

# XIV Seminário de Pós-Graduação

## 1º Encontro de Egressos da Pós-Graduação

"Perspectivas da Pós-Graduação para Produção Intelectual e a Inserção do Egresso no Mercado de Trabalho"

SEMINÁRIO: EVENTO ONLINE  
25 e 26 de Novembro de 2021

PRÉ-EVENTO: A Inovação e suas dimensões  
24 de Novembro de 2021 - 14h00 - [youtube.com/fopunicampoficial](https://youtube.com/fopunicampoficial)

Mais informações  
[www.fop.unicamp.br/seminario](http://www.fop.unicamp.br/seminario)

Realização:



Apoio:



KULZER  
MITSUI CHEMICALS GROUP

kuraray  
Noritake

Quinelato  
instrumentos cirúrgicos



# ANAIIS

ANO: 2021

ISSN: 1677-3225

## INTERAÇÃO ENTRE MICRORGANISMOS EM BIOFILMES ORAIS E POTENCIAL DE TRATAMENTO DE SUPERFÍCIE NO TITÂNIO PARA REDUÇÃO DA PROLIFERAÇÃO MICROBIANA

João Gabriel Silva Souza<sup>1</sup>, Martinna Bertolini<sup>2</sup>, Raphael Cavalcante Costa<sup>3</sup>, Bruna Egumi Nagay<sup>4</sup>, Jairo Matozinho Cordeiro<sup>5</sup>, Belén-Retamal Valdes<sup>6</sup>, Francisco Humberto Nociti Junior<sup>7</sup>, Magda Feres<sup>8</sup>, Elidiane Cipriano Rangel<sup>9</sup>, Anna Dongari-Bagtzoglou<sup>10</sup>, Valentim Adelino Ricardo Barão<sup>11</sup>

<sup>1</sup> Doutor. Programa de pós-graduação em Clínica Odontológica, Faculdade de odontologia de Piracicaba – Unicamp. Programa de pós-graduação em Odontologia da Universidade Guarulhos. [Jgabriel.ssouza@yahoo.com.br](mailto:Jgabriel.ssouza@yahoo.com.br)

<sup>2</sup> Doutora. University of Connecticut Health Center. [bertolini@uchc.edu](mailto:bertolini@uchc.edu)

<sup>3</sup> Doutorando. Programa de pós-graduação em Clínica Odontológica, Faculdade de Odontologia de Piracicaba – Unicamp. [raphaelcavalcante@hotmail.com](mailto:raphaelcavalcante@hotmail.com)

<sup>4</sup> Doutoranda. Programa de pós-graduação em Clínica Odontológica, Faculdade de Odontologia de Piracicaba – Unicamp. [bruna.eguminagay@gmail.com](mailto:bruna.eguminagay@gmail.com)

<sup>5</sup> Doutorando. Programa de pós-graduação em Clínica Odontológica, Faculdade de Odontologia de Piracicaba – Unicamp. [jairocordeiro@hotmail.com](mailto:jairocordeiro@hotmail.com)

<sup>6</sup> Doutora. Programa de pós-graduação em Odontologia da Universidade Guarulhos [belenretamalvaldes@gmail.com](mailto:belenretamalvaldes@gmail.com)

<sup>7</sup> Doutor. Faculdade São Leopoldo MANDIC. [nociti@unicamp.br](mailto:nociti@unicamp.br)

<sup>8</sup> Doutora. Programa de pós-graduação em Odontologia da Universidade Guarulhos [mferes@ung.br](mailto:mferes@ung.br)

<sup>9</sup> Doutora. Instituto de Ciência e Tecnologia de Sorocaba da UNESP. [elidiane.rangel@unesp.br](mailto:elidiane.rangel@unesp.br)

<sup>10</sup> Doutora. University of Connecticut Health Center. [adongari@uchc.edu](mailto:adongari@uchc.edu)

<sup>11</sup> Doutor. Programa de pós-graduação em Clínica Odontológica, Faculdade de Odontologia de Piracicaba – Unicamp. [barao@fop.unicamp.br](mailto:barao@fop.unicamp.br) (ORIENTADOR)

### Introdução:

O titânio (Ti) têm sido o principal biomaterial de escolha para fabricação de implantes dentários, devido sua excelente biocompatibilidade e propriedades físico-químicas. No entanto, assim como as superfícies bucais, os implantes também são substratos para adesão microbiana e consequente acúmulo de biofilme, desencadeando infecções microbiológicas (Arciola et al., 2018). Entre os colonizadores iniciais na cavidade bucal, destaca-se os Estreptococos do grupo mitis (composto principalmente por *S. mitis*, *S. gordonii*, *S. sanguinis* e *S. oralis*) que interagem e formam biofilme com *Candida albicans*, principal fungo oportunista da cavidade bucal (Xu et al., 2014). No entanto, apesar de ambas as espécies serem encontradas na infecção peri-implantar, a interação entre estas bactérias com *C. albicans* na superfície do Ti e seu potencial efeito no dano tecidual não tem sido explorado. Além disso, ressalta-se a importância de avaliar os fatores que modulam e regem a interação entre esses microrganismos, como a síntese de polímeros da matriz do biofilme que favorece a interação microbiana. Considerando o entendimento da patogênese dessas infecções, surge a necessidade do desenvolvimento de novas superfícies de implantes que controlem o acúmulo microbiano na superfície de implantes, prevenindo assim a principal causa de falha de implantes, as infecções microbiológicas (Ferrari & Spriano, 2016). Portanto, esse estudo teve

como objetivo: (1) avaliar a habilidade de estreptococos e *C. albicans* de interagir na superfície do Ti e o seu potencial patogênico na destruição da mucosa oral; (2) avaliar o papel de enzimas bacterianas glucosiltransferase (gtf) e ospolímeros produzidos por elas na interação entre *Candida* e *S. oralis*; (3) desenvolver um novo tratamento de superfície para o Ti a partir de tecnologia de plasma de carga incandescente de baixa pressão para controle do acúmulo microbiano.

### Metodologia:

Para condução dos estudos foram utilizados modelos in vitro, in situ e in vivo de biofilmes orais, assim como, modelos de in vitro tridimensional (3D) de mucosa oral. Para o estudo 1 foram utilizadas as seguintes cepas microbianas: *S. oralis* 34, *S. gordonii* CH1, *S. mitis* ATCC 49456, *S. sanguinis* SK36, e *C. albicans* SC5314. Discos de Ti (área 223 mm<sup>2</sup>) foram utilizados como substrato para formação de biofilme. Biofilmes contendo apenas uma espécie ou a interação entre cada espécie bacteriana com *C. albicans* foram formados por até 72 h, simulando uma formação crônica próxima da condição de infecção peri-implantar. Para testar o potencial dessa interação na destruição tecidual, biofilmes formados sobre o Ti foram suspensos em contato com modelo 3D de mucosa oral formado por tecnologia de engenharia tecidual constituído de camadas de queratinócitos orais, colágeno e fibroblastos (Dongari-Bagtzoglou & Kashleva, 2006). Os biofilmes foram avaliados por microscopia confocal a laser e reconstruções tri-dimensionais de biovolume, células viáveis por unidades formadoras de colônias, e expressão de genes relacionados à virulência do fungo. A destruição tecidual foi avaliada por cortes histológicos e viabilidade pela liberação de Lactato desidrogenase. Ensaio Luminex foi utilizado para avaliação da liberação de citocinas. No estudo 2, além da cepa referência de *S. oralis*, foi utilizada cepa mutante com a deleção do gene da enzima gtf, assim como sua reconstrução *rgg*. Biofilmes mono e multi-espécies foram formados na superfície plástica, de Ti e sob tecido 3D de mucosa oral. Considerou-se ainda, a extração e purificação da enzima GtfR para avaliação do seu efeito na adesão e interação microbiana. Modelo animal foi utilizado para avaliar o potencial dessa interação e dos polímeros produzidos em favorecer o acúmulo microbiano na mucosa e seu efeito no desenvolvimento de lesões de mucosa. Os biofilmes foram avaliados por microscopia confocal a laser e reconstruções tri-dimensionais de biovolume considerando a marcação de microrganismos e matriz do biofilme, células viáveis por unidades formadoras de colônias, expressão de genes relacionados à virulência do fungo e da enzima GtfR. Modelos incluindo mucosa oral, foram avaliados também por imagens histológicas e fotografias para cálculo de área de lesão. No estudo 3, a superfície desenvolvida por tecnologia de plasma de carga incandescente de baixa pressão, foi avaliada quanto as suas propriedades biológicas, eletrolíticas, físico-químicas e microbiológicas. A biocompatibilidade foi avaliada por ensaios de células com fibroblastos, assim como a adesão de proteínas e avaliação por proteômica. Os ensaios microbiológicos in vitro consideraram a adesão e acúmulo de bactérias e *Candida*. Já o ensaio in situ, onde voluntários utilizaram aparelhos palatinos contendo a superfície desenvolvida, foi avaliado o efeito da superfície em modular a composição microbiana. Todos os dados foram avaliados por testes estatísticos apropriados e considerando o nível de significância de 5%.

