

METATRANSCRIPTOMA DA MICROBIOTA RESIDUAL DE DENTINA CARIADA

Ariel Goulart Rup¹ Naile Damé-Teixeira¹, Clarissa Cavalcanti Fatturi Parolo¹, Andréa Catelan Cardoso¹, Daniela Jorge Corralo¹ Thuy Do² Marisa Maltz¹
¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), ² University of Leeds

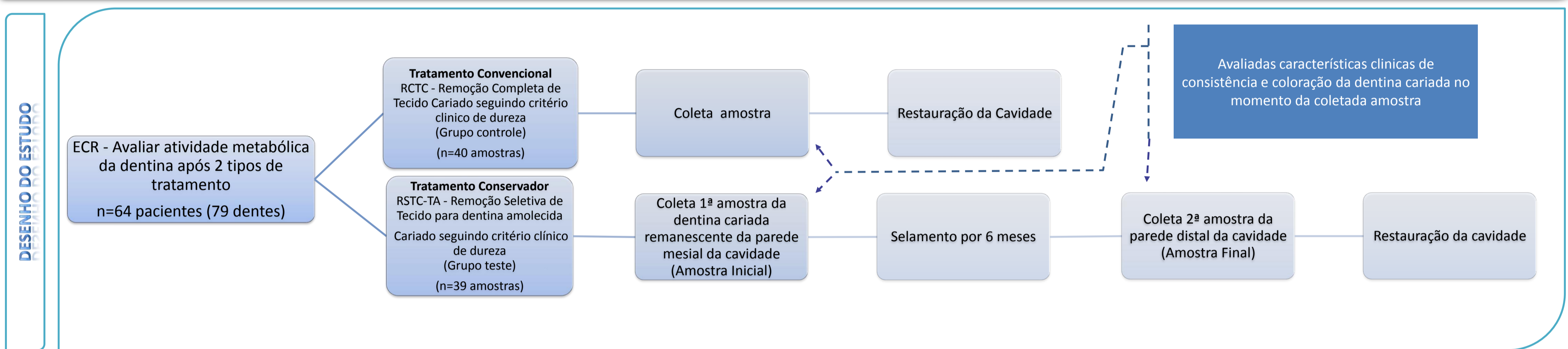
Introdução

A remoção tradicional de tecido cariado em lesões profundas de cárie (Remoção Completa de Tecido Cariado - RCTC), segundo o critério de dureza, pode ocasionar exposição pulpar com consequente aumento de casos de perda da vitalidade pulpar. Uma estratégia de tratamento é a remoção seletiva de tecido cariado para tecido amolecido (RSTC-TA) e selamento da cavidade com a finalidade de evitar a exposição pulpar. O metabolismo bacteriano da microflora remanescente poderia ter efeito deletério à polpa.

Objetivo

Avaliar a atividade metabólica dos microrganismos remanescentes na dentina cariada selada e comparar com o metabolismo dos microrganismos remanescentes após tratamento convencional.

Metodologia



CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- Presença de lesão de cárie localizada no terço médio da dentina (1/2 da espessura da dentina), sem risco de exposição pulpar, identificadas através de radiografia interproximal de molares permanentes e pré-molares;
- Sintomas e sinais clínicos indicativos de vitalidade pulpar (resposta positiva ao teste de sensibilidade ao frio (-20°C gás refrigerado – Aerojet, Rio de Janeiro, RJ, Brasil);
- Ausência de dor à percussão;
- Ausência de história pregressa ou presença de dor espontânea ou dor provocada contínua;
- Ausência de sinais radiográficos compatíveis com comprometimento pulpar (espessamento do ligamento periodontal ou lesão periapical).

COLETA E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS



ANÁLISE DAS AMOSTRAS

Na Universidade de Leeds é realizado:
 ✓ **Extração do RNA** – UltraClean® Microbial RNA Isolation (MO-BIO, Laboratories, Inc., Carlsbad, CA)
 ✓ **Quantificação do RNA total** - RiboGreen® RNA Quantitation Reagent And Kit
 ✓ **Remoção de fragmentos de 16S e 23S rRNA** - Kit Epicentro Ribo-Zero™ para Bactérias (Cambio, Brisbane, Austrália)

- ✓ As sequências obtidas serão mapeadas com genomas bacterianos de biofilmes dentários;
- ✓ Os dados obtidos serão transformados em uma "count table" pela contagem do número de reads/gene/amostra;
- ✓ A expressão diferencial entre as amostras será avaliada por meio de um conjunto de algoritmos DESeq2.

Resultados Parciais

TABELA 1 – ANÁLISE DESCRITIVA POR VARIÁVEL CLÍNICA DA QUANTIDADE DE RNA (NG/100UL):

GRUPO	N	Mínimo	Maximo	Mediana	P
RNA					
RCTC	19	.00	56.45	5.1600	0.687*
RSTC-TA	28	.00	73.70	7.6850	
Total	47	.00	73.70	7.6200	
RSTC-TA					
Após RSTC-TA	38	.00	56.45	4.8150	0.049*
Depois do selamento	9	.00	73.70	25.7400	
Total	47	.00	73.70	7.6200	
CONSISTÊNCIA DA DENTINA					
Dura	20	.00	73.70	18.5600	0.198**
Coriácea	22	.00	45.50	2.5500	
Mole	5	3.51	22.51	10.2100	
Total	47	.00	73.70	7.6200	
COLORAÇÃO DA DENTINA					
Amarela	9	.00	41.87	10.2100	
Castanho-clara	26	.00	56.45	6.9550	
Castanho-escura	12	.00	73.70	6.7900	0.756**
Total	47	.00	73.70	7.6200	

*Teste U de Mann-Whitney / ** Teste de Kruskal-Wallis

TABELA 2 – CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DAS AMOTRAS DE DENTINA EM CADA GRUPO

TRATAMENTO	N	CONSISTÊNCIA			COLORAÇÃO			
		Mole	Coriácea	Dura	Amarela	Castanho Claro	Castanho Escuro	
RCTC	n=40	0	9	31	8	20	12	
RSTC-TA	Após RSTC-TA	n=39	11	28	0	6	22	11
	Após selamento	n=11	0	4	7	2	2	7

TABELA 3 – QUANTIDADE DE RNAm NAS AMOSTRAS

GRUPO	Nº amostras analisadas	Mediana	Quartil 25%	Quartil 75%	
RCTC	22	4,98	0,99	22,18	
RSTC	Após RSTC-TA	19	4,43	1,45	10,58
	Após selamento	11	25,74	6,79	32,40

Dados expressos em ng de RNA em 100µl

-A quantidade de RNA detectada nas amostras é bastante reduzida, sendo que houve significativamente maior quantidade de RNA em amostras após o selamento.
 -As amostras serão agrupadas de acordo com as características clínicas para obter uma quantidade suficiente de RNA para preparo de bibliotecas genômicas para sequenciamento de alto rendimento (Illumina Hi-Seq2500).

Conclusão

A quantidade de RNA detectada nas amostras é bastante reduzida.