, a média da microdureza superficial dos espécimes foi de $40,86 \pm 8,74$ KHN. A microradiografia transversal revelou que a profundidade média das lesões foi de $213,9 \pm 49,5$ μm . Já a porcentagem de perda mineral foi de $4929,3 \text{ \%vol.}\mu\text{m}$. A microdureza longitudinal evidenciou uma tendência geral em que a microdureza de um mesmo grupo aumenta em função da profundidade, independentemente do grupo avaliado ($p < 0,05$). Os grupos removidos com FR ($24,40 - 63,03$ KHN) apresentam dureza maior em comparação aos removidos com ULT ($20,01 - 47,53$ KHN), independentemente da profundidade ($p < 0,05$). Em geral, a TFDA não promoveu efeito significativo na microdureza ($p > 0,05$). Não houve diferença entre FR associada com 45S5 ou F-18 ($p > 0,05$). No entanto, na associação entre ULT e os vidros bioativos, diferenças mostram que F-18 apresentou valores maiores em relação ao 45S5. Os dados de FT-Raman mostram que para o componente fosfato não foi observado nenhuma diferença estatística significativa ($p > 0,05$). Já para o componente carbonato, na profundidade de $200 \mu\text{m}$ houve diferença entre os grupos FR+TFDA e ULT+TFDA+45S5 ($0,0355$ e $0,0003$ respectivamente ($p < 0,05$)). Quanto às ligações C-H, diferença significativa foi observada entre os grupos FR e ULT+TFDA ($0,1869$ e $0,0457$ respectivamente ($p < 0,05$)), na profundidade de $40 \mu\text{m}$. A microscopia confocal revelou a eficácia da TFDA em inativar bactérias residuais. Os resultados de resistência adesiva evidenciaram que não houve diferença entre os grupos experimentais ($p > 0,05$). Falha do tipo adesiva foi predominante para a maioria dos grupos. Pôde-se concluir que a remoção com ULT é mais conservadora em relação a FR e a TFDA é eficaz como estratégia de descontaminação. Ambos os vidros mostraram resultados similares, embora alguns grupos tenham evidenciado melhores resultados para o F-18. Nenhuma das terapias influenciaram negativamente a adesão de materiais resinosos à dentina. Sendo assim, a abordagem combinada das

diferentes estratégias parece ser promissora e minimamente invasiva no tratamento da lesão de cárie em dentina.

Palavras – chave: Ultrassom. Fotoquimioterapia. Cárie dentária.

Besegato JF. Evaluation of ultrasound device associated with photodynamic therapy and bioactive glasses in the removal, decontamination and remineralization of caries-like dentin [tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2021.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the efficacy of an ultrasound device to remove caries dentin, antimicrobial photodynamic therapy (TFDA) to decontaminate dentin and the application of bioactive materials to remineralize the dentin, as well as the influences of these therapies on bonding strength in artificial caries lesions. Bovine dentin specimens (4x4x2 mm) were obtained and randomized into groups according to the removal methods of caries dentin: bur (FR) or ultrasound (ULT); decontamination method: with or without the application of TFDA; and the application of bioactive glasses for dentin remineralization (45S5 or F-18). Thus, specimens were randomized into 14 groups: dental caries (control); sound dentin (control); FR; FR + TFDA; ULT; ULT + TFDA; FR + 45S5, FR + F-18; ULT + 45S5, ULT + F-18; FR + TFDA + 45S5; FR + TFDA + F-18; ULT + TFDA + 45S5; ULT + TFDA + F-18. After treatments, the specimens were evaluated by transverse microradiography, cross-sectional microhardness, FT-Raman and confocal microscopy. Data were submitted to the assessment of the assumptions of normality and homoscedasticity. For comparison between groups, two-way ANOVA followed by Tukey's post-test were used at a significance level of 5%. The analysis of confocal microscopy was performed qualitatively. According to the results, the surface microhardness mean was 40.86 ± 8.74 KHN. Transverse microradiography revealed that the average depth of the lesions was 213.9 ± 49.5 μm . The percentage of mineral loss was 4929.3% vol. μm . Cross-sectional microhardness showed a trend in which the microhardness of the same group increases as a function of depth, regardless of the group ($p < 0.05$). Groups removed with FR (24.40 - 63.03 KHN) have greater hardness compared to those removed with ULT (20.01 - 47.53 KHN), regardless of depth ($p < 0.05$). In general, TFDA did not have a significant effect on microhardness ($p > 0.05$). There was no difference between RF associated with 45S5 or F-18 ($p > 0.05$). However, in the association between ULT and bioactive glasses, F-18 showed higher values compared to 45S5. FT-Raman data show that for the phosphate component, no statistically significant difference was observed ($p > 0.05$). For the carbonate component, at 200 μm depth there was a difference between FR+TFDA and ULT+TFDA+45S5 groups (0.0355 and 0.0003 respectively ($p < 0.05$)). The C-H bonding revealed a difference between FR and ULT+TFDA groups (0.1869 and 0.0457 respectively ($p < 0.05$)), at 40 μm depth. Confocal microscopy images showed the effectiveness of TFDA in inactivating residual bacteria. No differences among the experimental groups were observed after microshear bond strength test ($p > 0,05$). Adhesive failure was the most predominant failure mode. It can be concluded that ULT removal is conservative, preserving caries-affected dentin. TFDA is effective as a decontamination strategy prior restoration. Both bioactive glasses showed similar results, although some groups have shown better results for F-18. Any of the experimental treatments negatively affected the adhesion to dentin. In conclusion, the combing approach using ultrasound, TFDA and bioactive glasses is promising to provide a minimally invasive treatment.

Keywords: Ultrasonics. Photodynamic therapy. Dental caries.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	21
2 OBJETIVO	25
2.1 Objetivo Geral.....	25
2.2 Objetivos Específicos	25
3 REVISÃO DE LITERATURA	27
3.1 Doença Cárie Dentária	27
3.2 Remoção de Tecido Cariado	29
3.3 Modelos Artificias de Indução de Cárie	32
3.4 Instrumentação Cavitária	34
3.5 Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana (TFDA)	38
3.6 TFDA no Tratamento da Doença Cárie	41
3.7 Vidros Bioativos	45
4 MATERIAIS E MÉTODOS	48
4.1 Delineamento Experimental	48
4.2 Fase Inicial	50
4.2.1 Obtenção e preparo dos espécimes de dentina bovina	50
4.2.2 Seleção das bactérias e preparo da suspensão bacteriana padronizada	51
4.2.3 Método de preparação das micelas poliméricas	52
4.2.4 Fotossensibilizador e fonte de luz a ser utilizada para TFDA	54
4.2.5 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e da concentração bactericida (CBM)	54
4.2.6 Indução da lesão de cárie artificial	56
4.2.7 Microradiografia transversal (MT)	59
4.2.8 Métodos para remoção e descontaminação do tecido cariado	61
4.2.9 Aplicação de vidro bioativo como agente remineralizante	64
4.3 Fase Experimental	65
4.3.1 Microdureza Knoop longitudinal	65

4.3.2 Microscopia Raman com transformada de Fourier (FT-Raman)	66
4.3.3 Microscopia confocal de varredura a laser (MC)	68
4.3.4 Preparo dos corpos de prova em resina composta	69
4.3.5 Resistência adesiva	73
4.3.6 Padrão de falha	73
4.4 Análise Estatística	74
5 RESULTADOS	75
5.1 Fase Inicial	75
5.1.1 Microdureza Knoop superficial	75
5.1.2 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e da concentração bactericida (CBM)	75
5.1.3 Microradiografia transversal	77
5.2 Fase Experimental	79
5.2.1 Microdureza Knoop longitudinal	79
5.2.2 FT-Raman	83
5.2.3 Microscopia confocal a laser	85
5.2.4 Resistência adesiva	100
5.2.5 Padrão de falha	101
6 DISCUSSÃO	107
7 CONCLUSÃO	121
REFERÊNCIAS	122
ANEXO	142

1 INTRODUÇÃO

A cárie dentária é uma doença biofilme-açúcar-dependente que resulta na desmineralização dos substratos dentários. A produção de ácidos pelos microrganismos presentes no biofilme bacteriano compromete o equilíbrio do processo de desmineralização e remineralização¹⁻³, resultando na destruição/dissolução da estrutura dentária. Por ser uma das doenças orais mais prevalentes⁴, a etiologia, prevenção, controle e tratamento da doença cárie deve ser estudada, a fim de identificar e investigar fatores e terapias que contribuam na diminuição de sua prevalência nas populações.

Aproximadamente 700 a 800 espécies de bactérias têm sido identificadas na microbiota oral, tornando a cavidade bucal o meio com maior diversidade microbiológica do corpo humano⁵. Essa complexidade propicia o desenvolvimento de biofilme devido a fatores como potencial hidrogeniônico (pH), localização dos dentes e tipo de substrato⁶. Idealmente, o biofilme e suas interações com fatores internos e externos são melhores estudados em seu ambiente natural.

Diferentes modelos de indução de cárie podem ser utilizados, os quais apresentam diferentes padrões de desenvolvimento da lesão de cárie⁷. O método químico utilizando gel/solução ácida^{8,9} ou solução tampão¹⁰ é comumente empregado no desenvolvimento de cárie artificial. Entretanto, esse método não é capaz de reproduzir o processo de desenvolvimento natural da cárie, como a presença de biofilme⁷. Para promover ambiente ácido e simular de maneira mais fidedigna às condições naturais do desenvolvimento da lesão de cárie¹¹, emprega-se o uso de microrganismos produtores de ácidos na indução de lesões artificiais. Conhecido como modelo biológico, sua utilização é pertinente devido à conhecida importância de alguns microrganismos, em especial o *Streptococcus mutans*, no desenvolvimento da cárie primária e cárie recorrente¹². Ainda mais fiel às condições naturais, o biofilme de microcosmo produzido a partir dos microrganismos presentes na saliva humana, possibilita alto número de espécies e interações entre elas¹³. Além do mais, modelos desse tipo permitem avaliar o efeito antimicrobiano ou anticariogênico de substâncias e/ou terapias ainda em testes iniciais¹⁴, em ambiente controlado e exposto a menor variabilidade.