### Resultados:

(1) identificou-se que, a presença de *C. albicans* favorece o acúmulo de biofilme no Ti ( $p < 0,05$ ), promovendo o crescimento de estreptococos do grupo mitis. Um efeito sinérgico para esta interação foi observado, já que biofilmes multi-espécie resultaram em uma elevada expressão de

genes relacionadas a virulência do fungo ( $p < 0,05$ ). Em adição, esta interação levou há um maior dano tecidual, sem afetar significativamente a liberação de citocinas. (2) interessante, os resultados mostram que a enzima bacteriana gtfR e seus polímeros produzidos aumentam a biomassa de biofilmes devido a produção de matriz ( $p < 0,05$ ). Na presença de *Candida*, cepa referência contendo a gtfR apresentou maior crescimento bacteriano, comparado a cepa mutante sem o gene da gtfR, em biofilmes formados na superfície plástica, tecido 3D ou no Ti ( $p < 0,05$ ). No entanto, essa interação foi modulada pela superfície, já que *Candida* foi capaz de aumentar a expressão de gtfR pelo *S. oralis* em biofilmes crescendo no Ti ( $p < 0,05$ ). (3) de forma promissora, o tratamento de superfície proposto apresentou adequada biocompatibilidade celular ( $p < 0,05$ ), não afetou negativamente a adsorção de proteínas, aumentou a resistência a corrosão do Ti ( $p < 0,05$ ) e reduziu a adesão bacteriana e de *C. albicans* e, conseqüentemente, promoveu menor formação de biofilme multi-espécie ( $p < 0,05$ ). Além disso, biofilmes formados in situ sob a superfície desenvolvida apresentou composição microbiológica mais próxima a uma condição de saúde.

### Conclusão:

Conclui-se que, *Streptococcus* do grupo mitis interage com *C. albicans* em biofilmes formados na superfície do Ti, promovendo o crescimento bacteriano e o potencial patogênico destes biofilmes. Esta interação é mediada por polímeros extracelulares e modulada pela superfície onde os biofilmes são formados. Para reduzir a adesão microbiana e formação de biofilmes no Ti, assim como uma composição microbiológica compatível ao estado de saúde do hospedeiro, a superfície superhidrofóbica desenvolvida é uma estratégia eficaz e promissora.

**Palavras-chave:** Biofilme. Titânio. Fungo. Bactéria.

**Financiamento:** FAPESP (17/21289-0 – 15/23118-2). CAPES (001)

### Referências

- ARCIOLA, C.R.; CAMPOCCIA, D.; MONTANARO, L. Implant infections: adhesion, biofilm formation and immune evasion. *Nature Reviews Microbiology*, 16, 397-409, 2018.
- XU, H.; JENKINSON, H.F.; DONGARI-BAGTZOGLOU, A. Innocent until proven guilty: mechanisms and roles of *Streptococcus-Candida* interactions in oral health and disease. *Molecular Oral Microbiol*, 29, 99-116, 2014.
- FERRARIS, S.; SPRIANO, S. Antibacterial titanium surfaces for medical implants. *Material Science Engineering C Materials for Biological Applications*, 61, 965-978, 2016.
- DONGARI-BAGTZOGLOU, A.; KASHLEVA, H. Development of a highly reproducible threedimensional organotypic model of the oral mucosa. *Nature Protocols*, 1, 2012-2018, 2006.

## JOGO EDUCACIONAL E PROVA REFEITA EM GRUPO COMO ESTRATÉGIAS DE ENSINO ATIVO EM FISIOLÓGIA: PERCEPÇÃO DISCENTE E EFEITO NO APRENDIZADO

Kelly Cristina Gavião Luchi<sup>1</sup>, Fernanda Klein Marcondes<sup>2</sup>

1 Doutora em Odontologia pela Faculdade de Odontologia de Piracicaba, área de Fisiologia Oral, Universidade Estadual de Campinas, FOP UNICAMP. Kcg.fisio@hotmail.com

2 Professora Dra. da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, área de Fisiologia Oral, Universidade Estadual de Campinas, FOP UNICAMP. ferklein@unicamp.br

### Introdução:

Estratégias de ensino ativo têm sido utilizadas para melhorar a qualidade do processo ensino-aprendizagem, aumentando a autonomia dos estudantes universitários, permitindo melhor desempenho e maior raciocínio crítico. O ensino ativo ocorre quando os alunos são envolvidos ativamente no desenvolvimento de tarefas e refletem sobre o que estão fazendo (Bonwell e Eison 1991), apresentando resultados positivos no aprendizado (Prince 2004; Cardozo et al. 2016; Montezor 2016; Zhang e Henderson 2016), e contribuindo para a formação de profissionais cada vez mais preparados para enfrentar os desafios do mercado de trabalho, que dominem não somente os conhecimentos técnicos de sua área, mas que tenham desenvolvido habilidades para resolução de problemas, com pensamento crítico e reflexivo e saibam trabalhar em equipe (Gokhale 1995).

Dentre as estratégias de ensino ativo tem sido demonstrado que o uso de jogos educacionais gera ambiente mais descontraído para o esclarecimento de dúvidas, instiga a curiosidade e permite compartilhamento de conhecimento entre colegas de sala, enriquecendo o ambiente de aprendizado (Bochennek et al. 2007; Marcondes et al. 2015; Cardozo et al. 2016; Machado et al. 2018). Desta forma, o uso de jogos educacionais promove maior engajamento dos alunos, contribuindo para o seu aprendizado (Fissler 2015), promovendo percepção positiva dos alunos sobre o aprendizado (Marcondes et al. 2015; Luchi et al. 2017), permitindo melhorar o desempenho acadêmico (Luchi et al. 2017, 2019; Cardozo et al. 2016).

Além da estratégia em si, faz-se necessário aprimorar as formas de avaliações de aprendizagem permitindo que os alunos recebam feedbacks e possam verificar o avanço de seu conhecimento. Neste contexto, refazer em grupo, provas realizadas previamente, pode permitir ao aluno verificar seu aprendizado e corrigir e aprender o que não havia sido compreendido, por meio da aprendizagem por pares.

Diante do acima exposto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a percepção dos estudantes sobre a utilidade de jogos educacionais e realização de provas em grupo, após prova individual, como estratégias para o seu aprendizado, e o efeito das mesmas sobre o desempenho em avaliações acadêmicas.

### Metodologia:

Esta tese está estruturada em modelo alternativo, composta por três artigos científicos.

### Resultados e Discussão:

O objetivo do primeiro artigo foi avaliar o efeito de um jogo educacional impresso no aprendizado sobre potencial de membrana e potencial de ação e na percepção de estudantes universitários

sobre a estratégia utilizada. O estudo foi composto por dois experimentos, realizados com 127 alunos de primeiro ano de graduação em odontologia. O aprendizado dos alunos foi avaliado pela nota obtida em um teste, após atividade com jogo educacional ou após aula teórica e estudo individual. Foi observado melhor desempenho acadêmico dos estudantes que participaram do jogo em comparação com aula teórica nos dois experimentos, além de percepção discente positiva sobre a utilização desta estratégia.

O objetivo do segundo artigo foi descrever um jogo de tabuleiro impresso sobre fisiologia do sistema muscular e avaliar seu efeito no aprendizado de estudantes de cursos de graduação em farmácia e enfermagem. Participaram do estudo 43 estudantes universitários, divididos em grupo jogo e grupo controle, que realizaram atividade com jogo e estudo dirigido em grupo, respectivamente. A nota obtida na atividade avaliativa foi significativamente maior após atividade com o jogo em comparação ao estudo dirigido.

O objetivo do terceiro artigo foi descrever o uso de diferentes estratégias de resolução de prova em grupo, após a avaliação individual prévia, e avaliar a percepção discente sobre seu efeito no aprendizado. Participaram do estudo 640 estudantes universitários de diferentes instituições de ensino, que cursavam graduação em odontologia, enfermagem, fisioterapia e medicina. Para 92% dos estudantes, a realização de prova em grupo, após prova individual, auxiliou no aprendizado, por permitir o compartilhamento de conhecimento entre os integrantes do grupo, ajudar na identificação e esclarecimento de dúvidas, na fixação de conteúdo, além de ser um método mais dinâmico e descontraído.

Os resultados dos três artigos apresentados nesta tese evidenciam os impactos positivos da utilização de jogos educacionais e provas em grupo, como estratégias de ensino ativo no aprendizado de fisiologia. Estudantes de cursos de Odontologia, Enfermagem, Fisioterapia e Medicina avaliaram que estas estratégias ajudaram no seu aprendizado sobre fisiologia. Além disso, o desempenho de estudantes participantes dos artigos 1 e 2 foi maior quando foram utilizados jogos educacionais em comparação a apenas aula teórica e estudo dirigido, respectivamente.

Vale ressaltar que, nos três estudos, não foram utilizados apenas métodos ativos isolados para abordar os conteúdos, mas sim estratégias de ensino ativo combinadas com aulas teóricas, e todos apresentaram efeitos positivos. Resultados semelhantes foram encontrados em um estudo com alunos de um curso de graduação em farmácia, que também mesclou aulas teóricas tradicionais com estratégias de ensino ativo, como tarefas em grupo em sala de aula e atividades fora de sala, obtendo melhora do desempenho acadêmico e percepção discente favorável ao uso de estratégias de ensino ativo para aumento do aprendizado (Islam et al. 2017).

A avaliação das estratégias envolveu percepção discente e desempenho em testes. Estas abordagens são válidas devido ao fato de que a percepção discente está diretamente relacionada com o engajamento do aluno com o conteúdo, influenciando seu desempenho acadêmico (Lizzio et al. 2002), e o desempenho em testes demonstra o conhecimento teórico sobre o assunto, principalmente por serem testes utilizados como avaliação formativa, sem intenção de obter notas para aprovação nas disciplinas, mas sim de obter *feedback* sobre o desempenho dos alunos e eficácia dos métodos utilizados pelo professor.

### **Conclusão:**

A utilização de jogos educacionais e provas em grupo como estratégias de ensino ativo de fisiologia promoveram percepção positiva de estudantes universitários de cursos da saúde com

relação ao aprendizado. Além disso, o uso de jogos educacionais foi eficaz no aumento do desempenho acadêmico destes estudantes.

