

RESSALVA

Atendendo solicitação do autor, o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 11/09/2026.



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



Luis Felipe Rondón Ordóñez

**Eficiência das técnicas de remoção e da terapia fotodinâmica antimicrobiana
na preservação da dentina afetada induzida por modelo biológico**

Araraquara

2024



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



Luis Felipe Rondón Ordóñez

**Eficiência das técnicas de remoção e da terapia fotodinâmica antimicrobiana
na preservação da dentina afetada induzida por modelo biológico**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia, Araraquara para obtenção do título de Mestre em Ciências Odontológicas, na área de Dentística Restauradora.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Alessandra Nara de Souza Rastelli.

Araraquara

2024

R771e

Rondón Ordóñez, Luis Felipe

Eficiência das técnicas de remoção e da terapia fotodinâmica antimicrobiana na preservação da dentina afetada induzida por modelo biológico / Luis Felipe Rondón Ordóñez. -- Araraquara, 2024

83 f. : il., tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia, Araraquara

Orientadora: Alessandra Nara de Souza Rastelli

1. Ultrassom. 2. Fotoquimioterapia. 3. Cárie dentária. 4. Biofilmes. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia, Araraquara.

Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Luis Felipe Rondón Ordóñez

**Eficiência das técnicas de remoção e da terapia fotodinâmica antimicrobiana
na preservação da dentina afetada induzida por modelo biológico**

Comissão julgadora

**Dissertação para obtenção do grau de Mestre em Ciências Odontológicas área
de concentração Dentística Restauradora**

Presidenta e orientadora: Prof^a. Dr^a. Alessandra Nara de Souza Rastelli

2º Examinador Prof^a. Dr^a. Angela Cristina Cilense Zuanon

3º Examinador Prof. Dr. Gustavo Sivieri de Araújo

Araraquara, 11 de setembro de 2024

DADOS CURRICULARES

Luis Felipe Rondón Ordóñez

NASCIMENTO: 12 de setembro de 1993 – Mérida – Venezuela

FILIAÇÃO: Marbella del Carmen Ordóñez Quintero, Luis Felipe Rondón Sulbarán

2012 a 2019: Curso de graduação em Odontologia pela Universidad de Los Andes (ULA), Mérida - Venezuela

2022 a 2024: 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 à minha família, especialmente à minha mãe. Por todo seu esforço e dedicação ao longo de sua vida para que eu tivesse a melhor preparação e, acima de tudo, para que eu fosse feliz. Te amo mamita.

AGRADECIMENTOS

À **Deus**, por me iluminar neste caminho.

À **minha família** que esteve presente para me apoiar durante toda essa jornada, que não foi fácil, especialmente por causa da situação em meu país.

À minha **mãe**, por ser a pessoa que sempre cuidou de mim e me apoiou em todas as etapas da minha vida, e que provavelmente foi a pessoa mais afetada pela minha saída da Venezuela, mas que sempre me apoiou em minha busca por uma educação e vida melhor.

Ao meu **pai**, por ser uma das pessoas mais influentes em minha vida, sempre despertando em mim a curiosidade de ir além das coisas.

À minha tia **Rosalba Ordóñez (Pacha)**, por ser como uma segunda mãe e ser o sol em que minha família orbita, sempre me dando seu amor e carinho. Além de me transmitir sua fortaleza e imagem de respeito.

À minha tia **Yuddy Rondón**, por todo seu amor e conselhos nos momentos difíceis, por me mostrar como uma pessoa pode ser forte.

Aos meus professores **Robert Ramírez** e **Oscar Pecho**, por terem confiado em meu trabalho e por me ensinarem o caminho da ciência.

À minha orientadora, **Profa. Dra. Alessandra Nara de Souza Rastelli**, por confiar em meu trabalho e me dar a grande oportunidade de vir ao Brasil para continuar meus estudos.

Aos **meus amigos** dentro e fora da Venezuela, que me apoiaram muito nos momentos difíceis.

À **Sra. Creusa Maria Hortenci**, por ter me dado seu apoio nos momentos difíceis do curso de pós-graduação.

À **Profa. Dra. Juliana Alvares Duarte Bonini**, por compartilhar seus conhecimentos e estar sempre disponível para me ouvir.

Ao **Sr. Cristiano Afonso Lamounier**, por estar sempre à disposição para qualquer procedimento administrativo na Universidade, sempre demonstrando gentileza e respeito.

A **todos os docentes** da Faculdade de Odontologia de Araraquara, por compartilharem seus conhecimentos e contribuírem para o meu crescimento técnico-científico. Agradeço em especial à **Profa. Dra. Josimeri Hebling**, **Profa. Dra. Gisele Faria**, por me ajudarem e me incentivarem durante esse projeto.

Ao **Programa de Pós-graduação de Ciências Odontológicas** da Faculdade de Odontologia de Araraquara, na pessoa de sua coordenadora **Profa. Dra. Andreia Bufalino** e de sua vice-coordenador **Prof. Dr. Milton Carlos Kuga**.

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

À **Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP)**, nas pessoas de seu Reitor **Prof. Dr. Pasqual Barretti** e Vice-Reitora **Profa. Dra. Maysa Furlan**.

À **FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo** (Processo nº 2021/01230-6) pelo apoio financeiro essencial para realização dessa pesquisa.

Muito obrigado, do fundo do meu coração.

Rondón Ordóñez LF. Eficiência das técnicas de remoção e da terapia fotodinâmica antimicrobiana na preservação da dentina afetada induzida por modelo biológico [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2024.