O conceito de *odontologia minimamente invasiva* somado ao conhecimento atual sobre a doença cárie possibilitou a transformação do paradigma em relação ao

seu tratamento restaurador. Portanto, a preservação máxima de estrutura dentária hígida e passível de remineralização com o intuito de manter a integridade pulpar por meio da remoção parcial do tecido cariado, se tornou o tratamento restaurador de escolha¹⁵. Dessa forma, a otimização dos métodos convencionais de prevenção de cárie e o desenvolvimento de novas estratégias são fundamentais para a promoção da saúde bucal¹⁶.

Os métodos conservadores de tratamento de lesão de cárie preconizam a remoção da dentina infectada e preservação da dentina afetada, passível de remineralização¹⁷. Clinicamente, a diferenciação entre esses dois tipos de substratos dentinários é muito subjetiva, principalmente em lesões mais profundas. Tal limitação é capaz de promover a remoção excessiva e desnecessária do tecido afetado¹⁸. Um método alternativo à remoção mecânica e invasiva dos microrganismos presentes na lesão seria a possibilidade de erradicação ou redução dos patógenos com potencial cariogênico¹⁸.

A descontaminação cavitária têm sido proposta com o intuito de inibir o crescimento e proliferação bacteriana após a remoção seletiva de tecido cariado¹⁹. A substância antibacteriana mais utilizada para tal finalidade é a clorexidina¹⁹, que além de inibir a atividade bacteriana é capaz de inibir as metaloproteinases da matriz dentinária, prevenindo a degradação da camada híbrida e melhorando a adesão ao longo do tempo²⁰. No entanto, o uso da clorexidina como desinfetante cavitário está atrelado há alguns efeitos indesejáveis que restringem sua aplicação clínica. Xerostomia, alteração do paladar, descoloração da língua, descamação da mucosa, sensação de queimação, pigmentação do elemento dentário, aumento da formação de cálculo e desenvolvimento de reações alérgicas²¹⁻²⁴ são algumas das limitações relacionadas ao uso da clorexidina na prática clínica.

Considerando as limitações da clorexidina, a terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFDA) apresenta-se como uma opção promissora e viável como técnica antibacteriana sobre patógenos cariogênicos, principalmente em lesões profundas^{18,25-28}. A reação fotodinâmica é baseada na associação entre uma droga, conhecida como fotosensibilizador (FS), e uma fonte de luz em comprimento de onda específico capaz de levar a molécula do FS a um estado excitatório²⁹. A absorção dos fótons pelo FS induz uma série de reações envolvendo a formação de radicais livres e espécies reativas de oxigênio³⁰. Essas espécies altamente reativas são tóxicas e causam danos às proteínas, lipídios, ácido nucleico e outros componentes celulares

de microrganismos, assumindo papel importante no dano e morte celular dos mesmos³¹. Dessa forma, acredita-se que seja improvável que a TFDA promova resistência antibiótica das bactérias, já que nos microrganismos os radicais livres e espécies reativas de oxigênio interagem com várias estruturas celulares por meio de diferentes vias metabólicas^{1,32}. Além disso, esta técnica é altamente seletiva, pois apenas as células que interagem com o FS e são expostas à fonte de luz serão danificadas e levadas à morte celular^{33,34}. Sendo assim, a TFDA pode ser utilizada como uma estratégia de descontaminação cavitária sem promover resistência bacteriana e os efeitos indesejáveis da clorexidina.

Embora os lasers sejam muito utilizados para a sensibilização dos FS²⁶, os diodos emissores de luz (LED) representam uma fonte de luz alternativa e viável^{26,27}. Os dispositivos de luz LED têm como vantagens menor custo, tecnologia mais simples e possibilidade de serem configurados para diferentes funções²⁶.

Em geral, os FS são classificados como derivados ou não das porfirinas. Na odontologia, os FS mais utilizados são o azul de metileno e azul de toluidina. Recentemente, o composto fenólico natural curcumina, membro da família das curcuminoídes, tem apresentado grande potencial como FS devido ao seu potencial de absorver luz no espectro azul^{36,37}. Entretanto, ainda é pouco conhecido se os radicais livres liberados na reação fotodinâmica são capazes de afetar negativamente a interface adesiva³⁸ quando da restauração de cavidades com materiais adesivos após a remoção de tecido cariado.

As fresas de corte acopladas em instrumentos rotatórios são amplamente utilizadas na prática clínica para remover tecido cariado. No entanto, a remoção com fresa tende a promover remoção excessiva de tecido³⁹, dificultando uma abordagem conservadora por meio de uma remoção precisa e controlada. Considerando essas limitações, dispositivos que utilizam energia ultrassônica também podem ser utilizados para remover tecido cariado⁴⁰, apesar de poucos estudos relatarem seu uso e eficácia. Sendo assim, esse estudo apresenta um protótipo de aparelho ultrassônico descariador, com o intuito de permitir e facilitar a remoção conservadora do tecido cariado de maneira mais precisa.

Ainda no contexto da necessidade de uma abordagem conservadora e ao mesmo tempo que promova sucesso no tratamento da cárie, materiais bioativos como os biovidros tem sido utilizados como agentes dessensibilizantes e remineralizantes^{16,41}. Embora tenham sido inicialmente desenvolvidos para auxiliar e

melhorar a regeneração óssea⁴², a similaridade de composição entre o tecido ósseo e os tecidos duros do dente, levam a suposição de que os vidros bioativos podem ser eficientes na regeneração de esmalte e dentina⁴¹. Entretanto, a eficácia da remineralização e o tempo necessário para que isso ocorra, ainda necessitam de investigação⁴³.

Considerando o cenário exposto, não existem informações na literatura atual em relação ao uso de um dispositivo ultrassônico descariador com o intuito específico de promover a remoção conservadora do tecido cariado. Além disso, estudos prévios têm avaliado a eficácia da TFDA como agente antimicrobiano no tratamento de cárie^{18,26,27}. Adicionalmente, a eficácia da remineralização dos materiais bioativos⁴³ no tratamento de cárie e suas influências na adesão de materiais restauradores à dentina ainda necessitam de investigações. Dessa forma, esse estudo possibilita obter informações relevantes sobre a eficácia e viabilidade dos tratamentos/terapias empregadas, assim como pode ser capaz de encorajar a realização de ensaios clínicos futuros.

7 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos e nas limitações deste estudo, podemos concluir que:

- A remoção de lesões de cárie com dispositivo de ultrassom promoveu remoção conservadora, preservando a dentina afetada;
- A TFDA foi eficaz na inativação das bactérias residuais após a remoção, apresentando-se como uma opção segura e eficaz na descontaminação de lesões de cárie em dentina;
- A aplicação de vidros bioativos F-18 e 45S5 não foi capaz de promover remineralização significativa da dentina;
- A remoção com ultrassom, a aplicação de TFDA e de vidros bioativos não interferiram na resistência adesiva à dentina quando da utilização de sistema adesivo autocondicionante de dois passos;

REFERÊNCIAS*

1. Silva TC, Pereira AFF, Exterkate RAM, Bagnato VS, Buzalaf MAR, Machado MADAM, et al. Application of an active attachment model as a high-throughput demineralization biofilm model. *J Dent*. 2012; 40(1): 41–7.
2. Svensäter G, Borgström M, Bowden GHW, Edwardsson S. The acid-tolerant microbiota associated with plaque from initial caries and healthy tooth surfaces. *Caries Res*. 2003; 37(6): 395–403.
3. Van Houte J. Role of micro-organisms in caries etiology. *J Dent Res*. 1994; 73(3): 672–81.
4. Kassebaum NJ, Bernabé E, Dahiya M, Bhandari B, Murray CJL, Marcenes W. Global burden of untreated caries: a systematic review and metaregression. *J Dent Res*. 2015; 94(5): 650–8.
5. Philip N, Suneja B, Walsh L. Beyond *Streptococcus mutans*: clinical implications of the evolving dental caries aetiological paradigms and its associated microbiome. *Br Dent J*. 2018; 224(4): 219–25.
6. Bradshaw DJ, Marsh PD. Analysis of pH-driven disruption of oral microbial communities in vitro. *Caries Res*. 1998; 32(6): 456–62.
7. Pacheco LF, de Freitas ÉCB, Rodrigues E, Soares LES, Pascon FM, Correr-Sobrinho L, et al. Molecular and structural evaluation of dentin caries-like lesions produced by different artificial models. *Braz Dent J*. 2013; 24(6): 610–8.
8. Wierichs RJ, Stausberg S, Lausch J, Meyer-Lueckel H, Esteves-Oliveira M. Caries-preventive effect of NaF, NaF plus TCP, NaF plus CPP-ACP, and SDF varnishes on sound dentin and artificial dentin caries in vitro. *Caries Res*. 2018; 52(3): 199–211.
9. Moron BM, Comar LP, Wiegand A, Buchalla W, Yu H, Buzalaf MAR, et al. Different protocols to produce artificial dentine carious lesions in vitro and in situ: hardness and mineral content correlation. *Caries Res*. 2013; 47(2): 162–70.
10. ten Cate JM, Duijsters PP. Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions. *Caries Res*. 1982; 16(3): 201–10.
11. Marquezan M, Corrêa FNP, Sanabe ME, Rodrigues Filho LE, Hebling J, Guedes-Pinto AC, et al. Artificial methods of dentine caries induction: A hardness and morphological comparative study. *Arch Oral Biol*. 2009; 54(12): 1111–7.
12. Seemann R, Bizhang M, Klück I, Loth J, Roulet JF. A novel in vitro microbial-based model for studying caries formation - development and initial testing. *Caries Res*. 2005; 39(3): 185–90.

