

rayane.r.araujo@gmail.com

\*Rayane R Araujo; AA Del Bel Cury; JA Cury; LMA Tenuta; MM Bertolini;  
YW Cavalcanti; WJ da Silva

Laboratório de Bioquímica Oral - Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP

## INTRODUÇÃO

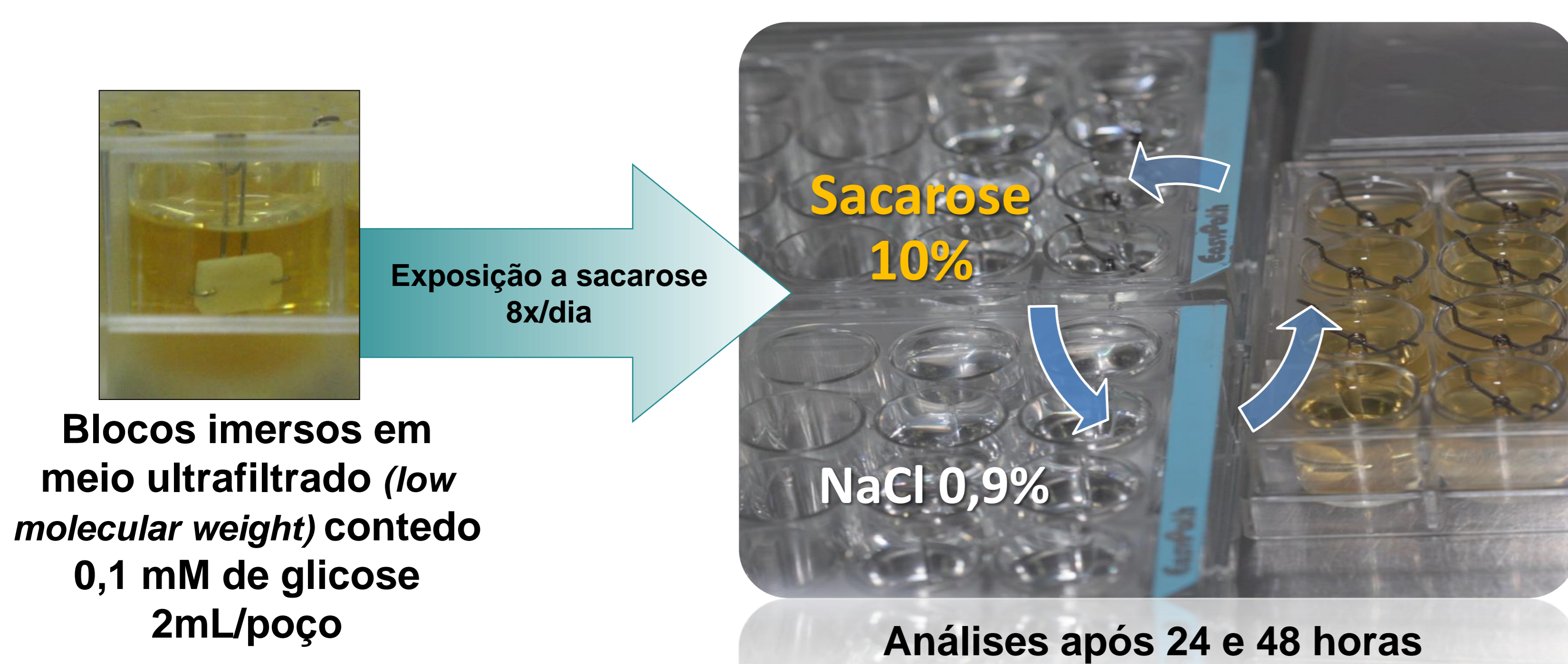
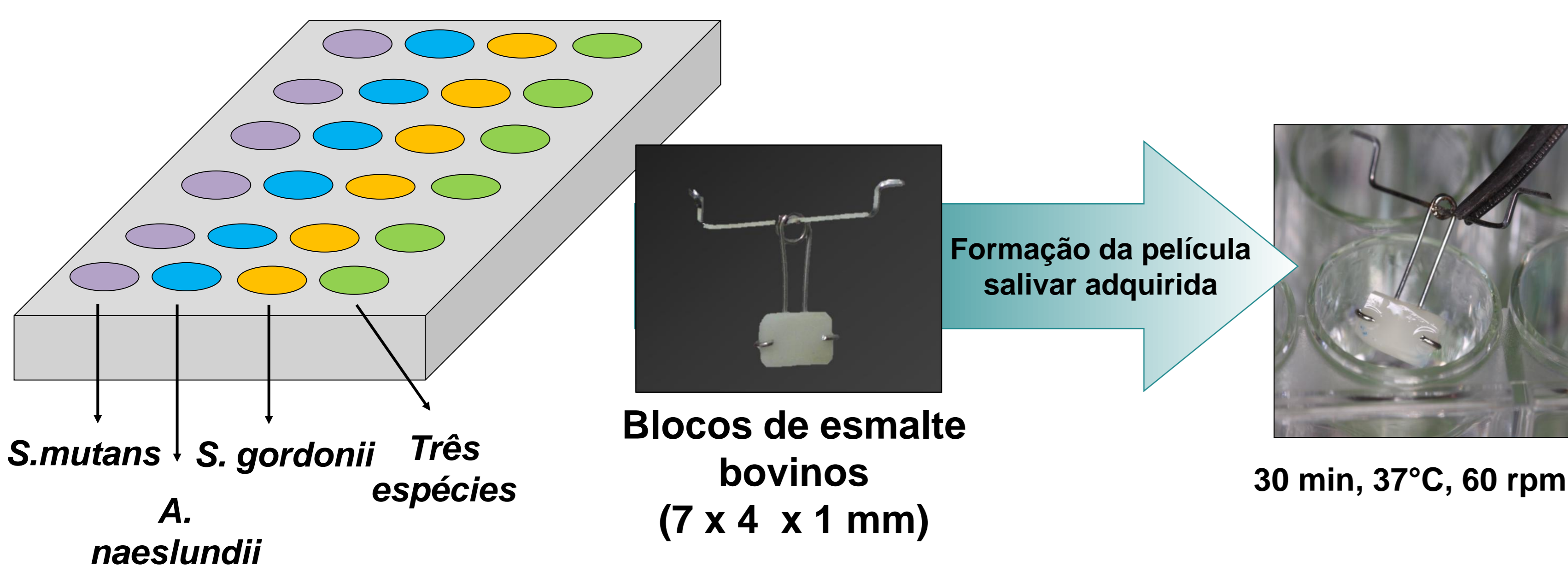
- Na dieta moderna sacarose e amido são usados simultaneamente ou intermitentemente e tem sido sugerido que amido poderia aumentar o poder cariogênico de sacarose (Lingstrom *et al.*, 2000; Ribeiro *et al.*, 2005).
- Uma das hipóteses para explicar o efeito dessa associação é a produção diferenciada de polissacarídeos extracelulares a partir da sacarose quando hidrolisados de amido estão disponíveis na cavidade bucal (Bowen & Koo, 2011). Para avaliar o efeito dessa associação em condições experimentais controladas, devem ser usados modelos de biofilme contendo espécies bacterianas implicadas com o metabolismo direto ou indireto de amido e sacarose.