RESUMO

Técnicas alternativas para a remoção e desinfecção de lesões cariosas na dentina devem ser avaliadas. Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar *in vitro* a eficiência do ultrassom em comparação a outras técnicas associadas à terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFDA) mediada por curcumina na remoção e desinfecção de dentina. Previamente aos experimentos, foram determinados o tempo de pré-irradiação e a concentração inibitória e bactericida mínima (CIM e CBM) da curcumina. Após, foram obtidos espécimes de dentina bovina, medindo 4x4x2 mm e realizou-se análise de microdureza Knoop superficial para padronização dos espécimes ($31,75 \pm 4,79$ KHN). Foram induzidas lesões artificiais de cárie na dentina com cepa de *Streptococcus mutans* e *Actinomyces naeslundii* (modelo biológico) verificadas por meio de microscopia de luz polarizada e microradiografia transversal. As técnicas de remoção utilizados foram: fresa esférica (FE), escavador de dentina (ED) e ultrassom (UL). Adicionalmente, as técnicas de desinfecção foram: sem descontaminação (SD), terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFDA) e clorexidina (CL). A TFDA foi usada com curcumina na concentração de 320 μ M, fonte de luz LED (Biotable, MMOptics) comprimento de onda de 440 nm com doses de luz da ordem de 15, 60 e 100 J/cm². Foram realizadas a avaliação da capacidade de remoção das diferentes técnicas, por meio da taxa de remoção (n=9), em 3 momentos: T1 (previamente à indução), T2 (após indução) e T3 (após a remoção). Avaliação quantitativa de células viáveis (UFC/mL) para ambas as bactérias (n=9) e análise de microdureza Knoop longitudinal (n=9) em 5 profundidades. Aplicou-se teste de Shapiro-Wilk (normalidade) e Levene (homoscedasticidade). ANOVA a 2 e a 3 fatores com nível de significância de 5%. A CIM e a CBM da curcumina foi de 1,25 μ M, no entanto, uma concentração mais alta de 320 μ M foi utilizada para exercer melhor seu efeito antibacteriano. O tempo pré-irradiação foi de 5 min. De acordo com a taxa de remoção, não houve diferença entre os tempos T1 e T2. Já em relação aos tempos T2 e T3, houve diferença estatística significativa ($p < 0.05$). Grupos tratados com UL, promoveram menor taxa de remoção, seguidos pelo ED e a FE. Na Avaliação de UFC/mL nos grupos de TFDA o menor crescimento bacteriano se registrou com o uso do UL com doses de luz de 60 J/cm² para ambas as bactérias. Na microdureza longitudinal, independentemente do grupo testado, houve um aumento progressivo na microdureza Knoop da profundidade de 40 μ m a 200 μ m. De forma geral, pôde-se concluir que o ultrassom junto com a TFDA promoveu uma remoção e desinfecção mais eficiente em comparação com as técnicas convencional e manual acompanhados com a TFDA.

Palavras-chave: Ultrassom. Fotoquimioterapia. Cárie dentária. Biofilmes.

Rondón Ordóñez LF. Efficiency of removal techniques and antimicrobial photodynamic therapy on the preservation of the affected dentin induced by biological model [dissertação de mestrado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2024.

ABSTRACT

Alternative techniques for removing and disinfecting carious lesions in dentin should be evaluated. Thus, the aim of this study was to evaluate in vitro the efficiency of ultrasound compared to other techniques combined with antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) mediated by curcumin in the removal and disinfection of dentin. Prior to the experiments, the pre-irradiation time and the minimum inhibitory and bactericidal concentrations (MIC and MBC) of curcumin were determined. Bovine dentin specimens 4x4x2 mm were obtained, and superficial Knoop microhardness analysis was performed to standardize the specimens (31.75 ± 4.79 KHN). Artificial caries lesions were induced in the dentin using *Streptococcus mutans* and *Actinomyces naeslundii* strains (biological model), verified by polarized light microscopy and transversal microradiography. The removal techniques used were spherical bur (SB), dentin excavator (DE), and ultrasound (US). Additionally, the disinfection techniques were no decontamination (ND), antimicrobial photodynamic therapy (aPDT), and chlorhexidine (CH). The aPDT used curcumin at a concentration of 320 μ M, LED illumination (Biotable, MMOptics) with a wavelength of 440 nm and light doses of 15, 60, and 100 J/cm². The removal rate of the different techniques was evaluated by the removal rate (n=9) at three times: T1 (prior to induction), T2 (post-induction), and T3 (post-removal). Quantitative evaluation of viable cells (CFU/mL) for both bacteria (n=9) and longitudinal Knoop microhardness analysis (n=9) at five depths were performed. Shapiro-Wilk (normality) and Levene (homoscedasticity) tests, two- and three-factor ANOVA with a significance level of 5% were applied. The MIC and MBC of curcumin were 1.25 μ M; however, a higher concentration of 320 μ M was used for better antibacterial effect. The pre-irradiation time was 5 min. According to the removal rate, there was no statistically significant difference between T1 and T2 times. However, between T2 and T3, there was a statistically significant difference ($p < 0.05$). Groups treated with US promoted the lowest removal rate, followed by DE and SB. In the CFU/mL evaluation, the aPDT groups showed the lowest bacterial growth in the US group with light doses of 60 J/cm² for both bacteria. In longitudinal microhardness, regardless of the tested group, there was a progressive increase in Knoop microhardness from 40 μ m to 200 μ m depth. Overall, it can be concluded that ultrasound combined with aPDT promoted more efficient removal and disinfection compared to conventional and manual techniques combined with aPDT.

