

INTRODUÇÃO E OBJETIVO

As infecções endodônticas são de etiologia polimicrobiana, constituídas especialmente por microrganismos anaeróbios estritos. Diferentes modelos têm sido propostos para estudar os biofilmes dentários. Poucos estudos que avaliam a influência de meios de cultura e condições de armazenamento sobre as características do biofilme oral formado *in situ*. O objetivo geral do presente estudo é caracterizar a presença de biofilmes multiespécie em blocos de dentina em um modelo *in situ*, seguido de imersão em diferentes meios de cultura e condições de incubação.

METODOLOGIA

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFRGS, Procolo CAAE 43748015.9.0000.5347.

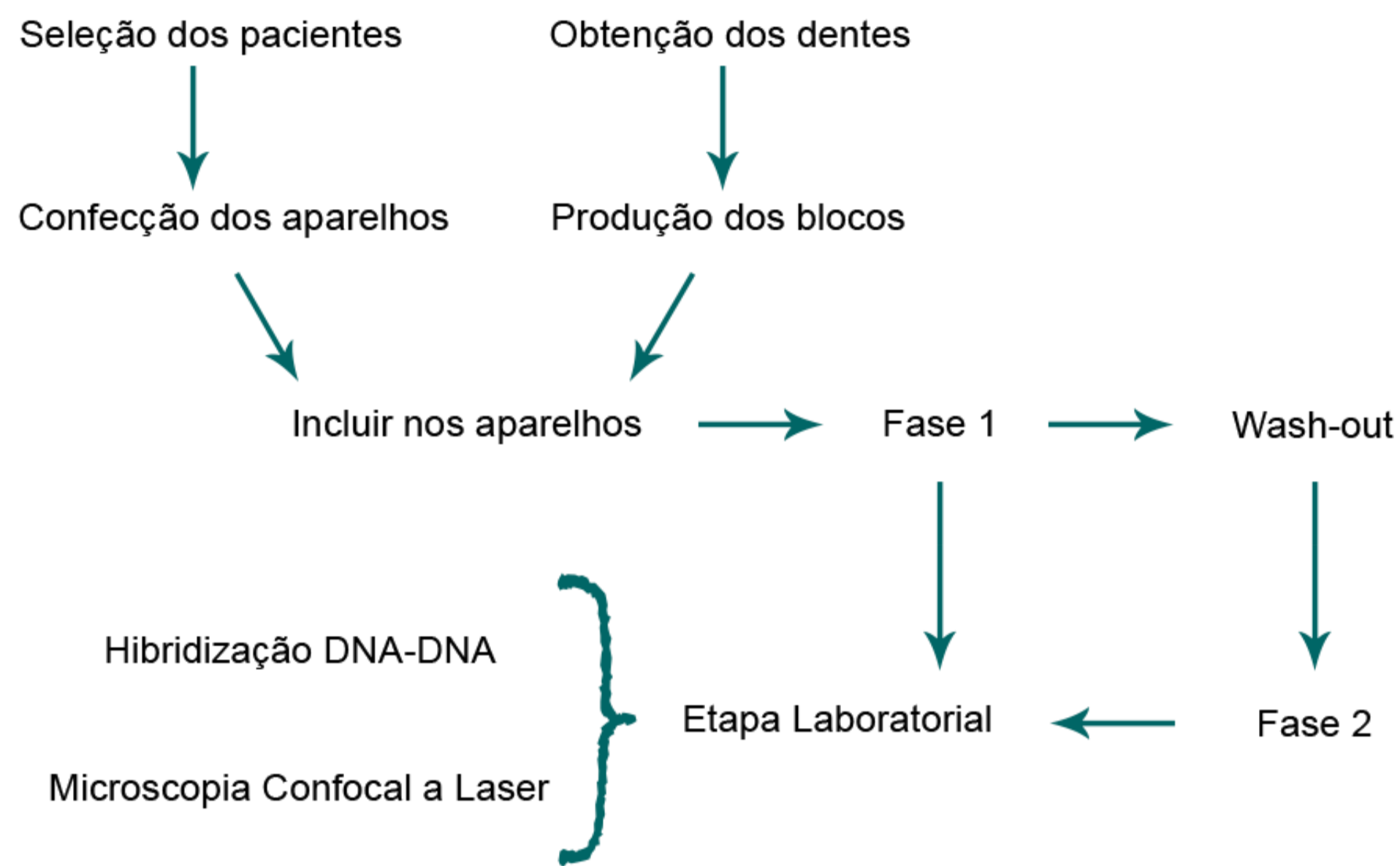


Figura 2: Fluxograma, considerando cada etapa do experimento.