## OBJETIVO

Desenvolver um modelo de biofilme *in vitro* composto por *A. naeslundii* (ATCC 12104), *S. gordonii* (ATCC 35105) e *S. mutans* (UA 159), bactérias que metabolizam amido, expressam a proteína ligadora de  $\alpha$ -amilase e utilizam hidrolisados de amido. Neste estudo preliminar, sacarose foi utilizada como fonte de carboidratos a fim de avaliar a aplicabilidade do modelo na avaliação da estrutura do biofilme triespécie formado.

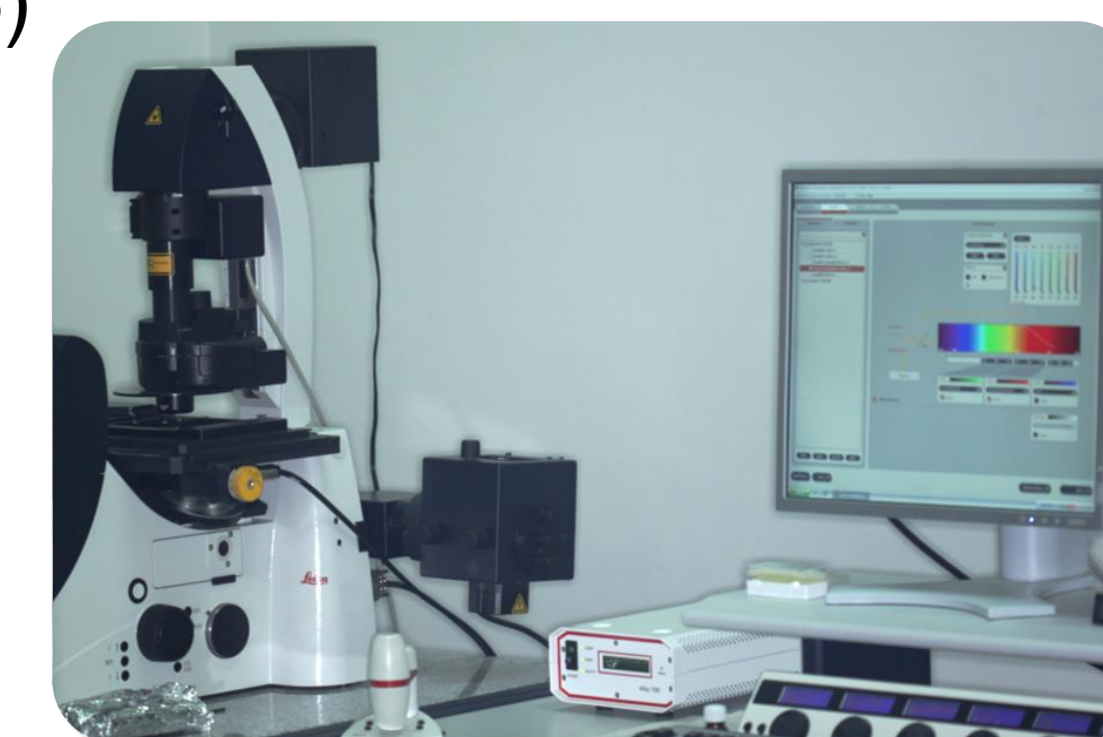
## MATERIAIS E MÉTODOS

- Estudo *in vitro* baseado no modelo de crescimento de biofilme de Ccahuana-Vásquez & Cury, 2010.
- Projeto aprovado pelo CEP-FOP-UNICAMP (uso de saliva humana) (#035/2012).
- Blocos de esmalte com a presença de película adquirida foram utilizados como substrato para o desenvolvimento de biofilme tri-espécie, sendo submetidos a episódios diários de exposição a sacarose, simulando períodos de fartura e miséria.
- Espécies bacterianas:** *Streptococcus mutans* (UA159); *Streptococcus gordonii* (ATCC35105); *Actinomyces naeslundii* (ATCC12104).
- Desafio Cariogênico:** Sacarose 10% durante 3 minutos - 8 vezes ao dia



