



## AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE TÓXICO-GENÉTICA DE *Lactobacillus paracasei* ATRAVÉS DO TESTE SMART

<sup>1,2</sup>Felipe de Freitas Knopka, <sup>2</sup>Renata Chequeller de Almeida, <sup>2</sup>Rafael Rodrigues Dihl, <sup>2</sup>Maurício Lehmann

<sup>1</sup>Bolsista de IC PIBIC-EM/CNPq, Aluno do Colégio São João ULBRA, Canoas-RS.

<sup>2</sup>Laboratório de Toxicidade Genética (TOXIGEN), PPG em Biologia Celular e Molecular Aplicada à Saúde (PPGBioSaúde), Universidade Luterana do Brasil, ULBRA, Canoas, RS. [mauriciol@ulbra.br](mailto:mauriciol@ulbra.br)

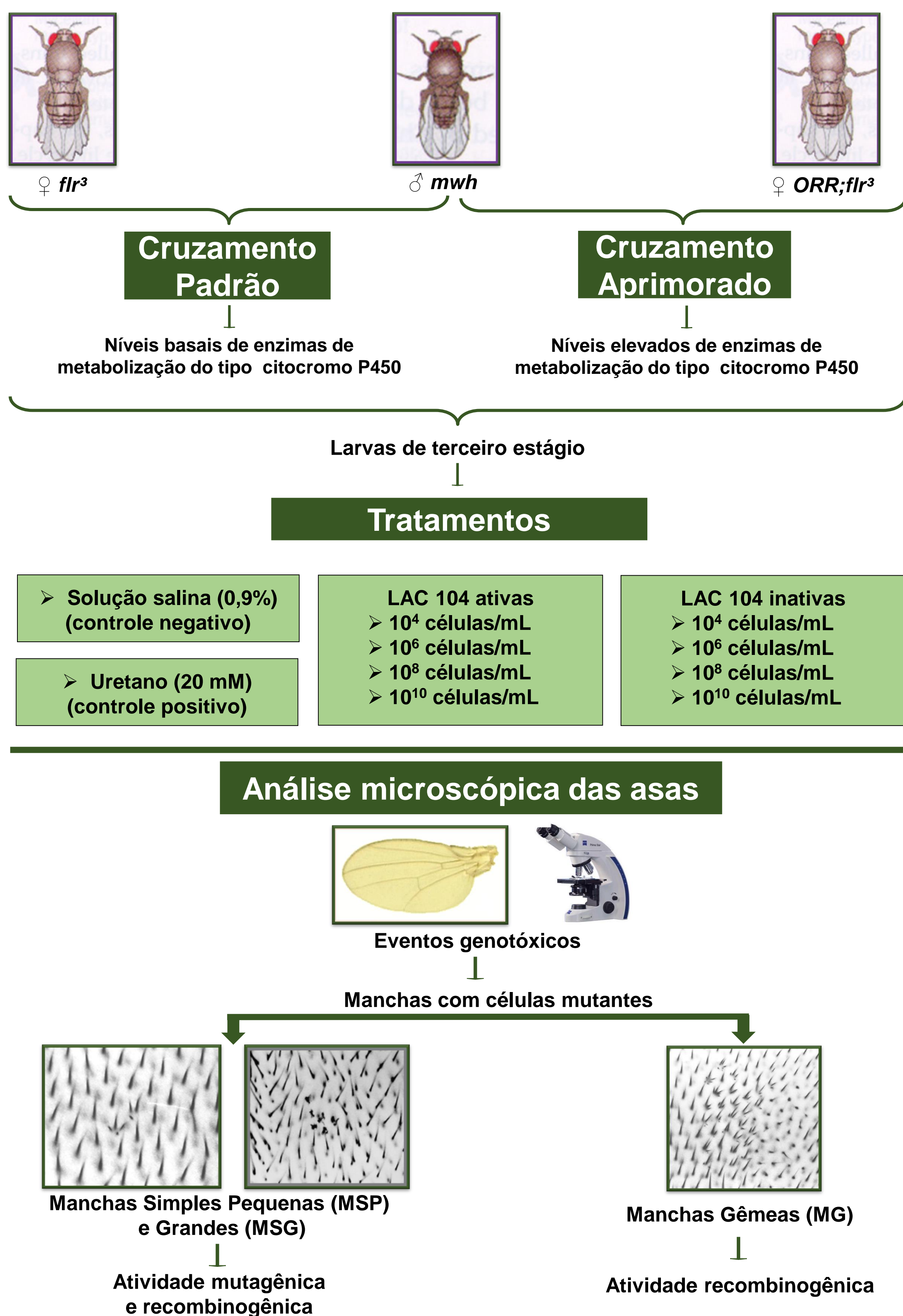
### INTRODUÇÃO E OBJETIVO

De acordo com uma série de estudos científicos, a ingestão de probióticos apresenta diversos benefícios para a saúde (LEBLANC et al., 2011; NAGPAL et al., 2012; AHMADOVA et al., 2013a,b; FORSBERG et al., 2013; LIU et al., 2013; RASK et al., 2013) e as principais preparações probióticas atualmente disponíveis no mercado pertencem ao grupo de bactérias designadas como ácido lácticas (BALs). Considerando o aumento no consumo humano de produtos lácteos contendo estes microrganismos, cada vez mais se faz necessário avaliarmos a sua segurança, especialmente no que se refere à indução de danos ao material genético.

