

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)  
autor(a), o texto completo desta  
dissertação será disponibilizado  
somente a partir de 09/08/2022



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



**Priscila Borges Gobbo de Melo**

**Uso de ultrassom associado à terapia fotodinâmica antimicrobiana na remoção  
de lesão cáriosa artificial em dentina**

**Araraquara**

**2020**



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



**Priscila Borges Gobbo de Melo**

**Uso de ultrassom associado à terapia fotodinâmica antimicrobiana na remoção  
de lesão cáriosa artificial em dentina**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas, da Faculdade de Odontologia de Araraquara-UNESP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Dentística Restauradora.

**Orientadora:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Alessandra Nara de Souza Rastelli.

**Araraquara**

**2020**

Melo, Priscila Borges Gobbo de

Uso de ultrassom associado à terapia fotodinâmica antimicrobiana na remoção de lesão cáriosa artificial em dentina / Priscila Borges Gobbo de Melo. -- Araraquara: [s.n.], 2020  
92 f.; 30 cm.

Dissertação (Mestrado em Ciências Odontológicas) –  
Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia  
Orientadora: Profa. Dra. Alessandra Nara de Souza Rastelli

1. Terapia por ultrassom 2. Fotoquimioterapia 3. Cárie dentária 4. Streptococcus mutans I. Título

**Priscila Borges Gobbo de Melo**

**Uso de ultrassom associado à terapia fotodinâmica antimicrobiana na remoção  
de lesão cariosa artificial em dentina**

**Comissão julgadora**

**Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Dentística Restauradora**

**Presidente e orientadora:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Alessandra Nara de Souza Rastelli

**2º Examinador:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Andréa Abi Rached Dantas

**3º Examinador:** Prof. Dr. Adilson Cesar de Abreu Bernardi

Araraquara, 04 de agosto de 2020.

## **DADOS CURRICULARES**

### **Priscila Borges Gobbo de Melo**

<b>NASCIMENTO:</b>	23 de abril de 1992 – Sacramento – Minas Gerais
<b>FILIAÇÃO:</b>	Vania Silveira Borges Gobbo e Melo Jairo Gobbo de Melo
<b>2014 a 2017</b>	Curso de graduação pela Universidade de Araraquara (UNIARA)
<b>2015 a 2017</b>	Iniciação científica pela Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP
<b>2018 a 2020</b>	Curso de Pós-graduação em Ciências Odontológicas, área de concentração em Dentística Restauradora, nível Mestrado, pela Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP

### *Dedico este trabalho:*

Primeiramente a *Deus* por me dar o dom da vida, me abençoar com uma família incrível e colocar pessoas que deixam a caminhada da vida mais leve. Por me guiar, abençoar e me capacitar para que seja possível vencer cada novo desafio, permitindo transformar sonhos em realidade.

À minha mãe, *Vanía*, que além de me gerar durante 9 meses em seu ventre, me proporcionou a melhor educação. Foi minha mestra e me ensinou a enfrentar as dificuldades com a cabeça erguida e nunca desistir. É a pessoa que mais acredita em mim e me permite ir em busca dos meus sonhos. Obrigada mãe, pelo carinho, pela presença e pelo amor incondicional. Sem a senhora, essa vitória não seria possível.

A senhora, mãe, dedico essa vitória!

Ao meu irmão, *Thiago*, que me apoia sempre em todas as conquistas. Que está presente em todos os momentos da minha vida me incentivando sempre ser uma pessoa melhor. Obrigada Thi, pela sua compreensão e seus ensinamentos, você além de irmão, é um grande amigo!

Ao meu noivo, *Bruno*, que está ao meu lado em todos os momentos. Que me incentiva sempre a buscar os meus sonhos, me transmitindo confiança e segurança. Obrigada pelo amor, carinho e compreensão.

E por fim, ao meu pai, *Jairo* (*in memorian*), que mesmo não presente de corpo, sei que está muito feliz com a minha conquista. É também para você que quero ser alguém melhor, sempre.

**“Se enxerguei mais longe, foi porque estava sobre os ombros de gigantes.”**  
(Isaac Newton)

## AGRADECIMENTOS

À **Deus**, por me permitir realizar os meus sonhos. Por me guiar e iluminar durante toda a caminhada, me ensinando a cada dia ser uma pessoa melhor. Por me dar forças para nunca desistir e sabedoria para ir em busca dos meus objetivos. Obrigada por estar presente em minha vida nunca desistindo de mim.

À minha mãe, **Vanía**, por ser meu alicerce, minha vida. Agradeço o seu carinho diário, sua companhia, seus ensinamentos e principalmente sua paciência. Com a senhora eu aprendo a cada dia. Obrigada por ser essa mãe maravilhosa que está sempre ao meu lado, me proporcionando tudo de melhor que a senhora pode nos oferecer. Obrigada por sempre estar presente e acreditar em mim. Se eu for metade do que a senhora é, eu já estou feliz. Obrigada por tudo. Amo muito a senhora!

Ao meu irmão, **Thiago**, por me ensinar a sempre buscar os meus objetivos. Por sempre tentar fazer o melhor para nós e por estar sempre presente, mesmo à distância. Obrigada por ser irmão e amigo. Obrigada por tudo. Eu te amo, Thi!

Ao meu noivo, **Bruno**, pelo carinho e amor sempre. Pela compreensão durante todos os anos, sempre me incentivando a buscar meus sonhos. Obrigada por me entender nos momentos ausentes, sendo escrevendo ou fazendo experimentos. Obrigada por entender a distância vivenciada por nós, mas que só nos fortaleceu. Obrigada por não sair do meu lado em nenhum momento e sempre acreditar em mim. Obrigada por tudo. Eu te amo, amor!

Ao meu padrasto, **Ginaldo**, que chegou na minha vida e ocupou um espaço super especial. Obrigada por sempre acreditar no meu potencial e sempre me incentivar a correr atrás dos meus sonhos. Obrigada por ter entrado em nossas vidas.

Às minhas cunhadas, **Jéssica** e **Joyce**, por estarem sempre presente na minha vida e acreditarem na minha capacidade. Obrigada pelo carinho e amizade.

À minha família, em especial a minha avó, **Edimar**, meus padrinhos, **Ailton** e **Luciana** e minha tia, **Sandra**, por estarem sempre presentes na minha vida de uma forma especial. Por acreditarem em mim e me incentivarem a ser sempre uma pessoa melhor.

À minha orientadora, **Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Alessandra Nara de Souza Rastelli**, que está em minha vida há 5 anos sempre me ensinando. Agradeço a confiança depositada em mim, por todas as oportunidades concedidas e principalmente por sempre acreditar que sou capaz. Com a senhora eu aprendi muito e levarei sempre por onde

eu for. Obrigada por todas as suas sugestões, críticas e principalmente paciência por me ensinar que sempre é possível alcançar meus objetivos. Obrigada de coração.

Ao querido **Prof. Dr. Adilson Cesar de Abreu Bernardi**, que na ausência da Profª Drª Alessandra, realizou um trabalho maravilhoso como coorientador sempre acreditando na minha competência e me incentivando a questionar resultados, bem como entendê-los. Agradeço pela sua presença quase que diária no laboratório. Obrigada Professor!

Aos meus amigos da pós-graduação, pelo convívio diário e por deixar os dias mais leves, **Júlia Custódio, Júlia Pazos e Jéssica Katarine**. Em especial queria agradecer ao **João Felipe**, pelo seu companheirismo, ensinamento e paciência. O João foi uma pessoa muito importante na minha evolução, me guiando e ensinando como melhorar cada dia mais. Agradeço pela confiança. Obrigada.

