

157

**OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DE PRIMERS/SONDAS TAQMAN PARA QUANTIFICAÇÃO ABSOLUTA DE PATÓGENOS PERIODONTAIS.** Ana Carolina Costa Ventura Zilberstein, Daiana Renck, Candida Deves, Maria Martha Campos, Diógenes Santiago Santos, Eraldo Luiz Batista Junior

(orient.) (PUCRS).

A doença periodontal é uma alteração de caráter inflamatório e de alta prevalência na população mundial, que caracteriza-se pela destruição do aparato de suporte causada por patógenos orais organizados na superfície dos dentes sob a forma de um biofilme. A caracterização da composição do biofilme tem sido utilizada na determinação de risco a perda de inserção adicional e na individualização do tratamento periodontal. Recentes abordagens têm buscado uma análise mais rápida e precisa na quantificação absoluta de patógenos periodontais. O presente estudo buscou validar sondas e primers otimizados para a quantificação absoluta de 4 patógenos periodontais através de tecnologia de PCR em tempo real. A sequências genômica do RNA ribossomal 16s do *Agregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* e *Tenerella forsythia* foi utilizada como gene identificador e a partir do alinhamento destas foram rastreadas sequências únicas para cada patógeno. A seguir, primers/sonda TaqMan foram desenhadas e sintetizadas para cada bactéria de interesse. Em paralelo, padrões para quantificação absoluta foram obtidos a partir da amplificação das sequências identificadoras através de PCR end-point, DNA bacteriano e clonagem em vetores. As sequências foram validadas em amostras biológicas obtidas de pacientes portadores de doença periodontal e DNA genômico de cada uma das bactérias de interesse. Os resultados da quantificação absoluta mostraram alta sensibilidade permitindo a detecção de até 10 moléculas de DNA bacteriano a partir de amostras conhecidas. Além disso, os primers/sondas mostraram-se específicos uma vez que não detectou-se amplificação cruzada entre diferentes DNAs ou discrepâncias na curva padrão produzida pela diluição seriada das amostras biológicas.