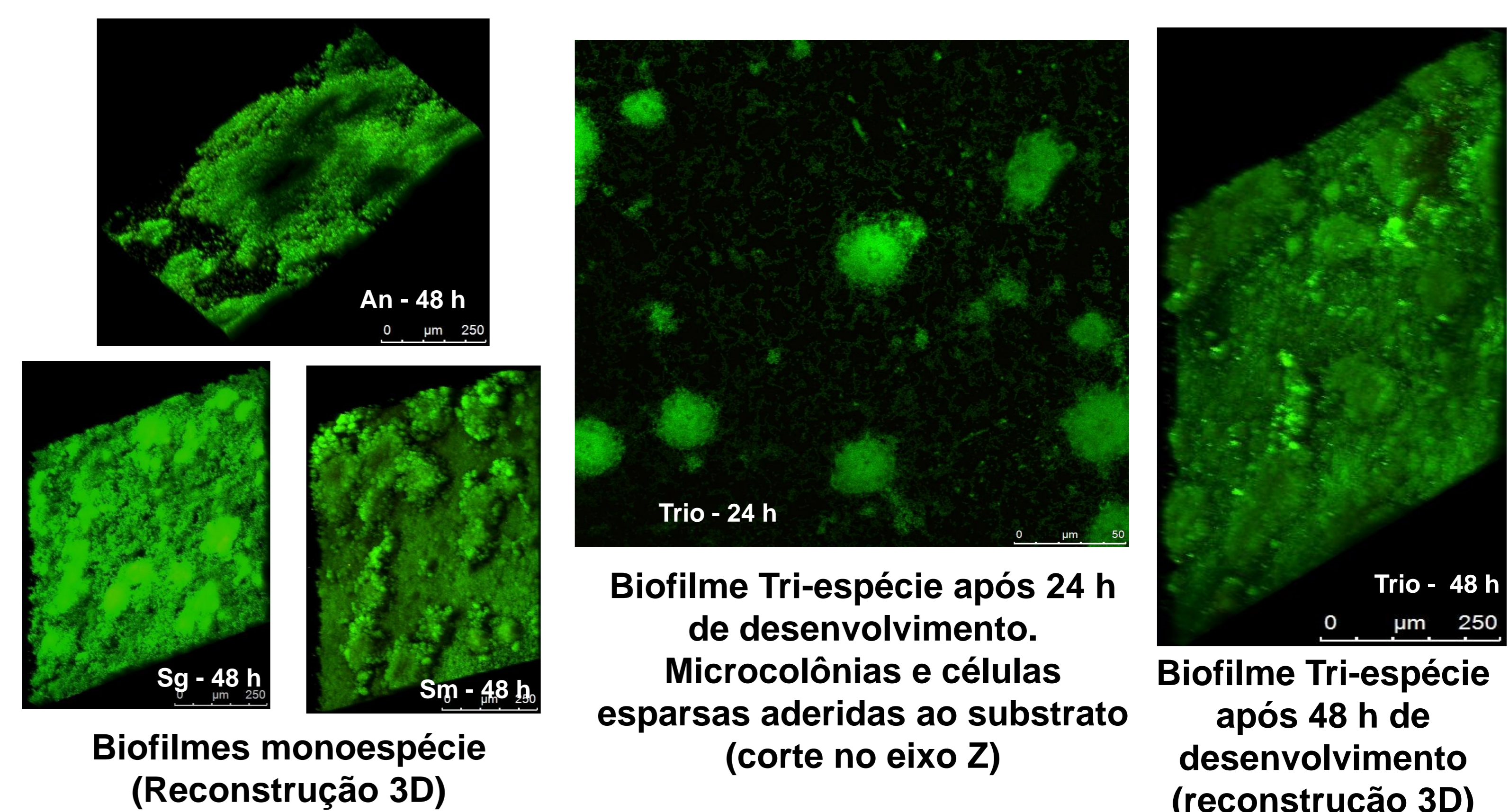
## MATERIAIS E MÉTODOS (cont)

- Análises em Microscópio Confocal a Laser (Leica SP5)
- Análise Live/Dead:
  - Coloração do Biofilme com Corante Live/Dead (corantes Propidium Iodide e SYTO-9)
- Análise por hibridização in situ (FISH)
  - Biofilme sobre os blocos foi fixado (imersão em paraformaldeído) e permeabilizado (imersão em lisozima, seguido de lavagem e armazenamento a 4°C)
  - Hibridização com sondas específicas para os 3 microrganismos (ligação ao RNAr)

