

Plan Overview

A Data Management Plan created using DMPTool

DMP ID: <https://doi.org/10.48321/D16H2R>

Title: Potencial antimicrobiano do doador de óxido nítrico cis-[Ru(bpy)₂(NO₂-KO)Ln-](n-1) (RUBPY) fotoquimicamente ativado sobre biofilmes microcosmos de cárie dentária

Creator: Beatriz Díaz-fabregat - **ORCID:** [0000-0001-9349-7033](https://orcid.org/0000-0001-9349-7033)

Affiliation: São Paulo State University (unesp.br)

Principal Investigator: Beatriz Díaz Fabregat

Data Manager: Beatriz Díaz Fabregat, Cristina Antoniali, Douglas Roberto Monteiro, Roberto Santana da Silva

Project Administrator: Beatriz Díaz Fabregat, Cristina Antoniali

Contributor: Douglas Roberto Monteiro, Roberto Santana da Silva

Funder: Submetido Para São Paulo Research Foundation (fapesp.br)

Funding opportunity number: NA

Grant: NA

Template: Digital Curation Centre

Project abstract:

Streptococcus mutans apresenta alta prevalência em biofilmes dentais e destaca-se como agente etiológico da cárie dentária, e sua virulência é afetada negativamente na presença de óxido nítrico (NO). O desenvolvimento de complexos nitrosílicos metálicos doadores de NO tem ganhado importância devido a possibilidade de produzir espécies termodinamicamente estáveis e cineticamente lábeis. Os doadores de NO são adequados principalmente para imitar ou substituir uma deficiência da resposta endógena. Os complexos de rutênio são potenciais agentes doadores de NO, que se destacam entre outros, por sua baixa citotoxicidade e alta afinidade com o NO. O doador de óxido nítrico cis-[Ru(bpy)₂(NO₂-KO)Ln-](n-1) (RUBPY) é fotoquimicamente ativado e libera quantidades controladas de NO. O efeito vasodilatador do RUBPY foi demonstrado, mas o efeito antibiofilme não foi ainda testado. Nesse contexto, o projeto de pós-doutorado tem como principal objetivo avaliar o potencial antimicrobiano do RUBPY em biofilmes microcosmos (BM) de cárie dentária. O RUBPY

será sintetizado e posteriormente submetido a ativação usando laser de baixa potência (*DMC therapy*) contendo luzes diodo laser vermelho (660 nm ± 10 nm, luz visível) ou infravermelho (808 nm ± 10 nm). Os grupos de estudo para avaliar o potencial antimicrobiano serão: (i) BM + RUBPY sem fotoativação; (ii) BM + RUBPY ativado por luz visível; (iii) BM + RUBPY ativado por infravermelho; (iv) BM exposto a luz visível; e (v) BM exposto a infravermelho. Após a obtenção do inóculo de microrganismos a partir de um pool de saliva de crianças com cárie ativa e a identificação das espécies, será realizada a determinação da concentração inibitória mínima dos doadores, assim como a determinação do tempo de exposição ao laser nos diferentes grupos. O *Amsterdam Active Attachment Model* será usado no ensaio de formação de biofilme, usando discos de hidroxiapatita como superfícies para o desenvolvimento dos biofilmes. Posteriormente serão realizadas as análises de quantificação das células cultiváveis, PCR quantitativo, biomassa total, composição da matriz extracelular, atividade metabólica do biofilme, produção de ácido láctico, análise do NO no fluido do biofilme, análise da estrutura dos biofilmes e capacidade de penetração do doador nos grupos de estudo. A homogeneidade e homocedasticidade dos dados serão determinadas previamente à análise estatística. Caso o uso de testes paramétricos seja possível, os dados serão submetidos a ANOVA, seguido do teste *post-hoc* de Tukey (nível de significância de 5%). Caso contrário, os dados serão analisados pelos testes de Kruskal-Wallis e Dunn. A hipótese a ser testada no presente estudo é a de que o RUBPY tenha um alto potencial antimicrobiano sobre BM de cárie dentária, e que a ativação por luz visível e infravermelho sobre o doador tenha efeito antimicrobiano superior aos grupos sem fotoativação e sem a presença do doador. Os resultados obtidos poderão contribuir para o desenvolvimento de novos biomateriais para uso odontológico.

