

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 16/02/2025.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Faculdade de Odontologia de Araçatuba

JÉSSICA SILVA SANTANA

**Lesão de subsuperfície desenvolvida por biofilmes de
Streptococcus mutans e *Candida albicans***

Araçatuba – SP

2023



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Faculdade de Odontologia de Araçatuba

JÉSSICA SILVA SANTANA

**Lesão de subsuperfície desenvolvida por biofilmes de
Streptococcus mutans e *Candida albicans***

Dissertação de Mestrado apresentado à Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências – área Saúde Bucal da Criança.

Orientadora: Prof^ª. Ass. Dr^ª. Thayse Yumi Hosida

Coorientador: Prof. Assoc. Juliano Pelim Pessan

Coorientador: Prof. Tit. Alberto Carlos Botazzo Delbem

Araçatuba – SP

2023

Catálogo-na-Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

Santana, Jéssica Silva.

S232L Lesão de subsuperfície desenvolvida por biofilmes de
Streptococcus mutans e *Candida albicans* / Jéssica Silva
Santana. – Araçatuba, 2023
44 f.: il.; tab.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual
Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba

Orientadora: Profa. Thayse Yumi Hosida

Coorientador: Prof. Juliano Pelim Pessan

Coorientador: Prof. Alberto Carlos Botazzo Delbem

1. Cárie dentária 2. Esmalte dentário 3. Biofilmes
4. Desmineralização I. T.

Black D27

CDD 617.645

Claudio Hideo Matsumoto – CRB-8/5550

Dedicatória

Dedico esta dissertação de mestrado à minha família, que me ampara e apoia dia e noite, permitindo assim que eu possa realizar meus sonhos. Meu alicerce, aqueles que estão por mim nos momentos mais difíceis e nos de maior alegria. Não existem palavras capazes de descrever a gratidão que tenho por todos, minha mãe *Lúcia Helena*, minha avó *Lúcia* e meu avô *Antônio*, meus irmãos *Leonardo* e *Pedro*, minha tia *Andréa*, meu namorado *André* e minha sogra *Edilene*. Sem vocês nada disso seria ao menos sonhado, idealizado e quiçá concluído. Sou muito feliz por tê-los ao meu lado todos os dias.

Agradecimientos

A minha família, em especial à minha mãe, **Lúcia Helena**, agradeço imensamente por ser a maior incentivadora de minha trajetória acadêmica, sempre disposta a me ajudar e estendo um abraço amigo para me amparar nos momentos difíceis. À minha avó, **Lúcia**, agradeço por toda a paciência e compreensão pelos momentos que preciso me ausentar, e também pelas palavras amorosas que me acalentam.

A minha tia **Andrea**, agradeço por estar presente sempre que preciso para auxiliar nos momentos em que eu não pude. Aos meus irmãos, **Leonardo** e **Pedro**, por serem os melhores amigos da minha vida, agradeço pelo suporte, pela compreensão e pelo amor que cultivamos e nos mantém unidos.

Ao meu namorado, **André**, agradeço toda a paciência, principalmente frente as oscilações de humor que sincronizam com os momentos mais fáceis ou difíceis dessa trajetória. Você é uma pessoa essencial para que eu me mantivesse sã até a conclusão dessa etapa, muito obrigada pela parceria. A minha sogra, **Edilene**, por todo o apoio.

Agradeço as minhas amigas **Juliana**, **Lais** e **Janaína**, por serem presentes mesmo na distância e torcerem diariamente pelo meu sucesso. Também agradeço à **Stefany**, **Juliana**, **Mariana** e **Michele**, por sempre estarem dispostas a me ouvir e compartilhar as experiências da nossa trajetória profissional, pelo carinho e cumplicidade.