* De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver. Disponível no site da Biblioteca: <http://www.foar.unesp.br/Home/Biblioteca/guia-de-normalizacao-atualizado.pdf>

13. Souza BM de, Fernandes Neto C, Salomão PMA, Vasconcelos LRSM de, Andrade FB de, Magalhães AC, et al. Analysis of the antimicrobial and anti-caries effects of TiF₄ varnish under microcosm biofilm formed on enamel. *J Appl Oral Sci.* 2018; 26: e20170304.
14. Cavalcanti YW, Bertolini MM, da Silva WJ, Del-Bel-Cury AA, Tenuta LMA, Cury JA. A three-species biofilm model for the evaluation of enamel and dentin demineralization. *Biofouling.* 2014; 30(5): 579–88.
15. Banerjee A, Frencken JE, Schwendicke F, Innes NPT. Contemporary operative caries management: Consensus recommendations on minimally invasive caries removal. *Br Dent J.* 2017; 223(3): 215–22.
16. Tirapelli C, Panzeri H, Lara EHG, Soares RG, Peitl O, Zanotto ED. The effect of a novel crystallised bioactive glass-ceramic powder on dentine hypersensitivity: a long-term clinical study. *J Oral Rehabil.* 2011; 38(4): 253–62.
17. Banerjee A. Minimal intervention dentistry: Part 7. Minimally invasive operative caries management: Rationale and techniques. *Br Dent J.* 2013; 214(3): 107–11.
18. Diniz IMA, Horta ID, Azevedo CS, Elmadjian TR, Matos AB, Simionato MRL, et al. Antimicrobial photodynamic therapy: A promise candidate for caries lesions treatment. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2015; 12(3): 511–8.
19. Elkady DM, Khater AGA, Schwendicke F. Chlorhexidine to improve the survival of ART restorations: A systematic review and meta-analysis. *J Dent.* 2020; 103: 103491.
20. Breschi L, Maravic T, Comba A, Cunha SR, Loguercio AD, Reis A, et al. Chlorhexidine preserves the hybrid layer in vitro after 10-years aging. *Dent Mater.* 2020; 36(5): 672–80.
21. Brookes ZLS, Bescos R, Belfield LA, Ali K, Roberts A. Current uses of chlorhexidine for management of oral disease: a narrative review. *J Dent.* 2020; 103: 103497.
22. Zanatta FB, Antoniazzi RP, Rösing CK. Staining and calculus formation after 0.12% chlorhexidine rinses in plaque-free and plaque covered surfaces: a randomized trial. *J Appl Oral Sci.* 2010; 18(5): 515–21.
23. Tartaglia GM, Tadakamadla SK, Connelly ST, Sforza C, Martín C. Adverse events associated with home use of mouthrinses: a systematic review. *Ther Adv Drug Saf.* 2019; 10: 2042098619854881.
24. Van Strydonck DAC, Slot DE, Van Der Velden U, Van Der Weijden F. Effect of a chlorhexidine mouthrinse on plaque, gingival inflammation and staining in gingivitis patients: a systematic review. *J Clin Periodontol.* 2012; 39(11): 1042–55.
25. Zanin ICJ, Gonçalves RB, Junior AB, Hope CK, Pratten J. Susceptibility of *Streptococcus mutans* biofilms to photodynamic therapy: an in vitro study. *J Antimicrob Chemother.* 2005; 56(2): 324–30.

26. Giusti JSM, Santos-Pinto L, Pizzolito AC, Helmersen K, Carvalho-Filho E, Kurachi C, et al. Antimicrobial photodynamic action on dentin using a light-emitting diode light source. *Photomed Laser Surg.* 2008; 26(4): 281–7.
27. Araújo NC, Fontana CR, Bagnato VS, Gerbi MEM. Photodynamic antimicrobial therapy of curcumin in biofilms and carious dentine. *Lasers Med Sci.* 2014; 29(2): 629–35.
28. Di Poto A, Sbarra MS, Provenza G, Visai L, Speziale P. The effect of photodynamic treatment combined with antibiotic action or host defence mechanisms on *Staphylococcus aureus* biofilms. *Biomaterials.* 2009; 30(18): 3158–66.
29. Henderson BW, Dougherty TJ. How does photodynamic therapy work? *Photochem Photobiol.* 1992; 55(1): 145–57.
30. Santezi C, Reina BD, Dovigo LN. Curcumin-mediated photodynamic therapy for the treatment of oral infections - a review. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2018; 21: 409–15.
31. da Mota ACC, Leal CRL, Olivani S, Gonçalves MLL, de Oliveira VA, Pinto MM, et al. Case report of photodynamic therapy in the treatment of dental caries on primary teeth. *J Lasers Med Sci.* 2016; 7(2): 131–3.
32. Konopka K, Goslinski T. Photodynamic therapy in dentistry. *J Dent Res.* 2007; 86(8): 694–707.
33. Paschoal MA, Tonon CC, Spolidório DMP, Bagnato VS, Giusti JSM, Santos-Pinto L. Photodynamic potential of curcumin and blue LED against streptococcus mutans in a planktonic culture. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2013; 10(3): 313–9.
34. Pfitzner A, Sigusch BW, Albrecht V, Glockmann E. Killing of periodontopathogenic bacteria by photodynamic therapy. *J Periodontol.* 2004; 75(10): 1343–9.
35. O'Connor AE, Gallagher WM, Byrne AT. Porphyrin and nonporphyrin photosensitizers in oncology: Preclinical and clinical advances in photodynamic therapy. *Photochem Photobiol.* 2009; 85(5): 1053–74.
36. Carrera ET, Dias HB, Corbi SCT, Marcantonio RAC, Bernardi ACA, Bagnato VS, et al. The application of antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) in dentistry: a critical review. *Laser Phys.* 2016; 26(12): 1–23.
37. Araújo NC, Fontana CR, Gerbi MEM, Bagnato VS. Overall-mouth disinfection by photodynamic therapy using curcumin. *Photomed Laser Surg.* 2012; 30(2): 96–101.
38. Ramos ATPR, Garcia Belizário L, Venção AC, Fagundes Jordão-Basso KC, de Souza Rastelli AN, de Andrade MF, et al. Effects of photodynamic therapy on the adhesive interface of fiber posts cementation protocols. *J Endod.* 2018; 44(1): 173–8.
39. Banerjee A, Kidd EAM, Watson TF. In vitro evaluation of five alternative methods of carious dentine excavation. *Caries Res.* 2000; 34(2): 144–50.

40. Koubi S, Tassery H. Minimally invasive dentistry using sonic and ultra-sonic devices in ultraconservative class 2 restorations. *J Contemp Dent Pract.* 2008; 9(2): 155–65.
41. Tirapelli C. A novel bioactive glass-ceramic for treating dentin hypersensitivity. *Braz Oral Res.* 2010; 24(4): 381–7.
42. Hench LL. The story of Bioglass. *J Mater Sci Mater Med.* 2006; 17(11): 967–78.
43. Chinelatti MA, Tirapelli C, Milori SA, Jasinevicius RG, Peitl O, Zanotto ED. Effect of a bioactive glass ceramic on the control of enamel and dentin erosion lesions. *Braz Dent J.* 2017; 28(4): 489–97.
44. Black GV. Susceptibility and immunity in dental caries. *Dent Cosm.* 1899; 41: 826–30.
45. Rosier BT, De Jager M, Zaura E, Krom BP. Historical and contemporary hypotheses on the development of oral diseases: are we there yet? *Front Cell Infect Microbiol.* 2014; 4: 92.
46. Keyes PH. The infectious and transmissible nature of experimental dental caries. Findings and implications. *Arch Oral Biol.* 1960; 1(4): 304–20.
47. Tanzer JM. Dental caries is a transmissible infectious disease: the Keyes and Fitzgerald revolution. *J Dent Res.* 1995; 74(9): 1536–42.
48. Loesche WJ. Chemotherapy of dental plaque infections. *Oral Sci Rev.* 1976; 9: 65–107.
49. Beighton D. The complex oral microflora of high-risk individuals and groups and its role in the caries process. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2005; 33(4): 248–55.
50. Fejerskov O. Changing paradigms in concepts on dental caries: consequences for oral health care. *Caries Res.* 2004; 38(3): 182–91.
51. Marsh PD. Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. *Adv Dent Res.* 1994; 8(2): 263–71.
52. Pitts NB, Zero DT, Marsh PD, Ekstrand K, Weintraub JA, Ramos-Gomez F, et al. Dental caries. *Nat Rev Dis Prim.* 2017; 3: 17030.
53. MacHiulskiene V, Campus G, Carvalho JC, Dige I, Ekstrand KR, 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 Res.* 2020; 54(1): 7–14.
54. Tanner ACR, Kressirer CA, Faller LL. Understanding caries from the oral microbiome perspective. *J Calif Dent Assoc.* 2016; 44(7): 437–46.
55. Koo H, Bowen WH. *Candida albicans* and *Streptococcus mutans*: a potential synergistic alliance to cause virulent tooth decay in children. *Future Microbiol.* 2014; 9(12): 1295–7.

