

## Gastroenterologia

### **PERSISTÊNCIA DO PROBIÓTICO LACTOBACILLUS RHAMNOSUS GG (LGG) DETECTADA POR PCR EM INTESTINO DE ZEBRAFISH (DANIO RERIO) DURANTE EXPOSIÇÃO AO ÁLCOOL**

Ana Cláudia Reis Schneider, Alice Beatriz Mombach Pinheiro Machado, Djuli Milene Hermes, Fernanda de Paris, Ranieli Guizzo, Afonso Luis Barth, Themis Reverbel da Silveira

Introdução: Dependência alcoólica é a principal causa de doença hepática crônica no mundo (Gao & Bataller, 2011). A microbiota normal de humanos pode ser alterada pelo consumo abusivo de álcool. Probióticos, como *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG), podem ser utilizados como terapia coadjuvante da doença hepática alcoólica. O LGG pode causar modificação no perfil lipídico e modular a imunidade do hospedeiro. Objetivo: Avaliar ocorrência de colonização por cultura e adaptar protocolo de PCR para detectar o LGG no intestino do *zebrafish* em meio alcoólico. Com o objetivo de desenvolver modelo animal para estudo do efeito protetor de probiótico em presença de álcool. Materiais e métodos: foram formados 3 grupos de *Zebrafish wild-type* adultos (n=5): Controle (C); Probiótico (P); Probiótico + Etanol (PE) - grupo exposto ao etanol a 0,5%. Os peixes foram alimentados por 2 semanas com ração suplementada com LGG (P e PE) e não suplementada (C). Foram sacrificados e os intestinos foram retirados, homogeneizados e semeados em meio MRS (de Man, Rogosa and Sharpe). As colônias obtidas foram ressuspensas em TE (10 mM TrisHCl, 1 mM EDTA) e submetidas a lise térmica. O DNA foi extraído desta suspensão e a PCR foi realizada com *primers* espécie-específicos do *L. rhamnosus* GG segundo protocolo de Alander *et al*, com algumas modificações (volume de 50  $\mu$ l 0,25 mM dNTP, 50 pmol de cada primer). O produto da PCR foi revelado em gel de agarose a 2% corado com *syber safe*. Uma amostra de LGG proveniente do grupo PE foi submetida a identificação por MALDITOF, confirmando a especiação. O Comitê de Ética do HCPA aprovou o estudo (10.0327). Resultados e Conclusão: Colônias de bactérias cultivadas a partir dos intestinos dos *zebrafish* tratados com probiótico (P e P+E) foram confirmadas por microbiologia e PCR sugerindo que este probiótico colonize de maneira eficiente o intestino dos *zebrafish*. Deste modo, os efeitos do probiótico podem ser futuramente avaliados pelos marcadores hepáticos deste modelo animal. Não houve crescimento de lactobacilos nas placas do grupo C.