Tabela 3. Grupos Experimentais

Grupos	Número de amostras	Condição de Incubação	Tempo
Controle Fase 1	5	-	Imediato
Controle Fase 2	5	-	Imediato
G1	5	BHI Caldo + Estufa Microbiológica	7 dias
G2	5	BHI Caldo + Estufa Microbiológica	14 dias
G3	5	BHI Caldo + Estufa Microbiológica	21 dias
G4	5	FAB + Jarra de anaerobiose	7 dias
G5	5	FAB + Jarra de anaerobiose	14 dias
G6	5	FAB + Jarra de anaerobiose	21 dias

1 Técnica da Microscopia Confocal

Kit de Viabilidade Bacteriana BaLight™ 5 (Molecular Probes, Eugene, OR), contendo os corantes SYTO9 e o iodeto de propídio. A fluorescência da célula foi visualizada usando CLSM (aumento de 60X com um adicional de 3X, software Olympus FluorView Versão 1.7. Foi determinado o biovolume total e a proporção de células viáveis e mortas.



2 Técnica de hibridização DNA-DNA

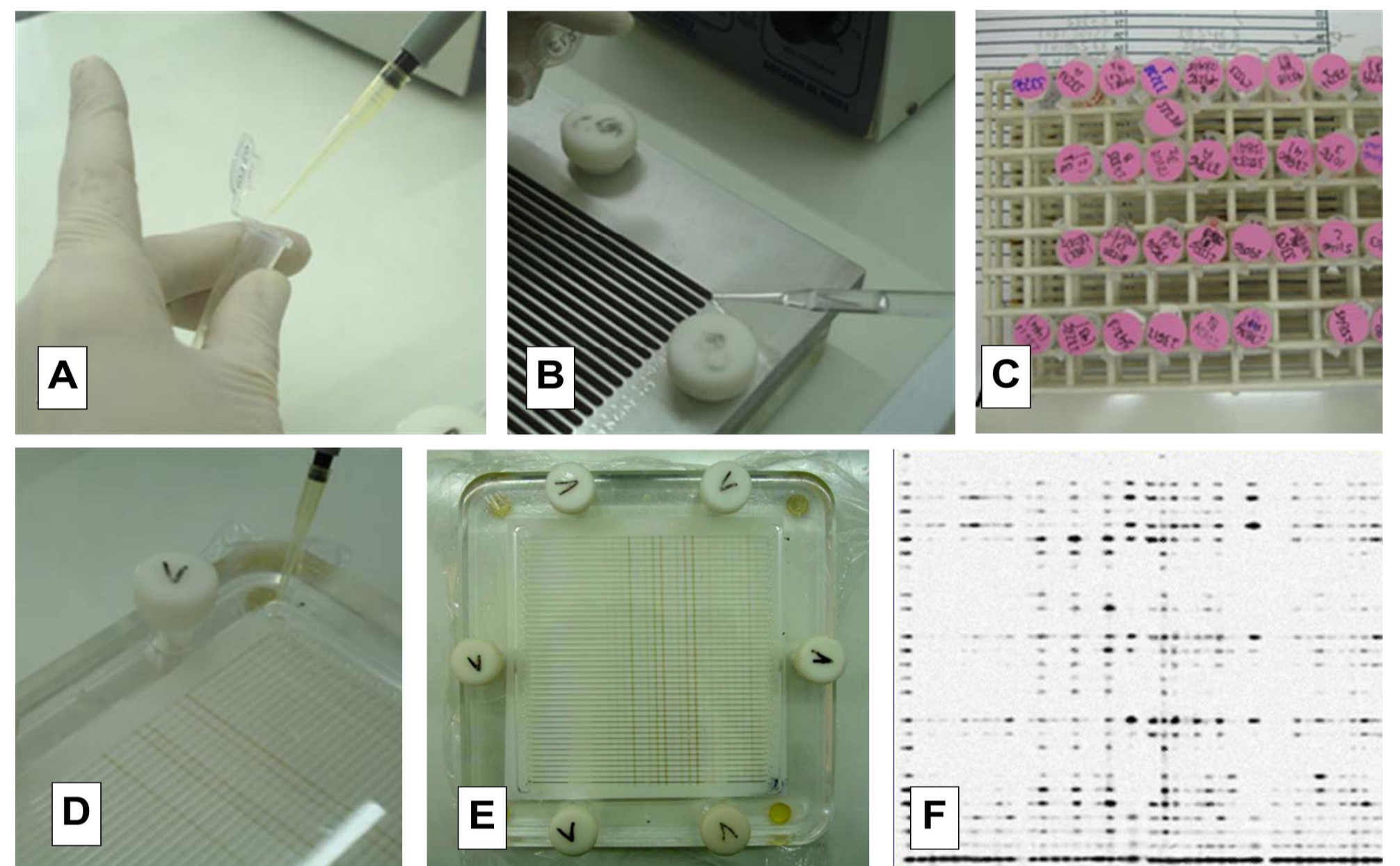


Figura 2 – Após o isolamento do DNA microbiano, as amostras (A) foram posicionadas no aparato de hibridização (B) e as sondas de DNA (C) foram aplicadas sobre elas (D). Procedeu-se a incubação (E) e a leitura foi feita considerando-se a presença da espécie e a quantidade detectada (F). Os dados obtidos serão tabulados e a análise estatística será realizada. (Imagens cedidas pela Profa Dra Magda Feres).