### Referências:

- Bochennek K, Wittekindt B, Zimmermann SY, Klingebiel T. More than mere games: A review of card and board games for medical education. *Medical teacher*, 29, 941–8, 2007.
- Bonwell CC, Eison JA. *Active Learning: Creating Excitement in the Classroom*. ASHE-ERIC Higher Education Reports. 1991.
- Cardozo LT, Miranda AS, Moura MJCS, Marcondes FK. Effect of a puzzle on the process of students' learning about cardiac physiology. *Advances in Physiology Education*, 40, 425–431, 2016.
- Gokhale AA. Collaborative Learning Enhances Critical Thinking. *Journal of Technology Education*, 7, 1995.
- Islam MA, Sabnis G, Farris F. The trilayer approach of teaching physiology, pathophysiology, and pharmacology concepts in a first-year pharmacy course: the TLAT model. *Advances in Physiology Education*, 41, 395–404, 2017.
- Lizzio A, Wilson K, Simons R. University students' perceptions of the learning environment and academic outcomes: Implications for theory and practice. *Studies in Higher Education*, 27, 27–52, 2002.
- Luchi KCG, Montrezor LH, Marcondes FK. Effect of an educational game on university students' learning about action potentials. *Advances in Physiology Education*, 41, 222–230, 2017.
- LUCHI, Kelly Cristina Gavião; CARDOZO, Lais Tono; MARCONDES, Fernanda Klein. Increased learning by using board game on muscular system physiology compared with guided study. *Advances in physiology education*, 43, 2, 149–154, 2019.
- Marcondes FK, Moura MJCS, Sanches A, Costa R, Lima PO De, Groppo FC, Amaral MEC, Zeni P, Gavião KC, Montrezor LH. A puzzle used to teach the cardiac cycle. *Advances in Physiology Education*, 39, 27–31, 2015.
- Montrezor L, Brancaglião L, Gonçalves V, Lemos J, Rocha N, Marcondes F. Portfolio as an active learning methodology for the study of the endocrine system. *Biological Science*, 2, 42–46, 2016.
- Prince M. Does active learning work? A review of the research. *Journal of engineering education*, 93, 223–231, 2004.
- Zhang N, Henderson CNR. Brief, cooperative peer-instruction sessions during lectures enhance student recall and comprehension. *Journal of Chiropractic Education*, 30, 87–93, 2016.

## AVALIAÇÃO DE MÉTODO PARA DIAGNÓSTICO DE CEFALÉIAS POR MEIO DA ELETROMIOGRAFIA

Liege Maria Di Bisceglie Ferreira<sup>1</sup>, Fausto Bérzin<sup>2</sup>

1 Doutora em Biologia Buco-Dental pela Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP. E-mail: liegedb@gmail.com

2 Doutor em Ciências pela Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP. Professor na área de Anatomia, disciplina de Biologia Buco Dental, na Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP. E-mail: fberzin@gmail.com

### Introdução:

Cefaleias são dores de cabeça complexas, e entre as primárias, destacam-se a cefaleia tensional e a migrânea, de alta prevalência e que geram impactos econômicos, sociais e pessoais. A origem da dor nas cefaleias é controversa, e ambas reúnem componentes de natureza neurológica e vascular (IHS) e compartilhem as mesmas áreas de ativação e de percepção de ativação: o sistema trigeminovascular. Nas cefaleias tensionais existem interações entre fatores periféricos e centrais (Jensen & Olensen), porém nas migrêneas discute-se a respeito da existência de um componente muscular. Atualmente o diagnóstico de cefaleias com base nos critérios prescritos pelo "Committee of the International Headache Society" (ICHD), não considera a avaliação da atividade muscular relevante para a migrânea, considerada inervada pela artéria temporal profunda, porém a localização mais frequente da dor coincide com a região dos músculos temporais, inervados pela artéria temporal superficial (Silva Neto RP ET AL), e devido a isso foi construída pelos autores uma hipótese diagnóstica chamada de "Comportamento muscular" (CM), decorrente da observação de que em casos de migrânea, os músculos temporais e masseteres ipsilaterais iniciam sua atividade e se mantêm mais ativos que seus homólogos contralaterais durante o movimento de deglutição normal. A deglutição, um processo neurofisiológico complexo que ocorre em alta frequência (Okenson JP), pressupõe a estabilização mandibular através da intercuspidação dentária (ID), para que o trabalho de músculos hioideos ocorra normalmente. Durante a ID, através da grande representatividade cortical de seus receptores, são promovidos ajustes complexos que modulam os programas de controle motor, e a qualidade da ID determina a posição da mandíbula durante a deglutição. Desvios laterais podem ocorrer neste momento (Ferrario et al), recrutando um comportamento diferente dos músculos temporais e masseteres para os ajustes necessários à este equilíbrio dinâmico (Douglas et al).

Estudos de atividade eletromiográfica de músculos mastigatórios são frequentes (Nagae & Bérzin) porém, a existência de uma ligação fisiopatológica entre as cefaléias e atividade muscular ainda está sendo discutida, e os resultados tem sido pouco esclarecedores. Sabe-se no entanto que padrões de atividade de músculos mastigatórios podem ser afetados pela dor e podem ser identificados por variáveis temporais de EMG (Hatef et al).

Os objetivos desta pesquisa foram: avaliar se o Comportamento Muscular (CM) tem associação com casos diagnosticados clinicamente com migrânea, e avaliar se a utilização desta hipótese é eficiente como método auxiliar para o diagnóstico de cefaleias.

### Metodologia:

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição e todos os participantes

assinaram o TCLE. Foram incluídas 92 participantes do sexo feminino (62 com dor e 30 sem dor) para avaliar o CM através de exames eletromiográficos da atividade dos músculos temporais e masseteres durante o período correspondente à deglutição, identificado por meio da atividade registrada dos músculos supra-hióideos. Foram incluídas participantes de 18 a 49 anos em bem estar geral, sem anormalidades no sistema estomatognático, com dentição completa, relação basal normal entre as arcadas dentárias, sem tratamentos em andamento. Para os casos portadores de migrânea foi exigido um diagnóstico clínico de um neurologista, baseado no ICHD. O exame RDC identificou os casos sem dor. Não foram incluídas participantes que não atenderam aos critérios. Todas as participantes forneceram dados de anamnese sobre características da dor, como tipo, fatores desencadeantes e agravantes, e preencheram o diagrama de Raffaelli, onde puderam apontar a localização exata da dor (SilvaNeto RP). Por fim, a amostra de participantes foi composta por 92 mulheres de 18 a 49 anos (média de idade  $33,5 \pm 15,5$ ), distribuídas em dois grupos: Grupo SC: sem cefaléia ( $n = 30$ ) e Grupo CC: com cefaleia, de 62 participantes divididas em dois subgrupos: CT: cefaleia tensional ( $n = 26$ ) e Mi: migrânea ( $n = 36$ ).

A avaliação eletromiográfica de todas as participantes foi feita no equipamento ADS1200 Lynx. Os músculos avaliados foram Temporais Anteriores, Masseteres Superficiais e Suprahióideos (estes somente forneceram o tempo de início e final de atividade), com as participantes sentadas com as costas eretas e olhos fixos no horizonte. Foram previamente orientadas e treinadas em todos os procedimentos e nenhuma foi examinada sob ataque agudo de dor.

O protocolo da coleta envolveu 6 deglutições de 10ml de água, com selamento labial, sendo que para as 3 primeiras deglutições não foi fornecida nenhuma instrução. Após a realização destas, foi indagado se encostaram os dentes ou mantiveram as arcadas afastadas. As 3 últimas deglutições foram realizadas após instruções e prévios treinamentos, com os dentes unidos, não em apertamento, e sim somente apoiados em contato confortável, sem afastamento entre as arcadas. Em casos de dúvida, foram repetidos os testes.

Esta pesquisa não monitorou a intercuspidação e a ocorrência precisa de contatos dentais, porém foram levados em consideração as orientações sobre a percepção e os treinamentos prévios com feedback visual do aumento da ativação dos músculos elevadores relacionados aos hióides nos testes durante a ID na hora de deglutir.

O processamento dos dados foi feito por meio do programa Matlab (Matworks) em protocolo específico. A avaliação dos sinais eletromiográficos foi cega, não se sabendo a qual grupo o participante pertenceu, e o CM foi catalogado quando presente em percentual de ocorrência  $\geq 66,66\%$  nos 3 testes.

Os músculos temporal e masseter foram avaliados por meio de duas variáveis associadas: o tempo de início da atividade, desde o repouso até a intercuspidação máxima (analisado em unidade de tempo) (Shewman T), e a intensidade de ativação (analisada em RMS) dos músculos temporal e masseter, durante as fases oral e faríngea da deglutição, comparando-se um lado com relação ao outro, vistos sob norma frontal. Ambas as variáveis foram avaliadas no período de atividade dos músculos supra-hióideos. (Vaiman et al).

O pacote SAS foi usado para cálculos estatísticos definindo o nível de significância em 5%.

### Resultados e Discussão:

Apoiado pelos achados da presente pesquisa e pelas observações primárias, este estudo mostra uma clara associação entre os padrões eletromiográficos desse comportamento muscular específico (CM) registrado durante a intercuspidação dentária, e o diagnóstico clínico de migrânea.