56. Takahashi N, Nyvad B. The role of bacteria in the caries process: ecological perspectives. *J Dent Res.* 2011; 90(3): 294-303.
57. Marsh PD, Head DA, Devine DA. Ecological approaches to oral biofilms: control without killing. *Caries Res.* 2015; 49: 46–54.
58. Colombo AP V, Tanner ACR. The role of bacterial biofilms in dental caries and periodontal and peri-implant diseases: a historical perspective. *J Dent Res.* 2019; 98(4): 373–85.
59. Schwendicke F, Frencken JE, Bjørndal L, Maltz M, Manton DJ, Ricketts D, et al. Managing carious lesions: consensus recommendations on carious tissue removal. *Adv Dent Res.* 2016; 28(2): 58–67.
60. Kidd EAM. How “clean” must a cavity be before restoration? *Caries Res.* 2004; 38(3): 305–13.
61. Black GV. The technical procedures in filling teeth. A work on operative dentistry. 2nd ed. Chicago: Medico-Dental Publishing; 1908.
62. Sato Y, Fusayama T. Removal of dentin by fuchsin staining. *J Dent Res.* 1976; 55(4): 678–83.
63. Kuboki Y, Liu CF, Fusayama T. Mechanism of differential staining in carious dentin. *J Dent Res.* 1983; 62(6): 713–4.
64. Aggarwal V, Singla M, Yadav S, Yadav H. The effect of caries excavation methods on the bond strength of etch-and-rinse and self-etch adhesives to caries affected dentine. *Aust Dent J.* 2013; 58(4): 454–60.
65. Ricketts D, Lamont T, Innes NP, Kidd E, Clarkson JE. Operative caries management in adults and children. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013; 2013(3): CD003808.
66. Banerjee A, Kellow S, Mannocci F, Cook RJ, Watson TF. An in vitro evaluation of microtensile bond strengths of two adhesive bonding agents to residual dentine after caries removal using three excavation techniques. *J Dent.* 2010; 38(6): 480–9.
67. Costa AR, Garcia-Godoy F, Correr-Sobrinho L, Naves LZ, Raposo LHA, de Carvalho FG, et al. Influence of different dentin substrate (Caries-affected, caries-infected, sound) on long-term μ TBS. *Braz Dent J.* 2017; 28(1): 16–23.
68. Li T, Zhai X, Song F, Zhu H. Selective versus non-selective removal for dental caries: a systematic review and meta-analysis. *Acta Odontol Scand.* 2018; 76(2): 135–40.
69. Frencken JE, Peters MC, Manton DJ, Leal SC, Gordan V V., Eden E. Minimal intervention dentistry for managing dental caries - a review: report of a FDI task group. *Int Dent J.* 2012; 62(5): 223–43.
70. Schwendicke F. Contemporary concepts in carious tissue removal: a review. *J Esthet Restor Dent.* 2017; 29(6): 403–8.

71. Ogawa K, Yamashita Y, Ichijo T, Fusayama T. The ultrastructure and hardness of the transparent of human carious dentin. *J Dent Res.* 1983; 62(1): 7–10.
72. Ngo HC, Mount G, Mc Intyre J, Tuisuva J, Von Doussa RJ. Chemical exchange between glass-ionomer restorations and residual carious dentine in permanent molars: an in vivo study. *J Dent.* 2006; 34(8): 608–13.
73. Fontana M. Limited evidence for main reason for failure of partially excavated and restored teeth. *Evid Based Dent.* 2014; 15(1): 16–7.
74. Schwendicke F, Dörfer CE, Paris S. Incomplete caries removal: a systematic review and meta-analysis. *J Dent Res.* 2013; 92(4): 306–14.
75. Maltz M, Koppe B, Jardim JJ, Alves LS, de Paula LM, Yamaguti PM, et al. Partial caries removal in deep caries lesions: a 5-year multicenter randomized controlled trial. *Clin Oral Investig.* 2018; 22(3): 1337–43.
76. Jardim JJ, Mestrinho HD, Koppe B, de Paula LM, Alves LS, Yamaguti PM, et al. Restorations after selective caries removal: 5-year randomized trial. *J Dent.* 2020; 99: 103416.
77. Barros MMAF, De Queiroz Rodrigues MI, Muniz FWMG, Rodrigues LKA. Selective, stepwise, or nonselective removal of carious tissue: which technique offers lower risk for the treatment of dental caries in permanent teeth? A systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Investig.* 2020;24(2):521–32.
78. Bjørndal L, Larsen T. Changes in the cultivable flora in deep carious lesions following a stepwise excavation procedure. *Caries Res.* 2000; 34(6): 502–8.
79. Bjørndal L. Indirect pulp therapy and stepwise excavation. *J Endod.* 2008; 34(7 Suppl.): 29–33.
80. Maltz M, Garcia R, Jardim JJ, De Paula LM, Yamaguti PM, Moura MS, et al. Randomized trial of partial vs. stepwise caries removal: 3-year follow-up. *J Dent Res.* 2012; 91(11): 1026–31.
81. Hoefler V, Nagaoka H, Miller CS. Long-term survival and vitality outcomes of permanent teeth following deep caries treatment with step-wise and partial-caries-removal: a systematic review. *J Dent.* 2016; 54: 25–32.
82. Maltz M, de Oliveira EF, Fontanella V, Bianchi R. A clinical, microbiologic, and radiographic study of deep caries lesions after incomplete caries removal. *Quintessence Int.* 2002; 33(2): 151–9.
83. Erhardt M, Toledano M, Osorio R, Pimenta L. Histomorphologic characterization and bond strength evaluation of caries-affected dentin/resin interfaces: effects of long-term water exposure. *Dent Mater.* 2008; 24(6): 786–98.
84. Nicoloso G, Antoniazzi B, Lenzi T, Soares F, Rocha R. The bonding performance of a universal adhesive to artificially-created caries-affected dentin. *J Adhes Dent.* 2017; 19(4): 317–21.

85. Lenzi T, Soares F, Raggio D, Pereira G, Rocha R. Dry-bonding etch-and-rinse strategy improves bond longevity of a universal adhesive to sound and artificially-induced caries-affected primary dentin. *J Adhes Dent*. 2016; 18(6): 475–82.
86. Tang G, Yip HK, Cutress TW, Samaranayake LP. Artificial mouth model systems and their contribution to caries research: a review. *J Dent*. 2003; 31(3): 161–71.
87. McBain AJ. Chapter 4 in vitro biofilm models. an overview. *Adv Appl Microbiol*. 2009; 69: 99–132.
88. Sim CPC, Dashper SG, Reynolds EC. Oral microbial biofilm models and their application to the testing of anticariogenic agents. *J Dent*. 2016; 50: 1–11.
89. De Campos PH, Sanabe ME, Rodrigues JA, Duarte DA, Santos MTBR, Guaré RO, et al. Different bacterial models for in vitro induction of non-cavitated enamel caries-like lesions: microhardness and polarized light microscopy analyses. *Microsc Res Tech*. 2015; 78(6): 444–51.
90. Exterkate RAM, Crielaard W, Ten Cate JM. Different response to amine fluoride by *Streptococcus mutans* and polymicrobial biofilms in a novel high-throughput active attachment model. *Caries Res*. 2010; 44(4): 372–9.
91. de Carvalho FG, de Fucio SBP, Sinhoreti MAC, Correr-Sobrinho L, Puppini-Rontani RM. Confocal laser scanning microscopic analysis of the depth of dentin caries-like lesions in primary and permanent teeth. *Braz Dent J*. 2008; 19(2): 139–44.
92. Maske TT, van de Sande FH, Arthur RA, Huysmans MCDNJM, Cenci MS. In vitro biofilm models to study dental caries: a systematic review. *Biofouling*. 2017; 33(8): 661–75.
93. Higham SM, Pretty IA, Edgar WM, Smith PW. The use of in situ models and QLF for the study of coronal caries. *J Dent*. 2005; 33(3 spec iss): 235–41.
94. Arends J, ten Bosch JJ. Demineralization and remineralization evaluation techniques. *J Dent Res*. 1992; 71(Spec No): 924–8.
95. Torres CP, Miranda Gomes-Silva J, Menezes-Oliveira MAH, Silva Soares LE, Palma-Dibb RG, Borsatto MC. FT-Raman spectroscopy, μ -EDXRF spectrometry, and microhardness analysis of the dentin of primary and permanent teeth. *Microsc Res Tech*. 2018; 81(5): 509–14.
96. Giardino L, Del Fabbro M, Cesario F, Fernandes FS, Andrade FB. Antimicrobial effectiveness of combinations of oxidant and chelating agents in infected dentine: an ex vivo confocal laser scanning microscopy study. *Int Endod J*. 2018; 51(4): 448–56.
97. Mazzoni A, Tjäderhane L, Checchi V, Di Lenarda R, Salo T, Tay FR, et al. Role of dentin MMPs in caries progression and bond stability. *J Dent Res*. 2015; 94(2): 241–51.

