

PLANO DE GESTÃO DE DADOS

Título do projeto: Potencial da terapia fotodinâmica na modulação da resposta inflamatória e nos fatores de virulência microbianos: avaliação em modelo de co-culturas tridimensionais de fibroblastos gengivais, *Candida albicans* e *Staphylococcus aureus*.

Aluna: Analú Barros de Oliveira

Orientadora: Prof^a Dr^a Fernanda Lourenção Brighenti

Afiliação: Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia de Araraquara (FOAr Unesp)

Agência de fomento: Fundação de Amparo à Pesquisa de São Paulo – FAPESP (processo nº 2020/07110-0)

Data: 27 maio 2024

Resumo do projeto:

Este trabalho está dividido em três publicações cujos objetivos foram: a) realizar uma revisão sistemática e metanálise em ensaios clínicos para avaliar a eficácia da terapia fotodinâmica em lesões de mucosite oral (Publicação 1); b) avaliar o potencial *in vitro* de quatro diferentes fotossensibilizadores, sendo dois de origem sintética (Azul de Metileno e Fotoditazina) e dois de origem natural (Curcumina e extrato bruto de *Senna alata*), para terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFDa) contra *Candida albicans* e *Staphylococcus aureus* cultivadas em suspensão e biofilme e c) avaliar a efetividade da TFDa mediada pelo extrato bruto de *S. alata* em modelo de cocultura celular tridimensional (3D) contendo fibroblastos gengivais, queratinócitos orais e colágeno tipo I. Publicação 1: A questão de pesquisa e as palavras-chave foram definidas seguindo a estratégia do PICO. A pesquisa do artigo foi realizada em diversas bases de dados, incluindo Embase, Scielo, Scopus, Cochrane Library, Web of Science, Science Direct e Pubmed. Foram selecionados ensaios clínicos randomizados para a revisão. O estudo foi conduzido conforme as normativas do PRISMA para revisão sistemática. Publicação 2: Foram utilizadas as seguintes cepas de referência em suspensão e biofilme: *S. aureus* ATCC 25923 e *C. albicans* ATCC 90028. Foram testados quatro agentes fotossensibilizadores (FS) em duas concentrações diferentes (Photodithazine (PDZ): 0.175 e 0.2 mg/mL; azul

de metileno (AM): 0,2 e 2 mg/mL; Curcumina (CUR): 0.014 e 0.029 mg/mL; Extrato vegetal de *S. alata*: 0.05 mg/mL e 0.5 mg/mL. Dois protocolos de TFDa foram utilizados sobre biofilmes cultivados por 24 h e 48 hs: a) em único tratamento e b) em três aplicações sucessivas. As células microbianas em fase planctônica receberam apenas um único tratamento. A eficácia da terapia foi avaliada através da contagem de células viáveis após o tratamento (UFC/mL) e ensaio Live/Dead. O ensaio MTT foi utilizado para avaliar a citotoxicidade. O metabolismo de cada biofilme foi avaliado pelo ensaio XTT. Publicação 3: O modelo de cocultura 3D foi preparado e posteriormente infectado com *S. aureus* ATCC 25923 e *C. albicans* ATCC 90028 por 16 h, seguido pela aplicação da TFDa mediada pelo extrato bruto de *S. alata* nas concentrações de 0,05 e 0,5 mg/mL. Após 24 h do tratamento, foi avaliada a viabilidade microbiana (UFC/mL) e o dano celular pelo ensaio da lactato desidrogenase (LDH). AM nas concentrações de 0,2 e 2 mg/mL foram utilizados para fins de comparação. Os dados das publicações 2 e 3 foram analisados no programa IBM SPSS versão 20.0, com nível de significância de 5%. Dos 727 artigos analisados na publicação 1, foram selecionados 5 artigos para análise qualitativa e 2 para a meta-análise. Os resultados da meta-análise, incluindo nível de evidência e avaliação de risco de viés, demonstraram a eficácia da TFD na redução do tempo de cicatrização em combinação com a terapia a laser de baixa intensidade (TLBI), em comparação com a aplicação isolada da TLBI ($p = 0,0005/12 = 0\%$). Reduções totais na viabilidade microbiana foram encontradas na publicação 2 para TFDa mediada por curcumina (0.014 e 0.029 mg/mL), TFDa mediada por PDZ (0.175 e 0.2 mg/mL) e a TFDa mediada por *S. alata* (0.05 e 0.5 mg/mL) para ambos os micro-organismos cultivados em suspensão. Biofilmes de *C. albicans* cultivados por 24 horas mostraram redução total na viabilidade microbiana (UFC/mL), para TFDa mediada por AM (0,2 e 2,0 mg/mL) e TFDa mediada por *S. alata* (0.5 mg/mL) em ambos os protocolos utilizados (aplicação única e aplicações sucessivas). Biofilmes de *C. albicans* cultivados por 48 h apresentaram redução total na viabilidade microbiana para TFDa mediada por AM (2,0 mg/mL). Para *S. aureus*, houve redução significativa na viabilidade microbiana apenas para três aplicações de TFDa (*S. alata*: 0.05 e 0.5 mg/mL; AM: 0,2 e 2,0 mg/mL) em biofilmes cultivados por 24 h e em biofilmes cultivado por 48 h (*S. alata*: 5,0 mg/mL; MB: 0,2 e 2,0 mg/mL). As imagens CLSM para ensaio Live/Dead confirmaram os resultados encontrados para viabilidade microbiana. Todos os fotossensibilizadores apresentaram valores significativamente diminuídos para a atividade metabólica do biofilme de *C. albicans* e *S. aureus* cultivados por 24 horas tratados com uma única aplicação de TFDa. Além disso, as concentrações