À minha amiga **Joissi**, a qual conheci em um curso de verão e que passou ao longo da Pós-Graduação momentos que fortaleceram ainda mais a nossa amizade. Agradeço seu carinho, sua confiança e principalmente sua amizade. Obrigada pela paciência e por sempre estar ao meu lado. Te desejo todo o sucesso do mundo amiga!

À minha amiga **Thaís Piráquine**, que nunca duvidou da minha capacidade e sempre me incentiva a buscar meus objetivos e nunca desistir. Está sempre ao meu lado. Tata, você é uma pessoa incrível e eu sou uma pessoa de sorte por encontrar uma pessoa como você. Obrigada.

À minha amiga **Laiana**, que foi minha dupla na Universidade de Araraquara (UNIARA) e que sempre acreditou na minha competência. Obrigada pelo carinho, conselhos e principalmente pela amizade.

Às minhas amigas de Uberaba, que são pessoas que considero da minha família e mesmo distantes, se fazem sempre presentes. Obrigada por participarem de cada etapa da minha vida e sempre me apoiarem.

À **Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP)**, nas pessoas de seu Magnífico Reitor **Prof. Dr. Sandro Roberto Valentini** e Vice-Reitor **Prof. Dr. Sergio Roberto Nobre**.

À **Faculdade de Odontologia de Araraquara (FOAr)** na pessoa do seu diretor, **Prof. Dr. Edson Alves de Campos** e de sua vice-diretora, **Profª. Drª. Patrícia Petromilli Nordi Sasso Garcia**, pelo carinho para com todos os alunos durante a caminhada.

Ao **Departamento** e aos **docentes** do **Departamento de Odontologia Restauradora** da Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP.

Ao **Programa de Pós-graduação de Ciências Odontológicas** da Faculdade de Odontologia de Araraquara, na pessoa de sua coordenadora **Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Fernanda Lourenção Brighenti** e de sua vice-coordenadora **Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Alessandra Nara de Souza Rastelli**.

Ao **Prof. Dr. Kleber Thiago de Oliveira** e a discente **Maria Carolina Donatoni** do LQBO – Laboratório de Química Bio-Orgânica, Universidade Federal de São Carlos pelo fornecimento da curcumina sintetizada utilizada neste estudo.

À **Dra. Paula Aboud Barbugli** (técnica) do Laboratório de Microscopia de Fluorescência Confocal da Faculdade de Odontologia de Araraquara (FOAr) pela atenção, disponibilidade e ajuda durante as análises.

À **Creusa**, funcionária do Departamento de Odontologia Restauradora da Faculdade de Odontologia de Araraquara (UNESP), pelo convívio amigável e pela disponibilidade e simpatia.

Aos funcionários da **Seção de Pós-Graduação** da Faculdade de Odontologia de Araraquara (UNESP), **Cristiano Afonso Lamounier** e **José Alexandre Garcia** pela disponibilidade e pelo carinho com que sempre me ajudou.

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 (Processo nº: 88882.432525/2019).

Ao **Centro de Pesquisas em Óptica e Fotônica – CEPOF**, do Instituto de Física de São Carlos - IFSC, Universidade de São Paulo – USP (financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, Processo Número: 07276-1/2013) pelo auxílio financeiro e ao Laboratório de Apoio Tecnológico (LAT, Instituto de Física de São Carlos - IFSC, Universidade de São Paulo – USP ), pelo desenvolvimento e suporte técnico do dispositivo de remoção de cárie por ultrassom.

Por fim, agradeço a todos que, embora não tenham sido citados, mas participaram desta etapa da minha vida contribuindo direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

**Meus sinceros agradecimentos e minha eterna gratidão!**

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

José de Alencar

Melo PBG. Uso de ultrassom associado à terapia fotodinâmica antimicrobiana na remoção de lesão cáriosa artificial em dentina [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2020.

## RESUMO

Visando uma abordagem mais conservadora durante a remoção da cárie dentária, torna-se importante a avaliação de novos dispositivos que minimizem o desgaste da estrutura dentinária e terapias complementares que promovam a descontaminação da dentina remanescente. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar *in vitro* a eficiência do uso do ultrassom descariador após a remoção da camada de dentina infectada e a ação da terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFDA) mediada por curcumina na descontaminação da camada de dentina afetada. Previamente aos experimentos, foi determinado o melhor solvente para solubilizar a curcumina, o tempo pré-irradiação mais adequado e a concentração inibitória e bactericida mínima (CIM e CBM) da curcumina. Após, foram obtidos espécimes de dentina bovina (n=187), medindo 4x4x2 mm e realizou-se análise de microdureza Knoop superficial para padronização dos espécimes (29,4 ±3 KHN). Foram induzidas lesões artificiais de cárie na dentina com cepa de *Streptococcus mutans* (modelo biológico) de acordo com o protocolo estabelecido após análise por luz polarizada. A camada de dentina infectada foi removida por 1 min, com as técnicas: fresa esférica em baixa rotação, escavador de dentina (cureta) e ultrassom descariador. Para avaliação da taxa de remoção (n=10), os espécimes foram pesados em 3 momentos: T1 (previamente à indução), T2 (após indução) e T3 (após a remoção). Em seguida, realizou-se análise de microdureza Knoop longitudinal (n=10). Para análise quantitativa de células viáveis (UFC/mL), os espécimes (n=9) foram irradiados uniformemente com sistema de iluminação a LED (Biotable, MMOptics) em comprimento de onda de 460 nm com dose/densidade de energia de 15 J/cm<sup>2</sup> após a remoção da dentina cariada. Adicionalmente, avaliou-se a viabilidade celular por meio da microscopia confocal (n=2). Aplicou-se teste de Shapiro-Wilk (para normalidade) e ANOVA a 1 e a 2 fatores com nível de significância de 5%. A CIM e a CBM da curcumina foi de 67,5 µM incorporada ao solvente Dimetilsulfóxido (DMSO). O tempo pré-irradiação foi de 5 min. De acordo com a análise de luz polarizada, o protocolo utilizado para a indução da lesão cáriosa foi de 7 dias. De acordo com a taxa de remoção, não houve diferença estatisticamente significativa entre os tempos T1 e T2 (baseline). Já em relação aos tempos T2 e T3, houve diferença estatística significativa (p≤0,029). Grupos tratados com ultrassom,

promoveram menor taxa de remoção. Na microdureza longitudinal, considerando as técnicas de remoção, nas mesmas profundidades, quase em todos os grupos observou-se diferença estatística significativa ( $p \leq 0,05$ ). Considerando as diferentes profundidades em um mesmo grupo, houve diferença significativa em todas as profundidades ( $p \leq 0,05$ ). Os grupos tratados com TFDA após a remoção da camada de dentina infectada, demonstraram diferença estatística significativa quando comparado aos grupos não tratados ( $p \leq 0,01$ ). De acordo com os resultados de UFC/mL e viabilidade do biofilme de *Streptococcus mutans* observou-se redução após aplicação da TFDA. De forma geral, pôde-se concluir que o ultrassom descariador é eficiente para a remoção da camada de dentina infectada e a TFDA pode ser utilizada como terapia complementar com a finalidade de reduzir as bactérias presentes na camada de dentina afetada.

**Palavras – chave:** Terapia por ultrassom. Fotoquimioterapia. Cárie dentária. *Streptococcus mutans*.

Melo PBG. The use of ultrasound associated with antimicrobial photodynamic therapy on caries-like dentin removal [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2020.

