

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA
AGRÍCOLA E DO AMBIENTE

Priscila Ramires da Silva

***Lactiseibacillus paracasei* 12B0-2: ESTUDO DAS PROPRIEDADES
FUNCIONAIS DE UM ISOLADO DE SORO DE QUEIJO DE BÚFALA**

Porto Alegre

2024

Priscila Ramires da Silva

***Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2: ESTUDO DAS PROPRIEDADES
FUNCIONAIS DE UM ISOLADO DE SORO DE QUEIJO DE BÚFALA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente do Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Microbiologia Agrícola e do Ambiente.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Amanda de Souza da Motta

Porto Alegre

2024

CIP - Catalogação na Publicação

da Silva, Priscila Ramires
Lacticaseibacillus paracasei 12B0-2: ESTUDO DAS
PROPRIEDADES FUNCIONAIS DE UM ISOLADO DE SORO DE
QUEIJO DE BÚFALA / Priscila Ramires da Silva. -- 2024.
97 f.
Orientadora: Amanda de Souza da Motta.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da
Saúde, Programa de Pós-Graduação em Microbiologia
Agrícola e do Ambiente, Porto Alegre, BR-RS, 2024.

1. Inocuidade. 2. Microbiologia. 3.
Lacticaseibacillus. 4. Probiótico. 5. Soro de Queijo
de Búfala. I. da Motta, Amanda de Souza, orient. II.
Título.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a minha família, que sempre me apoiou em todas as situações e fez com que essa formação fosse possível.

Agradeço de coração a professora Dra. Amanda de Souza da Motta, por mesmo sem me conhecer, aceitar me orientar neste trabalho. Muito obrigada pela oportunidade, por estar sempre disponível, pela dedicação, por se tornar um grande exemplo de profissional para minha vida acadêmica e profissional e ainda, por ter sido um grande apoio nos momentos difíceis.

Aos meus chefes Gustavo Lorenzini e Ricardo Lindstaedt, pelo apoio e flexibilização nos horários no LaborVet.

Agradeço a unidade bioanalítica da UFCSPA, em especial a Dra Keli Cristine Reiter pelo auxílio com a citometria de fluxo.

Agradeço aos professores e colegas por todas as trocas de conhecimento, que proporcionaram novas oportunidades e conhecimentos ao longo das disciplinas.

Por fim, mas não menos importante, gostaria de agradecer a toda equipe de colegas do laboratório, pela presença e apoio diário: Nathasha Noronha, Fernanda Genehr, Franciele Fernandes, Manuela Ferreira, Eduarda Agustini, Júlia Brasil, Gabriela Doncato, Camila Müller e Gabriela Simões. Em especial, as colegas Priscila Jankoski, Andréia Monique Lermen e Vitória L. Di Domenico, agradeço imensamente pela disposição ao terem me acolhido, ensinado e apoiado.

***Lactocaseibacillus paracasei* 12B0-2: ESTUDO DAS PROPRIEDADES FUNCIONAIS DE UM ISOLADO DE SORO DE QUEIJO DE BÚFALA¹**

Autor: Priscila Ramires da Silva

Orientador(a): Prof^a. Dr^a. Amanda de Souza da Motta

RESUMO

O soro contém bactérias ácido lácticas que podem trazer benefícios a saúde. Investigou-se o isolado *Lactocaseibacillus paracasei* 12B0-2 proveniente do soro de queijo bubalino, de modo a identificar seu potencial como candidato a probiótico. Sua inocuidade foi avaliada através da atividade hemolítica, presença da enzima gelatinase e sua susceptibilidade a antimicrobianos. Avaliou-se a produção de exopolissacarídeos (EPS), formação de biofilme e atividade antimicrobiana. A tolerância ao trato gastrointestinal (TGI), capacidade de adesão e as capacidades de agregação e hidrofobicidade foram determinadas. A microencapsulação do isolado foi avaliada em alginato de sódio. *L. paracasei* 12B0-2 não apresentou atividade hemolítica ou produção de gelatinase e foi sensível a maioria dos antimicrobianos testados. Produziu EPS, apresentou moderada formação de biofilme e uma atividade antimicrobiana promissora. Suas células foram tolerantes, apresentando 99,46 % de sobrevivência ao término do TGI simulado. Apresentou 75,82 % de adesão às células Caco-2, 38,29 % de autoagregação, 38,36 % de coagregação com *Escherichia coli* ATCC 10536 e 35,83 % com *Listeria monocytogenes* ATCC 7644. Teve 15,9 % de hidrofobicidade com n-hexadecano e 14,41 % com xileno. Por fim, suas células microencapsuladas apresentaram 93,89 % de sobrevivência ao TGI. Concluindo que *L. paracasei* 12B0-2 tem potencial como bactéria probiótica, podendo ser aplicado em matriz alimentar e como suplemento em formulações farmacêuticas.

Palavras chave: inocuidade, *Lactocaseibacillus*, microbiologia, probiótico, soro de queijo de búfala.

¹Dissertação de Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente – Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (xx p.) abril, 2024.

***Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2: STUDY OF THE FUNCTIONAL PROPERTIES OF A BUFFALO WHEY ISOLATE¹**

Author: Priscila Ramires da Silva

Advisor: Prof. Dr. Amanda de Souza da Motta

ABSTRACT

Whey contains lactic acid bacteria that may provide health benefits. The isolate *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2 from buffalo cheese whey was investigated in order to identify its potential as a probiotic candidate. Its harmlessness was evaluated through hemolytic activity, presence of the gelatinase enzyme and its susceptibility to antimicrobials. The production of exopolysaccharides (EPS), biofilm formation and antimicrobial activity are considered. Gastrointestinal tract (GIT) tolerance, adhesion capacity, and aggregation and hydrophobicity capabilities were determined. Microencapsulation of the isolate was evaluated in sodium alginate. *L. paracasei* 12B0-2 did not show hemolytic activity or gelatinase production and was sensitive to most of the antimicrobials tested. It produced EPS, showed moderate biofilm formation and promising antimicrobial activity. Its cells were tolerant, showing 99.46 % survival at the end of the simulated GIT. It showed 75.82 % adhesion to Caco-2 cells, 38.29 % autoaggregation, 38.36% coaggregation with *Escherichia coli* ATCC 10536 and 35.83% with *Listeria monocytogenes* ATCC 7644. It had 15.9% hydrophobicity with n-hexadecane and 14.41% with xylene. Finally, its microencapsulated cells had 93.89% GIT survival. Concluding that *L. paracasei* 12B0-2 has potential as a probiotic bacteria, which could be applied in food matrix and as a supplement in pharmaceutical formulations.

Keywords: buffalo whey, *Lacticaseibacillus*, microbiology, probiotic, safety

¹Master of Science Thesis in Agricultural and Environmental Microbiology – Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (xx p.) march, 2024.

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 1 |
| 2. OBJETIVOS..... | 2 |
| 2.1. Objetivo Geral | 2 |
| 2.2. Objetivos Específicos | 2 |
| 3. REVISÃO DA LITERATURA | 3 |
| 3.1. Propriedades do leite de búfala | 3 |
| 3.2. Propriedades do soro de queijo de búfala | 4 |
| 3.3. Bactérias lácticas | 8 |
| 3.4. Bactérias lácticas com Potencial Probiótico | 9 |
| 3.5. <i>Lacticaseibacillus paracasei</i> e suas aplicações | 12 |
| 3.6. <i>Lacticaseibacillus paracasei</i> e seus efeitos probióticos | 14 |
| 3.7. Desafios na utilização de uma cultura probiótica..... | 16 |
| 4. MATERIAL E MÉTODOS..... | 19 |
| 4.1. Microrganismo em estudo e condições de cultivo..... | 19 |
| 4.2. Sequenciamento parcial do gene 16S rDNA e identificação | 20 |
| 4.3. Avaliação da inocuidade de <i>Lacticaseibacillus paracasei</i> 12B0-2..... | 20 |
| 4.3.1. Avaliação da atividade hemolítica | 20 |
| 4.3.2. Avaliação da atividade da gelatinase | 20 |
| 4.3.3. Susceptibilidade a antimicrobianos..... | 21 |
| 4.4. Produção de exopolissacarídeo de <i>Lacticaseibacillus paracasei</i> 12B0-2 | 21 |
| 4.5. Formação de Biofilme por <i>Lacticaseibacillus paracasei</i> 12B0-2..... | 22 |
| 4.6. Avaliação da atividade antimicrobiana de <i>Lacticaseibacillus paracasei</i> 12B0-2..... | 22 |
| 4.6.1. Avaliação da atividade antimicrobiana de <i>Lacticaseibacillus paracasei</i> 12B0-2 contra <i>Clostridium difficile</i> | 23 |
| 4.7. Avaliação do potencial probiótico de <i>Lacticaseibacillus paracasei</i> 12B0-2 | 24 |
| 4.7.1. Tolerância de <i>Lacticaseibacillus paracasei</i> 12B0-2 ao trato gastrointestinal | 24 |
| 4.7.2. Tolerância de <i>Lacticaseibacillus paracasei</i> 12B0-2 ao trato gastrointestinal: avaliação por citometria de fluxo | 24 |
| 4.7.3. Capacidade de adesão de <i>Lacticaseibacillus paracasei</i> 12B0-2 às células | |