98. Oliveira-Reis B, Maluly-Proni A, Fagundes T, Vasconcelos G, Bresciani E, Prakki A, et al. Influence of protease inhibitors on the degradation of sound, sclerotic and caries-affected demineralized dentin. *J Mech Behav Biomed Mater.* 2019; 97: 1–6.
99. Banerjee A, Cook R, Kellow S, Shah K, Festy F, Sherriff M, et al. A confocal micro-endoscopic investigation of the relationship between the microhardness of carious dentine and its autofluorescence. *Eur J Oral Sci.* 2010; 118(1): 75–9.
100. Alturki M, Koller G, Warburton F, Almhöjd U, Banerjee A. Biochemical characterisation of carious dentine zones using Raman spectroscopy. *J Dent.* 2021; 105: 103558.
101. Soares L, do Espírito Santo AM, Junior A, Zanin F, da Silva Carvalho C, de Oliveira R, et al. Effects of Er:YAG laser irradiation and manipulation treatments on dentin components, part 1: Fourier transform-Raman study. *J Biomed Opt.* 2009; 14(2): 024001.
102. Celiberti P, Francescut P, Lussi A. Performance of four dentine excavation methods in deciduous teeth. *Caries Res.* 2006;40(2):117–23.
103. Neves AA, Coutinho E, De Munck J, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Does DIAGNOdent provide a reliable caries-removal endpoint? *J Dent.* 2011; 39(5): 351–60.
104. Ferraz C, Freire AR, Mendonça JS, Fernandes CAO, Cardona JC, Yamauti M. Effectiveness of different mechanical methods on dentin caries removal: micro-CT and digital image evaluation. *Oper Dent.* 2015; 40(3): 263–70.
105. Neves ADA, Coutinho E, De Munck J, Van Meerbeek B. Caries-removal effectiveness and minimal-invasiveness potential of caries-excitation techniques: a micro-CT investigation. *J Dent.* 2011; 39(2): 154–62.
106. Neuhaus KW, Ciucchi P, Donnet M, Lussi A. Removal of enamel caries with an air abrasion powder. *Oper Dent.* 2010; 35(5): 538–46.
107. Motisuki C, Lima LM, Bronzi ES, Spolidorio DMP, Santos-Pinto L. The effectiveness of alumina powder on carious dentin removal. *Oper Dent.* 2006; 31(3): 371–6.
108. Silva NRFA, Carvalho RM, Pegoraro LF, Tay FR, Thompson VP. Evaluation of a self-limiting concept in dentinal caries removal. *J Dent Res.* 2006; 85(3): 282–6.
109. Boston DW. New device for selective dentin caries removal. *Quintessence Int.* 2003; 34(9): 678–85.
110. Yip HK, Samaranayake LP. Caries removal techniques and instrumentation: a review. *Clin Oral Investig.* 1998; 2(4): 148–54.
111. Crawford PR. The birth of the bur (and how a Canadian changed it all). *J Can Dent Assoc.* 1990; 56(2): 123–6.

112. De Almeida Neves A, Coutinho E, Cardoso MV, Lambrechts P, Van Meerbeeke B. Current concepts and techniques for caries excavation and adhesion to residual dentin. *J Adhes Dent*. 2011; 13(1): 7–22.
113. Yazici AR, Özgünaltay G, Dayangaç B. A scanning electron microscopic study of different caries removal techniques on human dentin. *Oper Dent*. 2002; 27(4): 360–6.
114. Allen KL, Salgado TL, Janal MN, Thompson VP. Removing carious dentin using a polymer instrument without anesthesia versus a carbide bur with anesthesia. *J Am Dent Assoc*. 2005; 136(5): 643–51.
115. Dammaschke T, Rodenberg TN, Schäfer E, Ott KHR. Efficiency of the polymer bur SmartPrep compared with conventional tungsten carbide bur in dentin caries excavation. *Oper Dent*. 2006; 31(2): 256–60.
116. Goldman M, Kronman J. Preliminary report on a chemo-mechanical means of removing caries. *J Am Dent Assoc*. 1976; 93: 1149–53.
117. Tonami K, Araki K, Mataka S, Kurosaki N. Effects of chloramines and sodium hypochlorite on carious dentin. *J Med Dent Sci*. 2003; 50(2): 139–46.
118. Beeley JA, Yip HK, Stevenson AG. Chemo-mechanical caries removal: A review of the techniques and latest developments. *Br Dent J*. 2000; 188(8): 427–30.
119. Barwart O, Moschen I, Graber A, Pfaller K. In-vitro study to compare the efficacy of N-monochloro-D,L-2-aminobutyrate (NMAB, GK-101E) and water in caries removal. *J Oral Rehabil*. 1991; 18(6): 523–9.
120. Gulzar S, Arora R, Shah AH, Bhardwaj B, Abusalim G, Khalil HS, et al. Antibacterial activity of two chemomechanical caries removal gels on carious dentin of primary teeth: an in vitro Study. *J Contemp Dent Pr*. 2016; 17(12): 1027–32.
121. Cardoso M, Coelho A, Lima R, Amaro I, Paula A, Marto CM, et al. Efficacy and patient's acceptance of alternative methods for caries removal—a systematic review. *J Clin Med*. 2020; 9(11): 3407.
122. Ericson D, Zimmerman M, Raber H, Götrick B, Bornstein R, Thorell J. Clinical evaluation of efficacy and safety of a new method for chemo-mechanical removal of caries: a multi-centre Study. *Caries Res*. 1999; 33(3): 171–7.
123. Yazici AR, Atilla P, Özgünaltay G, Müftüoğlu S. In vitro comparison of the efficacy of Carisolv™ and conventional rotary instrument in caries removal. *J Oral Rehabil*. 2003; 30(12): 1177–82.
124. Lager A, Thornqvist E, Ericson D. Cultivable bacteria in dentine after caries excavation using rose-bur or carisolv. *Caries Res*. 2003; 37(3): 206–11.
125. Paolinelis G, Watson TF, Banerjee A. Microhardness as a predictor of sound and carious dentine removal using alumina air abrasion. *Caries Res*. 2006; 40(4): 292–5.

126. Paolinelis G, Banerjee A, Watson TF. An in vitro investigation of the effect and retention of bioactive glass air-abrasive on sound and carious dentine. *J Dent.* 2008; 36(3): 214–8.
127. Chen YL, Chang HH, Chiang YC, Lin CP. Application and development of ultrasonics in dentistry. *J Formos Med Assoc.* 2013; 112(11): 659–65.
128. Cianetti S, Abraha I, Pagano S, Lupatelli E, Lombardo G. Sonic and ultrasonic oscillating devices for the management of pain and dental fear in children or adolescents that require caries removal: a systematic review. *BMJ Open.* 2018; 8(4): e020840.
129. Sheets CG, Paquette JM. Ultrasonic tips for conservative restorative dentistry. *Dent Today.* 2002; 21(10): 102–4.
130. Van Meerbeek B, Munck J De, Mattar D, Landuyt K Van, Lambrechts P. Microtensile bond strengths of an etch&rinse and self-etch adhesive to enamel and dentin as a function of surface treatment. *Oper Dent.* 2003; 28(5): 647–60.
131. Banerjee A, Kidd EAM, Watson TF. Scanning electron microscopic observations of human dentine after mechanical caries excavation. *J Dent.* 2000; 28(3): 179–86.
132. Hugo B, Stassinakis A. Preparation and restoration of small interproximal carious lesions with sonic instruments. *Pract Periodontics Aesthet Dent.* 1998; 10(3): 353–9.
133. Liebenberg WH. Sonicsys approx: an innovative addition to the restorative continuum. *Pract Periodontics Aesthet Dent.* 1998; 10(7): 913–22.
134. Laird WRE, Walmsley AD. Ultrasound in dentistry. Part 1-biophysical interactions. *J Dent.* 1991; 19(1): 14–7.
135. Vanderlei AD, Borges ALS, Cavalcanti BN, Rode SM. Ultrasonic versus high-speed cavity preparation: Analysis of increases in pulpal temperature and time to complete preparation. *J Prosthet Dent.* 2008; 100(2): 107–9.
136. Banerjee A, Watson TF, Kidd EAM. Dentine caries excavation: a review of current clinical techniques. *Br Dent J.* 2000; 188(9): 476–82.
137. Krejci I, Dietschi D, Lutz FU. Principles of proximal cavity preparation and finishing with ultrasonic diamond tips. *Pract Periodontics Aesthet Dent.* 1998; 10(3): 295–8.
138. Antonio AG, Primo LG, Maia LC. Case report: ultrasonic cavity preparation – an alternative approach for caries removal in paediatric dentistry. *Eur J Paediatr Dent.* 2005; 6(2): 105–8.
139. Ntovas P, Doukoudakis S, Tzoutzas J, Lagouvardos P. Evidence provided for the use of oscillating instruments in restorative dentistry: a systematic review. *Eur J Dent.* 2017; 11(2): 268–72.

