



DOI: <http://dx.doi.org/10.21270/archi.v5i0.1334>

## PgP-046

### Quantificação de ácidos lipoteicóicos na matriz extracelular de biofilmes cariogênicos

Midian Clara Castillo **PEDRAZA**, Tatiana Fernanda **NOVAIS**, Marlise Inêz **KLEIN**

Departamento de Materiais Odontológicos e Prótese, Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Araraquara – SP, Brasil

Os exopolissacarídeos são componentes fundamentais na construção da matriz extracelular (MEC) de biofilmes cariogênicos. Porém, ácidos lipoteicóicos extracelulares (ALT) e DNA extracelular (eDNA) também podem ser detectados na MEC e portanto, ter papel importante na construção da matriz e desse biofilme. O objetivo foi desenvolver um método efetivo para quantificação de ALT na matriz extracelular de biofilmes cariogênicos. Biofilmes monoespécie de *Streptococcus mutans* UA159 e mistos (com UA159 cepa parental ou mutantes, *Actinomyces naeslundii* ATCC12104 e *Streptococcus gordonii* DL-1) foram formados sobre discos de hidroxiapatita, com película, em meio com saliva e 0,1% de sacarose, alternado com 0,5% sacarose + 1% amido (37°C/ 5%CO<sub>2</sub>). Para modular os componentes da matriz foram utilizadas cepas mutantes *knockout* de *S. mutans* dos genes *lytTS* ( $\Delta$ SMU.525 e  $\Delta$ SMU.526 - eDNA), do operon *dltABCD* ( $\Delta$ SMU.1538 e  $\Delta$ SMU.1541 – ácido lipoteicóicos) e *gtfB* (exopolissacarídeos insolúveis). Na idade 115 h, cada biofilme foi processado e a porção solúvel da MEC foi tratada com 5% de ácido tricloroacético para isolamento de ALT, que foi detectado e quantificado via ELISA. Para tanto, amostras de ALT foram imobilizadas em microplacas, seguida de incubações com anticorpo primário (MA1-7402) e secundário conjugado com HRP (A16072), sendo revelado com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e leitura a 405 nm. Observou-se uma tendência de maior quantidade de ALT na MEC de biofilmes monoespécie sendo maior a cepa parental, e mutantes *gtfB* e as cepas associadas ao ALT (operon *dltABCD*). A menor quantidade foi detectada para cepas mutantes dos genes *lytTS* (sendo 73-75% vs. cepa parental). O comportamento foi similar para o biofilme misto, mas com menor quantidade que a detectada em biofilmes monoespécies. Portanto, o método desenvolvido para processar, detectar e quantificar o ALT foi efetivo.

**Descritores:** *Streptococcus mutans*; Ácidos Lipoteicóicos; Matriz Extracelular.

**Agradecimentos/Apoio Financeiro:** FAPESP (Processos 2014/05423-0 e 2014/21355-4)