Keywords: Ultrasonics. Photochemotherapy. Dental caries. Biofilms.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 PROPOSIÇÃO	15
2.1 Objetivos Específicos	15
3 REVISÃO DA LITERATURA	16
3.1 Doença Cárie Dentária.....	16
3.2 Remoção do Tecido Cariado	17
3.2.1 Remoção seletiva até a dentina firme.....	18
3.2.2 Remoção seletiva até a dentina mole	18
3.2.3 Remoção por etapas	18
3.3 Desinfecção da Dentina	19
3.4 Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana	20
3.4.1 Curcumina.....	21
4 MATERIAIS E MÉTODOS	22
4.1 Fluxogramas	22
4.2 Preparo da Suspensão Bacteriana Padronizada	23
4.3 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM).....	25
4.4 Obtenção e Preparo dos Espécimes em Dentina Bovina	29
4.5 Análise da Microdureza Knoop Superficial.....	31
4.6 Indução Artificial da Lesão de Cárie.....	32
4.7 Microscopia de Luz Polarizada e Microradiografia Transversal (MT).....	34
4.8 Métodos de Remoção	38
4.9 Métodos de Desinfecção	40
4.10 Avaliação da Capacidade de Remoção das Diferentes Técnicas	41
4.11 Avaliação Quantitativa de Células Bacterianas Viáveis.....	41
4.12 Análise da Microdureza Knoop Longitudinal	42
4.13 Análise Estatística	42

5 RESULTADOS	44
5.1 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e	
 Determinação da Concentração Bactericida (CBM)	44
5.2 Microdureza Knoop Superficial.....	52
5.3 Microscopia de Luz Polarizada e Microradiografia	
 Transversal (MT)	53
5.4 Avaliação da Capacidade de Remoção das Diferentes	
 Técnicas.....	56
5.5 Avaliação Quantitativa de Células Bacterianas Viáveis	57
5.6 Microdureza Knoop Longitudinal	61
 6 DISCUSSÃO	 64
 7 CONCLUSÃO	 74
 REFERÊNCIAS	 75

1 INTRODUÇÃO

A cárie dentária continua sendo uma das doenças mais prevalentes na cavidade oral¹⁻⁴. Ela é causada por uma mudança ecológica no biofilme dentário, devido ao consumo elevado e regular de carboidratos fermentáveis, o que leva a um desequilíbrio na população de microrganismos⁵. Nessa circunstância, as bactérias acidogênicas têm uma vantagem competitiva ao metabolizar carboidratos em ácidos orgânicos, diminuindo o pH e deslocando espécies bacterianas não-acidogênicas e não-acidúricas do biofilme^{6,7}. Isto resulta em desequilíbrio no processo de desmineralização-remineralização que leva à perda mineral nos tecidos duros do dente, seguida pela destruição do tecido orgânico^{8,9}.

A compreensão dos fatores envolvidos na etiologia, assim como o melhor entendimento sobre o desenvolvimento da cárie dentária mudou paradigmas no manejo da doença, com o desenvolvimento de estratégias não invasivas ou micro invasivas para prevenir e deter a doença e suas consequências principalmente quando se trata de lesões não cavitadas. Por outro lado, as lesões cavitadas geralmente necessitam de tratamento restaurador para devolver a função e a estética da estrutura dentária¹⁰. Durante a execução desses tratamentos, a remoção do tecido cariado deve ser conservadora e dependerá da profundidade da lesão, equilibrando uma remoção cuidadosa que possa minimizar riscos de exposição da polpa dentária com uma remoção adequada que garanta a máxima longevidade para a restauração¹¹⁻¹⁵.

A remoção do tecido cariado é geralmente guiada pelos diferentes níveis de dureza da dentina remanescente. Esses níveis subjetivos de dureza podem ser classificados como: amolecida, coriácea, firme e dura. A dentina amolecida pode ser facilmente removida com escavador de dentina e é descrita como dentina infectada. Por outro lado, a dentina coriácea não deforma com a pressão do instrumento, pode ser removida com pouca força e é descrita como dentina afetada; apresentando pequenas diferenças em relação à dentina firme que requer maior pressão para a escavação. Finalmente, a dentina dura só pode ser escavada com instrumentos afiados ou fresas e pode ser descrita como dentina hígida^{11,14,16}.

Existem diferentes métodos e tecnologias para a remoção das lesões cariosas, incluindo: escavação com instrumentos cortantes manuais e rotatórios¹⁷, abrasão a ar, sono-abrasão, agentes químico-mecânicos e lasers¹⁴. Esses instrumentos

utilizam abordagens diferentes para a remoção, afetando o grau de remoção, que pode ser mais conservador ou mais invasivo, e pode gerar características diferentes na camada superficial do tecido¹⁸. Os métodos utilizados rotineiramente são os instrumentos cortantes rotatórios⁷ e manuais⁸, dos quais as fresas de diamante e carbide são as mais comumente usadas. No entanto, é preciso observar que a implementação desses instrumentos requer um controle adequado por parte do operador para evitar a remoção excessiva de tecido¹⁹. Por esse motivo, também surgiram outros equipamentos que permitem uma remoção mais conservadora, como o ultrassom^{20,21}, que realiza a remoção por meio de abrasão do tecido, utilizando pontas de diamante oscilantes que podem ser fornecidas em diferentes formatos, facilitando a remoção em áreas complexas, como superfícies proximais^{19,22,23}. Além, a superfície dentinária originada por esses equipamentos cria uma camada fina de smear layer, podendo promover adesão e microfiltração semelhante à superfície criada com o uso de fresas¹⁸.

