

COMPARAÇÃO DE DUAS MARCAS COMERCIAIS DE MUCINA GÁSTRICA SUÍNA UTILIZADA EM MEIO QUIMICAMENTE DEFINIDO ANÁLOGO À SALIVA HUMANA

VITOR HENRIQUE DIGMAYER ROMERO¹; CÁCIA SIGNORI²; TAMIRES TIMM MASKE³; MAXIMILIANO SÉRGIO CENCI⁴

¹Universidade Federal de Pelotas – vitordigmayer@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – caciasignori@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – tamirestmaske@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – cencims@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Modelos de biofilmes desenvolvidos *in vitro* capazes de produzir lesões de cárie tem sido cada vez mais empregados nos estudos laboratoriais acerca da doença cárie dentária. (SISSONS, 1997; MCBAIN, 2009). Esses modelos de biofilmes podem ser baseados no uso de monoculturas de bactérias, consórcios ou microcosmos. O modelo de biofilme de microcosmos é uma versão *in vitro* da placa natural, desenvolvido a partir de inóculo da saliva ou placa dental, em um ambiente de condições controladas, e reflete a diversidade, complexidade e heterogeneidade dos biofilmes “*in vivo*” (SISSONS, 1997; WONG; SISSONS, 2001).

Um modelo simples e útil a ser usado é o que utiliza placas de micro-poços, pois permite que o crescimento dos biofilmes seja individualizado, propiciando assim a possibilidade de realizar diversos experimentos em um curto período de tempo. Neste modelo, os espécimes são geralmente inoculados com saliva humana, e cultivados Meio Definido por Mucina (DMM) análogo à saliva humana (WONG & SIMMONS, 2001; VAN DE SANDE, 2011). De acordo com Wong & Sissoons (2001), a composição do Meio Definido por Mucina, cujo principal constituinte é a mucina gástrica suína, contém: mucina gástrica de suíno (2,5g/l), uréia (1.0mmol/l), sais (em mmol/l: de CaCl₂, 1,0; MgCl₂, 0,2; KH₂PO₄, 3,5; K₂HPO₄, 1,5; NaCl, 10,0; KCl, 15,0; NH₄Cl, 2,0), e mistura 21 aminoácidos livres, 17 vitaminas e fatores de crescimento.

Devido à complexidade e quantidade de substâncias usadas para a confecção do DMM, não se pode ignorar os custos necessários para a realização do mesmo. Com a alta do dólar em relação ao real, diversos laboratórios buscaram reduzir custos principalmente em produtos importados. Porém, alguns pesquisadores se sentem receosos ao trocar um produto comumente utilizado por outro similar nacional. Para isso, é necessário que se realizem estudos que comparem produtos de composição similar e de diferentes marcas comerciais utilizados em laboratórios.

Dessa forma, o objetivo do presente estudo foi analisar a diferença entre duas marcas comerciais de mucina gástrica suína, a marca estadunidense Sigma-Aldrich, de custo por grama de R\$13,34, e a nacional Inlab, com o valor de R\$1,54 por grama. Elas foram analisadas quanto ao seu efeito na composição microbiana de biofilmes e na perda mineral.

2. METODOLOGIA

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia (UFPEL) sob parecer N° 556.676/2014. O voluntário doador de saliva assinou um termo de consentimento livre e esclarecido.

O experimento foi realizado seguindo modelo de biofilme previamente descrito (VAN DE SANDE, 2011).

Os biofilmes foram formados sobre os discos de esmalte bovino, em placas de cultura de 24 micro-poços. O meio de cultivo utilizado foi o Meio Definido por Mucina (DMM). Foram estabelecidos dois grupos ($n=8$), sendo no primeiro utilizado o DMM formulado com a mucina gástrica suína da marca Sigma-Aldrich, e no segundo grupo utilizado a mucina da marca Inlab. A saliva de um voluntário saudável foi estimulada por lâmina de parafina, e coletada. Os discos de esmalte bovino foram inoculados com saliva (400 microlitros), e permaneceram em estufa durante 1 hora. Após, DMM enriquecido com sacarose foi adicionado aos poços e as placas armazenadas em atmosfera de anaerobiose.

Diariamente os biofilmes foram submetidos ao desafio cariogênico (DMM associado à sacarose), durante um período de 6 horas. Após 6 horas, era feito uma nova troca, onde os espécimes eram imersos em DMM sem sacarose. As placas eram incubadas em jarras de anaerobiose, em estufa à 37°C. As trocas foram realizadas durante 5 dias.

Ao final do experimento os biofilmes foram coletados para análise microbiana, através da contagem das Unidades Formadoras de Colônias (UFCs). Os biofilmes foram quantificados em microorganismos totais (MT), estreptococos do grupo mutans (EGM), lactobacilos (L) e ácido-tolerantes (AT). Os discos de esmalte foram analisados através da perda de dureza superficial (%PDS) em microdurômetro (Future-Tech FM) acoplado a um endentador Knoop (carga de 50 gramas/5 segundos). Os dados foram analisados através do teste T ($p<0.05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados sugerem que não há diferença estatística entre as mucinas gástricas das marcas Sigma-Aldrich e Inlab, tanto na contagem microbiana, para microorganismos totais, lactobacilos, estreptococos do grupo mutans e ácido-tolerantes (Figura 1) quanto para a perda de dureza da superfície de esmalte (Figura 2).