## **ABSTRACT**

Aiming for a more conservative approach during caries lesion removal, it is important to study new devices that minimize wear of the dentin structure and complementary therapies that promote the decontamination of the remaining dentin. Thus, the aim of this study was to evaluate in vitro the efficiency of the infected dentin layer removal with low power ultrasound device and after removal, the effect of curcumin-mediated antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) in the affected dentin layer. Prior to the experiments, the best solvent for solubilizing curcumin, the most appropriate pre-irradiation time and the minimal inhibitory and bactericidal concentration MIC and MBC of curcumin were determined. Afterwards, bovine dentin specimens (n=187) were obtained, measuring 4x4x2 mm and superficial Knoop microhardness analysis was performed to standardize the specimens ( $29.4 \pm 3$  KHN). Artificial caries lesions were induced in the dentin with *Streptococcus mutans* strain (biological model) according to the protocol established after polarized light analysis. The carious dentin was removed for 1 min using the following methods: low-speed rotation spherical bur, dentin excavator and ultrasound device. To evaluate the removal rate (n=10), the specimens were weighed in 3 times: T1 (previously induction), T2 (after induction) and T3 (after removal). Afterwards, a longitudinal microhardness analysis was performed (n=10). For quantitative analysis of viable cells (CFU/mL), the specimens (n=9) were uniformly irradiated with an LED lighting system (Biotable, MMO) at a wavelength of 440 nm with a dose/energy density of  $15 \text{ J/cm}^2$  after removal of affected dentin. Cell viability was assessed using confocal microscopy (n=2). Shapiro-Wilk test (for normality) and ANOVA with 1 and 2 factors were applied with a 5% significance level. The MIC and MBC of curcumin were  $67.5 \mu\text{M}$  incorporated into the Dimethylsulfoxide (DMSO) solvent and the pre-irradiation time was 5 min. According to the polarized light analysis, the protocol used to induce the carious lesion was 7 days. According to the removal rate, there was no statistical difference between T1 and T2 (baseline). Regarding the T2 and T3 time, there was a statistically significant difference ( $p \leq 0.029$ ). Groups treated with ultrasound, showed a lower removal rate. In the longitudinal microhardness, considering the removal methods, at the same depths, in almost all

groups there was a statistically significant difference ( $p \leq 0.05$ ). Considering different depths in the same group, there was a significant difference in all depths ( $p \leq 0.05$ ). The groups treated with aPDI after removing the infected dentin layer, there was a statistically significant difference when compared to the groups that were not treated with aPDI ( $p \leq 0.01$ ) according to the results of the CFU/mL analysis and the viability of *Streptococcus mutans* was reduced after the application of the aPDI. In general, it can be concluded that the ultrasound device is efficient for the conservative removal of infected dentin layer and aPDI can be used as complementary therapy in order to reduce the bacteria present in the dentin layer it affected.

**Keywords:** Ultrasonic therapy. Photochemotherapy. Dental caries. *Streptococcus mutans*.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>17</b>
<b>2 PROPOSIÇÃO</b> .....	<b>20</b>
2.1 Geral .....	20
2.2 Específicos .....	20
<b>3 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>21</b>
3.1 <i>Streptococcus mutans</i> e a Cárie Dentária.....	21
3.2 Modelos de Indução da Cárie Dentária.....	22
3.3 Técnicas de Remoção da Cárie Dentária .....	24
3.4 Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana (TFDA).....	25
3.5 Fotossensibilizador .....	28
3.6 Curcumina.....	29
3.7 Fontes de Luz .....	31
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>32</b>
4.1 Delineamento Experimental .....	32
4.2 Fluxograma .....	32
4.3 Fotossensibilizador e Fonte de Luz Utilizados para a TFDA.....	33
4.4 Método de Preparação de Micelas Poliméricas .....	34
4.5 Preparo da Suspensão Bacteriana Padronizada .....	35
4.6 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e da Concentração Bactericida Mínima (CBM) .....	36
4.7 Obtenção e Preparo dos Espécimes de Dentina Bovina .....	39
4.8 Análise de Microdureza Knoop Superficial .....	41
4.9 Indução da Lesão Cariosa em Dentina por Modelo Biológico .....	41
4.10 Microscopia de Luz Polarizada .....	43
4.11 Técnicas para Remoção do Tecido Cariado .....	44
4.11.1 Técnica manual.....	44
4.11.2 Técnica convencional .....	44
4.11.3 Uso de ultrassom descariador .....	45
4.12 Avaliação da Capacidade de Remoção das 3 Diferentes Técnicas .....	45
4.13 Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana (TFDA) .....	47
4.14 Microdureza Longitudinal.....	47
4.15 Avaliação Quantitativa de Células Bacterianas Viáveis.....	49
4.16 Microscopia Confocal de Varredura a Laser (MC).....	50
4.17 Análise Estatística.....	51
<b>5 RESULTADOS</b> .....	<b>52</b>
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	<b>66</b>

<b>7 CONCLUSÃO .....</b>	<b>76</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>77</b>
<b>ANEXO A .....</b>	<b>92</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A cárie dentária é uma doença de etiologia multifatorial<sup>1</sup> e um dos principais fatores que colaboram com o seu desenvolvimento é a formação de produtos finais produzidos por microrganismos bucais acidogênicos durante o metabolismo de carboidratos<sup>3</sup>. Dessa forma, a remoção mecânica do biofilme é fundamental<sup>4</sup> para diminuir a presença desses microrganismos acidogênicos, os quais estão diretamente ligados à progressão da doença cárie<sup>5-7</sup>. Quando ocorre um desequilíbrio no meio bucal, o biofilme cariogênico se altera e o ambiente seleciona os grupos microbianos mais resistentes ao ataque ácido. Alguns grupos são mais predominante devido sua capacidade de sobreviver em ambiente ácido, como o *Streptococcus mutans*, que possui grande importância no início e progressão da lesão de cárie<sup>2,9-11</sup>

Por se tratar de um processo altamente dinâmico, o desequilíbrio entre a desmineralização e a remineralização pode auxiliar no desenvolvimento e progressão da doença<sup>9,12-15</sup>. Com a presença de carboidratos fermentáveis na cavidade bucal, a estrutura dental é desmineralizada, no entanto, pode ser reparada à medida que os ácidos produzidos pelas bactérias são neutralizados, remineralizando a estrutura do dente<sup>14-16</sup>. Quando não ocorre essa remineralização, ocorre a dissolução dos tecidos duros dentais devido à perda líquida de minerais, sendo possível observar a formação de uma lesão cariosa<sup>1,13,17</sup>. Assim, os processos dinâmicos que ocorrem no biofilme, promovem a desmineralização do esmalte, que se não tratada, evolui para a dentina<sup>12</sup>

Quando a lesão de cárie não é tratada em seu estágio inicial atingindo um estágio avançado da doença cárie, torna-se importante restaurar a integridade do elemento dental, de modo que o paciente tenha sua função restabelecida. Dessa forma, com a cavitação do esmalte, a dentina é desmineralizada devido ao acúmulo de biofilme no interior da cavidade<sup>12</sup>. Ocorre também, a redução do conteúdo mineral, aumento da porosidade devido à variação na estrutura do colágeno dentinário e alteração de proteínas não colagenosas<sup>18</sup>

A dentina cariada é composta por duas camadas<sup>19,20</sup>. A primeira camada, (conhecida também como camada externa ou dentina infectada), formada por uma zona necrótica superficial e amolecida, rica em bactérias e incapaz de remineralização e a segunda camada (conhecida também como camada interna ou dentina afetada), formada por uma dentina mais firme, capaz de remineralizar-se<sup>19,21</sup>. Para evitar a atividade cariogênica e fornecer uma base bem mineralizada de dentina para

confeção da restauração, antigamente o operador realizava a remoção completa dentina cariada (infectada e afetada)<sup>22</sup>. No entanto, a remoção completa da lesão cariada pode resultar em exposição pulpar<sup>20,23</sup>, o que demanda cuidado especial do profissional durante o tratamento dessas lesões<sup>22</sup>.