Essa remoção de tecido cariado pode ser acompanhada de métodos de desinfecção, entre os quais é comumente descrito o digluconato de clorexidina, um composto de biguanida²⁴⁻²⁶, utilizado na área de dentística para inibição de metaloproteinases da matriz na dentina e melhorar a durabilidade da camada híbrida²⁷⁻³⁴ bem como a redução bacteriana³⁵. Utilizando um mecanismo de ação que causa a perda de componentes intracelulares devido ao desequilíbrio osmótico nos microrganismos, motivado pela adsorção de suas moléculas catiônicas na parede celular bacteriana carregada negativamente^{24,36}. Também entre essas técnicas de desinfecção, podemos encontrar a terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFDA)³⁷⁻⁴¹, que representa uma abordagem minimamente invasiva como terapia adjuvante no controle da cárie por meio da inativação de bactérias cariogênicas⁴². A TFDA envolve a excitação de uma molécula fotossensível (fotossensibilizador) por meio da absorção da luz em comprimento de onda apropriado para a produção de espécies reativas de oxigênio^{43,44}. Diferentes estudos *in vitro*⁴⁵⁻⁴⁹ e clínicos⁵⁰⁻⁵⁴ avaliaram o desempenho do TFDA em dentina afetada pela cárie dentária, demonstrando resultados positivos. Da mesma forma, revisões de literatura^{55,56}, revisões sistemáticas⁵⁷ e meta-análises⁵⁸ descrevem a eficácia desta terapia na redução da quantidade e controle de microrganismos.

Por outro lado, um dos fotossensibilizadores usados na TFDA é a curcumina, um composto fitoterápico de cor amarelo-alaranjado, que tem sido utilizado como agente

antitumoral, antioxidante e antiinflamatório^{59,60}. Na última década, a TFDA usando curcumina demonstrou, por meio de estudos in vitro, a redução da viabilidade de microrganismos relacionados à cárie dentária em culturas planctônicas⁶¹⁻⁶⁹, biofilmes^{63,66,68-76}, microcosmos^{48,49,77} e lesões semelhantes à cárie dentária^{22,23,72}. A TFDA é um método conservador que pode ser realizado após a remoção do tecido cariado para desinfetar a dentina e posteriormente realizar a restauração⁷⁸. Além disso, A utilização da TFDA em associação com equipamentos de ultrassom também tem sido descrito, essa combinação visa permitir maior penetração do fotossensibilizador e produzir desinfecção mais profunda no tecido dentinário^{22,23}.

Em contrapartida, a desinfecção da dentina não parece ser um fator determinante na taxa de sobrevivência das restaurações^{26,79}. A adesão às margens saudáveis do tecido permite que a restauração seja selada, privando assim as bactérias de carboidratos e interrompendo a progressão da lesão cariosa^{13,14}. Por outro lado, técnicas de remoção de lesões de cárie dentária profundas, como a técnica passo-a-passo e a remoção seletiva, sugerem deixar a dentina amolecida nas áreas próximas à polpa para evitar a sua exposição¹¹⁻¹⁵. Estas técnicas têm mostrado restaurações que podem ter uma vida útil prolongada⁸⁰⁻⁸⁴; entretanto, deve-se notar que são técnicas que devem ser executadas meticulosamente, garantindo a adesão nas margens saudáveis do tecido para obtenção de selamento adequado com o intuito de minimizar a quantidade de dentina amolecida⁸⁵, que também apresenta uma carga bacteriana maior^{11-15,85}. Esses procedimentos clínicos sensíveis podem ser favorecidos pela implementação de dispositivos que permitem um melhor controle para a preservação do tecido¹⁹ e que podem ser complementados por técnicas de desinfecção que ajudem a reduzir a quantidade de bactérias remanescentes presentes nessa dentina^{22,23}.

Deve-se observar também que os microrganismos parecem sobreviver sob restaurações por períodos prolongados⁸⁶ possivelmente usando glicoproteínas do líquido da polpa dentária para nutrição⁸⁵; entretanto, ainda não está claro o que acontece com essas bactérias remanescentes e quais consequências elas e suas toxinas podem ter no nível da polpa dentária e na interface dentina-restauração⁸⁷. Mas deve-se considerar que uma dessas consequências pode ser a inflamação pulpar, situação ainda mais delicada no cenário de cáries profundas, onde determinar o efeito sobre a polpa dentária, a extensão e o desempenho futuro da restauração é uma tarefa complicada para se chegar a um prognóstico previsível⁸⁸.

Portanto, o principal objetivo durante os procedimentos de remoção de cáries é manter a vitalidade do dente, evitando no máximo possível a exposição da polpa dentária, permitindo as melhores condições para o correto desempenho da restauração, bem como a fisiologia adequada da polpa¹¹⁻¹⁵.

Do ponto de vista histopatológico, o limiar da inflamação pulpar irreversível é definido como o estágio em que os microrganismos entram na polpa dentária por meio da dentina terciária ou diretamente por meio das exposições pulpares⁸⁸, o que poderia ser evitado com o uso de técnicas conservadoras de remoção e desinfecção que permitem a redução desses microrganismos e também podem servir indiretamente como bioestimuladores dos mecanismos de reparo da polpa dentária⁸⁹. A literatura sugere que a adesão nas margens saudáveis do esmalte e da dentina que fornecem o selamento da restauração é um fator mais importante do que a remoção da dentina cariada⁸⁵. No entanto, deve-se levar em conta que, em situações clínicas especiais, como cáries profundas, os fatores biológicos e o desempenho do material devem ser cuidadosamente analisados⁸⁸. Por esses motivos, é necessário avaliar técnicas alternativas de remoção e desinfecção, tentando assim ampliar as possibilidades de tratamentos em cenários complexos.