Neste sentido, o presente estudo avaliou a atividade tóxico-genética da linhagem LAC 104 de *Lactobacillus paracasei*, isolada de queijo artesanal nativo da Região Nordeste do estado do Rio Grande do Sul, através do teste para detecção de mutação e recombinação em células somáticas de *Drosophila melanogaster* (SMART). Foram avaliadas quatro diferentes concentrações ( $10^4$ ,  $10^6$ ,  $10^8$  e  $10^{10}$  células/mL) da bactéria em dois cruzamentos distintos, padrão e aprimorado, que diferem entre si na quantidade de enzimas de metabolização do tipo citocromo P450.

### METODOLOGIA

#### TESTE SMART



### DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no cruzamento padrão e aprimorado mostram que a linhagem LAC 104 não aumentou a frequência total de manchas mutantes quando comparada ao controle negativo, o que permite caracterizá-la como destituída de atividade mutagênica neste bioensaio. Entretanto, no cruzamento aprimorado verificou-se aumento na frequência de manchas gêmeas, que são geradas exclusivamente por eventos recombinacionais. Ainda que a atividade mutagênica da linhagem LAC 104 não tenha sido previamente avaliada, a ausência de indução de danos genéticos, relacionados com mutação gênica ou cromossômica, verificada neste estudo está de acordo com alguns resultados descritos na literatura científica com outras bactérias probióticas (KIM et al., 2012; CHIU et al., 2013).

### RESULTADOS

**Tabela 1:** Resultados do teste SMART com a progênie *mwh/flr³* do cruzamento padrão após exposição crônica de larvas de 3º estágio às concentrações de *L. paracasei* (LAC104) ativas e inativas.

Tratamentos	Nº de moscas (N)	Manchas por indivíduo (nº de manchas) diag. estatístico <sup>a</sup>				Total manchas <i>mwh</i> <sup>c</sup> (n)
		MSP <sup>b</sup> (1-2 céls) <sup>c</sup> m = 2	MSG <sup>d</sup> (>2 céls) <sup>c</sup> m = 5	MG <sup>e</sup> m = 5	TM <sup>f</sup> m = 2	
CN <sup>d</sup>	60	0,52 (31)	0,12 (07)	0,02 (01)	0,65 (39)	39
CP <sup>e</sup>	60	3,38 (203) +	0,58 (35) +	0,20 (12) +	4,17 (250) +	249
<b>LAC 104 ativas</b>						
$10^4$ céls/mL	60	0,62 (37) -	0,07 (04) -	0,03 (02) i	0,72 (43) -	43
$10^6$ céls/mL	60	0,55 (33) -	0,07 (04) -	0,02 (01) -	0,63 (38) -	38
$10^8$ céls/mL	60	0,52 (31) -	0,07 (04) -	0,00 (00) -	0,58 (35) -	35
$10^{10}$ céls/mL	60	0,45 (27) -	0,12 (07) -	0,07 (04) i	0,63 (38) -	38
<b>LAC 104 inativas</b>						
$10^4$ céls/mL	60	0,32 (19) -	0,13 (08) i	0,02 (01) -	0,47 (28) -	28
$10^6$ céls/mL	60	0,60 (36) -	0,05 (03) -	0,00 (00) -	0,65 (39) -	39
$10^8$ céls/mL	60	0,52 (31) -	0,10 (06) -	0,00 (00) -	0,62 (37) -	36
$10^{10}$ céls/mL	60	0,40 (24) -	0,10 (06) -	0,03 (02) i	0,53 (32) -	32

<sup>a</sup>Diagnóstico estatístico através do teste binomial condicional: -, negativo; i, inconclusivo. *m*, fator de multiplicação para a avaliação de resultados significativamente negativos. Níveis de significância  $\alpha=\beta=0,05$ . <sup>b</sup>MSP: manchas simples pequenas. <sup>c</sup>Inclui manchas simples *flr³* raras. <sup>d</sup>MSG: manchas simples grandes. <sup>e</sup>MG: manchas gêmeas. <sup>f</sup>TM: total de manchas. <sup>g</sup>Considerando os clones *mwh* para as manchas simples *mwh* e para as manchas gêmeas. <sup>h</sup>CN: controle negativo, solução salina 0,9%. <sup>i</sup>CP: Controle positivo, uretano 20 mM.