Visando abordagens conservadoras e preconizando a Odontologia minimamente invasiva, a remoção da lesão cariada deve ser realizada parcialmente<sup>22,24</sup>. Neste método remove-se a camada de dentina infectada (toda a camada externa) e preserva-se a camada interna (composta pela dentina afetada), a qual é passível de remineralizar-se<sup>22,25</sup>.

Várias alternativas para a remoção da lesão cariada e limpeza da cavidade são utilizadas, sendo alguns deles: escavação com instrumento manual, fresas esféricas e laser de alta intensidade<sup>26</sup>. O método de escavação manual possui a melhor relação entre a eficácia de remoção da lesão cariada e eficiência<sup>26</sup>. Visando desenvolver e investigar novas tecnologias que possibilitem a remoção da lesão de cárie em dentina de forma conservadora, foi desenvolvido um dispositivo ultrassônico, denominado de ultrassom descariador. Esse equipamento possui a capacidade de realizar remoção conservadora da dentina cariada, capaz de remover somente a camada de dentina infectada, preservando a camada de dentina afetada. Dentre suas vantagens estão a realização de corte preciso e seletivo<sup>27,28</sup>, diminuindo ainda mais as chances de exposição pulpar.

Após a remoção, prossegue-se com os passos do procedimento restaurador<sup>22</sup>. Isso é possível, porque as bactérias cariogênicas são isoladas de sua fonte de nutrição pela restauração e conseqüentemente acabam morrendo ou permanecem adormecidas pela falta de nutrientes, não representando risco à polpa<sup>22</sup>. No entanto, para diminuir a possibilidade de cáries secundárias futuras, é importante reduzir a quantidade de bactérias presente na camada de dentina afetada. Dessa forma, a terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFDA), pode ser um método complementar promissor para promover a descontaminação dentinária previamente à futura restauração<sup>29</sup>, reduzindo a quantidade de bactérias presentes no local. Em estudos que utilizaram substrato de dentina em diferentes modelos *in vitro* de indução da lesão cariada e modelos *in vivo*, os resultados utilizando a terapia fotodinâmica antimicrobiana, foram favoráveis<sup>18,30-32</sup>.

A terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFDA) consiste na associação de um fotossensibilizador e uma fonte de luz, na presença de oxigênio<sup>10,33</sup>. O

fotossensibilizador se liga à célula-alvo e é ativado pela luz em comprimento de onda específico. Após, o fotossensibilizador pode perder energia por meio de emissão de fluorescência ou calor, retornando ao seu estado original ou convertido à um estado tripleto excitatório<sup>34</sup> ou gerar espécies reativas de oxigênio por meio de duas reações<sup>34</sup>, sendo elas: reação tipo I ou reação tipo II. Na reação tipo I há produção de radicais livres por meio da transferência de elétrons do fotossensibilizador no estado tripleto para um substrato dentro das células<sup>35</sup>. Esses radicais livres interagem com o oxigênio, causando morte celular. Já na reação tipo II, a transferência de energia ocorre entre o fotossensibilizador excitado e o oxigênio molecular no estado fundamental, produzindo oxigênio singleto que pode interagir com um grande número de moléculas na célula para gerar produtos oxidados<sup>20,35,36</sup>. Com isso, é possível a realização de múltiplas aplicações de forma segura e não invasiva, não representando risco de toxicidade<sup>37</sup>.

Dentre os fotossensibilizadores mais utilizados atualmente na Odontologia, a curcumina, principal constituinte do açafrão em pó, tem sido utilizada há séculos pela medicina como pigmento alimentar e tempero<sup>38</sup>. A curcumina é um composto isolado da *Curcuma longa L.* e possui propriedades farmacológicas, como ação anti-inflamatória, anticancerígena e anti-infecciosa<sup>(37-39)</sup>. Além disso, possui baixo custo, fácil manuseio e amplo espectro de absorção, que variam de 300 - 500nm<sup>37</sup>. Apesar de existirem várias fontes de luz, que podem ser utilizadas na TFDA, a luz azul emitida por diodo emissor de luz (LED) emite o comprimento de onda específico para a curcumina exercer seus efeitos fototóxicos<sup>40-42</sup>.

Os LEDs (*light emitting diodes*), são aparelhos que apresentam uma fonte de luz de alta potência, fornecendo uma luz confiável e promovendo uma iluminação ampla e homogênea da superfície<sup>43</sup>. Além disso, possuem fácil utilização e vida longa<sup>44</sup>.

Dessa forma, com o avanço da Odontologia minimamente invasiva, é importante realizar estudos que visem o desenvolvimento de novos equipamentos que removam a cárie dentária de forma conservadora, bem como terapias adjuvantes que auxiliem na descontaminação da dentina afetada

## 7 CONCLUSÃO

Com base nas condições experimentais do presente estudo e de acordo com a metodologia empregada, foi possível concluir que:

- A concentração inibitória e bactericida mínima (CIM e CBM) da curcumina foi de 67,5  $\mu\text{M}$  incorporada ao solvente DMSO.
- O tempo pré-irradiação da terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFDA) foi de 5 minutos.
- O protocolo utilizado para a indução da lesão cariada por meio do modelo biológico utilizando *Streptococcus mutans* foi de 7 dias.
- O ultrassom descariador foi eficiente para a remoção de dentina cariada de forma conservadora, preservando maior quantidade de dentina hígida quando comparado às outras técnicas, apresentando menor taxa de remoção.
- O tratamento com a TFDA mediada por curcumina não interferiu nos valores de microdureza da dentina quando comparado aos grupos sem TFDA.
- A TFDA pode ser utilizada como terapia complementar, já que promoveu efeito antibacteriano na dentina afetada, reduzindo a quantidade de bactérias remanescentes.
- De forma geral, o ultrassom descariador foi eficiente, realizando remoção conservadora da cárie dentária e a TFDA pode ser utilizada como terapia complementar com a finalidade de reduzir as bactérias presentes na dentina afetada.

## REFERÊNCIAS\*

1. Mathur VP, Dhillon JK. Dental caries: a disease which needs attention. *Indian J Pediatr.* 2018;85(3):202–6.
2. Svensäter, G, Borgström, M, Bowden, G.H.W, Edwardsson S. The acid-tolerant microbiota associated with plaque from initial. *Caries Res.* 2003;37:395–403.
3. Conrads G, About I. Pathophysiology of dental caries. *Monogr Oral Sci.* 2018;27:1–10.
4. Lacerda Rangel Esper MÂ, Junqueira JC, Uchoa AF, Bresciani E, Nara de Souza Rastelli A, Navarro RS, et al. Photodynamic inactivation of planktonic cultures and *Streptococcus mutans* biofilms for prevention of white spot lesions during orthodontic treatment: an in vitro investigation. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 2019;155(2):243–53.
5. Scharnow AM, Solinski AE, Wuest WM. Targeting: *S. mutans* biofilms: a perspective on preventing dental caries. *Medchemcomm.* 2019;10(7):1057–67.
6. Bernimoulin J-P. Recent concepts in plaque formation. *J Clin Periodont.* 2003;30:7–9.
7. Bowen WH, Burne RA, Wu H, Koo H. Oral Biofilms: pathogens, matrix, and polymicrobial interactions in microenvironments. *Trends in Microbiology.* 2018;26(3):229–42.
8. 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.
9. Lemos JA, Palmer SR, Zeng L, Wen ZT, Kajfasz JK, Freires IA, et al. The biology of *Streptococcus mutans*. *Microbiol Spectr.* 2019;7(1):1–26.
10. 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.
11. Misba L, Khan AU. Enhanced photodynamic therapy using light fractionation against *Streptococcus mutans* biofilm: type I and type II mechanism. *Future Microbiol.* 2018;13(4):437–54.
12. Kidd EAM. How ‘clean’ must a cavity be before restoration? *Caries Res.* 2004;38:305–13.