Start date: 03-01-2024

End date: 03-01-2026

Last modified: 01-22-2024

Copyright information:

The above plan creator(s) have agreed that others may use as much of the text of this plan as they would like in their own plans, and customize it as necessary. You do not need to credit the creator(s) as the source of the language used, but using any of the plan's text does not imply that the creator(s) endorse, or have any relationship to, your project or proposal

Potencial antimicrobiano do doador de óxido nítrico cis-[Ru(bpy)₂(NO₂-KO)Ln-](n-1) (RUBPY) fotoquimicamente ativado sobre biofilmes microcosmos de cárie dentária

Um pool de saliva de crianças com cárie ativa será coletada, e posteriormente serão realizadas a identificação das espécies e a determinação da concentração inibitória mínima dos doadores, assim como a determinação do tempo de exposição ao laser nos diferentes grupos. O Amsterdam Active Attachment Model será usado no ensaio de formação de biofilme, usando discos de hidroxiapatita como superfícies para o desenvolvimento dos biofilmes. Posteriormente serão realizadas as análises de quantificação das células cultiváveis, PCR quantitativo, biomassa total, composição da matriz extracelular, atividade metabólica do biofilme, produção de ácido láctico, análise do NO no fluido do biofilme, análise da estrutura dos biofilmes e capacidade de penetração do doador nos grupos de estudo. A homogeneidade e homocedasticidade dos dados serão determinadas previamente à análise estatística. Caso o uso de testes paramétricos seja possível, os dados serão submetidos a ANOVA, seguido do teste post-hoc de Tukey (nível de significância de 5%). Caso contrário, os dados serão analisados pelos testes de Kruskal-Wallis e Dunn.

Os dados serão obtidos a partir de diferentes análises laboratoriais (experimentos bioquímicos e microbiológicos) previamente padronizados. Análises de identificação das espécies de microrganismos, a determinação da concentração inibitória mínima dos doadores, assim como a determinação do tempo de exposição ao laser nos diferentes grupos serão realizadas. No ensaio de formação de biofilme, serão realizadas as análises de quantificação das células cultiváveis, PCR quantitativo, biomassa total, composição da matriz extracelular, atividade metabólica do biofilme, produção de ácido láctico, análise do NO no fluido do biofilme, análise da estrutura dos biofilmes e capacidade de penetração do doador nos grupos de estudo. Todos os dados ou resultados serão documentados em caderno de laboratório, arquivos de Word e Excel compartilhados que ficarão à disposição de todos os integrantes do grupo de pesquisa envolvidos neste projeto. Todo o conteúdo gerado será descrito de acordo com as normas científicas dos periódicos para publicação.

Todos os dados serão utilizados em relatórios textuais, detalhados sobre as condições experimentais e metodologia utilizadas, parâmetros de análises e a identificação dos pesquisadores que realizarão as análises dos resultados. Será criada uma pasta contendo uma descrição detalhada de toda a metodologia, técnicas e protocolos utilizados para cada análise. Tabelas, gráficos e figuras também serão feitos para garantir que todos com acesso aos dados possam lê-los e interpretá-los no futuro. Além disso, as informações faltantes podem ser solicitadas ao pesquisador responsável por este projeto.

