

DETERMINAÇÃO DO MELHOR MÉTODO DE COLETA DA MICROBIOTA PERIODONTAL PARA O SEQUENCIAMENTO DE DNA METAGENÔMICO UTILIZANDO PLATAFORMAS DE ALTO RENDIMENTO

Caroline Gonçalves Preto de Souza; Magda Feres (orientadora) - Odontologia.
carolinegps@globo.com/ caroline.goncalves@edu.ung.br

Palavras-chave: Reação em Cadeia por Polimerase. Sequenciamento de alto rendimento. Metagenoma. Microbiota periodontal.

A periodontite é uma doença infecciosa de natureza polimicrobiana e o sucesso do tratamento periodontal depende da identificação dos patógenos associados com a etiologia dessas infecções. Nesse sentido, o recente desenvolvimento das técnicas de sequenciamento direto de DNA metagenômico abriram novos horizontes na busca por novas espécies de micro-organismos relacionados à saúde ou doença periodontal. Um dos problemas associados com essa técnica é a grande quantidade de genoma humano que pode estar presente na amostra. Levando-se em consideração que os genomas dos micro-organismos da cavidade oral apresentam em média 2,5 Mb e o genoma humano 3000 Mb, pequenas quantidades de DNA humano na amostra a ser sequenciada pode levar a uma grande quantidade de dados relativos ao genoma humano, ocupando desnecessariamente o lugar que poderia ser ocupado pelo DNA alvo – dos micro-organismos. Como essas técnicas de sequenciamento de alto rendimento são relativamente novas – principalmente em periodontia -, atualmente não existe um consenso da forma em que deva ser feita a coleta de amostras da placa subgingival para o sequenciamento direto de DNA metagenômico em plataformas de alto rendimento, visando minimizar a inclusão de DNA humano. Sendo assim, o objetivo desse estudo é comparar dois métodos de coleta da placa subgingival - cone de papel ou curetas periodontais - quanto à efetividade em obter a maior quantidade e melhor qualidade de DNA metagenômico necessárias para o sequenciamento de DNA na plataforma de alto rendimento SOLID 5500; e em outras plataformas baseadas em bibliotecas *shotgun*.

Foram selecionados 3 indivíduos portadores de periodontite crônica e 3 indivíduos periodontalmente saudáveis que procuraram voluntariamente ao atendimento odontológico na Universidade Guarulhos. Três amostras de placa subgingival foram coletadas (primeiramente com cureta e em seguida com cone de papel) dos indivíduos com periodontite, em sítios apresentando as seguintes profundidades de sondagens: <3 mm, entre 4 e 6 mm e ≥ 7 mm. Amostras foram coletadas dos mesmos sítios dos indivíduos com saúde periodontal. Todas as amostras foram estocadas a -80°C. A extração de DNA total está sendo feita empregando um *kit* comercial. A quantidade e qualidade do DNA total serão determinadas pelo *Nanodrop*. A quantidade de DNA bacteriano e DNA humano de cada amostra serão quantificadas pela reação em cadeia da polimerase quantitativa (RT-PCR) empregando iniciadores específicos para a amplificação de regiões conservadas de genes constitutivos em bactérias, *Archaea* e *Homo sapiens*. Os resultados deverão contribuir para a otimização e padronização do sequenciamento direto de DNA metagenômico da placa subgingival em plataformas de alto rendimento, e conseqüentemente, para a ampliação do conhecimento sobre a etiologia e tratamento das infecções periodontais.

Projeto elaborado com o apoio do Programa Institucional de Iniciação Científica da Universidade Guarulhos – PIBIC-UnG (Rodada I-2013).

Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UnG (CAAE 16380813.4.0000.5506).