---

\* 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. Nie M, Deng DM, Wu Y, de Oliveira KT, Bagnato VS, Crielaard W, et al. Photodynamic inactivation mediated by methylene blue or chlorin e6 against *Streptococcus mutans* biofilm. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2020;31:101817. Epub 2020 Sept 20.
14. Takahashi N, Nyvad B. The role of bacteria in the caries process: ecological perspectives. *J Dent Res*. 2011;90(3):294–303.
15. Young DA, Featherstone JDB. Caries management by risk assessment. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2013;41(1):53–63.
16. Zhan L. Rebalancing the caries microbiome dysbiosis: targeted treatment and sugar alcohols. *Adv Dent Res*. 2018;29(1):110–6.
17. Kidd E. Infected dentine revisited. *Dent Update*. 2015;42:802–9.
18. Melo MAS, Rolim JPML, Passos VF, Lima RA, Zanin ICJ, Codes BM, et al. Photodynamic antimicrobial chemotherapy and ultraconservative caries removal linked for management of deep caries lesions. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2015;12(4):581–6.
19. Fusayama, T, Therachima S. This section of the journal is devoted to rapidly published one page research notes differentiation of two layers of carious dentin by staining. *J Dent Res*. 1972;51(3):2015.
20. Wu M, Xu L, Cai Z, Huang S, Li Y, Lei L, et al. Disinfection of cariogenic pathogens in planktonic lifestyle, biofilm and carious dentine with antimicrobial photodynamic therapy. *Photochem Photobiol*. 2020;96:170-7.
21. Aytac Bal F, Ozkocak I, Cadirci BH, Sirin Karaarslan E, Cakdinleyen M, Agaccioglu M. Effects of photodynamic therapy with indocyanine green on *Streptococcus mutans* biofilm. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2019;26:229–34.
22. Thompson V, Craig RG, Curro FA, Green WS, Ship JA. Treatment of deep carious lesions by complete excavation or partial removal. *J Am Dent Assoc*. 2008;139(6):705–12.
23. Hayashi M, Fujitani M, Yamaki C, Momoi Y. Ways of enhancing pulp preservation by stepwise excavation — a systematic review. *J Dent*. 2011;39(2):95–107.
24. Statement P. FDI policy statement on minimal intervention dentistry (MID) for managing dental caries: adopted by the general assembly: september 2016, Poznan, Poland. *Int Dent J*. 2017;67(1):6–7.
25. Akyuz S, Chousein (Ntemir) OM, Sacan O, Yanardag R, Kalaycı S, Yarat A, et al. Antibacterial and photodynamic effects of some plant extracts for cavity disinfection. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2019;26:48–52.

26. Celiberti P, Francescut A, Lussi P. Performance of four dentine excavation methods in deciduous teeth. *Caries Res.* 2006;40:117–23.
27. Plotino G, Pameijer CH, Maria Grande N, Somma F. Ultrasonics in endodontics: a review of the literature. *J Endod.* 2007;33(2):81–95.
28. Van Der Sluis LWM, Versluis M, Wu MK, Wesselink PR. Passive ultrasonic irrigation of the root canal: a review of the literature. *Int Endod J.* 2007;40(6):415–26.
29. 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.
30. 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.
31. Guglielmi C de AB, Simionato MRL, Ramalho KM, Imparato JCP, Pinheiro SL, Luz MAAC. Clinical use of photodynamic antimicrobial chemotherapy for the treatment of deep carious lesions. *J Biomed Opt.* 2011;16(8):088003.
32. Neves PAM, Lima LA, Rodrigues FCN, Leitão TJ, Ribeiro CCC. Clinical effect of photodynamic therapy on primary carious dentin after partial caries removal. *Braz Oral Res.* 2016;30(1):1–8.
33. Rkein AM, Ozog DM. Photodynamic therapy. *Dermatol Clin.* 2014;32(3):415–25.
34. 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.
35. Ghorbani J, Rahban D, Aghamiri S, Teymouri A, Bahador A. Photosensitizers in antibacterial photodynamic therapy: an overview. *Laser Ther.* 2018;27(4):293–302.
36. Konopka K, Goslinski T. Photodynamic therapy in dentistry. *J Dent Res.* 2007;86(8):694–707.
37. 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):123001.
38. 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.
39. Li B, Li X, Lin H, Zhou Y. Curcumin as a promising antibacterial agent: effects on metabolism and biofilm formation in *S. mutans*. *Biomed Res Int.* 2018;2018:4508709.

40. Araújo NC, Fontana CR, Gerbi MEM, Bagnato VS. Overall-mouth disinfection by photodynamic therapy using curcumin. *Photomed Laser Surg.* 2012;30(2):96–101.
41. Araújo NC, Fontana CR, Bagnato VS, Gerbi MEM. Photodynamic effects of curcumin against cariogenic pathogens. *Photomed Laser Surg.* 2012;30(7):393–9.
42. 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.
43. Calzavara-Pinton PG, Venturini M, Sala R. Photodynamic therapy: update 2006. Part 1: photochemistry and photobiology. *J Eur Acad Dermatology Venereol.* 2007;21(3):293–302.
44. Piacquadio DJ, Chen DM, Farber HF, Fowler JF, Glazer SD, Goodman JJ, et al. Photodynamic therapy with aminolevulinic acid topical solution and visible blue light in the treatment of multiple actinic keratoses of the face and scalp: investigator-blinded, phase 3, multicenter trials. *Arch Dermatol.* 2004;140(1):41–6.
45. Terra Garcia M, Correia Pereira AH, Figueiredo-Godoi LMA, Jorge AOC, Strixino JF, Junqueira JC. Photodynamic therapy mediated by chlorin-type photosensitizers against *Streptococcus mutans* biofilms. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2018;24:256–61.
46. Nyvad B, Crielaard W, Mira A, Takahashi N, Beighton D. Dental caries from a molecular microbiological perspective. *Caries Res.* 2013;47(2):89–102.
47. Cheon K, Moser SA, Wiener HW, Whiddon J, Momeni SS, Ruby JD, et al. Characteristics of *Streptococcus mutans* genotypes and dental caries in children. *Eur J Oral Sci.* 2013;121:148–55.
48. Lynch DJ, Michalek SM, Zhu M, Drake D, Qian F, Banas JA. Cariogenicity of *Streptococcus mutans* glucan-binding protein deletion mutants. *Oral Health Dent Manag.* 2013;12(4):191–9.
49. Klein MI, Hwang G, Santos PHS, Campanella OH, Koo H. *Streptococcus mutans*-derived extracellular matrix in cariogenic oral biofilms. *Front Cell Infect Microbiol.* 2015;5:1–8.
50. Koo H, Duarte S, Murata RM, Scott-Anne K, Gregoire S, Watson GE, et al. Influence of cranberry proanthocyanidins on formation of biofilms by *Streptococcus mutans* on saliva-coated apatitic surface and on dental caries development in vivo. *Caries Res.* 2010;44(2):116–26.
51. Walter J. Loesche. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev.* 1986;50(4):353–80.