Esse achado pressupõe que o uso de mucinas de diferentes marcas comerciais para a confecção do meio análogo à saliva não tem impacto nos desfechos relacionados à cariogenicidade dos biofilmes. Isso demonstra que independentemente da diferença de R\$11,80 por grama entre as marcas, ambas podem ser utilizadas na confecção do DMM. Dessa maneira, a escolha do produto a ser utilizado para confecção do meio de cultivo dos biofilmes pode variar de acordo com as condições e critérios do pesquisador, não parecendo interferir no resultado final do experimento quando relacionado ao desenvolvimento de biofilmes dentais.

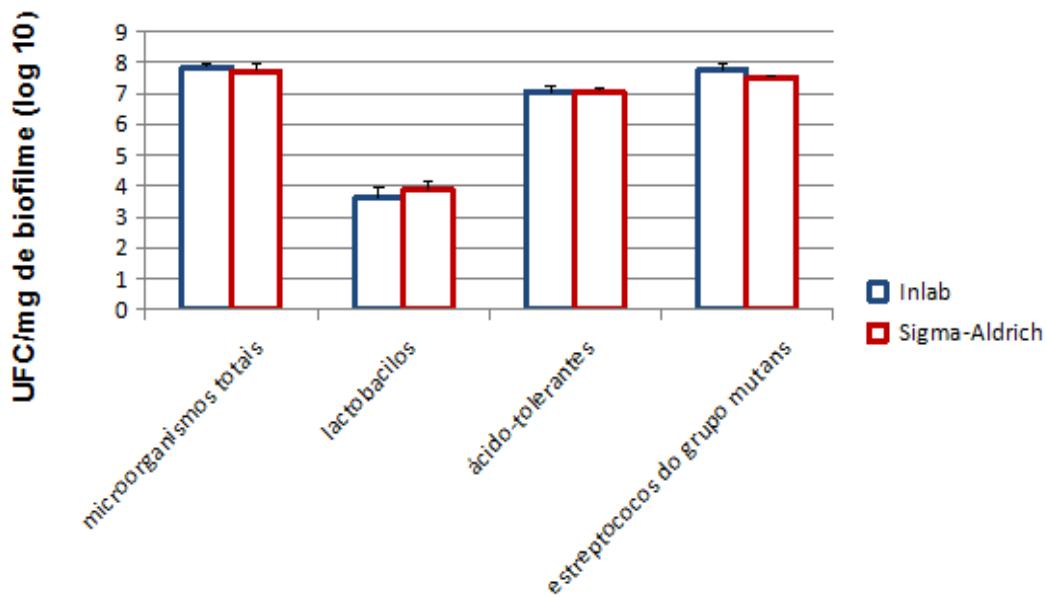


Figura 1. Contagem das UFC's dos biofilmes de acordo com o grupo avaliado.

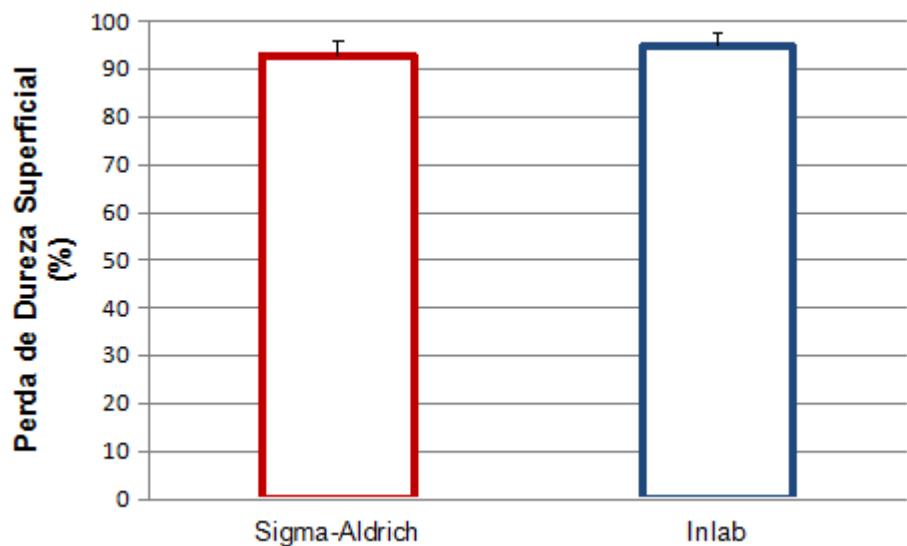


Figura 2. Médias e Desvio-Padrão da porcentagem de Perda de Dureza de Superfície (%PDS) de acordo com os grupos avaliados.

Não foi encontrado nenhum estudo na literatura relatando a comparação entre marcas de mucina gástrica suína, demonstrando a necessidade de que mais estudos sejam feitos para que os pesquisadores tenham mais opções de escolha para elaborar suas pesquisas.

4. CONCLUSÕES

Em conclusão, as duas marcas avaliadas apresentaram resultados semelhantes, devendo assim ficar a cargo do pesquisador a escolha do produto de sua preferência.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

MCBAIN, A. J. Chapter 4: In vitro biofilm models: an overview. **Advances in Applied Microbiology**, v.69, p.99-132, 2009

SISSONS, C. H. Artificial dental plaque biofilm model systems. **Advances in Applied Microbiology**, v.11, n.1, p.110-26, 1997.

WONG, L. e SISSONS, C. A comparison of human dental plaque microcosm biofilms grown in an undefined medium and a chemically defined artificial saliva. **Archives of Oral Biology**, v.46, n.6, p.477-86, 2001.

VAN DE SANDE, F.H.; AZEVEDO, M.S.; LUND, R.G.; HUYSMANS, M.C.D.N.J.M.; CENCI, M.S. An in vitro biofilm model for enamel demineralization and antimicrobial dose-response studies. **Biofouling: The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research**, v.27, n.9, p.1057-1063, 2011.