CM é um comportamento muscular detectado eletromiograficamente nos casos em que há dor; entretanto, o método não conseguiu identificar todos os tipos de dor. Em 100% dos casos diagnosticados clinicamente com migrânea, e somente nestes, foi identificado o padrão de comportamento muscular CM, tendo também sido identificado no mesmo lado do relato da dor. (A posição mandibular adaptativa pode interferir na execução de padrões de movimento controlados pelos gânglios da base, resultando em dores nos músculos responsáveis por tais atividades - Douglas et al)

Dos diagnósticos clínicos de dor em geral, 46% não apresentaram o CM (casos de CT). Uma ampla gama de comportamentos musculares diferentes foi encontrada nesses grupos e nenhum deles atendeu à especificação CM, como ocorreu nos casos que receberam o diagnóstico clínico de migrânea. O CM foi identificado em 34 casos (Mi) e não foi identificado em 56 casos (CT + SC).

Todos os resultados apresentaram um  $p < 0,0001$ .

A estatística mostrou também 91,7% de especificidade + 100% de sensibilidade, tendo mostrado 100% de acerto em casos de migrânea e 94,74% de acerto em casos que não receberam o diagnóstico clínico de migrânea, ou seja, na presença e na ausência do diagnóstico clínico de migrânea. Estes dados obtidos pela eletromiografia e avaliados em associação, a qual foi depois relacionada à migrânea, não apresentaram precedente na literatura.

Apesar de todos os participantes terem realizado os mesmos testes de deglutição: espontânea e com intercuspidação, o padrão muscular característico de CM, foi identificado somente nos testes de deglutição com intercuspidação no grupo migrânea.

adaptativo para a manutenção da verticalização das vias aéreas, função essencial da vida (Gonzales HE; Douglas et al), seguindo o princípio do ciclo percepção-ação em que uma ação motora específica pode ser antecipada por um mecanismo de feed-forward reduzindo oscilações corporais, permitindo a execução eficiente de diferentes funções (Barela JA)

A forte associação entre atividade muscular e diagnóstico de migrânea, bem como os altos índices de especificidade e sensibilidade atribuídos à avaliação eletromiográfica do CM, sugerem sua utilidade como método diagnóstico. Os critérios propostos e a avaliação da biomecânica oclusal e neuromuscular no momento da ID estão em desenvolvimento, e dependerão de estudos mais abrangentes para serem melhor respaldados.

### Conclusões:

Existe uma associação entre os padrões eletromiográficos sugeridos pelo CM e o diagnóstico clínico de migrânea. As cefaleias podem ser diagnosticadas de forma adequada pela avaliação da atividade muscular, a qual se mostrou eficaz nos casos de migrânea e pode ser útil como método diagnóstico nestes casos.

**Palavras chave:** Cefaleia. Migrânea. Deglutição. Músculo temporal. Eletromiografia.

**Financiamento:** Este trabalho foi parcialmente financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES).

### Referências:

BARELA JA. Estratégias de controle em movimentos complexos: ciclo percepção- ação no controle postural. [Control strategies in complex movements: perception-action cycle in postural control]. Rev Paulista Ed Fis. 2000; (Supl 3):79-88. <https://www.researchgate.net/publication/228958740>.

- DOUGLAS CR, AVOGLIO JLV, DE OLIVEIRA H. Stomatognathic adaptive motor syndrome is the correct diagnosis for temporomandibular disorders. *Med Hypotheses*. 2010 Apr;74(4):710-718.
- FERRARIO VF, SFORZA C, MIANI A JR, ET AL. Electromyographic activity of human masticatory muscles in normal young people. Statistical evaluation of reference values for clinical applications. *J Oral Rehabil*. 1993 May;20(3):271-280.
- GONZALEZ HE, MANNS A. Forward head posture: its structural and functional influence on the stomatognathic system, a conceptual study. *Cranio*. 1996 Jan;14(1):71-80. [Cited in 2005, jul 23].
- HATEF B, TALEBIAN S, HASHEMIRAD F, GHAFFARPOUR M. Effect of pain on the timing pattern of masseter muscle activity during the open-close-clench cycle in the migraine without aura and tension type headaches. *Iran J Neurol*. 2012;11(4):146– 50.
- HEADACHE CLASSIFICATION COMMITTEE OF THE INTERNATIONAL HEADACHE SOCIETY (IHS) The International Classification of Headache Disorders, 3rd edition. *Cephalalgia*. 2018 Jan;38(1):1-211.
- JENSEN R, OLESEN J. Initiating mechanisms of experimentally induced tension- type headache. *Cephalalgia*. 1996; May;16(3):175-182; discussion 138-139
- LUNDEEN HC, GIBBS CH. 1982. Advances in occlusion. *Postgraduate Dental Handbook*, vol14, John Wright Publisher, University of Florida, Gainesville, Florida, 7-10.[Cited in 2017, Jan10]
- NAGAE M, BÉRZIN F. Electromyography: applied in the phonoaudiology clinic. *Braz J Oral Sci*.2004;3:506-9.
- OKENSON J. Tratamento das desordens temporomandibulares e oclusão. [Management of Temporomandibular Disorders and Occlusion] 2008:36-37.
- SHEWMAN T. Surface Electromyography in temporomandibular disfunction. 2006th ed. Las Vegas, NV.Lundeen HC, Gibbs CH. *Advances in occlusion*. Boston 1982, John Wright PSC.
- SILVA NETO RP, ROESLER CP, RAFFAELLI JR. E. The posterior deep temporal artery. *Migraneas cefaléias* 2008;11(2):60-62. <https://www.researchgate.net/publication/262567801>
- SILVA NETO RP. O uso de um diagrama craniano na localização da dor. *Headache Medicine*. 2011;2(1):13-16.
- VAIMAN M, EVIATAR E, SEGAL S. Surface electromyographic studies of swallowing in normal subjects: a review of 440 adults. Report 3. Qualitative data. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2004 Dec;131(6):977-985.

## SUSCETIBILIDADE DE VARIANTES GENÉTICAS E INTERAÇÕES GENE-GENE E GENE-FATORES AMBIENTAIS NA ETIOLOGIA DAS FISSURAS ORAIS NÃO-SINDRÔMICAS NA POPULAÇÃO BRASILEIRA

Renato Assis Machado<sup>1</sup>, Hercílio Martelli Junior<sup>2</sup>, Ricardo Della Coletta<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Doutor em Estomatologia, Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, renatoassismachado@yahoo.com.br.

<sup>2</sup> Professor Titular de Diagnóstico Bucal do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Estadual de Montes Claros, hmjunior2000@yahoo.com.

<sup>3</sup> Professor Titular do Departamento de Diagnóstico Oral, Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, coletta@fop.unicamp.br.

### Introdução:

As fissuras orais não-sindrômicas (FONS), caracterizadas por áreas de descontinuidade no lábio e/ou palato, representam o defeito craniofacial congênito mais frequente em humanos (Dixon et al., 2011). A classificação das FONS depende da região anatômica envolvida e se divide basicamente em 3 grupos: fissura pré-forame incisivo ou fissura labial (FLNS), fissura pós-forame incisivo ou fissura palatina (FPNS) e fissuras transforme incisivo ou fissura lábio-palatina (FLPNS). A FLNS é o resultado da ausência de fusão das proeminências nasais e maxilares, a FPNS ocorre quando os processos palatinos deixam de se fundir, e quando surge a falha concomitante nos dois processos ocorre a FLPNS (Shkoukani et al., 2013). Baseando-se em evidências epidemiológicas e embriológicas, a FLNS é considerada uma variante menos intensa da FLPNS e ambas são classificadas juntas como fissura labial com ou sem fissura palatina (FL±PNS) (Harville et al., 2005). Ambas, a etiologia é complexa e fortemente influenciada pelos fatores genéticos e ambientais específicos de cada população. Embora vários genes e loci genéticos foram descritos como de risco para estas malformações congênitas comuns, a susceptibilidade genética varia de população para população. Isso é particularmente importante na população brasileira, na qual cada indivíduo apresenta níveis variados de ancestralidade, principalmente ameríndia, europeia e africana.

### Objetivos:

Para melhor compreender os aspectos genéticos associados as FONS na população brasileira, este estudo compilou resultados de 4 objetivos/estudos específicos. O primeiro objetivo foi descrever as informações disponíveis sobre marcadores genéticos de risco para FONS na população brasileira através de uma revisão sistemática. O segundo, optou por validar 7 polimorfismos de nucleotídeo único (*single nucleotide polymorphism*, SNPs) (rs7552 em 2q24.2, rs8049367 em 16p13.3, rs1880646, rs7406226 e rs9891446 em 17p13, rs1588366 em 17q23.2 e rs73039426 em 19q13.11), localizados em regiões associadas com FL±PNS em estudos de larga escala genômica, em 831 pacientes com FL±PNS e 866 controles. O terceiro estudo avaliou a influência de SNP em genes associados com a neutralização do estresse oxidativo (famílias de genes superóxido dismutase-*SOD* e paraoxinase-*PON*) no risco das FL±PNS na população brasileira, considerando interações GxG e gene-fatores ambientais (GxE). E o quarto estudo utilizou a estratégia de tag-SNP para verificar a participação de variantes (rs1169, rs7153, rs9968051, rs9819530 e rs6794341) em *GOLGB1* (golgin subfamily B member 1), um gene essencial para a palatogênese murina normal, em FPNS.