52. Kolenbrander PE, Palmer RJ, Periasamy S, Jakubovics NS. Oral multispecies biofilm development and the key role of cell-cell distance. *Nat Rev Microbiol.* 2010;8(7):471–80.
53. Chen F, Rice KC, Liu X-M, Reinhardt RA, Bayles KW, Wang D. Triclosan-loaded tooth-binding micelles for prevention and treatment of dental biofilm. *Pharm Res.* 2010;27(11):2356–64.
54. Bojanich MA, Calderón RO. *Streptococcus mutans* membrane lipid composition: virulence factors and structural parameters. *Arch Oral Biol.* 2017;81:74–80.
55. Abranches J, Miller JH, Martinez AR, Simpson-Haidaris PJ, Burne RA, Lemos JA. The collagen-binding protein Cnm is required for *Streptococcus mutans* adherence to and intracellular invasion of human coronary artery endothelial cells. *Infect Immun.* 2011;79(6):2277–84.
56. Pitts NB, Zero DT, Marsh PD, Ekstrand K, Weintraub JA, Ramos-Gomez F, et al. Dental caries. *Nat Rev Dis Prim.* 2017;3:17030.
57. Santin GC, Oliveira DSB, Galo R, Borsatto MC, Corona SAM. Antimicrobial photodynamic therapy and dental plaque: a systematic review of the literature. *Sci World J.* 2014;2014:824538.
58. Silva ARS, Alves FA, Antunes A, Goes MF, Lopes MA. Patterns of demineralization and dentin reactions in radiation-related caries. *Caries Res.* 2009;43(1):43–9.
59. Fontana M, Wolff M, Featherstone JD. Introduction to ICNARA 3. *Adv Dent Res.* 2018;29(1):3.
60. Fontana M, Gonzalez-Cabezas C. Evidence-based dentistry caries risk assessment and disease management. *Dent Clin North Am.* 2019;63(1):119–28.
61. Manji F, Dahlen G, Fejerskov O. Caries and periodontitis: contesting the conventional wisdom on their aetiology. *Caries Res.* 2018;52(6):548–64.
62. 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.
63. Fontana M, Young DA, Wolff MS, Pitts NB, Longbottom C. Defining dental caries for 2010 and beyond. *Dent Clin North Am.* 2010;54(3):423–40.
64. Steiner-Oliveira C, Longo PL, Aranha ACC, Ramalho KM, Mayer MPA, de Paula Eduardo C. Randomized in vivo evaluation of photodynamic antimicrobial chemotherapy on deciduous carious dentin. *J Biomed Opt.* 2015;20(10):108003.

65. 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.
66. Alves LVGL, Curylofo-Zotti FA, Borsatto MC, Salvador SL de S, Valério RA, Souza-Gabriel AE, et al. Influence of antimicrobial photodynamic therapy in carious lesion. Randomized split-mouth clinical trial in primary molars. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2019;26:124–30.
67. Ferreira Zandona AG. Surgical management of caries lesions: selective removal of carious tissues. *Dent Clin North Am.* 2019;63(4):705–13.
68. Ricketts D, Lamont T, Innes NP, Kidd E, Clarkson JE. Operative caries management in adults and children. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013;(3):1–52.
69. Ricketts D, Kidd E, Innes NPT, Clarkson JE. Complete or ultraconservative removal of decayed tissue in unfilled teeth. *Cochrane Database Syst Rev.* 2006;(3):274–6.
70. 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.
71. Schwendicke F, Stolpe M, Meyer-Lueckel H, Paris S, Dörfer CE. Cost-effectiveness of one- and two-step incomplete and complete excavations. *J Dent Res.* 2013;92(10):880–7.
72. Orhan AI, Oz FT, Ozcelik B, Orhan K. A clinical and microbiological comparative study of deep carious lesion treatment in deciduous and young permanent molars. *Clin Oral Investig.* 2008;12(4):369–78.
73. Whitworth JM, Myers PM, Smith J, Walls AWG, McCabe JF. Endodontic complications after plastic restorations in general practice. *Int Endod J.* 2005;38(6):409–16.
74. Murray PE, Smith AJ, Windsor LJ, Mjör IA. Remaining dentine thickness and human pulp responses. *Int Endod J.* 2003;36(1):33–43.
75. Botelho JN, Villegas-Salinas M, Troncoso-Gajardo P, Giacaman RA, Cury JA. Enamel and dentine demineralization by a combination of starch and sucrose in a biofilm - caries model. *Braz Oral Res.* 2016;30(1):1–8.
76. Pacheco LF, de Freitas ECB, 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.
77. Arends J, Ruben JL, Inaba D. Major topics in quantitative microradiography of enamel and dentin: R parameter, mineral distribution visualization, and hyper-remineralization. *Adv Dent Res.* 1997;11(4):403–14.

78. Clarkson BH, Wefel JS, Miller I. A model for producing caries-like lesions in enamel and dentin using oral bacteria in vitro. *J Dent Res.* 1984;63(10):1186–9.
79. 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.
80. de Carvalho FG, de Fucio SBP, Sinhoreti MAC, Correr-Sobrinho L, Puppin-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.
81. Rodrigues E, Delbem ACB, Pedrini D, Cavassan L. Enamel remineralization by fluoride-releasing materials: Proposal of a pH-cycling model. *Braz Dent J.* 2010;21(5):446–51.
82. 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.
83. Marsh PD, Møter A, Devine DA. Dental plaque biofilms: communities, conflict and control. *Periodontol 2000.* 2011;55(1):16–35.
84. 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.
85. Fernández CE, Tenuta LMA, Cury JA. Validation of a cariogenic biofilm model to evaluate the effect of fluoride on enamel and root dentine demineralization. *PLoS One.* 2016;11(1):1–13.
86. De Azevedo CS, Garbui BU, Silva CME, Simionato MRL, De Freitas AZ, Matos AB. Obtaining artificially caries-affected dentin for in vitro studies. *J Contemp Dent Pract.* 2015;15(1):12–9.
87. Hetrodt F, Lausch J, Meyer-Lueckel H, Conrads G, Apel C. Evaluation of restorative materials containing preventive additives in a secondary caries model in vitro. *Caries Res.* 2019;53(4):447–56.
88. Mei ML, Li QL, Chu CH, Lo ECM, Samaranayake LP. Antibacterial effects of silver diamine fluoride on multi-species cariogenic biofilm on caries. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2013;12(1):1.
89. Wu R, Zhao Q, Lu S, Fu Y, Yu D, Zhao W. Inhibitory effect of reduced graphene oxide-silver nanocomposite on progression of artificial enamel caries. *J Appl Oral Sci.* 2019;27:1–10.
90. Elderton RJ. New approaches to cavity design with special reference to the class II lesion. *Br Dent J.* 1984;157(12):421–7.

91. Banerjee A, Watson TF, Kidd EAM. Dentine caries excavation: a review of current clinical techniques. *Br Dent J.* 2000;188(9):476–82.
92. Mertz-Fairhurst EJ, Curtis JW, Ergle JW, Rueggeberg FA, Adair SM. Ultraconservative and cariostatic sealed restorations: results at year 10. *J Am Dent Assoc.* 1998;129(1):55–66.
93. Innes NPT, Frencken JE, Bjørndal L, Maltz M, Manton DJ, Ricketts D, et al. Managing carious lesions: consensus recommendations on terminology. *Adv Dent Res.* 2016;28(2):49–57.
94. Giacaman RA, Muñoz-Sandoval C, Neuhaus KW, Fontana M, Chalas R. Evidence-based strategies for the minimally invasive treatment of carious lesions: review of the literature. *Adv Clin Exp Med.* 2018;27(7):1009–16.
95. Bittencourt ST, Pereira JR, Rosa AW, Oliveira KS, Ghizoni JS, Oliveira MT. Mineral content removal after papacarie application in primary teeth: A quantitative analysis. *J Clin Pediatr Dent.* 2010;34(3):229–31.
96. 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.
97. Maragakis GM, Hahn P, Hellwig E. Chemomechanical caries removal: a comprehensive review of the literature. *Int Dent J.* 2001;51(4):291–9.
98. Verma L, Pandit I, Srivastava N, Gugnani N, Gupta M. Various methods of caries removal in children: a comparative clinical study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* 2007;25(2):93.
99. Avinash A, Grover SD, Koul M, Nayak MT, Singhvi A, Singh RK. Comparison of mechanical and chemomechanical methods of caries removal in deciduous and permanent teeth: a SEM study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* 2012;30(2):115–21.
100. Abella F, De Ribot J, Doria G, Duran-Sindreu F, Roig M. Applications of piezoelectric surgery in endodontic surgery: a literature review. *J Endod.* 2014;40(3):325–32.
101. Apatzidou DA. Modern approaches to non-surgical biofilm management. *Periodontal Dis.* 2011;15:99–116.
102. 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):1–9.
103. 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.