7 CONCLUSÃO

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

- O uso do ultrassom promoveu uma remoção de dentina infectada mais eficiente em comparação com a técnica convencional e manual, por meio do cálculo da taxa de remoção.
- O uso do ultrassom associado à TFDA por meio da avaliação da contagem de unidades formadoras de colônias (UFC/mL), teve um melhor desempenho com a dose de luz de 60 J/cm² em comparação com a técnica convencional e manual acompanhados com a TFDA.
- O uso do ultrassom proporcionou valores mais baixos de microdureza longitudinal em comparação com a técnica convencional e manual, por meio do teste de microdureza Knoop (KHN).

REFERÊNCIAS*

1. 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.
2. Wen PYF, Chen MX, Zhong YJ, Dong QQ, Wong HM. Global burden and Inequality of dental caries, 1990 to 2019. *J Dent Res*. 2022; 101(4): 392-9.
3. James SL, Abate D, Abate KH, Abay SM, Abbafati C, Abbasi N et al. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet*. 2018; 392(10159): 1789–858.
4. Qin XF, Zi H, Zeng XJ. Changes in the global burden of untreated dental caries from 1990 to 2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease study. *Heliyon*. 2022; 8(9): e10714.
5. Pitts NB, Twetman S, Fisher J, Marsh PD. Understanding dental caries as a non-communicable disease. *Br Dent J*. 2021; 231(12): 749–53.
6. Marsh PD. Dental plaque as a biofilm and a microbial community: implications for health and disease. *BMC Oral Health*. 2006; 6(SUPPL. 1): 1–7.
7. de Oliveira RVD, Bonafé FSS, Spolidorio DMP, Koga-ito CY, de Farias AL, Kirker KR et al. *Streptococcus mutans* and *actinomyces naeslundii* interaction in dual-species biofilm. *Microorganisms*. 2020; 8(2): 1–15.
8. Fejerskov O, Nyvad B, Kidd EA. Pathology of dental caries. In: Fejerskov O, Kidd EAM, editors. *Dental caries: the disease and its clinical management*. Oxford: Blackwell Munksgaard; 2008. p. 20–48.
9. 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.
10. Schwendicke F. Removing or controlling? In: Schwendicke F, editor. *Management of deep carious lesions*. Cham, Switzerland: Springer Nature; 2018.
11. 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.
12. 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.
13. Schwendicke F. Contemporary concepts in carious tissue removal : a review. *J Esthet Restor Dent*. 2017; 29(6): 403-8.

* 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>

14. 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.
15. Schwendicke F, Walsh T, Lamont T, Al-yaseen W, Bjørndal L, Clarkson JE, et al. Interventions for treating cavitated or dentine carious lesions. *Cochrane Database Syst Rev.* 2021;2021(7).
16. Schwendicke F. Removing Carious Tissue: Why and How? *Monogr Oral Sci.* 2018;27:56–67.
17. Summitt JB. Nomenclature and Instrumentation. In: Hilton T, Ferracane JL, Broome J, editors. *Summitt's Fundamentals of Operative Dentistry: A Contemporary Approach.* 4th ed. Quintessence Publishing; 2013.
18. Van Landuyt K, de Munck J, Coutinho E, Peumans M, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Bonding to Dentin: Smear Layer and the Process of Hybridization. In: Eliades G, Watts DC, Eliades T, editors. *Dental Hard Tissues and Bonding Interfacial Phenomena and Related Properties.* Germany: Springer; 2005.
19. Besegato JF, de Melo PBG, Bernardi ACA, Bagnato VS, Rastelli AN de S. Ultrasound device as a minimally invasive approach for caries dentin removal. *Braz Dent J.* 2022;33(1):57–67.
20. 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):268–73.
21. 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. 2018;(5):1–9.
22. Borges Gobbo De Melo P, Besegato JF, Adilson C, Bagnato VS, Nara A, Rastelli DS. Antimicrobial photodynamic therapy as an adjunctive treatment to ultrasound for the dentin caries-like lesion removal. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2022;40:103148.
23. Besegato JF, Melo PBG de, Abreu Bernardi AC, Souza MT, Zanotto ED, Bagnato VS, et al. Using Antimicrobial Photodynamic Therapy with Ultrasound Devices and Bioactive Glasses as a Combined Approach for Treating Dentin Caries Lesions. *Pathogens.* 2023;12(8):1–18.
24. Jones CG. Chlorhexidine: Is it still the gold standard? *Periodontol* 2000. 1997;15(1):55–62.
25. 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(July):103497.
26. Elkady DM, Khater AGA, Schwendicke F. Chlorhexidine to improve the survival of ART restorations: A systematic review and meta-analysis. *J Dent.* 2020;103(July):103491.
27. Perdigão J, Reis A, Loguercio AD. Dentin adhesion and MMPs: A comprehensive review. *J Esthet Restor Dent.* 2013;25(4):219–41.
28. Perdigão J. Current perspectives on dental adhesion : (1) Dentin adhesion - not there yet. 2020;56(1):190–207.