Agradeço, ainda, a todos os professores que tive a oportunidade de conviver durante este curso de mestrado, em especial à minha orientadora, **Thayse Yumi Hosida**, por toda a paciência, companheirismo e comprometimento para que esse trabalho fosse desenvolvido. Obrigada por me receber na Odontopediatria, mesmo sem que eu tivesse qualquer experiência laboratorial ou clínica na área, me ensinando desde os passos laboratoriais mais básicos e confiando em mim para realizar esta pesquisa. Sua dedicação à pesquisa e a docência me motivam a continuar minha

própria trajetória acadêmica. Saiba ainda que a vejo como uma grande amiga, e espero que possamos contribuir em muitos outros trabalhos.

Aos meus coorientadores, **Juliano Pelim Pessan** e **Alberto Carlos Botazzo Delbem**, agradeço pela grande oportunidade de podermos trabalhar junto, pela orientação e todo o conhecimento compartilhado. Os senhores são grandes professores e pesquisadores nos quais eu sempre me espelharei.

A professora **Cristiane Duque**, agradeço pelo incentivo inicial que motivou o meu ingresso neste curso de pós-graduação, obrigada por isto e por cada palavra de incentivo que me dirigiu, espero que ainda possamos conviver e compartilhar muitas outras experiências. A senhora é uma grande inspiração para mim.

Ao professor **Robson Frederico Cunha**, agradeço pelas excelentes aulas e pelo compartilhamento de sua experiência clínica, o senhor decerto foi muito importante para o meu desenvolvimento profissional nestes últimos dois anos.

Aos meus amigos da pós-graduação, **Viviane, Caio, Leonardo, Geórgia, Luigi e Liliana**, agradeço por toda a ajuda, sem vocês este trabalho não seria possível, cada um contribuiu em fases cruciais para obter este resultado. Agradeço também pelos laços de amizade criados que ultrapassaram o companheirismo e a convivência no laboratório, obrigada por compartilhar conselhos, experiências, angústias e aspirações, fazendo com que a caminhada se tornasse mais leve.

À **Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”**, na pessoa do diretor da **Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Prof. Tit. Glauco Issamu Miyahara** e do vice-diretor **Prof. Tit. Alberto Carlos Botazzo Delbem** por proporcionarem um ensino de qualidade e pela oportunidade de realizar esta pesquisa.

À Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP e seus colaboradores, pelo profissionalismo e atenção que dispuseram, auxiliando em cada etapa a ser realizados.

À CAPES, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, pela concessão da bolsa de mestrado nestes dois anos.

Epigrafe

“ Ninguém ignora tudo. Ninguém sabe tudo. Todos nós sabemos alguma coisa. Todos nós ignoramos alguma coisa. Por isso aprendemos sempre. ”

Paulo Freire

Santana, JS. **Lesão de subsuperfície desenvolvida por biofilmes de *Streptococcus mutans* e *Candida albicans***. 2023. 44 f. Dissertação de Mestrado (Mestrado em Ciências, área de Saúde Bucal da Criança) - Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba 2023.

RESUMO

Este estudo teve como objetivo desenvolver um protocolo para a formação de lesão de cárie de subsuperfície em esmalte bovino por biofilmes mistos de *Streptococcus mutans* e *Candida albicans in vitro*, e verificar a influência da presença de flúor (F) e desafios cariogênicos. Os biofilmes foram formados em blocos de esmalte bovino ($8 \times 8 \times 2$ mm), por 7 dias, usando saliva artificial (SA) como meio de crescimento. Após 24 h de formação, os biofilmes foram cultivados em SA, suplementada ou não com 0,005 ppm F ou 0,008 ppm F. A cada 24 h, os biofilmes foram expostos ou não à uma solução de sacarose 20%, por 3 min (simulando um desafio cariogênico). No 7º dia, os biofilmes foram coletados e o conteúdo de polissacarídeos extracelulares (EPS) e concentrações de F, cálcio (Ca) e fósforo (Pi) nos biofilmes foram analisados. Os blocos foram submetidos à análise de microtomografia computadorizada de raios X para determinação da concentração mineral ($g_{HAP} \times cm^{-3} \times \mu m$). Os dados foram submetidos a ANOVA a dois critérios, seguido pelos testes de Fisher LSD ou Student-Newman-Keuls ($p < 0,05$). A exposição ao desafio cariogênico levou a um aumento significativo nas concentrações de EPS do biofilme em comparação aos biofilmes não expostos ao desafio, independentemente da presença de F na SA. Após desafio, os biofilmes formados na presença de 0,008 ppm F apresentaram níveis significativamente menores de F no biofilme, em comparação com aqueles não expostos ao desafio. Os biofilmes expostos a 0,008 ppm F e ao desafio com sacarose apresentaram profundidade de lesão e área integrada da lesão significativamente menor, e maior camada externa, em comparação aos biofilmes cultivados em SA (*i.e.*, não contendo F), expostos ao desafio cariogênico. Pode-se concluir que biofilme de duas espécies de *S. mutans* e *C. albicans* foram capazes de produzir lesão de cárie de subsuperfície *in vitro*, tendo sido influenciada pela presença de F no meio de cultura e pelo desafio cariogênico.