dos fotossensibilizadores e os parâmetros de irradiação utilizados no presente estudo apresentaram valores aceitáveis ($\leq 70\%$) de citotoxicidade para ambas as linhagens celulares. Os resultados da publicação 1 destacam que a TFD é eficaz no tratamento da mucosite oral, contribuindo para a cicatrização de feridas, principalmente no tempo necessário para o reparo. Já os resultados da publicação 2 mostraram que a terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFDa) mediada por diferentes FSs revelou-se seguro e eficiente para o controle de *C. albicans* e *S. aureus*. Adicionalmente, para a publicação 3, os melhores reduções de *S. aureus* e *C. albicans* foram encontradas para 0,5 mg/mL de *S. alata* e 2 mg/mL de AM, sendo que a TFDa mediada pelo extrato bruto de *S. alata* causam menos danos celulares em comparação com AM ($p > 0,05$) e clorexidina 0,12%. Os resultados da publicação 1 destacam que a TFD apresenta resultados promissores para o tratamento da mucosite oral e pode ser uma opção terapêutica eficaz, contribuindo para a cicatrização dos tecidos lesionados principalmente no tempo necessário para o reparo. Já os resultados das publicações 2 e 3 mostraram que a terapia fotodinâmica antimicrobiana (TFDa) mediada pelo extrato bruto de *S. alata* revelou-se seguro e eficiente para o controle de *C. albicans* e *S. aureus*.

Palavras – chave: Fotoquimioterapia. Micose. Revisão sistemática.

➤ **Descrição dos dados:**

Quais dados você coletou?

Foram coletados dados referentes ao potencial *in vitro* da terapia fotodinâmica (TFD) mediada pelos agentes fotossensibilizadores Photodithazine®, Azul de metileno, Curcumina e pelo extrato vegetal de *Senna reticulata* em suspensão e em biofilmes de *C. albicans* e *S. aureus*, bem como a avaliação de um modelo tridimensional de fibroblastos gengivais que foram infectados por esses mesmos micro-organismos, além de realizar uma revisão sistemática da literatura seguida de meta-análise com intuito de avaliar o efeito da TFD sob a desinfecção tecidual em lesões ulceradas. Os dados foram apresentados em planilhas, gráficos e imagens.

Como os dados serão coletados?

Os resultados obtidos dos experimentos *in vitro* foram analisados e anotados para posteriormente serem transferidos para planilhas e softwares como Excel para a realização das análises estatísticas.

➤ **Ética e Conformidade Legal:**

Como você gerenciou quaisquer questões éticas?

Uma parte dos dados do projeto se referiam a seres humanos que requereriam de cuidados especiais, portanto necessitou de submissão ao Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, sendo que esta etapa foi concluída e aprovada (nº CAAE: 19432929.9.0000.5416).

Como você gerenciará questões de direitos autorais e direitos de propriedade intelectual (PI/DPI)?

As questões de direitos autorais e propriedade intelectual foram discutidas com os sujeitos envolvidos na pesquisa e com o supervisor, sendo os metadados disponibilizados desde que atribuída a autoria.

➤ **Armazenamento e Backup:**

Como os dados foram armazenados e copiados durante a pesquisa?

Os dados foram armazenados em ferramentas como Google Drive, Word, Excel e cadernos de anotação. O acesso as ferramentas online se deram por meio de login institucional (@unesp.br) da VPN da Unesp (Rede Privada Virtual). Os backups foram configurados para ocorrerem mensalmente. As imagens capturadas foram mantidas em formato JPEG.

Como você gerenciou o acesso e a segurança?

A segurança ocorreu através do acesso restrito e exclusivo do pesquisador pelo login institucional (@unesp.br).

➤ **Responsabilidade e Recursos:**

Quem foi responsável pelo gerenciamento de dados?

O pesquisador principal e o orientador foram os responsáveis pelo gerenciamento dos dados.

Quais recursos você precisou para entregar seu plano?

Com o auxílio do orientador foi possível ao pesquisador principal entregar o plano de gerenciamento de dados e as ferramentas utilizadas para análises.

➤ **Seleção e Preservação**

Quais dados têm valor de longo prazo e devem ser retidos, compartilhados e/ou preservados?

Os dados que possam contribuir para futuros projetos e publicações científicas serão considerados como dados de longo prazo e serão preservados.

Qual é o plano de preservação de longo prazo para o conjunto de dados?

Os dados de interesse para preservação a longo prazo serão armazenados no Google Drive por um período de 24 meses, que foi estipulado juntamente com os colaboradores e, possivelmente, no repositório da Universidade Estadual Paulista (UNESP) após a publicação do artigo em periódico.

➤ **Compartilhamento de dados**

Como você compartilhará os dados?

Os dados serão compartilhados e divulgados em artigos que serão elaborados para publicação em revistas científicas e em eventos científicos.

São necessárias restrições ao compartilhamento de dados??

Não há restrições.