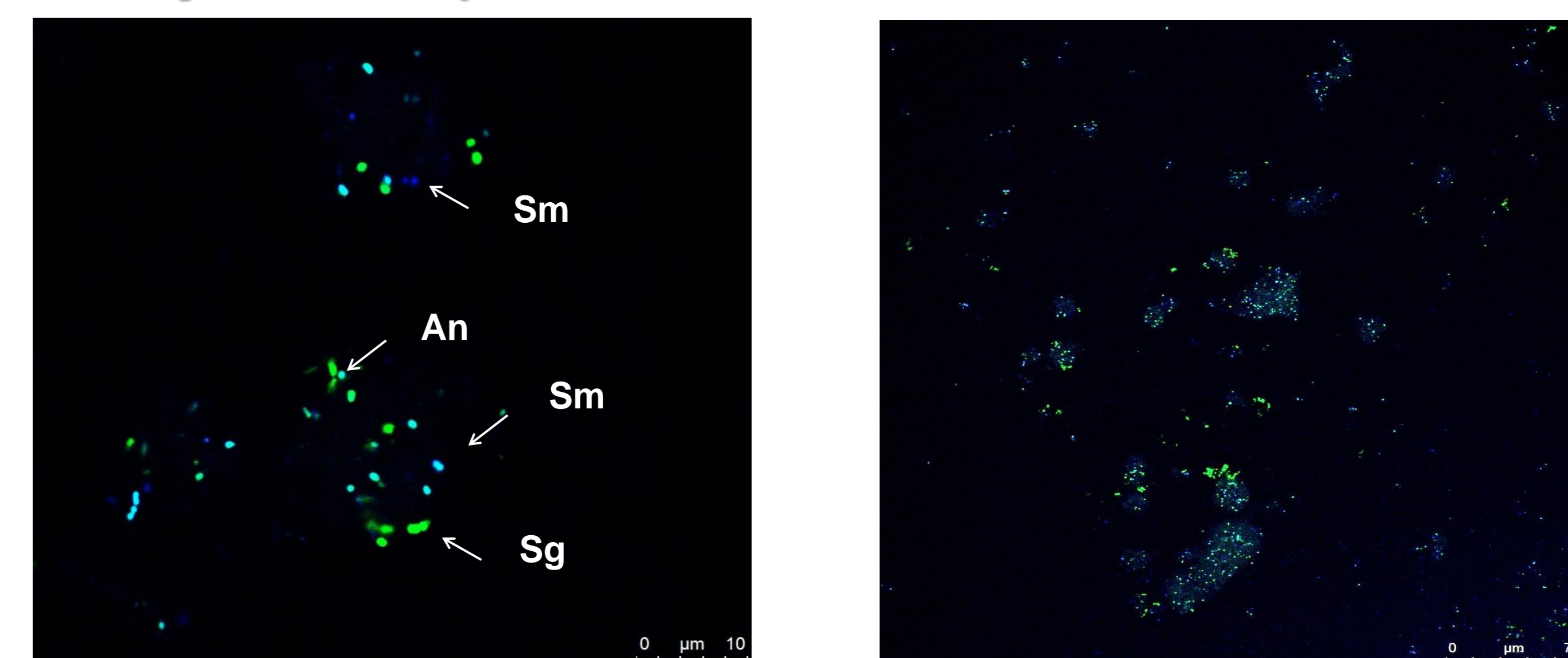


## RESULTADOS

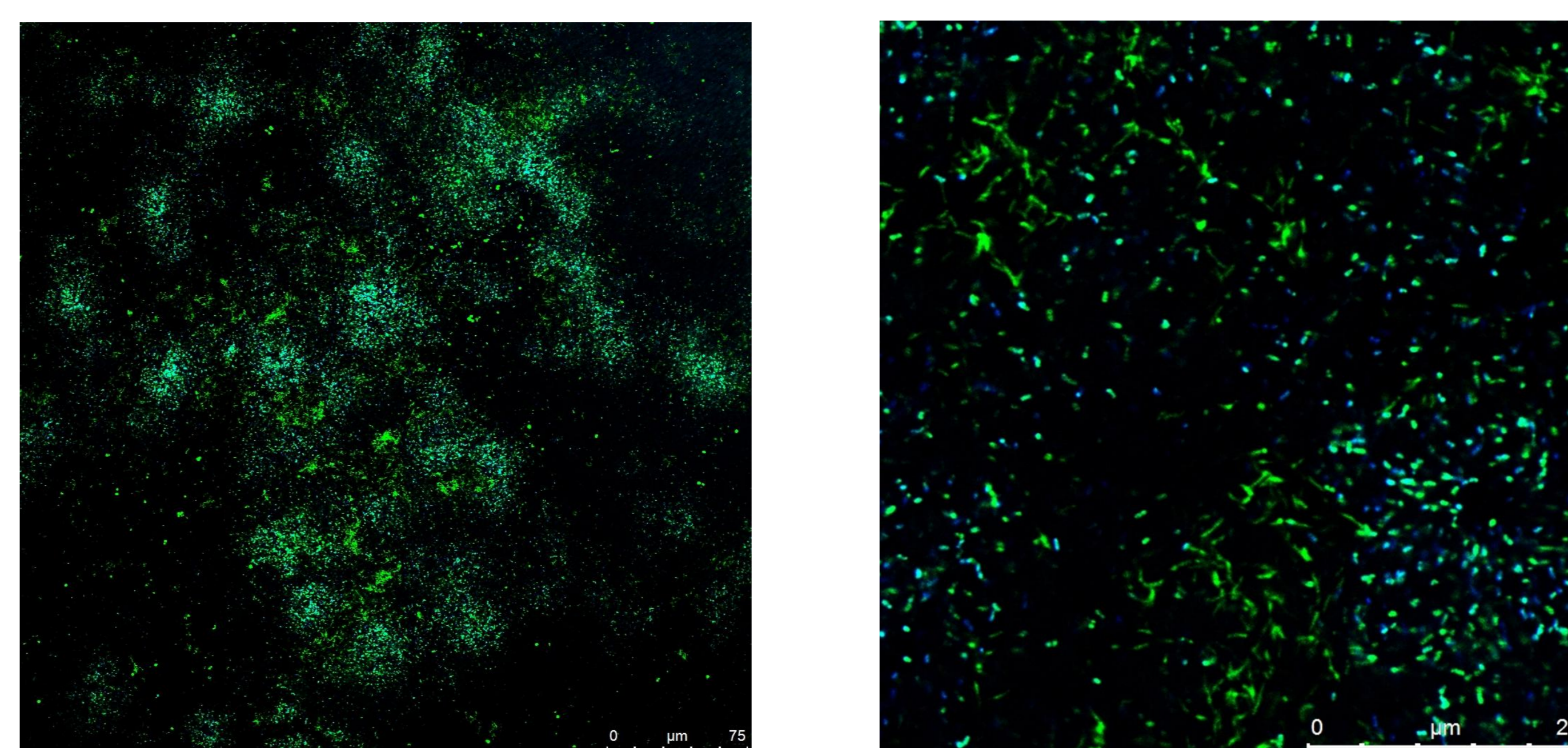
### Microscopia Confocal a Laser - corante Live/Dead



### Hibridização in situ por Fluorescência – FISH



Biofilme tri-espécie após 48 h de desenvolvimento (corte no eixo Z)



## CONCLUSÃO

Os resultados demonstraram a possibilidade de desenvolvimento de um biofilme tri-espécie e avaliação de sua estrutura, para futuramente avaliar o potencial cariogênico de carboidratos da dieta.

Apoio: CNPq