RESULTADOS PARCIAIS

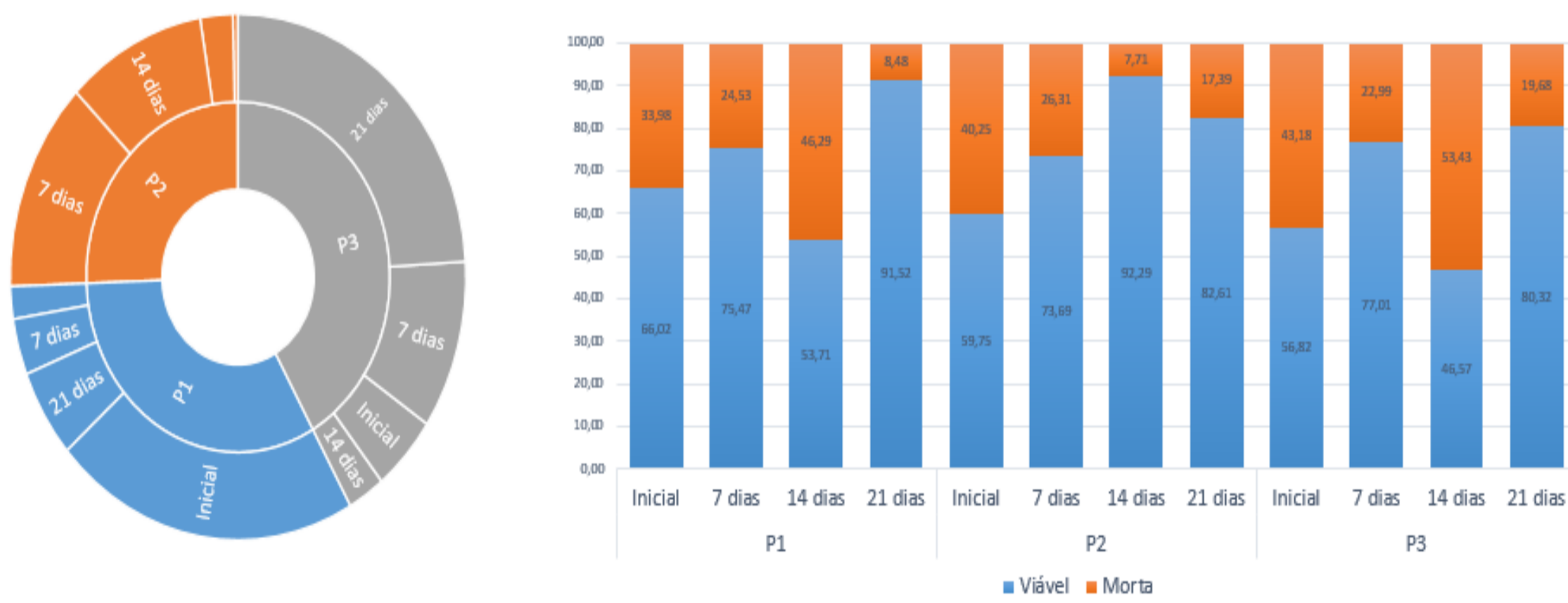


Figura 1. Amostras imersas em BHI caldo e incubadas em ambiente de aerobiose: (A) Biovolume de biofilme em cada amostra (em μm^3 de células/ μm^2 de área de dentina) e (B) percentual de células viáveis e mortas, nos diferentes períodos de tempo.