Palavras-chaves: Cárie dentária, Esmalte dentário, Biofilmes, Desmineralização.

Santana, JS. **Subsurface lesion developed by *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* biofilms**. 2023. 44 p. Masters dissertation (Master's degree in Science, field Child Dental Health) - Faculty of Dentistry of Araçatuba, São Paulo State University, Araçatuba 2023.

ABSTRACT

This study aimed to develop a protocol for the formation of enamel subsurface lesion on bovine enamel by dual-species biofilms of *Streptococcus mutans* and *Candida albicans in vitro*, and to verify the influence of the presence of fluoride (F) and cariogenic challenges. The biofilms were formed on bovine enamel blocks ($8 \times 8 \times 2$ mm) for 7 days, using artificial saliva (AS) as the growth medium. After 24 h of formation, the biofilms were grown in AS, supplemented or not with 0.005 ppm F or 0.008 ppm F. Every 24 h, the biofilms were exposed or not to a 20% sucrose solution, for 3 min (simulating a cariogenic challenge). On the 7th day, the biofilms were collected and the extracellular polysaccharides (EPS) content and the F, calcium (Ca), and phosphorus (Pi) concentrations in the biofilms were analyzed. The blocks were submitted to X-ray computed microtomography analysis to determine the mineral concentration ($g_{HAP} \times cm^{-3} \times \mu m$). Data were submitted to 2-way ANOVA, followed by Fisher's LSD or Student-Newman-Keuls' tests ($p < 0.05$). The exposure to the cariogenic challenge led to a significant increase in the biofilm carbohydrate concentrations in comparison to biofilms not exposed to the challenge, regardless of the presence of F in the AS. After the challenge, the biofilms grown in the presence of 0.008 ppm F presented significantly lower biofilm F levels in comparison to those not exposed to the challenge. The biofilms exposed to 0.008 ppm F and the sucrose challenge presented significantly lower depth of lesion and integrated area, and higher outer layer in comparison to biofilms grown on AS, exposed to the cariogenic challenge. It is concluded that dual-species biofilms of *S. mutans* and *C. albicans* were capable to develop enamel subsurface lesion *in vitro*, influenced by the presence of F and exposure to a cariogenic challenge.

Keywords: Dental caries, Dental enamel, Biofilms, Demineralization.

Sumário

Introdução	15
Materiais e Métodos	16
<i>Preparo dos espécimes de esmalte bovino</i>	16
<i>Desenvolvimento de biofilme e desafios cariogênicos</i>	16
<i>Preparo da saliva artificial</i>	16
<i>Cepas de microrganismos e condições de crescimento</i>	16
<i>Formação de biofilme e desafio cariogênico</i>	17
<i>Análise da composição do biofilme dental</i>	17
<i>Análise de microtomografia computadorizada do esmalte</i>	18
<i>Análise estatística</i>	18
Resultados	19
<i>Concentrações de EPS e de componentes inorgânicos no biofilme</i>	19
<i>Análise da concentração mineral dentinária e profundidade de lesão</i>	19
Discussão	20
Conclusão	22
Bibliografia	23
Anexos	30