### Metodologia:

Para o primeiro objetivo, uma busca sistemática da literatura foi realizada nas bases de dados LILACS, LIVIVO, PubMed, Scopus e Web of Science, e estudos que investigaram marcadores de suscetibilidade genética para FONS na população brasileira foram recuperados. Marcadores com dados estatísticos suficientes foram submetidos a meta-análise usando modelo de efeitos aleatórios ou fixos com odds ratio (OR) e intervalos de confiança de 95% (IC 95%) como medidas de efeito. Para o segundo investigamos 5 loci genômicos relatados para FL±PNS em um estudo de caso-controle estruturado por ancestralidade contendo 1.697 participantes brasileiros (831 FL±PNS e 866 controles saudáveis). SNPs rs7552 em 2q24.2, rs8049367 em 16p13.3, rs1880646, rs7406226, rs9891446 em 17p13, rs1588366 em 17q23.2 e rs73039426 em 19q13.11 foram genotipados usando testes de discriminação alélica de TaqMan usando um painel ancestral binário 40 marcadores polimórficos de inserção / deleção curtos informativos para a população brasileira. No terceiro estudo, avaliamos inicialmente a associação de 28 SNPs em *SOD1*, *SOD2*, *SOD3*, *PON1*, *PON2* e *PON3* entre 325 trios FL±PNS. Análises de regressão logística múltipla foram utilizadas para explorar o gene, interações gene x gene e gene x ambiente, envolvendo fatores que induzem o acúmulo de estresse oxidativo durante a gravidez, como exposição a agrotóxicos, contato ambiental com agrotóxicos, tabagismo, consumo de álcool e drogas e suplementação de ácido fólico. Os sinais que resistiram à correção de Bonferroni e ao teste de permutação foram subsequentemente confirmados em uma análise de caso-controle estruturada por ancestralidade com 722 FL±PNS e 866 controles. No quarto, variantes genéticas no gene *GOLGB1* foram analisadas neste estudo para estabelecer sua possível associação com o risco de NSCPO na população brasileira. Cinco polimorfismos de nucleotídeo único tag (SNPs) de *GOLGB1* (rs1169, rs7153, rs9968051, rs9819530 e rs6794341), que capturam a maioria dos alelos que abrangem o gene, foram genotipados em um estudo de caso-controle com 270 pacientes com NSCPO e 284 controles saudáveis não relacionados. As amostras também foram genotipadas para 40 marcadores polimórficos bialélicos para caracterizar a ancestralidade genética.

### Resultado e Discussão:

A revisão sistemática e meta-análise de marcadores genéticos avaliados na população brasileira revelou possíveis associações dos polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) rs642961 (*IRF6*), rs987525 e rs1530300 (8q24), rs1801133 (*MTHFR*) e rs17563 (*BMP4*) com a etiologia das FL±PNS. Contudo, frente ao pequeno número de estudos que analisou cada um destes marcadores, mais estudos com amostras robustas e que levem em consideração a elevada miscigenação da população brasileira são necessários. Os resultados do segundo estudo utilizando análise de regressão logística e levando em consideração as diferenças na ancestralidade genômica e no gênero entre os grupos revelou que o SNP rs7552 é um marcador de risco para o desenvolvimento das FL±PNS. Interações gene-gene (GxG) entre rs7552 com rs8049367, rs1880646, rs9891446, rs1588366 e rs73039426 foram também associadas com risco aumentado para o desenvolvimento das FL±PNS. Embora os SNPs rs1880646 e rs9891446 não foram individualmente associados com FL±PNS, o haplótipo AG (alelo A de rs1880646 e alelo G de rs9891446) foi mais frequente entre os pacientes com FL±PNS em comparação com os controles, exibindo um risco aumentado para o desenvolvimento da fissura. Os resultados do terceiro estudo demonstraram que o alelo C e o genótipo CT do SNP rs2237583 em *PON1* evocam efeitos protetores para as FL±PNS, enquanto rs3917490 apresentou significância apenas com amostra composta por pacientes com alta ascendência africana. Várias interações GxG contendo os SNP

rs2237583 em *PON1* e rs17166879 em *PON2* atingiram significância após o ajuste para múltiplos testes. Por fim, o último estudo contendo 270 pacientes com FPNS e 284 controles, nenhuma associação significativa foi observada entre as variantes em *GOLGB1* e as FPNS.

### **Conclusão:**

Em conclusão, este estudo revela alguns potenciais marcadores genéticos associados ao desenvolvimento das FONS na população brasileira e reforça a importância de considerar interações gene x gene na patogênese desta malformação congênita.

**Palavras-Chave:** Fissura de lábio. Fissura de palato. Polimorfismo de nucleotídeo único. Genética populacional. Anormalidades congênitas.

**Financiamento:** FAPESP, 2016/02667-0

### **Referências:**

DIXON, M.J., MARAZITA, M.L., BEATY, T.H., MURRAY, J.C. Cleft lip and palate: understanding genetic and environmental influences. *Nat Rev Genet*, 12(3): 167-78, 2011.

SHKOUKANI, M.A., CHEN, M., VONG, A. Cleft lip - a comprehensive review. *Front Pediatr*, 1: 53, 2013.

HARVILLE, E.W., WILCOX, A.J., LIE, R.T., VINDENES, H., ABYHOLM, F. Cleft lip and palate versus cleft lip only: are they distinct defects? *Am J Epidemiol*, 162: 448-53, 2005.

## AVALIAÇÃO DE DUAS TERAPIAS ANTIMICROBIANAS NÃOCONVENCIONAIS CONTRA *STREPTOCOCCUS MUTANS*

Nima, G <sup>1</sup>; Esteban-Florez, F <sup>2</sup>; Giannini, M <sup>3</sup>

1 Doutor em materiais dentários, Programa de materiais dentários, Departamento de odontologia restauradora. Universidade Estadual de Campinas. E-mail: gabrieln\_b@yahoo.com

2 Doutor em odontologia restauradora, Departamento de Materiais Dentários, The University of Oklahoma Health Sciences Center, College of Dentistry. E-mail: fernando-esteban-florez@ouhsc.edu

3 Doutor em clínica odontológica. Departamento de odontologia restauradora. Universidade Estadual de Campinas. E-mail: gianinni@unicamp.br

### Introdução:

Após a remoção mecânica da cárie é comum a utilização de agentes antibacterianos para garantir a descontaminação do esmalte e dentina. Entretanto, o uso de esses agentes apresenta efeitos adversos como resistência bacteriana e alteração na adesão dental.

O plasma frio em pressão atmosférica (NTAP) é um gás parcialmente ionizado, capaz de inativar diferentes microrganismos por meio da produção de espécies reativas de oxigênio (ROS). Por outro lado, a inativação fotodinâmica (PDI), é uma terapia alternativa que utiliza um agente fotossensibilizador que reage com uma luz específica produzindo ROS com efeito antibacteriano. Recentemente a curcumina tem sido utilizada como fotossensibilizador com uma fonte de luz LED dental, com pouco sucesso. Para potencializar o efeito antibacteriano, o ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) tem sido utilizado para facilitar o ingresso de diversas substâncias através da membrana bacteriana. Entretanto, não existem dados sobre a eficácia da PDI mediada pela combinação de curcumina/EDTA utilizando luz azul.

O objetivo de este trabalho foi investigar a eficácia antibacteriana do NTAP com argônio e da PDI mediada por curcumina/EDTA e uma fonte de luz LED azul na desinfecção de superfícies contaminadas com *S. mutans*.

### Metodologia:

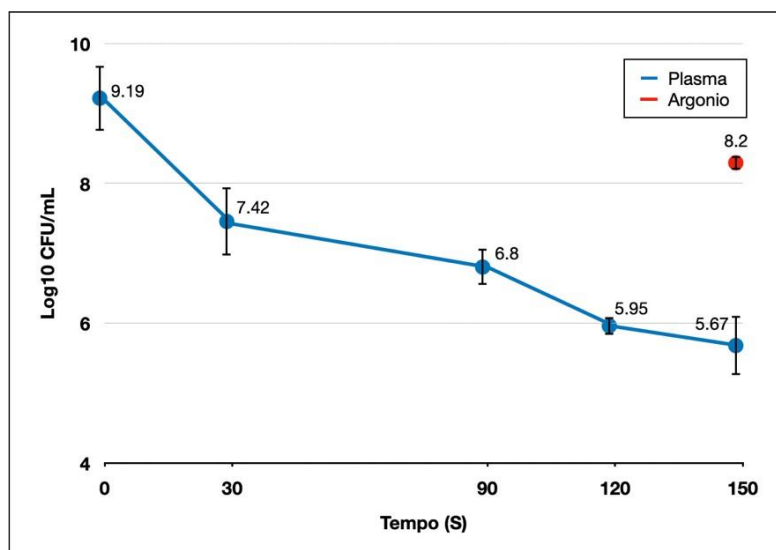
Para a avaliação do NTAP, discos de resina foram confeccionados, polimerizados, polidos e esterilizados. Biofilme da cepa bioluminescente de *S. mutans* (JM10) foi cultivado sobre os discos usando meio THY (0.65x) com 0.1% de sacarose em condições de microaerofilia (37°C, 24 h). Os discos foram divididos em 7 grupos: controle (CON), clorhexidina 2% (CHX), argônio 150 s (ARG), tratamento com NTAP por 30 s (P30), por 90 s (P90), por 120 s (P120) e NTAP por 150 s (P150). O NTAP foi aplicado usando um dispositivo de jato de plasma. Os biofilmes foram analisados através da contagem de unidades formadoras de colônias (CFU), ensaio de bioluminescência (BL), microscopia eletrônica de varredura (SEM) e PCR.

Para a avaliação da PDI, a atividade antibacteriana da curcumina e EDTA foi avaliada pela concentração inibitória mínima (MIC) e concentração bactericida mínima (MBC). O efeito sinérgico da combinação curcumina/EDTA foi avaliado pelo índice de concentração inibitória fracionado (FICI). Culturas planctônicas de *S. mutans* (UA159) incubadas em condições de microaerofilia (37°C, 18 h) foram utilizadas para avaliar o efeito da combinação de 0,4% EDTA e curcumina (50 µM e 500 µM) com e sem fotoativação com luz azul. Clorhexidina (0,2%) foi utilizada como controle positivo. Suspensões planctônicas foram analisadas através de CFU, microscopia confocal (CLSM), microscopia eletrônica de transmissão (TEM) e PCR.