140. Davey ME, O'toole GA. Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2000; 64(4): 847–67.
141. Balhaddad AA, Melo MAS, Gregory RL. Inhibition of nicotine-induced *Streptococcus mutans* biofilm formation by salts solutions intended for mouthrinses. *Restor Dent Endod.* 2019; 44(1): e4.
142. Karygianni L, Ren Z, Koo H, Thurnheer T. Biofilm matrixome: extracellular components in structured microbial communities. *Trends Microbiol.* 2020; 28(8): 668–81.
143. 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.
144. Zhan L. Rebalancing the caries microbiome dysbiosis: targeted treatment and sugar alcohols. *Adv Dent Res.* 2018; 29(1): 110–6.
145. Banas JA. Virulence properties of *Streptococcus mutans*. *Front Biosci.* 2004; 9: 1267–77.
146. Napimoga MH, Höfling JF, Klein MI, Kamiya RU, Gonçalves RB. Transmission, diversity and virulence factors of *Streptococcus mutans* genotypes. *J Oral Sci.* 2005; 47(2): 59–64.
147. Cvitkovitch DG, Senadheera D. Quorum sensing and biofilm formation by *Streptococcus mutans*. *Adv Exp Med Biol.* 2008; 631: 178–88.
148. Klein MI, Hwang G, Santos PHS, Campanella OH, Koo H. *Streptococcus mutans*-derived extracellular matrix in cariogenic oral biofilms. *Front Cell Infect Microbiol.* 2015; 5: 10.
149. Koo H, Xiao J, Klein MI, Jeon JG. Exopolysaccharides produced by *Streptococcus mutans* glucosyltransferases modulate the establishment of microcolonies within multispecies biofilms. *J Bacteriol.* 2010; 192(12): 3024–32.
150. Splieth CH, Kanzow P, Wiegand A, Schmoeckel J, Jablonski-Momeni A. How to intervene in the caries process: proximal caries in adolescents and adults—a systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Investig.* 2020; 24(5): 1623–36.
151. Silva Teófilo MÍ, de Carvalho Russi TMAZ, de Barros Silva PG, Balhaddad AA, Melo MAS, Rolim JPML. The impact of photosensitizer selection on bactericidal efficacy of PDT against cariogenic biofilms: a systematic review and meta-analysis. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2021; 33: 102046.
152. Cieplik F, Buchalla W, Hellwig E, Al-Ahmad A, Hiller KA, Maisch T, et al. Antimicrobial photodynamic therapy as an adjunct for treatment of deep carious lesions—a systematic review. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2017; 18: 54–62.
153. Melo MAS, De-Paula DM, Lima JPM, Borges FMC, Steiner-Oliveira C, Nobre-dos-Santos M, et al. In vitro photodynamic antimicrobial chemotherapy in dentine contaminated by cariogenic bacteria. *Laser Phys.* 2010; 20(6): 1504–13.

154. Tappeiner H von. Die photodynamische Erscheinung (Sensibilisierung durch fluoreszierende Stoffe). *Ergebn Physiol.* 1909; 8: 698–741.
155. Cieplik F, Deng D, Crielaard W, Buchalla W, Hellwig E, Al-Ahmad A, et al. Antimicrobial photodynamic therapy—what we know and what we don't. *Crit Rev Microbiol.* 2018; 44(5): 571–89.
156. Wainwright M, Maisch T, Nonell S, Plaetzer K, Almeida A, Tegos GP, et al. Photoantimicrobials—are we afraid of the light? *Lancet Infect Dis.* 2017; 17(2): e49–55.
157. Kwiatkowski S, Knap B, Przystupski D, Saczko J, Kędzierska E, Knap-Czop K, et al. Photodynamic therapy – mechanisms, photosensitizers and combinations. *Biomed Pharmacother.* 2018; 106: 1098–107.
158. Rkein AM, Ozog DM. Photodynamic therapy. *Dermatol Clin.* 2014; 32(3): 415–25.
159. Raghavendra M, Koregol A, Bholá S. Photodynamic therapy: a targeted therapy in periodontics. *Aust Dent J.* 2009; 54 Suppl 1: S102-9.
160. M. Scherer K, H. Bisby R, W. Botchway S, W. Parker A. New approaches to photodynamic therapy from types I, II and III to type IV using one or more photons. *Anticancer Agents Med Chem.* 2016; 17(2): 171–89.
161. Maisch T, Baier J, Franz B, Maier M, Landthaler M, Szeimies RM, et al. The role of singlet oxygen and oxygen concentration in photodynamic inactivation of bacteria. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007; 104(17): 7223–8.
162. Alves E, Faustino MAF, Neves MGPMS, Cunha A, Tome J, Almeida A. An insight on bacterial cellular targets of photodynamic inactivation. *Future Med Chem.* 2014; 6(2): 141–64.
163. Da M, Baptista S, Cadet J, Mascio P Di, Ghogare AA, Greer A, et al. Type I and II photosensitized oxidation reactions: guidelines and mechanistic pathways † HHS Public Access. *Photochem Photobiol.* 2017; 93(4): 912–9.
164. Mello R, Martínez-Ferrer J, Alcalde-Aragonés A, Varea T, Acerete R, González-Núñez ME, et al. Reactions at interfaces: Oxygenation of n-butyl ligands anchored on silica surfaces with methyl(trifluoromethyl)dioxirane. *J Org Chem.* 2011; 76(24): 10129–39.
165. Ghorbani J, Rahban D, Aghamiri S, Teymouri A, Bahador A. Photosensitizers in antibacterial photodynamic therapy: an overview. *Laser Ther.* 2018; 27(4): 293–302.
166. Zhu Z, Tang Z, Phillips JA, Yang R, Wang H, Tan W. Regulation of singlet oxygen generation using single-walled carbon nanotubes. *J Am Chem Soc.* 2008; 130(33): 10856–7.
167. Zhu TC, Finlay JC. The role of photodynamic therapy (PDT) physics. *Med Phys.* 2008; 35(7): 3127–36.

168. Demidova TN, Hamblin MR. Effect of cell-photosensitizer binding and cell density on microbial photoinactivation. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005; 49(6): 2329–35.
169. Dovigo LN, Carmello JC, De Souza Costa CA, Vergani CE, Brunetti IL, Bagnato VS, et al. Curcumin-mediated photodynamic inactivation of *Candida albicans* in a murine model of oral candidiasis. *Med Mycol.* 2013; 51(3): 243–51.
170. Azizi A, Shohrati P, Goudarzi M, Lawaf S, Rahimi A. Comparison of the effect of photodynamic therapy with curcumin and methylene Blue on streptococcus mutans bacterial colonies. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2019; 27: 203–9.
171. Gursoy H, Ozcakil-Tomruk C, Tanalp J, Yilmaz S. Photodynamic therapy in dentistry: a literature review. *Clin Oral Investig.* 2013; 17(4): 1113–25.
172. Araújo NC, De Menezes RF, Carneiro VSM, Dos Santos-Neto AP, Fontana CR, Bagnato VS, et al. Photodynamic inactivation of cariogenic pathogens using curcumin as photosensitizer. *Photomed Laser Surg.* 2017; 35(5): 259–63.
173. Lavaee F, Amanati A, Ramzi M, Naseri S, Shakiba Sefat H. Evaluation of the effect of photodynamic therapy on chemotherapy induced oral mucositis. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2020; 30: 101653.
174. Stasio D Di, Romano A, Gentile C, Maio C, Lucchese A, Serpico R, et al. Systemic and topical photodynamic therapy (PDT) on oral mucosa lesions: an overview. *J Biol Regul Homeost Agents.* 2018; 32(2 Suppl 1): 123–6.
175. Lotufo MA, Tempestini Horliana ACR, Santana T, de Queiroz AC, Gomes AO, Motta LJ, et al. Efficacy of photodynamic therapy on the treatment of herpes labialis: A systematic review. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2020; 29: 101536.
176. Jin X, Xu H, Deng J, Dan H, Ji P, Chen Q, et al. Photodynamic therapy for oral potentially malignant disorders. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2019; 28: 146–52.
177. Bitello-Firmino L, Soares VK, Damé-Teixeira N, Parolo CCF, Maltz M. Microbial load after selective and complete caries removal in permanent molars: a randomized clinical trial. *Braz Dent J.* 2018; 29(3): 290–5.
178. Simón-Soro A, Belda-Ferre P, Cabrera-Rubio R, Alcaraz LD, Mira A. A tissue-dependent hypothesis of dental caries. *Caries Res.* 2013; 47(6): 591–600.
179. Paddick JS, Brailsford SR, Kidd EA, Beighton D. Phenotypic and genotypic selection of microbiota surviving under dental restorations. *Appl Environ Microbiol.* 2005; 71(5): 2467–72.
180. Alrahlah A, Niaz MO, Abrar E, Vohra F, Rashid H. Treatment of caries affected dentin with different photosensitizers and its effect on adhesive bond integrity to resin composite. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2020; 31: 101865.
181. Alrahlah A, Naseem M, Tanveer SA, Abrar E, Charania A, AIRifaiy MQ, et al. Influence of disinfection of caries effected dentin with different concentration of silver diamine fluoride, curcumin and Er, Cr:YSGG on adhesive bond strength to resin composite. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2020; 32: 102065.