29. Carrilho MR, Carvalho RM, Sousa EN, Nicolau J, Breschi L, Mazzoni A, et al. Substantivity of chlorhexidine to human dentin. *Dent Mater*. 2010;26(8):779–85.
30. Meerbeek B Van, Landuyt K Van. From Buonocore ' s Pioneering Acid-Etch Technique to Self-Adhering Restoratives . A Status Perspective of Rapidly Advancing Dental Adhesive Technology. *J Adhes Dent*. 2020;22(1):7–34.
31. 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.
32. Coelho A, Amaro I, Rascão B, Marcelino I, Paula A, Saraiva J, et al. Effect of cavity disinfectants on dentin bond strength and clinical success of composite restorations-a systematic review of in vitro, in situ and clinical studies. *Int J Mol Sci*. 2021;22(1):1–27.
33. Göstemeyer G, Schwendicke F. Inhibition of hybrid layer degradation by cavity pretreatment: Meta- and trial sequential analysis. *J Dent*. 2016;49:14–21.
34. Perdigão J, Araujo E, Ramos RQ, Gomes G, Pizzolotto L. Adhesive dentistry: Current concepts and clinical considerations. *J Esthet Restor Dent*. 2021;33(1):51–68.
35. Qiu W, Zhou Y, Li Z, Huang T, Xiao Y, Cheng L, et al. Application of Antibiotics/Antimicrobial Agents on Dental Caries. *Biomed Res Int*. 2020;2020.
36. Jenkins S, Addy M, Wade W. The mechanism of action of chlorhexidine: A study of plaque growth on enamel inserts in vivo. *J Clin Periodontol*. 1988;15(7):415–24.
37. Liu Y, Qin R, Zaat SAJ, Breukink E, Heger M. Antibacterial photodynamic therapy: overview of a promising approach to fight antibiotic-resistant bacterial infections. *J Clin Transl Res*. 2015;1(3):140–67.
38. Cieplik F, Tabenski L, Buchalla W, Maisch T. Antimicrobial photodynamic therapy for inactivation of biofilms formed by oral key pathogens. *Front Microbiol*. 2014;5(AUG):405.
39. Kharkwal GB, Sharma SK, Huang YY, Dai T, Hamblin MR. Photodynamic therapy for infections: Clinical applications. *Lasers Surg Med*. 2011;43(7):755–67.
40. Allison RR, Moghissi K. Photodynamic therapy (PDT): PDT mechanisms. *Clin Endosc*. 2013;46(1):24–9.
41. Hamblin MR. Antimicrobial photodynamic inactivation: a bright new technique to kill resistant microbes. *Curr Opin Microbiol*. 2016;33:67–73.
42. 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):1–13.
43. Scherer KM, Bisby RH, Botchway SW, Parker AW. New Approaches to Photodynamic Therapy from Type I , II and III to Type IV Using One or More Photons. *Anticancer Agents Med Chem*. 2017;17:171–189.

44. Oliveira B De, Ferrisse M, Marques RS. Effect of Photodynamic Therapy on Microorganisms Responsible for Dental Caries : A Systematic Review and Meta-Analysis. *Int J Mol Sci.* 2019;1–16.
45. 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.
46. 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.
47. Cusicanqui Méndez DA, Gutierrez E, Dionísio EJ, Marchini Oliveira T, Rabelo Buzalaf AM, Rios D, et al. Effect of methylene blue-mediated antimicrobial photodynamic therapy on dentin caries microcosms. *Lasers Med Sci.* 2018;33(3):479–87.
48. Méndez, Cusicanqui DA, Gutierrez E, Dionisio EJ, Rabelo Buzalaf MA, Oliveira RC, Andrade Moreira 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.
49. Cusicanqui Méndez DA, Gutierrez E, Campos G, Lopes V, Rabelo Buzalaf MA, 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(July):474–80.
50. 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):1–7.
51. 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.
52. Antunes LS, Motta PC, Fontes K, Iorio N, Doutor R, Henrique S, et al. Antimicrobial Photodynamic Therapy as an Adjunct for Clinical Partial Removal of Deciduous Carious Tissue: A Minimally Invasive Approach. 2018;0–2.
53. Gotardo Lara Alves LV, Curylofo-zotti FA, Borsatto MC, de Souza Salvador SL, Valerio 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.
54. Faria LV, Antunes LS, Pio LRR, Dias JC, Pinheiro LHM, Reis CLB, et al. Evaluation of composite restorations in primary molars subjected to selective caries removal associated with antimicrobial photodynamic therapy: A randomized controlled trial. *Int J Paediatr Dent.* 2022;32(4):585–97.
55. 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.