**Tabela 2:** Resultados do teste SMART com a progênie *mwh/flr³* do cruzamento aprimorado após exposição crônica de larvas de 3º estágio às concentrações de *L. paracasei* (LAC104) ativas e inativas.

Tratamentos	Nº de moscas (N)	Manchas por indivíduo (nº de manchas) diag. estatístico <sup>a</sup>				Total manchas <i>mwh</i> <sup>g</sup> (n)
		MSP <sup>b</sup> (1-2 céls) <sup>c</sup> m = 2	MSG <sup>d</sup> (>2 céls) <sup>c</sup> m = 5	MG <sup>e</sup> m = 5	TM <sup>f</sup> m = 2	
CN <sup>h</sup>	60	1,43 (86)	0,15 (09)	0,05 (03)	1,63 (98)	97
CP <sup>i</sup>	60	29,18 (1751) +	8,08 (485) +	4,48 (269) +	41,75 (2505) +	2460
<b>LAC 104 ativas</b>						
$10^4$ céls/mL	60	1,22 (73) -	0,08 (05) -	0,07 (04) i	1,37 (82) -	81
$10^6$ céls/mL	60	1,20 (72) -	0,20 (12) i	0,05 (03) -	1,45 (87) -	86
$10^8$ céls/mL	60	0,40 (24) -	0,17 (10) i	0,45 (27) +	1,02 (61) -	55
$10^{10}$ céls/mL	60	0,50 (30) -	0,03 (02) -	0,62 (37) +	1,15 (69) -	65
<b>LAC 104 inativas</b>						
$10^4$ céls/mL	60	1,22 (73) -	0,20 (12) i	0,07 (04) i	1,48 (89) -	87
$10^6$ céls/mL	60	0,82 (49) -	0,20 (12) i	0,45 (27) +	1,47 (88) -	81
$10^8$ céls/mL	60	0,77 (46) -	0,12 (07) -	0,48 (29) +	1,37 (82) -	77
$10^{10}$ céls/mL	60	0,73 (44) -	0,08 (05) -	0,55 (33) +	1,37 (82) -	78

<sup>a</sup>Diagnóstico estatístico através do teste binomial condicional: -, negativo; i, inconclusivo. *m*, fator de multiplicação para a avaliação de resultados significativamente negativos. Níveis de significância  $\alpha=\beta=0,05$ . <sup>b</sup>MSP: manchas simples pequenas. <sup>c</sup>Inclui manchas simples *flr³* raras. <sup>d</sup>MSG: manchas simples grandes. <sup>e</sup>MG: manchas gêmeas. <sup>f</sup>TM: total de manchas. <sup>g</sup>Considerando os clones *mwh* para as manchas simples *mwh* e para as manchas gêmeas. <sup>h</sup>CN: controle negativo, solução salina 0,9%. <sup>i</sup>CP: Controle positivo, uretano 20 mM.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHMADOVA, A. et al. Antimicrobial and antifungal activities of *Lactobacillus curvatus* strain isolated from homemade Azerbaijani cheese. **Anaerobe**, v. 20, p. 42-49, 2013a.
- AHMADOVA, A. et al. Evaluation of antimicrobial activity, probiotic properties and safety of wild strain *Enterococcus faecium* AQ71 isolated from Azerbaijani Motal cheese. **Food Control**, v. 30, p. 631-641, 2013b.
- CHIU, Y.-J., et al. Genotoxicity assessment of multispecies probiotics using reverse mutation, mammalian chromosomal aberration, and rodent micronucleus tests. **The ScientificWorld Journal**, v. 2013, Article ID 254239.
- FORSBERG, A., et al. Re- and post-natal *Lactobacillus reuteri* supplementation decreases allergen responsiveness in infancy. **Clinical and Experimental Allergy**, v. 43, p. 434-442, 2013.
- LEBLANC, J. G., et al. 1B-Group vitamin production by lactic acid bacteria - current knowledge and potential applications. **Journal of Applied Microbiology**, v. 111, p. 1297-1309, 2011.
- KIM, K. M., et al. Evaluation of genotoxicity of *Bacillus mojavensis* KJS-3 on culture supernatant for use as a probiotic. **Molecular & Cellular Toxicology**, v. 8, p. 77-81, 2012.
- LIU, X. M., et al. Screening of lactobacilli with antagonistic activity against enteroinvasive *Escherichia coli*. **Food Control**, v. 30, p. 563-568, 2013.
- NAGPAL, R., et al. Probiotics, their health benefits and applications for developing healthier foods: a review. **Fems Microbiology Letters**, v. 334, p. 1-15, 2012.
- RASK, C., et al. Differential effect on cell-mediated immunity in human volunteers after intake of different lactobacilli. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 172, p. 321-332, 2013.