104. Lea SC, Landini G, Walmsley AD. Vibration characteristics of ultrasonic scalers assessed with scanning laser vibrometry. *J Dent.* 2002;30(4):147–51.
105. Ahmad M, Roy RA, Kamarudin AG, Safar M. The vibratory pattern of ultrasonic files driven piezoelectrically. *Int Endod J.* 1993;26(2):120–4.
106. Sheets CG, Paquette JM. Ultrasonic tips for conservative restorative dentistry. *Dent Today.* 2002;21(10):102–4.
107. Laird WRE, Walmsley AD. Ultrasound in dentistry. Part 1-biophysical interactions. *J Dent.* 1991;19(1):14–7.
108. Chen YL, Chang HH, Chiang YC, Lin CP. Application and development of ultrasonics in dentistry. *J Formos Med Assoc.* 2013;112(11):659–65.
109. Moopnar M, Faulkner KDB. Accidental damage to teeth adjacent to crown-prepared abutment teeth. *Aust Dent J.* 1991;36(2):136–40.
110. Oman CR. Ultrasonic cavity preparation. *J Am Dent Assoc.* 1957;55(6):795–803.
111. Ackroyd R, Kelty C, Brown N, Reed M. The history of photodetection and photodynamic therapy. *Photochem Photobiol.* 2001;74(5):656.
112. Brovko L. Photodynamic treatment. a new efficient alternative for surface sanitation. *Adv Food Nutr Res.* 2010;62:119–47.
113. Ferro S, Ricchelli F, Monti D, Mancini G, Jori G. Efficient photoinactivation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by a novel porphyrin incorporated into a poly-cationic liposome. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007;39(5):1026–34.
114. Mang TS, Mikulski L, Hall RE. Photodynamic inactivation of normal and antifungal resistant *Candida* species. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2010;7(2):98–105.
115. Ryskova L, Buchta V, Slezak R. Photodynamic antimicrobial therapy. *Cent Eur J Biol.* 2010;5(4):400–6.
116. Sotomil JM, Münchow EA, Pankajakshan D, Spolnik KJ, Ferreira JA, Gregory RL, et al. Curcumin — a natural medicament for root canal disinfection: effects of irrigation, drug release, and photoactivation. *J Endod.* 2019;45(11):1371–7.
117. Andrade MC, Ribeiro APD, Dovigo LN, Brunetti IL, Giampaolo ET, Bagnato VS, et al. Effect of different pre-irradiation times on curcumin-mediated photodynamic therapy against planktonic cultures and biofilms of *Candida* spp. *Arch Oral Biol.* 2013;58(2):200–10.
118. 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.

119. Zhang Q, Li L. Photodynamic combinational therapy in cancer treatment. *J BUON*. 2018;23(3):561–7.
120. Gomez GF, Huang R, MacPherson M, Ferreira Zandona AG, Gregory RL. Photo inactivation of *Streptococcus mutans* biofilm by violet-blue light. *Curr Microbiol*. 2016;73(3):426–33.
121. Haag PA, Steiger-Ronay V, Schmidlin PR. The in vitro antimicrobial efficacy of PDT against periodontopathogenic bacteria. *Int J Mol Sci*. 2015;16(11):27327–38.
122. Fumes AC, da Silva Telles PD, Corona SAM, Borsatto MC. Effect of aPDT on *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* present in the dental biofilm: systematic review. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2018;21:363–6.
123. 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.
124. 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.
125. Longo J, Lozzi S, Azevedo Cr. Oral cancer and photodynamic therapy as a treatment. *RGO. Revista Gaúcha Odontol*. 2011;59:51–7.
126. 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.
127. Zhu TC, Finlay JC. The role of photodynamic therapy (PDT) physics. *Med Phys*. 2008;35(7):3127–36.
128. Demidova TN, Hamblin MR. Effect of cell-photosensitizer binding and cell density on microbial photoinactivation. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49(6):2329–35.
129. Harris F, Pierpoint L. Photodynamic therapy based on 5-aminolevulinic acid and its use as an antimicrobial Agent. *Med Res Rev*. 2012;32(6):1292–327.
130. da Mota ACC, Leal CRL, Oliven 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.
131. Gursoy H, Ozcakir-Tomruk C, Tanalp J, Yilmaz S. Photodynamic therapy in dentistry: a literature review. *Clin Oral Investig*. 2013;17(4):1113–25.
132. Simón-Soro A, Mira A. Solving the etiology of dental caries. *Trends Microbiol*. 2015;23(2):76–82.

133. De Melo WCMA, Avci P, De Oliveira MN, Gupta A, Vecchio D, Sadasivam M, et al. Photodynamic inactivation of biofilm: taking a lightly colored approach to stubborn infection. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2013;11(7):669–93.
134. Cusicanqui Méndez DA, Gutierrez E, José Dionisio E, Afonso Rabelo Buzalaf M, Cardoso Oliveira R, Andrade Moreira Machado MA, et al. Curcumin-mediated antimicrobial photodynamic therapy reduces the viability and vitality of infected dentin caries microcosms. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2018;24:102–8.
135. Wambier DS, dos Santos FA, Guedes-Pinto AC, Jaeger RG, Simionato MRL. Ultrastructural and microbiological analysis of the dentin layers affected by caries lesions in primary molars treated by minimal intervention. *Pediatr Dent.* 1999;29(3):228–34.
136. 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.
137. 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.
138. Reis ACM, Regis WFM, Rodrigues LKA. Scientific evidence in antimicrobial photodynamic therapy: an alternative approach for reducing cariogenic bacteria. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2019;26:179–89.
139. Meisel P, Kocher T. Photodynamic therapy for periodontal diseases: state of the art. *J Photochem Photobiol B Biol.* 2005;79(2):159–70.
140. DeRosa MC, Crutchley RJ. Photosensitized singlet oxygen and its applications. *Coord Chem Rev.* 2002;233–234:351–71.
141. Misba L, Zaidi S, Khan AU. Efficacy of photodynamic therapy against *Streptococcus mutans* biofilm: role of singlet oxygen. *J Photochem Photobiol B Biol.* 2018;183:16–21.
142. Abrahamse H, Hamblin MR. New photosensitizers for photodynamic therapy. *Biochem J.* 2016;473(4):347–64.
143. Basnet P, Skalko-Basnet N. Curcumin: An anti-inflammatory molecule from a curry spice on the path to cancer treatment. *Molecules.* 2011;16(6):4567–98.
144. Prasad S, Aggarwal BB. Turmeric, the golden spice: from traditional medicine to modern medicine. In: Benzie IFF, Wachtel-Galor S. *Herbal medicine: biomolecular and clinical aspects.* 2nd ed. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis; c2011. p.259-84.
145. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). TUMERIC post-harvest operations compendium. *Post-harvest Compendium.* 2004;21:1-21.