56. 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.
57. 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.
58. Ornellas PO, Antunes LS, Fontes KBF da C, Póvoa HCC, Kückler EC, Iorio NLP, et al. Effect of the antimicrobial photodynamic therapy on microorganism reduction in deep caries lesions: a systematic review and meta-analysis. *J Biomed Opt.* 2016;21(9):1–11.
59. Santezi C, Reina BD, Dovigo LN. Curcumin-mediated Photodynamic Therapy for the treatment of oral infections — A review. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2018;21(January):409–15.
60. Yuan Y, Liu Q, Huang Y, Qi M, Yan H, Li W, et al. Antibacterial Efficacy and Mechanisms of Curcumin-Based Photodynamic Treatment against *Staphylococcus aureus* and Its Application in Juices. *Molecules.* 2022;27(20):7136.
61. Araújo NC, Fontana CR, Bagnato VS, Gerbi MEM. Photodynamic effects of curcumin against cariogenic pathogens. *Photomed Laser Surg.* 2012;30(7):393–9.
62. 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 Sep;10(3):313–9.
63. Manoil D, Filieri A, Gameiro C, Lange N, Schrenzel J, Wataha JC, et al. Flow cytometric assessment of *Streptococcus mutans* viability after exposure to blue light-activated curcumin. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2014;11(3):372–9.
64. Tonon CC, Paschoal MA, Correia M, Spolidório DM, Bagnato VS, Giusti JS, et al. Comparative Effects of Photodynamic Therapy mediated by Curcumin on Standard and Clinical Isolate of *Streptococcus mutans*. *J Contemp Dent Pract.* 2015;16(1):1–6.
65. Soria-Lozano P, Gilaberte Y, Paz-Cristobal M, Pérez-Artiaga L, Lampaya-Pérez V, Aporta J, et al. In vitro effect photodynamic therapy with different photosensitizers on cariogenic microorganisms. *BMC Microbiol.* 2015;15(1):1–8.
66. Krishan J, Gutierrez T, Zanatta GC, Laura A, Ortega M, Cla A, et al. Encapsulation of curcumin in polymeric nanoparticles for antimicrobial Photodynamic Therapy. Vol. 12, *Plos One.* 2017. 1–34 p.
67. Nima G, Soto-Montero J, Alves LA, Mattos-Graner RO, Giannini M. Photodynamic inactivation of *Streptococcus mutans* by curcumin in combination with EDTA. *Dent Mater.* 2021;37(1):e1–14.
68. Ahrari F, Mazhari F, Ghazvini K, Fekrazad R, Menbari S, Nazifi M. Antimicrobial photodynamic therapy against *Lactobacillus casei* using curcumin, nano-curcumin, or erythrosine and a dental LED curing device. *Lasers Med Sci.* 2023;38(1):1–10.

69. Ahrari F, Nazifi M, Mazhari F, Ghazvini K, Menbari S, Fekrazad R, et al. Photoinactivation Effects of Curcumin, Nano-curcumin, and Erythrosine on Planktonic and Biofilm Cultures of *Streptococcus mutans*. *Shahid Beheshti Univ Med Sci*. 2024;15:e7.
70. Gobbo De Melo PB, Besegato JF, Abreu Bernardi AC, Bagnato VS, De Souza Rastelli AN. Can sono-photodynamic therapy enhance the antibacterial effect of curcumin against *Streptococcus mutans* biofilm? *Laser Phys Lett*. 2021;18(10).
71. 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.
72. 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.
73. Quishida CCC, De Oliveira Mima EG, Jorge JH, Vergani CE, Bagnato VS, Pavarina AC. Photodynamic inactivation of a multispecies biofilm using curcumin and LED light. *Lasers Med Sci*. 2016;31(5):997–1009.
74. Li X, Yin L, Ramage G, Li B, Tao Y, Zhi Q, et al. Assessing the impact of curcumin on dual-species biofilms formed by *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. *Microbiologyopen*. 2019;8(12):1–10.
75. Pourhajibagher M, Rahimi esboei B, Hodjat M, Bahador A. Sonodynamic excitation of nanomicelle curcumin for eradication of *Streptococcus mutans* under sonodynamic antimicrobial chemotherapy: Enhanced anti-caries activity of nanomicelle curcumin. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2020;30(April):101780.
76. dos Santos DDL, Besegato JF, de Melo PBG, Junior JAO, Chorilli M, Deng D, et al. Effect of curcumin-encapsulated Pluronic® F-127 over duo-species biofilm of *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. *Lasers Med Sci*. 2022;37(3):1775–86.
77. Chaves GC, Alejandra D, Méndez C, Gutierrez E, Dionisio EJ, Aparecida M, et al. Could being chlorhexidine an adequate positive control to antimicrobial photodynamic therapy in in vitro studies? *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2018;
78. Rodrigues de Sant'Anna G, Duarte DA. Antimicrobial photodynamic therapy for carious tissue. In: De Freitas P, Simões A, editors. *Lasers in Dentistry Guide for Clinical Practice*. Wiley-Blackwell; 2015. p. 221–51.
79. Farag A, Van Der Sanden WJM, Abdelwahab H, Mulder J, Frencken JE. 5-Year survival of ART restorations with and without cavity disinfection. *J Dent*. 2009;37:468–74.
80. Lima FF, Pascotto RC, Benetti AR. Stepwise Excavation in a Permanent Molar: 17-year Follow-up. *Oper Dent*. 2010;482–6.
81. 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.

82. Bjørndal L. In deep cavities stepwise excavation of caries can preserve the pulp. *Evid Based Dent*. 2011;12:68.
83. Schwendicke F, Kern M, Blunck U, Do C. Marginal integrity and secondary caries of selectively excavated teeth in vitro. *J Dent Res*. 2014;42:1261–8.
84. 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(April):103416.
85. Van Landuyt K, Van Meerbeek B. Restorative Challenges and How to Overcome Them. In: Schwendicke F, editor. *Management of Deep Carious Lesions*. Cham, Switzerland: Springer Nature; 2018.
86. Paddick JS, Brailsford SR, Kidd EAM, Beighton D. Phenotypic and genotypic selection of microbiota surviving under dental restorations. *Appl Environ Microbiol*. 2005;71(5):2467–72.
87. Ricucci D, Siqueira JF, Rôças IN, Lipski M, Shibani A, Tay FR. Pulp and dentine responses to selective caries excavation: A histological and histobacteriological human study. *J Dent*. 2020;100:103430.
88. Bjørndal L, Simon S, Tomson PL, Duncan HF. Management of deep caries and the exposed pulp. *Int Endod J*. 2019;52(7):949–73.
89. Ferreira L de AQ, Anestino TA, Branco NTT, Diniz LA, Diniz MG, de Magalhães CS, et al. Adjunctive therapies for in vitro carious lesions: Antimicrobial activity, activation of dentin metalloproteinases and effects on dental pulp cells. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. 2022;40(October).
90. Mazzini V, Craig VSJ. Specific-ion effects in non-aqueous systems. *Curr Opin Colloid Interface Sci*. 2016;23:82–93.
91. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement. CLSI document M100-S23. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2013.
92. 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.
93. Beal J, Farny NG, Haddock-Angelli T, Selvarajah V, Baldwin GS, Buckley-Taylor R, et al. Robust estimation of bacterial cell count from optical density. *Commun Biol*. 2020;3(1):512.
94. Arends J, Ten Bosch JJ. Demineralization and Remineralization Evaluation Techniques. *Am Dent Assoc*. 1990;71:71–83.
95. 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.
96. 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.