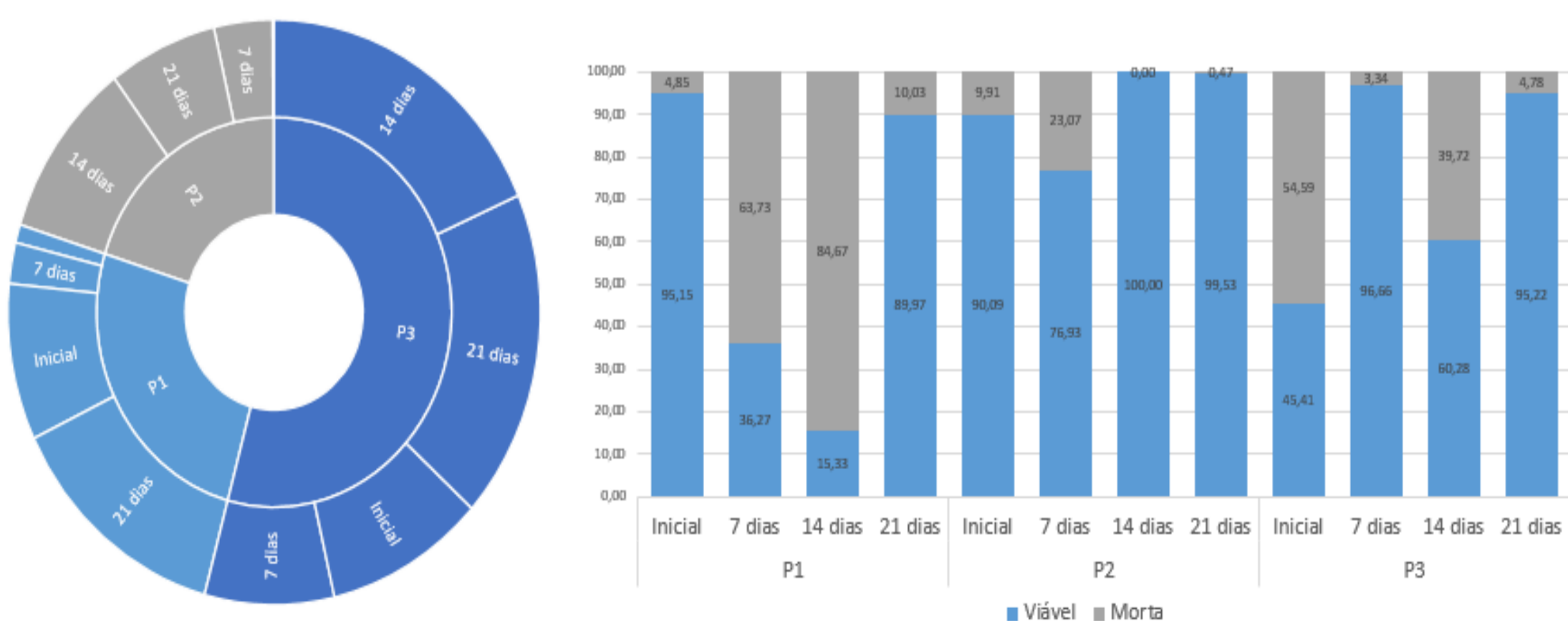


Figura 2. Amostras imersas em FAB caldo e incubadas em ambiente de anaerobiose: (A) Biovolume de biofilme em cada amostra (em μm^3 de células/ μm^2 de área de dentina) e (B) percentual de células viáveis e mortas, nos diferentes períodos de tempo.