182. de Oliveira AB, Ferrisse TM, Marques RS, de Annunzio SR, Brighenti FL, Fontana CR. Effect of photodynamic therapy on microorganisms responsible for dental caries: a systematic review and meta-analysis. *Int J Mol Sci.* 2019; 20(14): 3585.
183. De Freitas MTM, Soares TT, Aragão MGB, Lima RA, Duarte S, Zanin ICJ. Effect of photodynamic antimicrobial chemotherapy on mono- and multi-species cariogenic biofilms: a literature review. *Photomed Laser Surg.* 2017; 35(5): 239–45.
184. Abrahamse H, Hamblin MR. New photosensitizers for photodynamic therapy. *Biochem J.* 2016; 473(4): 347–64.
185. Allison RR, Sibata CH. Oncologic photodynamic therapy photosensitizers: a clinical review. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2010; 7(2): 61–75.
186. Dovigo LN, Pavarina AC, Ribeiro APD, Brunetti IL, Costa CA de S, Jacomassi DP, et al. Investigation of the photodynamic effects of curcumin against *Candida albicans*. *Photochem Photobiol.* 2011; 87(4): 895–903.
187. Dovigo LN, Pavarina AC, Carmello JC, MacHado AL, Brunetti IL, Bagnato VS. Susceptibility of clinical isolates of *Candida* to photodynamic effects of curcumin. *Lasers Surg Med.* 2011; 43(9): 927–34.
188. Araújo NC, Fontana CR, Bagnato VS, Gerbi MEM. Photodynamic effects of curcumin against cariogenic pathogens. *Photomed Laser Surg.* 2012; 30(7): 393–9.
189. Paschoal MA, Lin M, Santos-Pinto L, Duarte S. Photodynamic antimicrobial chemotherapy on *Streptococcus mutans* using curcumin and toluidine blue activated by a novel LED device. *Lasers Med Sci.* 2015; 30(2): 885–90.
190. Khorsandi K, Hosseinzadeh R, Shahidi FK. Photodynamic treatment with anionic nanoclays containing curcumin on human triple-negative breast cancer cells: cellular and biochemical studies. *J Cell Biochem.* 2019; 120(4): 4998–5009.
191. Priyadarsini KI. The chemistry of curcumin: From extraction to therapeutic agent. *Molecules.* 2014; 19(12): 20091–112.
192. Schiborr C, Kocher A, Behnam D, Jandasek J, Toelstede S, Frank J. The oral bioavailability of curcumin from micronized powder and liquid micelles is significantly increased in healthy humans and differs between sexes. *Mol Nutr Food Res.* 2014; 58(3): 516–27.
193. Liu H, Liang Y, Wang L, Tian L, Song R, Han T, et al. In vivo and in vitro suppression of hepatocellular carcinoma by EF24, a curcumin analog. *PLoS One.* 2012; 7(10): e48075.
194. Bachmeier BE, Mohrenz I V., Mirisola V, Schleicher E, Romeo F, Höhneke C, et al. Curcumin downregulates the inflammatory cytokines CXCL1 and -2 in breast cancer cells via NFκB. *Carcinogenesis.* 2008; 29(4): 779–89.
195. Jayaprakasha GK, Jaganmohan Rao L, Sakariah KK. Antioxidant activities of curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin. *Food Chem.* 2006; 98(4): 720–4.

196. Haukvik T, Bruzell E, Kristensen S, Tønnesen HH. Photokilling of bacteria by curcumin in selected polyethylene glycol 400 (PEG 400) preparations. *Studies on curcumin and curcuminoids, XLI. Pharmazie.* 2010; 65(8): 600–6.
197. Kaminaga Y, Nagatsu A, Akiyama T, Sugimoto N, Yamazaki T, Maitani T, et al. Production of unnatural glucosides of curcumin with drastically enhanced water solubility by cell suspension cultures of *Catharanthus roseus*. *FEBS Lett.* 2003; 555(2): 311–6.
198. Krausz AE, Adler BL, Cabral V, Navati M, Doerner J, Charafeddine RA, et al. Curcumin-encapsulated nanoparticles as innovative antimicrobial and wound healing agent. *Nanomedicine.* 2015; 11(1): 195–206.
199. Priyadarsini KI. Photophysics, photochemistry and photobiology of curcumin: Studies from organic solutions, bio-mimetics and living cells. *J Photochem Photobiol C Photochem Rev.* 2009; 10(2): 81–95.
200. Cozzolino M, Delcanale P, Montali C, Tognolini M, Giorgio C, Corrado M, et al. Enhanced photosensitizing properties of protein bound curcumin. *Life Sci.* 2019; 233: 116710.
201. Duse L, Agel MR, Pinnapireddy SR, Schäfer J, Selo MA, Ehrhardt C, et al. Photodynamic therapy of ovarian carcinoma cells with curcumin-loaded biodegradable polymeric nanoparticles. *Pharmaceutics.* 2019; 11(6) :282.
202. Fonseca-Santos B, Bonifácio BV, Baub TM, Gremião MPD, Chorilli M. In-situ gelling liquid crystal mucoadhesive vehicle for curcumin buccal administration and its potential application in the treatment of oral candidiasis. *J Biomed Nanotechnol.* 2019; 16(6): 1334–44.
203. Fonseca-Santos B, dos Santos AM, Rodero CF, Daflon Gremião MP, Chorilli M. Design, characterization, and biological evaluation of curcumin-loaded surfactant-based systems for topical drug delivery. *Int J Nanomedicine.* 2016; 11: 4553–62.
204. Dantas Lopes dos Santos D, Besegato JF, de Melo PBG, Oshiro Junior JA, Chorilli M, Deng D, et al. Curcumin-loaded Pluronic® F-127 micelles as a drug delivery system for curcumin-mediated photodynamic therapy for oral application. *Photochem Photobiol.* 2021; 97(5): 1072–88.
205. Kabanov A V, Batrakova E V, Alakhov VY. Pluronic block copolymers as novel polymer therapeutics for drug and gene delivery. *J Control Release.* 2002; 82(2–3): 189–212.
206. Al Khateb K, Ozhmukhametova EK, Mussin MN, Seilkhanov SK, Rakhypbekov TK, Lau WM, et al. In situ gelling systems based on Pluronic F127/Pluronic F68 formulations for ocular drug delivery. *Int J Pharm.* 2016; 502(1–2): 70–9.
207. Armstrong S, Geraldeli S, Maia R, Raposo LH, Soares CJ, Yamagawa J. Adhesion to tooth structure: a critical review of “micro” bond strength test methods. *Dent Mater.* 2010; 26(2): 50–62.

208. Alshahrani A, Abrar E, Maawadh AM, Al-Hamdan RS, Almohareb T, AlFawaz Y, et al. Management of caries affected dentin (CAD) with resin modified glass ionomer cement (RMGIC) in the presence of different caries disinfectants and photosensitizers. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2020; 32: 101978.
209. Al Deeb L, Bin-Shuwaish MS, Abrar E, Naseem M, Al-Hamdan RS, Maawadh AM, et al. Efficacy of chlorhexidine, Er Cr YSGG laser and photodynamic therapy on the adhesive bond integrity of caries affected dentin. An in-vitro study. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2020; 31: 101875.
210. Hench LL. Chronology of bioactive glass development and clinical applications. *New J Glas Ceram.* 2013; 03(02): 67–73.
211. Jones JR. Review of bioactive glass: from Hench to hybrids. *Acta Biomater.* 2013; 9(1): 4457–86.
212. Krishnan V, Lakshmi T. Bioglass: a novel biocompatible innovation. *J Adv Pharm Technol Res.* 2013; 4(2): 78–83.
213. Fernando D, Attik N, Pradelle-Plasse N, Jackson P, Grosogoeat B, Colon P. Bioactive glass for dentin remineralization: a systematic review. *Mater Sci Eng C.* 2017; 76: 1369–77.
214. Zhao J, Liu Y, Sun W Bin, Zhang H. Amorphous calcium phosphate and its application in dentistry. *Chem Cent J.* 2011; 5: 40.
215. Combes C, Rey C. Amorphous calcium phosphates: synthesis, properties and uses in biomaterials. *Acta Biomater.* 2010; 6(9): 3362–78.
216. Tschoppe P, Zandim DL, Martus P, Kielbassa AM. Enamel and dentine remineralization by nano-hydroxyapatite toothpastes. *J Dent.* 2011; 39(6): 430–7.
217. Yoshikawa H, Myoui A. Bone tissue engineering with porous hydroxyapatite ceramics. *J Artif Organs.* 2005; 8(3): 131–6.
218. Venkatesan J, Kim SK. Nano-hydroxyapatite composite biomaterials for bone tissue engineering - a review. *J Biomed Nanotechnol.* 2014; 10(10): 3124–40.
219. Niu LN, Zhang W, Pashley DH, Breschi L, Mao J, Chen JH, et al. Biomimetic remineralization of dentin. *Dent Mater.* 2014; 30(1): 77–96.
220. Niu LN, Jiao K, Wang T Da, Zhang W, Camilleri J, Bergeron BE, et al. A review of the bioactivity of hydraulic calcium silicate cements. *J Dent.* 2014; 42(5): 517–33.
221. Han L, Okiji T. Bioactivity evaluation of three calcium silicate-based endodontic materials. *Int Endod J.* 2013; 46(9): 808–14.
222. Crovace MC, Souza MT, Chinaglia CR, Peitl O, Zanotto ED. Biosilicate® — a multipurpose, highly bioactive glass-ceramic. In vitro, in vivo and clinical trials. *J Non Cryst Solids.* 2016; 432: 90–110.
223. Jia W, Lau GY, Huang W, Zhang C, Tomsia AP, Fu Q. Bioactive glass for large bone repair. *Adv Healthc Mater.* 2015; 4(18): 2842–8.