### Resultados e Discussão:

Os tratamentos propostos foram efetivos na inativação de *S. mutans* em biofilme e cultura planctônica, respectivamente, produzindo alterações estruturais nas bactérias. Entretanto,

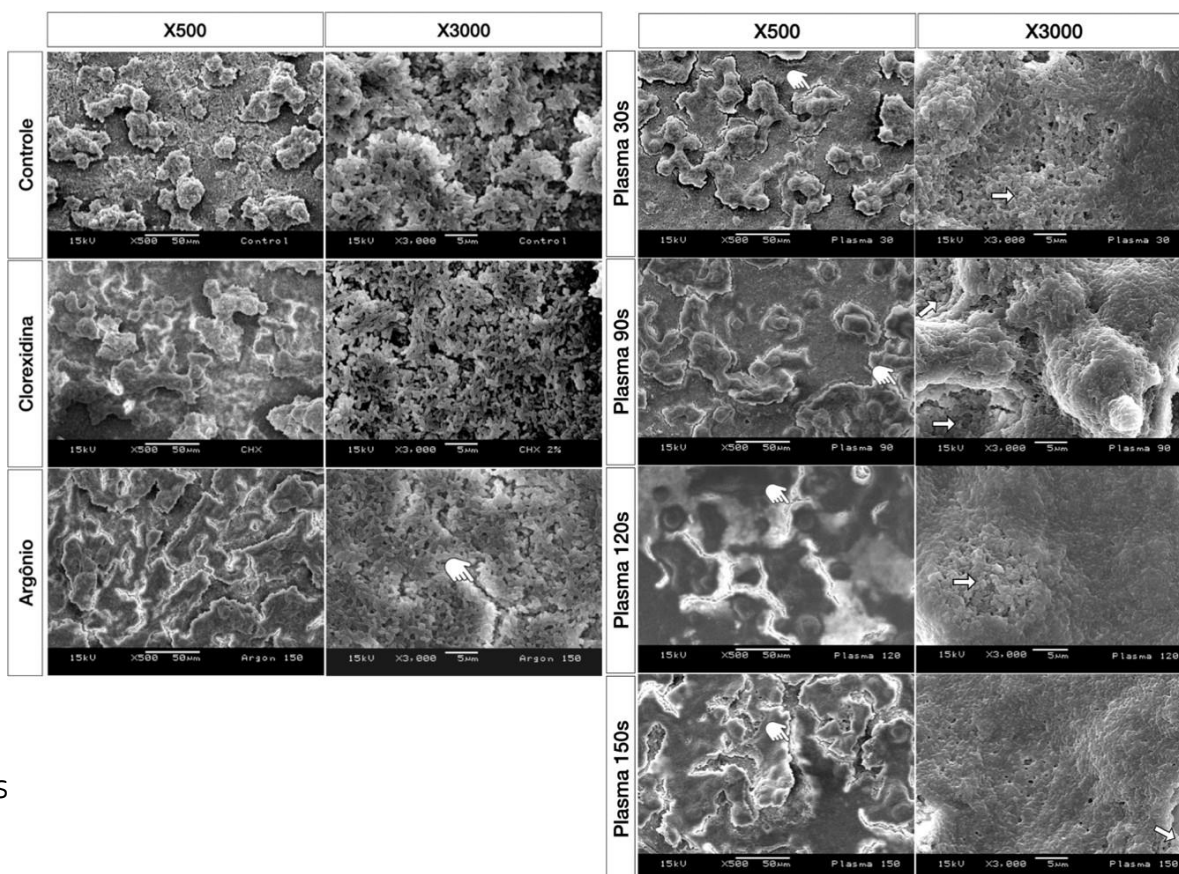
somente o NTAP gerou alterações na estrutura do DNA bacteriano.



**Figura 1:** Efeito da aplicação do plasma sobre o biofilme de *S. mutans*, em relação ao tempo.

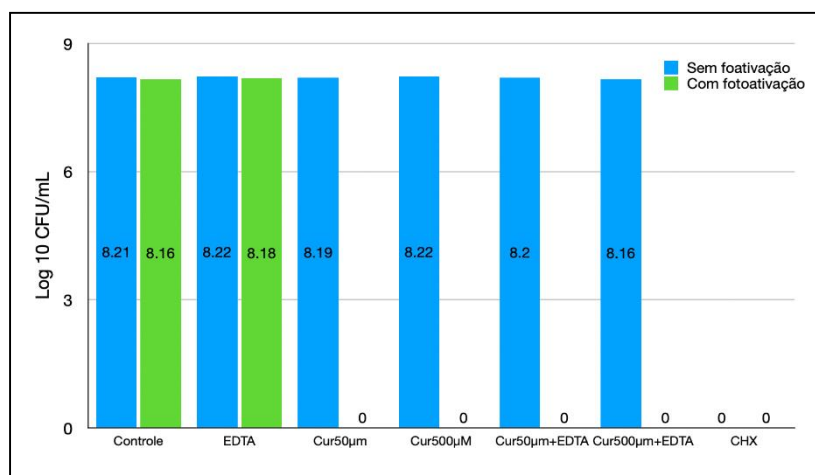
Os biofilmes tratados com NTAP mostraram redução significativa do CFU (Figura 1). Os valores de BL mostraram que o tratamento com NTAP por 90s, 120s ou 150s resultou em atividade metabólica estatisticamente significativamente menor aos outros grupos. CHX exibiu as médias mais baixas de CFU (o cfu/ml) e BL.

Mudanças morfológicas significativas no biofilme tratado com NTAP foram observadas com o SEM (Figura 2). A PCR mostrou danos à estrutura do DNA após o tratamento com NTAP. O tratamento com NTAP foi eficaz na redução da viabilidade e metabolismo de *S. mutans* de uma maneira dependente do tempo, sugerindo seu uso como uma estratégia de descontaminação de superfície intraoral.



**Figura 2:** SEM imagens do *S. mutans* biofilme após tratamento. Setas brancas indicam biofilme não tratado o ponteiro indica rupturas no biofilme pela desidratação.

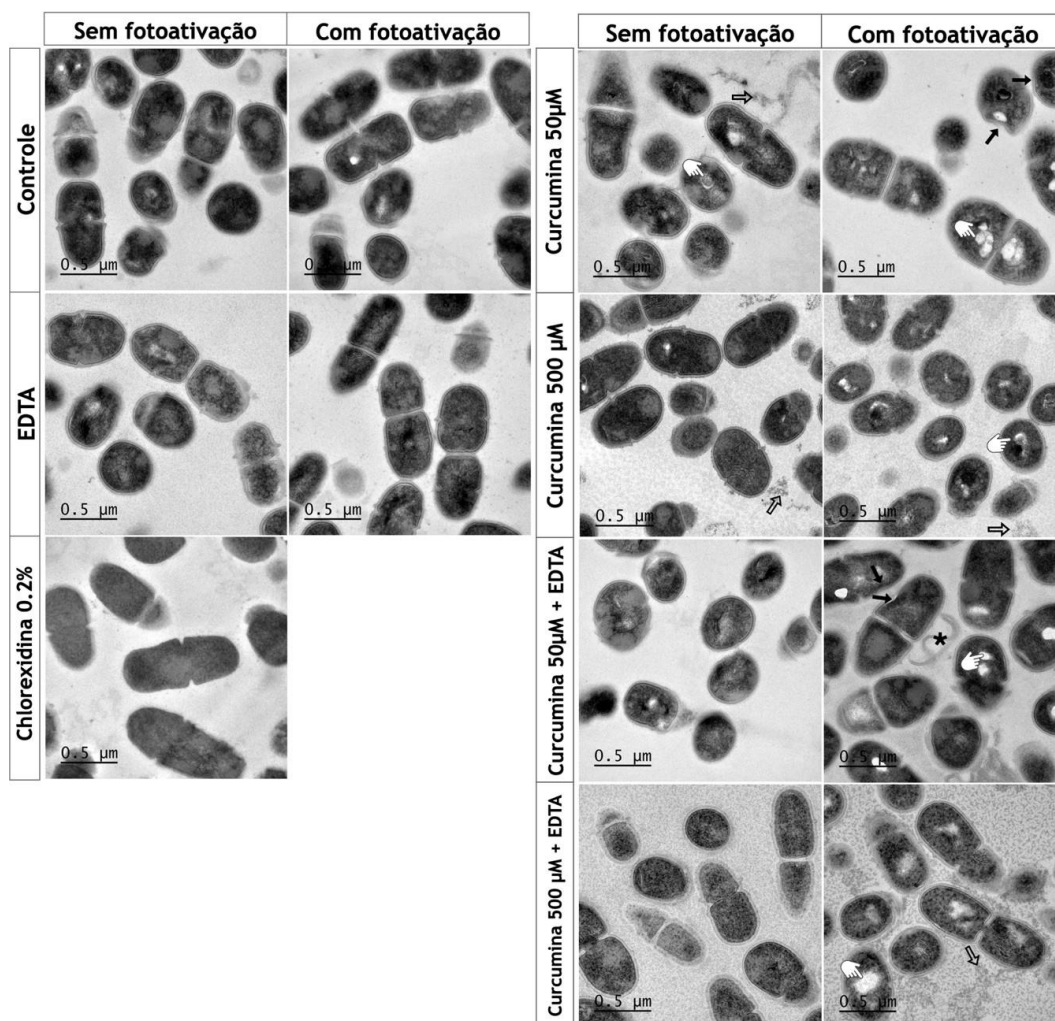
Para a PDI, os valores de MIC da curcumina e EDTA foram 5 mM e 0,125%, respectivamente. FICI mostrou uma interação sinérgica entre curcumina e EDTA. Todas as combinações com curcumina e luz LED azul resultaram em inativação completa do *S. mutans* (Figura 3) e CLSM confirmou esses resultados, TEM mostrou alterações morfológicas produzidas pelo PDI (Figura 4). Nenhum dano na estrutura do DNA foi detectado por PCR.