97. 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.
98. Corrêa FNP. Avaliação da dentina remanescente após remoção de cárie com instrumento cortante rotatório e métodos químico-mecânicos, utilizando análise de microdureza, fluorescência laser e MEV. Universidade de São Paulo; 2005.
99. Perote LCCC, Kamosaki MBB, Gutierrez NC, Tay FR, Pucci CR. Effect of matrix metalloproteinase-inhibiting solutions and aging methods on dentin bond strength. *J Adhes Dent.* 2015;17(4):347–52.
100. 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.
101. 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.
102. 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.
103. Khan J, Tarar SM, Gul I, Nawaz U, Arshad M. Challenges of antibiotic resistance biofilms and potential combating strategies: a review. *3 Biotech.* 2021;11(4):1–15.
104. Hernández-Jiménez E, del Campo R, Toledano V, Vallejo-Cremades MT, Muñoz A, Largo C, et al. Biofilm vs. planktonic bacterial mode of growth: Which do human macrophages prefer? *Biochem Biophys Res Commun.* 2013;441(4):947–52.
105. Stuermer EK, Besser M, Brill F, Geffken M, Plattfaut I, Severing AL, et al. Comparative analysis of biofilm models to determine the efficacy of antimicrobials. *Int J Hyg Environ Health.* 2021;234(March):113744.
106. Wang Y, Hoffmann JP, Baker SM, Bentrup KH zu, Wimley WC, Fuselier JA, et al. Inhibition of *Streptococcus mutans* biofilms with bacterial-derived outer membrane vesicles. *BMC Microbiol.* 2021;21(1):1–12.
107. 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.
108. 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.
109. 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.

110. Marsh PD. Dental Biofilms in Health and Disease. In: Goldberg M, editor. *Understanding Dental Caries From Pathogenesis to Prevention and Therapy*. Switzerland: Springer; 2016. p. 41–52.
111. Takahashi N, Nyvad B. Caries ecology revisited: Microbial dynamics and the caries process. *Caries Res*. 2008;42(6):409–18.
112. 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.
113. Nakajima M, Kunawarote S, Prasansuttiporn T, Tagami J. Bonding to caries-affected dentin. *Jpn Dent Sci Rev*. 2011;47(2):102–14.
114. Kwon SJ, Park YJ, Jun SH, Ahn JS, Lee IB, Cho BH, et al. Thermal irritation of teeth during dental treatment procedures. *Restor Dent Endod*. 2013;38(3):105.
115. Mollica FB, Camargo FP, Zamboni SC, Pereira SMB, Teixeira SC, Nogueira L. Pulpal temperature increase with high-speed handpiece, Er:YAG laser and ultrasound tips. *J Appl Oral Sci*. 2008;16(3):209–13.
116. Van Meerbeek B, De Munck J, Mattar D, Van Landuyt K, 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;28:647–60.
117. de Oliveira MT, de Freitas P, Eduardo CDP, Ambrosano G, Giannini M. Influence of Diamond Sono-Abrasion , Air-Abrasion and Er : YAG Laser Irradiation on Bonding of Different Adhesive Systems to Dentin. *Eur J Dent*. 2007;1:158–66.
118. Senawongse P, Srihanon A, Muangmingsuk A, Harnirattisai C. Effect of dentine smear layer on the performance of self-etching adhesive systems: A micro-tensile bond strength study. *J Biomed Mater Res - Part B Appl Biomater*. 2010;94(1):212–21.
119. Monti Lima L, Baffi Diniz M, Aparecida Seccani Galassi M, Toledo De Oliveira Ramalho L, Dos Santos-Pinto L. Evaluation of the dentin-pulp complex after cavity preparation with ultrasonic diamond tip. *Minerva Stomatol*. 2011;60(1–2):15–23.
120. Schmidt PJ, Anderson WB, Emelko MB. Describing water treatment process performance: Why average log-reduction can be a misleading statistic. *Water Res*. 2020;176:115702.
121. de Alba AEM, Rubio MB, Morán-Diez ME, Bernabéu C, Hermosa R, Monte E. Microbiological evaluation of the disinfecting potential of UV-C and UV-C plus ozone generating robots. *Microorganisms*. 2021;9(1):1–12.
122. 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.
123. Fritz SA, Hogan PG, Camins BC, Ainsworth AJ, Patrick C, Martin MS, et al. Mupirocin and chlorhexidine resistance in *Staphylococcus aureus* in patients with community-onset skin and soft tissue infections. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013;57(1):559–68.