146. Chattopadhyay I, Biswas K, Bandyopadhyay U, Banerjee RK. Turmeric and curcumin: biological actions and medicinal applications. *Curr Sci*. 2004;87(1):44–53.
147. Jayaprakasha GK, Jagan Mohan Rao L, Sakariah KK. Chemistry and biological activities of *C. longa*. *Trends Food Sci Technol*. 2005;16(12):533–48.
148. Giordano A, Tommonaro G. Curcumin and cancer. *Nutrients*. 2019;11(10):2376.
149. Negi PS, Jayaprakasha GK, Rao LJM, Sakariah KK. Antibacterial activity of turmeric oil: a byproduct from curcumin manufacture. *J Agric Food Chem*. 1999;47(10):4297–300.
150. Jurenka JS. Anti-inflammatory properties of curcumin, a major constituent of *Curcuma longa*: a review of preclinical and clinical research. *Altern Med Rev*. 2009;14(2):141–53.
151. Duvoix A, Blasius R, Delhalle S, Schnekenburger M, Morceau F, Henry E, et al. Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin. *Cancer Lett*. 2005;223(2):181–90.
152. Priyadarsini KI. The chemistry of curcumin: from extraction to therapeutic agent. *Molecules*. 2014;19(12):20091–112.
153. Maghsoudi A, Yazdian F, Shahmoradi S, Ghaderi L, Hemati M, Amoabediny G. Curcumin-loaded polysaccharide nanoparticles: optimization and anticariogenic activity against *Streptococcus mutans*. *Mater Sci Eng C*. 2017;75:1259–67.
154. 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.
155. Goel A, Kunnumakkara AB, Aggarwal BB. Curcumin as “curecumin”: from kitchen to clinic. *Biochem Pharmacol*. 2008;75(4):787–809.
156. Shehzad A, Ha T, Subhan F, Lee YS. New mechanisms and the anti-inflammatory role of curcumin in obesity and obesity-related metabolic diseases. *Eur J Nutr*. 2011;50(3):151–61.
157. Kocaadam B, Şanlıer N. Curcumin, an active component of turmeric (*Curcuma longa*), and its effects on health. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2017;57(13):2889–95.
158. Cooksey CJ. Turmeric: old spice, new spice. *Biotech Histochem*. 2017;92(5):309–14.
159. Hope-Roberts M, Horobin RW. A review of curcumin as a biological stain and as a self-visualizing pharmaceutical agent. *Biotech Histochem*. 2017;92(5):315–23.

160. Faraji AH, Wipf P. Nanoparticles in cellular drug delivery. *Bioorganic Med Chem.* 2009;17(8):2950–62.
161. He C, Hu Y, Yin L, Tang C, Yin C. Effects of particle size and surface charge on cellular uptake and biodistribution of polymeric nanoparticles. *Biomaterials.* 2010;31(13):3657–66.
162. Chen F, Liu XM, Rice KC, Li X, Yu F, Reinhardt RA, et al. Tooth-binding micelles for dental caries prevention. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009;53(11):4898–902.
163. Chen F, Jia Z, Rice KC, Reinhardt RA, Bayles KW, Wang D. The development of dentotropic micelles with biodegradable tooth-binding moieties. *Pharm Res.* 2013;30(11):2808–17.
164. Liechty, W. B., Kryscio, D.R., Slaughter, B. V. and Peppas NA. Polymers for drug delivery systems. *Annu Rev Chem Biomol Eng.* 2010;1:149–73.
165. Capriotti K, Capriotti JA. Dimethyl sulfoxide: history, chemistry, and clinical utility in dermatology. *J Clin Aesthet Dermatol.* 2012;5(9):24–6.
166. Jamali Z, Hejazi SM, Ebrahimi SM, Moradi-Sardareh H, Paknejad M. Effects of LED-based photodynamic therapy using red and blue lights, with natural hydrophobic photosensitizers on human glioma cell line. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2018;21:50–4.
167. Kalka K, Merk H, Mukhtar H. Photodynamic therapy in dermatology. *J Am Acad Dermatol.* 2000;(3):389–413.
168. Touma D, Yaar M, Whitehead S, Konnikov N, Gilchrest BA. A trial of short incubation, broad-area photodynamic therapy for facial actinic keratoses and diffuse photodamage. *Arch Dermatol.* 2004;140(1):33–40.
169. Alexiades-Armenakas MR, Geronemus RG. Laser-mediated photodynamic therapy of actinic keratoses. *Arch Dermatol.* 2003;139(10):1313–20.
170. Yin R, Hamblin M. Antimicrobial photosensitizers: drug discovery under the spotlight. *Curr Med Chem.* 2015;22(18):2159–85.
171. 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.
172. Limbago B. Clinical and laboratory standards institute standards development policies and process. *Clsi.* 2019;23(6):49.
173. 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.

174. 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.
175. 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.
176. 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  $\mu$ TBS. *Braz Dent J.* 2017;28(1):16–23.
177. Corrêa FNP. Avaliação da dentina remanescente após remoção de cárie com instrumento cortante rotatório e métodos químicos-mecânicos, utilizando análise de microdureza, fluorescência laser e MEV [dissertação de mestrado]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2005.
178. Hara AT, Queiroz CS, Leme AFP, Serra MC, Cury JA. Caries progression and inhibition in human and bovine root dentine in situ. *Caries Res.* 2003;37(5):339–44.
179. Cusicanqui Méndez DA, Gutierrez E, José Dionisio E, Afonso Rabelo Buzalaf M, Cardoso Oliveira R, Andrade Moreira Machado MA, et al. Curcumin-mediated antimicrobial photodynamic therapy reduces the viability and vitality of infected dentin caries microcosms. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2018;24:102–8.
180. Lo ECM, Zhi QH, Itthagarun A. Comparing two quantitative methods for studying remineralization of artificial caries. *J Dent.* 2010;38(4):352–9.
181. Preston KP, Smith PW, Higham SM. 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.
182. Pavan S, Xie Q, Hara AT, Bedran-Russo AK. Biomimetic approach for root caries prevention using a proanthocyanidin- rich agent. *Caries Res.* 2011;45(5):443–7.
183. Okuyama K, Nakata T, Pereira PNR, Kawamoto C, Komatsu H, Sano H. Prevention of artificial caries: effect of bonding agent, resin composite and topical fluoride application. *Oper Dent.* 2006;31(1):135–42.
184. Bjørndal L, Reit C, Bruun G, Markvart M, Kjældgaard M, Näsman P, et al. Treatment of deep caries lesions in adults: randomized clinical trials comparing stepwise vs. direct complete excavation, and direct pulp capping vs. partial pulpotomy. *Eur J Oral Sci.* 2010;118(3):290–7.
185. Contardo MS, Muñoz-Sandoval C, Giacaman RA. Sealing dentin caries with resin-modified glass ionomer decreases lesion progression and bacterial survival in an experimental model. *J Adhes Dent.* 2015;17(3):207–12.

186. Chinelatti MA, Tirapelli C, Corona SAM, Jasinevicius RG, Peitl O, Zanotto ED, et al. Effect of a bioactive glass ceramic on the control of enamel and dentin erosion lesions. *Braz Dent J*. 2017;28(4):489–97.
187. Maghsoudi A, Yazdian F, Shahmoradi S, Ghaderi L, Hemati M, Amoabediny G. Curcumin-loaded polysaccharide nanoparticles: optimization and anticariogenic activity against *Streptococcus mutans*. *Mater Sci Eng C*. 2017;75:1259–67.
188. Cusicanqui Méndez DA, Gutierrez E, Campos Chaves Lamarque G, Lopes Rizzato V, Afonso Rabelo Buzalaf M, Andrade Moreira Machado MA, et al. The effectiveness of curcumin-mediated antimicrobial photodynamic therapy depends on pre-irradiation and biofilm growth times. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2019;27:474–80.
189. 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.
190. 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(02):268–73.