**Figura 3:** Efeito antibacteriano dos diferentes tratamentos na cultura planctônica de *S. mutans*.

A capacidade antibacteriana dos tratamentos propostos é o resultado da produção de ROS que produzem um severo estresse oxidativo resultando na desintegração bacteriana. Adicionalmente, o plasma causou dano na estrutura do DNA como confirmado pela PCR. As ROS interagem com a membrana bacteriana comprometendo sua integridade, vertendo as estruturas intracelulares para o meio e destruindo o DNA. Contrariamente, a PDI não resultou em danos no DNA. Embora as ROS não foram medidas neste estudo, provavelmente a quantidade e qualidade produzidas pela PDI sejam muito menores do que as produzidas pelo NTAP.

O plasma apresentou um "efeito autolimitante", o acúmulo dos restos bacterianos formado sobre a superfície do biofilme aparentemente reduziu a efetividade do tratamento. O acúmulo de restos celulares atua como barreira física para as camadas mais internas do biofilme, impedindo que sejam atingidas pelo plasma. As imagens de MEV mostraram a presença de bactérias intactas inclusive após 150s de aplicação de plasma. O ensaio de bioluminescência evidenciou atividade metabólica reduzida nos grupos com maior tempo de tratamento com plasma. Baseado nos resultados da CFU, as bactérias que não foram afetadas pelo plasma mantêm a sua capacidade de reprodução.



**Figura 4:** TEM imagens do *S. mutans* após tratamento (x40,000). O ponteiro indica a presença de vacúolos, setas indicam alteração de forma da membrana e \* indica ruptura da membrana bacteriana.

Para a PDI, a configuração da fonte de luz resulta fundamental, a configuração utilizada (40s, 1mm de distância) entregou uma grande quantidade de energia em tempo reduzido, explicando em parte os resultados obtidos. A PDI apresenta-se como uma opção mais econômica e simples de usar na prática clínica do que o plasma, pois não envolve a aquisição de novos equipamentos por parte do clínico. A grande limitação da PDI mediada por curcumina/EDTA é a baixa solubilidade da cúrcuma em água. As imagens de TEM mostraram grande precipitação de partículas nos grupos tratados com 500 µM de curcumina devido a sua hidrofobicidade, reduzindo a sua reatividade pelo “quenching” produzido.

Na cavidade bucal as bactérias geralmente se encontram formando biofilmes multiespécies, estudos utilizando microcosmos devem ser realizados para confirmar a efetividade de estas terapias, levando em consideração outros fatores como distância e tempo de aplicação, efetividade a longo prazo e a presença de possíveis efeitos adversos.

### Conclusões:

A aplicação do NTAP e PDI mediada pela combinação curcumina/EDTA reduziram significativamente a viabilidade do *S. mutans* por meio das ROS geradas por ambos os tratamentos, que se apresentam como técnicas promissoras antimicrobianas na Odontologia.

**Palavras-Chave:** Gases de Plasma, Inativação fotodinâmica, Curcumina, Agentes

fotossensibilizadores, *Streptococcus mutans*.

**Financiamento:** O presente trabalho foi realizado com apoio da CAPES [CAPES #878-2018], bolsa PDSE-CAPES [CAPES #88881.188621/2018-01] e "Oklahoma Center for the Advancement of Science and Technology" [OCAST #HR16-131].

### Referências:

- BANIN, E.; BRADY, K.M.; GREENBERG, E.P. Chelator-induced dispersal and killing of *Pseudomonas aeruginosa* cells in a biofilm. *Appl Environ Microbiol*, 72, 2064–9, 2006.
- CIEPLIK, F.; TABENSKI, L.; BUCHALLA, W.; MAISCH, T. Antimicrobial photodynamic therapy for inactivation of biofilms formed by oral key pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 5, 405, 2014.
- GUNES, H.; GULEN, D.; MUTLU, R.; GUMUS, A.; TAS, T.; TOPKAYA, A. E. Antibacterial effects of curcumin: An in vitro minimum inhibitory concentration study. *Toxicology and Industrial Health*, 32(2), 246–250, 2016.
- HAMOUD, R.; ZIMMERMANN, S.; REICHLING, J.; WINK, M. Synergistic interactions in two- drug and three-drug combinations (thymol, EDTA and vancomycin) against multi drug resistant bacteria including *E. coli*. *Phytomedicine*, 21(4), 443–447, 2014.
- LACKMANN, J.W.; SCHNEIDER, S.; EDENGEISER, E.; JARZINA, F.; BRINCKMANN, S.; STEINBORN, E.; HAVENITH, M.; BENEDIKT, J.; BANDOW, J.E. Photons and particles emitted from cold atmospheric-pressure plasma inactivate bacteria and biomolecules independently and synergistically. *Journal of the Royal Society, Interface*, 10(89), 20130591, 2013.
- MAI-PROCHNOW, A.; MURPHY, A.B.; MCLEAN, K.M.; KONG, M.G.; OSTRIKOV, K. Atmospheric pressure plasmas: Infection control and bacterial responses. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 43(6), 508–517, 2014.
- PRIVAT-MALDONADO, A.; O'CONNELL, D.; WELCH, E.; VANN, R.; VAN DER WOUDE, M. W. Spatial Dependence of DNA Damage in Bacteria due to Low- Temperature Plasma Application as Assessed at the Single Cell Level. *Scientific Reports*, 6(1), 35646, 2016.
- SAITAWEE, D.; TEERAKAPONG, A.; MORALES, N. P.; JITPRASERTWONG, P.; HORMDEE, D. Photodynamic therapy of *Curcuma longa* extract stimulated with blue light against *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 22, 101-105, 2018.
- SLADEK, R. E. J.; FILOCHE, S.K.; SISSONS, C.H.; STOFFELS, E. Treatment of *Streptococcus mutans* biofilms with a nonthermal atmospheric plasma. *Letters in Applied Microbiology*, 45(3), 318–323, 2007.
- YANG, B.; CHEN, J.; YU, Q.; LI, H.; LIN, M.; MUSTAPHA, A.; HONG, L.; WANG, Y. Oral bacterial deactivation using a low-temperature atmospheric argon plasma brush. *Journal of Dentistry*, 39(1), 48–56, 2011.

## ARTEFATOS DE TOMOGRAFIA COMPUTADORIZADA DE FEIXE CÔNICO ORIUNDOS DA EXOMASSA: INFLUÊNCIA DO TAMANHO DE VOXEL E IMPACTO NA ACURÁCIA DE DIAGNÓSTICO DE FRATURAS RADICULARES EM IMAGENS COM PROTOCOLO DE EXPOSIÇÃO PADRÃO E OTIMIZADO

**Artigo 1:** Influence of voxel size on cone beam computed tomography artifacts arising from the exomass

**Publicado na revista:** Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology

**DOI:** 10.1016/j.oooo.2020.12.003

**Autores:** Amanda P Candemil<sup>a\*</sup><sup>α</sup>, Benjamin Salmon<sup>bΔ</sup>, Glauca M M Ambrosano<sup>aα</sup>, Deborah Q Freitas<sup>aα</sup>, Francisco Haiter-Neto<sup>aα</sup>, Matheus L Oliveira<sup>a#α</sup>

**Artigo 2:** Influence of the exomass on the detection of simulated root fracture in cone-beam CT - an ex-vivo study

**Publicado na revista:** DentoMaxilloFacial Radiology

**DOI:** 10.1259/dmfr.20200450

**Autores:** Amanda P Candemil<sup>a\*</sup><sup>α</sup>, Francesca Mangione<sup>bα</sup>, Karla F Vasconcelos<sup>cα</sup>, Anne C Oenning<sup>dα</sup>, Reinhilde Jacobs<sup>cα</sup>, Deborah Q Freitas<sup>aα</sup>, Francisco Haiter-Neto<sup>aα</sup>, Benjamin Salmon<sup>bΔ</sup>, Matheus L Oliveira<sup>a#α</sup>

**Artigo 3:** Cone beam CT optimisation for detection of vertical root fracture with metal in the field of view or the exomass

**Publicado na revista:** Scientific Reports

**DOI:** 10.1038/s41598-021-98345-6

**Autores:** Amanda P Candemil<sup>a\*</sup><sup>α</sup>, Benjamin Salmon<sup>bΔ</sup>, Karla F Vasconcelos<sup>cα</sup>, Anne C Oenning<sup>dα</sup>, Reinhilde Jacobs<sup>cα</sup>, Deborah Q Freitas<sup>aα</sup>, Francisco Haiter-Neto<sup>aα</sup>, Francesca Mangione<sup>bα</sup>, Matheus L Oliveira<sup>a#α</sup>

### Filiações

- a. Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, Brasil
- b. Faculdade de Cirurgia Dentária, Universidade de Paris, França
- c. Faculdade de Medicina, Universidade Católica de Leuven, Bélgica
- d. Faculdade de Odontologia São Leopoldo Mandic, Brasil