Participarão do estudo 5 crianças pertencentes ao Projeto de Extensão “Sorriso Feliz”, apoiado pela Pró-Reitoria de Extensão Universitária e Cultura (PROEC) da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista (FOA-UNESP), e desenvolvido por equipe de professores e alunos coordenada pela Prof. Dr. Cristina Antoniali. Todas as crianças deverão atender aos seguintes critérios de inclusão: (i) crianças escolares de ambos os sexos com lesões de cárie ativa; (ii) com boa saúde geral e doenças sistêmicas; (iii) que não fizeram aplicação profissional de fluoretos no último mês, nem fizeram uso de enxaguatório bucal; (iv) que não fizeram uso de antimicrobianos nos últimos 3 meses; (v) com presença de *S. mutans* na saliva, e (vi) aquelas cujos pais ou responsáveis assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Os critérios de exclusão incluirão crianças não cooperativas, aquelas que fazem uso de medicação de forma regular, e que, por qualquer razão, não assinaram o TCLE. Este projeto passará pela aprovação

prévia do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da FOA-UNESP. Os responsáveis pelas crianças serão orientados a não higienizar a cavidade bucal das crianças na noite anterior e no dia da coleta, e a saliva será coletada pelo menos duas horas após a última refeição e/ou ingestão de bebida. A saliva será coletada em tubos de polipropileno (no gelo) durante a estimulação mastigatória com filme flexível (Parafilm® M, Sigma-Aldrich) (Pereira-Cenci et al., 2008). Imediatamente após a coleta de saliva, alíquotas de cada amostra será semeada em triplicata nos seguintes meios de cultura: (i) ágar Mitis Salivarius Bacitracina (Sigma- Aldrich) com 15% de sacarose e incubada em 5% de CO₂ a 37 °C por 48 horas; (ii) CHROMagar Candida (Difco, Difco Laboratories, Becton, Dickinson and Company, França) e incubada a 37 °C por 48 horas; e (iii) Ágar Rogosa (Difco) e incubada a 37 °C por 48 horas, para a identificação presuntiva de *S. mutans*, *C. albicans* e *Lactobacillus* spp. presentes nas amostras através da análise da morfologia das colônias. Finalmente, as amostras de saliva serão diluídas (1:1) com 60 % de glicerol estéril para proteger as células microbianas dos danos causados pela criogenia, divididas em porções de 500 µL em eppendorfs estéreis e estocadas a -80 °C até o uso (Cieplik et al., 2018). Todas as informações coletadas neste estudo serão estritamente confidenciais. Somente a pesquisadora e/ou equipe de pesquisa terão conhecimento da identidade das crianças. Os dados pessoais das crianças serão resguardados, com relação aos princípios éticos, mantendo em sigilo a identidade dos participantes ao publicar os resultados dessa pesquisa.

Os direitos autorais dos artigos produzidos a partir do projeto serão do periódico científico que publicou os artigos com aval dos autores e devida citação da agência de fomento.

Os dados serão armazenados na nuvem do Google Drive. O acesso se dará por meio de acesso institucional da VPN da Unesp (Rede Privada Virtual). Desta forma, todos os membros do grupo de pesquisa envolvidos neste projeto terão acesso institucional. Além disso, os backups já estão configurados como medida de segurança, e nesta plataforma há capacidade suficiente para todos os dados.

Todos os membros do grupo de pesquisa envolvidos neste projeto terão acesso aos arquivos como leitores, mas apenas o pesquisador responsável e o coordenador poderão editá-los. As amostras armazenadas em condições específicas, ficarão sob guarda do pesquisador responsável

Somente dados de pesquisas que possam contribuir para futuros projetos e/ou publicações científicas serão considerados como dados de longo prazo e serão preservados.

Para preservar o conjunto de dados de longo prazo, vamos armazenar os dados na nuvem do Google Drive por 10 anos e em dispositivos menores (pendrives). Algumas amostras serão congeladas e armazenadas em freezer para obtenção de dados futuros.

Os dados ou resultados serão divulgados em eventos científicos nacionais e internacionais, assim como em artigos que serão redigidos e submetidos para publicação em periódicos científicos indexados e com alto fator de impacto na área.

Não há restrições.

O pesquisador principal será o responsável por todos os dados coletados e divulgados.

Para a realização do projeto, a equipe de trabalho terá apoio técnico da infraestrutura institucional envolvida. Para solicitação e captação de recursos financeiros, o projeto assim como pedido de auxílio a pesquisa será submetido à FAPESP.