224. Schepers E, Clercq M DE, Ducheyne P, Kempeneers R. Bioactive glass particulate material as a filler for bone lesions. *J Oral Rehabil.* 1991; 18(5): 439–52.
225. Braem A, Mattheys T, Neirinck B, Čeh M, Novak S, Schrooten J, et al. Bioactive glass-ceramic coated titanium implants prepared by electrophoretic deposition. *Mater Sci Eng C.* 2012; 32(8): 2267–73.
226. Van Oirschot BAJA, Alghamdi HS, Närhi TO, Anil S, Al Farraj Aldosari A, Van den Beucken JJJP, et al. In vivo evaluation of bioactive glass-based coatings on dental implants in a dog implantation model. *Clin Oral Implants Res.* 2014; 25(1): 21–8.
227. Lin Y, Xiao W, Bal BS, Rahaman MN. Effect of copper-doped silicate 13-93 bioactive glass scaffolds on the response of MC3T3-E1 cells in vitro and on bone regeneration and angiogenesis in rat calvarial defects in vivo. *Mater Sci Eng C.* 2016; 67: 440–52.
228. Mooyen S, Charoenphandhu N, Teerapornpuntakit J, Thongbunchoo J, Suntornsaratoon P, Krishnamra N, et al. Physico-chemical and in vitro cellular properties of different calcium phosphate-bioactive glass composite chitosan-collagen (CaP@ChiCol) for bone scaffolds. *J Biomed Mater Res - Part B Appl Biomater.* 2017; 105(7): 1758–66.
229. Westhauser F, Weis C, Prokscha M, Bittrich LA, Li W, Xiao K, et al. Three-dimensional polymer coated 45S5-type bioactive glass scaffolds seeded with human mesenchymal stem cells show bone formation in vivo. *J Mater Sci Mater Med.* 2016; 27(7): 119.
230. Aho AJ, Tirri T, Kukkonen J, Strandberg N, Rich J, Seppälä J, et al. Injectable bioactive glass/biodegradable polymer composite for bone and cartilage reconstruction: Concept and experimental outcome with thermoplastic composites of poly(ϵ -caprolactone-co-D,L-lactide) and bioactive glass S 53P 4. *J Mater Sci Mater Med.* 2004; 15(10): 1165–73.
231. Bakry AS, Marghalani HY, Amin OA, Tagami J. The effect of a bioglass paste on enamel exposed to erosive challenge. *J Dent.* 2014; 42(11): 1458–63.
232. Farooq I, Moheet IA, Alshwaimi E. In vitro dentin tubule occlusion and remineralization competence of various toothpastes. *Arch Oral Biol.* 2015; 60(9) : 1246–53.
233. Milly H, Festy F, Watson TF, Thompson I, Banerjee A. Enamel white spot lesions can remineralise using bio-active glass and polyacrylic acid-modified bio-active glass powders. *J Dent.* 2014; 42(2): 158–66.
234. Dong Z, Chang J, Zhou Y, Lin K. In vitro remineralization of human dental enamel by bioactive glasses. *J Mater Sci.* 2011; 46(6): 1591–6.
235. de Morais RC, Silveira RE, Chinelatti M, Geraldeli S, de Carvalho Panzeri Pires-De-Souza F. Bond strength of adhesive systems to sound and demineralized dentin treated with bioactive glass ceramic suspension. *Clin Oral Investig.* 2018; 22(5): 1923–31.

236. Osorio E, Fagundes T, Navarro MF, Zanotto ED, Peitl O, Osorio R, et al. A novel bioactive agent improves adhesion of resin-modified glass-ionomer to dentin. *J Adhes Sci Technol*. 2015; 29(15): 1543–52.
237. Tauböck TT, Zehnder M, Schweizer T, Stark WJ, Attin T, Mohn D. Functionalizing a dentin bonding resin to become bioactive. *Dent Mater*. 2014; 30(8): 868–75.
238. Chatzistavrou X, Velamakanni S, Direnzo K, Lefkelidou A, Fenno JC, Kasuga T, et al. Designing dental composites with bioactive and bactericidal properties. *Mater Sci Eng C*. 2015; 52: 267–72.
239. Sauro S, Watson TF, Thompson I, Banerjee A. One-bottle self-etching adhesives applied to dentine air-abraded using bioactive glasses containing polyacrylic acid: an in vitro microtensile bond strength and confocal microscopy study. *J Dent*. 2012; 40(11): 896–905.
240. Jang JH, Lee MG, Ferracane JL, Davis H, Bae HE, Choi D, et al. Effect of bioactive glass-containing resin composite on dentin remineralization. *J Dent*. 2018; 75: 58–64.
241. Bertassoni LE, Habelitz S, Kinney JH, Marshall SJ, Marshall. Jr. GW. Biomechanical perspective on the remineralization of dentin. *Caries Res*. 2009; 43(1): 70–7.
242. Bauer J, Carvalho EM, Carvalho CN, Meier MM, Souza JP de, Carvalho RM de, et al. Development of a simplified etch-and-rinse adhesive containing niobophosphate bioactive glass. *Int J Adhes Adhes*. 2016; 69: 110–4.
243. Carneiro KK, Araujo TP, Carvalho EM, Meier MM, Tanaka A, Carvalho CN, et al. Bioactivity and properties of an adhesive system functionalized with an experimental niobium-based glass. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2018; 78: 188–95.
244. Profeta AC, Mannocci F, Foxton RM, Thompson I, Watson TF, Sauro S. Bioactive effects of a calcium/sodium phosphosilicate on the resin-dentine interface: A microtensile bond strength, scanning electron microscopy, and confocal microscopy study. *Eur J Oral Sci*. 2012; 120(4): 353–62.
245. Bauer J, Silva e Silva A, Carvalho EM, Ferreira PVC, Carvalho CN, Manso AP, et al. Dentin pretreatment with 45S5 and niobophosphate bioactive glass: effects on pH, antibacterial, mechanical properties of the interface and microtensile bond strength. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2019; 90: 374–80.
246. Wang Z, Jiang T, Sauro S, Wang Y, Thompson I, Watson TF, et al. Dentine remineralization induced by two bioactive glasses developed for air abrasion purposes. *J Dent*. 2011; 39(11): 746–56.
247. Vollenweider M, Brunner TJ, Knecht S, Grass RN, Zehnder M, Imfeld T, et al. Remineralization of human dentin using ultrafine bioactive glass particles. *Acta Biomater*. 2007; 3(6): 936–43.

248. Martins CHG, Carvalho TC, Souza MGM, Ravagnani C, Peitl O, Zanotto ED, et al. Assessment of antimicrobial effect of Biosilicate® against anaerobic, microaerophilic and facultative anaerobic microorganisms. *J Mater Sci Mater Med*. 2011; 22(6): 1439–46.
249. Waltimo T, Brunner TJ, Vollenweider M, Stark WJ, Zehnder M. Antimicrobial effect of nanometric bioactive glass 45S5. *J Dent Res*. 2007; 86(8): 754–7.
250. Waltimo T, Mohn D, Paqué F, Brunner TJ, Stark WJ, Imfeld T, et al. Fine-tuning of bioactive glass for root canal disinfection. *J Dent Res*. 2009; 88(3): 235–8.
251. Vaidyanathan TK, Vaidyanathan J. Recent advances in the theory and mechanism of adhesive resin bonding to dentin: a critical review. *J Biomed Mater Res - Part B Appl Biomater*. 2009; 88(2): 558–78.
252. Gonçalves R, Scaffa P, Giacomini M, Vidal C, Honório H, Wang L. Sodium trimetaphosphate as a novel strategy for matrix metalloproteinase inhibition and dentin remineralization. *Caries Res*. 2018; 52(3): 189–98.
253. Carmona-Vargas CC, De Alves LC, Brocksom TJ, De Oliveira KT. Combining batch and continuous flow setups in the end-to-end synthesis of naturally occurring curcuminoids. *React Chem Eng*. 2017; 2(3): 366–74.
254. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing [M100-S23]. 2013. [Acesso em 13 de outubro de 2018]. Disponível em: https://clsi.org/media/3481/m100ed30_sample.pdf.
255. Elshikh M, Ahmed S, Funston S, Dunlop P, McGaw M, Marchant R, et al. Resazurin-based 96-well plate microdilution method for the determination of minimum inhibitory concentration of biosurfactants. *Biotechnol Lett*. 2016; 38(6): 1015–9.
256. Spiguel MH, Tovo MF, Kramer PF, Franco KS, Alves KMRP, Delbem ACB. Evaluation of laser fluorescence in the monitoring of the initial stage of the de-/remineralization process: an in vitro and in situ study. *Caries Res*. 2009; 43(4): 302–7.
257. Angmar B, Carlström D, Glas JE. Studies on the ultrastructure of dental enamel. IV. The mineralization of normal human enamel. *J Ultrastructure Res*. 1963; 8(1–2): 12–23.
258. Momoi Y, Hayashi M, Fujitani M, Fukushima M, Imazato S, Kubo S, et al. Clinical guidelines for treating caries in adults following a minimal intervention policy - evidence and consensus based report. *J Dent*. 2012; 40(2): 95–105.
259. Siegel SC, Von Fraunhofer JA. Assessing the cutting efficiency of dental diamond burs. *J Am Dent Assoc*. 1996; 127(6): 763–72.
260. Elias K, Amis AA, Setchell DJ. The magnitude of cutting forces at high speed. *J Prosthet Dent*. 2003; 89(3): 286–91.

261. Paris S, Bitter K, Renz H, Hopfenmuller W, Meyer-Lueckel H. Validation of two dual fluorescence techniques for confocal microscopic visualization of resin penetration into enamel caries lesions. *Microsc Res Tech*. 2009; 72(7): 489–94.
262. Shimada Y, Yamaguchi S, Tagami J. Micro-shear bond strength of dual-cured resin cement to glass ceramics. *Dent Mater*. 2002; 18(5): 380–8.
263. Al Khateb K, Ozhmukhametova EK, Mussin MN, Seilkhanov SK, Rakhypbekov TK, Lau WM, et al. In situ gelling systems based on Pluronic F127/Pluronic F68 formulations for ocular drug delivery. *Int J Pharm*. 2016; 502(1–2): 70–9.
264. Philip N, Suneja B, Walsh LJ. Ecological approaches to dental caries prevention: paradigm shift or shibboleth? *Caries Res*. 2018; 52(1–2): 153–65.
265. Schwendicke F, Meyer-Lueckel H, Dörfer C, Paris S. Attitudes and behaviour regarding deep dentin caries removal: a survey among german dentists. *Caries Res*. 2013; 47(6): 566–73.
266. Preston K, Smith P, Higham S. The influence of varying fluoride concentrations on in vitro remineralisation of artificial dentinal lesions with differing lesion morphologies. *Arch Oral Biol*. 2008; 53(1): 20–6.