\* Egressa

# Orientador

α DDS, MS, PhD

Δ DDS, PhD

amandacandemil@hotmail.com; [benjamin.salmon@parisdescartes.fr](mailto:benjamin.salmon@parisdescartes.fr); [glauca@fop.unicamp.br](mailto:glauca@fop.unicamp.br);  
 deborahq@unicamp.br; [haiter@unicamp.br](mailto:haiter@unicamp.br); [matheuso@unicamp.br](mailto:matheuso@unicamp.br);  
[francesca.magione@parisdescartes.fr](mailto:francesca.magione@parisdescartes.fr); [karlafav13@gmail.com](mailto:karlafav13@gmail.com); [anne.oenning@gmail.com](mailto:anne.oenning@gmail.com);  
[reinhilde.jacobs@kuleuven.be](mailto:reinhilde.jacobs@kuleuven.be)

### Introdução:

A tomografia computadorizada de feixe cônico (TCFC) de pequeno campo de visão (do inglês, *field-of-view*; FOV) tem sido utilizada constantemente devido à resolução espacial relativamente maior e menor dose de radiação. No entanto, a redução do tamanho do FOV aumenta indiretamente a exomassa, que é a zona fora do FOV mas ainda entre a fonte de raios X e o receptor da imagem. Estudos prévios têm demonstrado que a presença de materiais de alta densidade na exomassa impacta negativamente na qualidade de imagem de TCFC (Candemil et al., 2018; Candemil et al., 2019; Candemil et al., 2020; Oliveira et al., 2020). Dessa forma, considerando a frequente utilização de FOV pequeno e materiais de alta densidade na reabilitação oral, associada à necessidade de

protocolos de exposição otimizados em diversas tarefas de diagnóstico, os objetivos desta tese foram avaliar (1) a influência do tamanho de *voxel* nos artefatos oriundos da exomassa, (2) o impacto dos artefatos oriundos da exomassa e/ou endomassa no diagnóstico de fratura radicular vertical simulada e (3) o desempenho de um protocolo de exposição otimizado nesta tarefa de diagnóstico.

### Metodologia:

Para cumprir o primeiro objetivo, imagens de TCFC foram obtidas de um fantoma de imagem centralizado em um FOV de 5 × 5 cm em dois aparelhos utilizando dois tamanhos de *voxel*: 0,2 e 0,3 mm. Materiais metálicos de diferentes composições e quantidades foram posicionados na exomassa e imagens adicionais foram realizadas. Valores de cinza foram mensurados de 16 áreas homogêneas do fantoma e a média e o desvio padrão foram calculados. Os dados foram analisados pelos testes ANOVA, Tukey e Dunnett ( $\alpha=0,05$ ). Para cumprir o segundo e terceiro objetivos, vinte dentes humanos unirradulares foram instrumentados e fratura radicular vertical foi induzida em dez deles. Todos os dentes foram posicionados individualmente em um alvéolo vazio de uma mandíbula humana. Imagens de TCFC foram obtidas com um FOV de 5 × 5 cm centralizado no dente de interesse em três aparelhos sob dois protocolos de exposição (padrão e otimizado). Imagens adicionais foram obtidas com materiais metálicos na exomassa e/ou dentro do FOV (endomassa). O dente de interesse foi substituído por um tubo de polipropileno preenchido com uma solução radiopaca homogênea e imagens adicionais foram realizadas. Três radiologistas avaliaram as imagens e indicaram a presença de fratura radicular vertical em uma escala de 5 pontos. Sensibilidade, especificidade e área sob a curva ROC (AUC) foram obtidas. Os valores de *voxel* e ruído foram mensurados nas imagens referentes a solução radiopaca e os diferentes grupos foram comparados pelos testes ANOVA e Tukey ( $\alpha=0,05$ ).

### Resultados:

Os valores médios de cinza e a variabilidade entre eles não diferiram significativamente entre as imagens com tamanho de *voxel* de 0,2 e 0,3 mm.

Sensibilidade, especificidade e AUC para o diagnóstico de fratura radicular vertical não mostraram diferenças significativas entre a composição e localização dos materiais metálicos e protocolos de exposições. Na maioria das condições, os valores de cinza foram significativamente menores e os valores de ruído foram significativamente maiores quando o material metálico estava presente na exomassa ou na exomassa e endomassa.

### Discussão:

Considerando a relação linear entre a resolução espacial e a qualidade da imagem, pode-se esperar que uma resolução espacial mais alta reduza a influência dos artefatos de TCFC oriundos da exomassa. No entanto, apenas algumas diferenças estatísticas foram observadas no presente estudo entre as imagens de baixa e alta resolução espacial, que não parecem ser clinicamente relevantes.

Quando o impacto clínico de artefatos oriundos da exomassa e/ou endomassa foi analisado, o presente estudo mostrou que o diagnóstico de fratura radicular vertical não foi afetado para os protocolos padrão e otimizado de TCFC. Isso reforça a importância de uma avaliação clínica do impacto dos artefatos em diversas tarefas de diagnóstico e que o presente protocolo otimizado de TCFC é clinicamente aplicável e deve ser considerado independentemente da presença de tais artefatos.

Em consonância com os presentes resultados, estudos anteriores mostraram que a presença de materiais metálicos na exomassa gera estrias hipodensas e hiperdensas na imagem de TCFC (Candemil et al., 2018; Candemil et al., 2020). A presença desses artefatos é exacerbada com o aumento da quantidade, número atômico e densidade física dos objetos de origem (Candemil et al., 2018). Ainda, além da já comprovada não eficácia de algoritmos de redução de artefatos na imagem de TCFC quando os artefatos se originam na exomassa (Candemil et al., 2019), o presente estudo

revelou que a resolução espacial também não parece interferir e que o diagnóstico de fratura radicular vertical não é afetado, independentemente do protocolo de dose.

Diferentes aparelhos de TCFC podem ter comportamentos diversos em relação à aquisição e reconstrução de imagens devido a técnicas e parâmetros de escaneamento específicos de cada aparelho (Gaêta-Araujo et al., 2020). Portanto, apesar do uso de diferentes fabricantes de TCFC nos presentes estudos, é necessária cautela ao extrapolar nossos resultados para outros aparelhos. É importante ressaltar que, embora não pretendêssemos comparar os resultados entre os aparelhos de TCFC diretamente, apenas pequenas diferenças puderam ser observadas. No terceiro estudo, o uso de apenas um aparelho de TCFC foi intencional, pois nos baseamos em um estudo anterior que comprovou que o presente protocolo de exposição poderia ser considerado otimizado na área pediátrica (Oenning et al., 2019). Como a exomassa é um fator inerente à TCFC, novos estudos simulando mais condições clínicas são fortemente encorajados.

### Conclusões

O impacto dos artefatos oriundos da exomassa não é influenciado pelo tamanho de *voxel* e não compromete o diagnóstico de fratura radicular vertical simulada em imagens de tomografia computadorizada de feixe cônico obtidas com baixa dose.

**Palavras-chave:** Tomografia Computadorizada de Feixe Cônico. Artefatos. Fraturas dos Dentes. Diagnóstico por Imagem. Implantes dentários. Ligas de Cromo.

**Financiamento:** Agência de fomento e nº de processo: CAPES, 001.

### Referências:

- CANDEMIL, A.P.; SALMON, B.; FREITAS, D.Q.; AMBROSANO, G.M.; HAITER-NETO, F.; OLIVEIRA, M.L. Metallic materials in the exomass impair cone beam CT voxel values. *Dentomaxillofacial Radiology*, 27, 20180011, 2018.
- CANDEMIL, A.P.; SALMON, B.; FREITAS, D.Q.; AMBROSANO, G.M.B; HAITER-NETO, F.; OLIVEIRA, M.L. Are metal artefact reduction algorithms effective to correct cone beam CT artefacts arising from the exomass? *Dentomaxillofacial Radiology*, 48, 20180290, 2019.
- CANDEMIL, A.P.; SALMON, B.; FREITAS, D.Q.; AMBROSANO, G.M.B; HAITER-NETO, F.; OLIVEIRA, M.L. Distribution of metal artefacts arising from the exomass in small field-of-view cone beam computed tomography scans. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology*, 20, 30016, 2020.
- GAÊTA-ARAÚJO, H.; ALZOUBI, T.; VASCONCELOS, K.F.; ORHAN, K.; PAUWELS, R.; CASSELMAN, J.W.; et al. Cone beam computed tomography in dentomaxillofacial radiology: a two-decade overview. *Dentomaxillofacial Radiology*, 49, 20200145, 2020.
- HARRIS, D.; HORNER, K.; GRÖNDAHL, K.; JACOBS, R.; HELMROT, E.; BENIC, G.I.; et al. E.A.O. guidelines for the use of diagnostic imaging in implant dentistry 2011. A consensus workshop organized by the European Association for Osseointegration at the Medical University of Warsaw. *Clinical Oral Implants Research*, 23, 1243–1253, 2012.
- LOFTHAG-HANSEN, S.; THILANDER-KLANG, A.; GRONDAHL, K. Evaluation of subjective image quality in relation to diagnostic task for cone beam computed tomography with different fields of view. *European Journal of Radiology*, 80, 483–488, 2011.
- OENNING, A.C.; PAUWELS, R.; STRATIS, A.; DE FARIA VASCONCELOS, K.; TIJSKENS, E.; GRAUWE, A.; et al. Halve the dose while maintaining image quality in paediatric Cone Beam CT. *Scientific Reports*, 9, 5521, 2019.
- OLIVEIRA, M.L.; CANDEMIL, A.P.; FREITAS, D.Q.; HAITER-NETO, F.; WENZEL, A.; SPIN-NETO, R. Objective assessment of the combined effect of exomass-related- and motion artefacts in cone beam CT. *Dentomaxillofacial Radiology*, 19, 20200255, 2020.