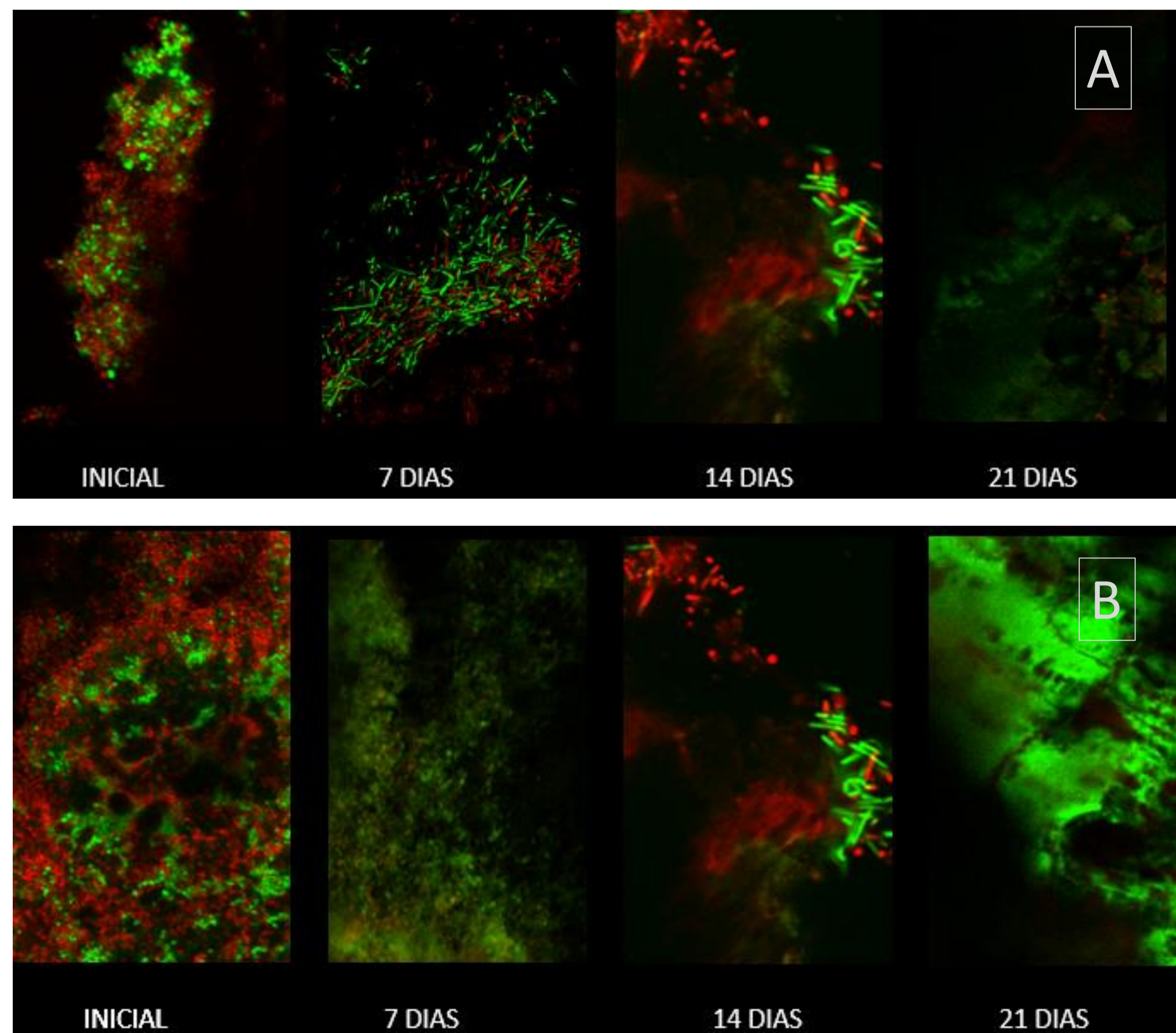


Figura 3. Imagem em microscopia confocal de biofilmes induzidos em diferentes períodos de tempo, quando as amostras foram incubadas em [A] BHI e estufa microbiológica na presença do oxigênio ou [B] em FAB e jarro de anaerobiose.