| | |
|--|-----------|
| Caco-2 | 25 |
| 4.7.4. Capacidade de autoagregação | 26 |
| 4.7.5. Capacidade de coagregação | 26 |
| 4.8. Avaliação da hidrofobicidade de superfície de <i>Lacticaseibacillus paracasei</i> 12B0-2 | 27 |
| 4.9. Microencapsulação de <i>Lacticaseibacillus paracasei</i> 12B0-2 | 27 |
| 4.9.1. Preparo das microcápsulas de <i>Lacticaseibacillus paracasei</i> 12B0-2..... | 27 |
| 4.9.2. Eficiência de microencapsulação de <i>Lacticaseibacillus paracasei</i> 12B0-2 | 28 |
| 4.9.3. Tolerância de <i>Lacticaseibacillus paracasei</i> 12B0-2 microencapsulado ao trato gastrointestinal | 28 |
| 4.9.4. Manutenção da viabilidade celular por meio da microencapsulação | 29 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 30 |
| 5.1. Sequenciamento parcial do gene 16S rDNA e identificação | 30 |
| 5.2. Avaliação da inocuidade de <i>Lacticaseibacillus paracasei</i> 12B0-2..... | 31 |
| 5.2.1. Avaliação da atividade hemolítica..... | 31 |
| 5.2.2. Avaliação da atividade da gelatinase..... | 32 |
| 5.2.3. Susceptibilidade a antimicrobianos..... | 33 |
| 5.3. Produção de exopolissacarídeo de <i>Lacticaseibacillus paracasei</i> 12B0-2 | 35 |
| 5.4. Formação de Biofilme por <i>Lacticaseibacillus paracasei</i> 12B0-2..... | 36 |
| 5.5. Avaliação da atividade antimicrobiana de <i>Lacticaseibacillus paracasei</i> 12B0-2..... | 37 |
| 5.5.1. Avaliação da atividade antimicrobiana de <i>Lacticaseibacillus paracasei</i> 12B0-2 contra <i>Clostridium difficile</i> | 39 |
| 5.6. Avaliação do potencial probiótico de <i>Lacticaseibacillus paracasei</i> 12B0-2 | 41 |
| 5.6.1. Tolerância de <i>Lacticaseibacillus paracasei</i> 12B0-2 ao trato gastrointestinal | 41 |
| 5.6.2. Tolerância de <i>Lacticaseibacillus paracasei</i> 12B0-2 ao trato gastrointestinal: avaliação por citometria de fluxo | 42 |
| 5.6.3. Capacidade de adesão de <i>Lacticaseibacillus paracasei</i> 12B0-2 às células | |

| | |
|---|-----------|
| Caco-2 | 46 |
| 5.6.4. Capacidade de autoagregação | 47 |
| 5.6.5. Capacidade de coagregação | 48 |
| 5.7. Avaliação da hidrofobicidade de superfície de <i>Lacticaseibacillus</i> | |
| <i>paracasei</i> 12B0-2 | 49 |
| 5.8. Microencapsulação de <i>Lacticaseibacillus paracasei</i> 12B0-2 | 50 |
| 5.8.1. Eficiência de microencapsulação de <i>Lacticaseibacillus paracasei</i> 12B0-2 | 50 |
| 5.8.2. Tolerância de <i>Lacticaseibacillus paracasei</i> 12B0-2 microencapsulado ao trato gastrointestinal | 51 |
| 5.8.3. Manutenção da viabilidade celular por meio da microencapsulação | 53 |
| 6. CONCLUSÃO | 55 |
| 7. REFERÊNCIAS | 57 |

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos do *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2 por disco difusão 34
- Tabela 2.** Atividade antimicrobiana do *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2 contra diferentes patógenos, os resultados foram expressos em milímetros (mm). 38

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Coloração de Gram em microscopia ótica do *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2, com observação de bacilos curtos Gram-positivos..... 30
- Figura 2.** Árvore Filogenética construída com base na análise de 16S rDNA parcial por meio da metodologia de neighbor-joining. Correlação entre o isolado *L. paracasei* 12B0-2 e modelos do Genbank, em parênteses o número de acesso..... 31
- Figura 3.** Atividade Hemolítica em placa de ágar sangue de carneiro. (A) *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 com presença de β hemólise. (B) *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2 com ausência de hemólise. 32
- Figura 4.** (A) Controle positivo *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, com atividade da enzima gelatinase. (B) *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2, com ausência da atividade da enzima gelatinase. 33
- Figura 5.** (A) Controle positivo *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (B) *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2. Ambos apresentando colônias pretas, representando produção de EPS em ágar vermelho congo..... 35
- Figura 6.** Atividade Antimicrobiana do SLC do *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2 contra *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076 em ágar Müller Hinton. 37
- Figura 7.** Atividade Antimicrobiana do *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2 contra *Clostridium difficile* CTI/HU RT 106 (FIOCRUZ) em ágar MRS sobreposto com tioglicolato. 40
- Figura 8.** Concentração celular dos isolados em escala logarítmica, antes da exposição, após suco gástrico simulado e após suco intestinal simulado. Em azul *L. paracasei* 12B0-2 e em laranja *L. rhamnosus* FAGRON..... 41
- Figura 9.** Percentual de sobrevivência após exposição ao suco gástrico simulado e após exposição ao suco intestinal simulado em placa e citometria de fluxo 43
- Figura 10.** Citometria de fluxo da concentração celular em A antes da exposição ao TGI, B após exposição do SGS e C após exposição ao SIS. 44
- Figura 11.** Coloração de Gram em microscopia ótica, com observação de bacilos curtos Gram-positivos em roxo e células Caco-2 em rosa. 46
- Figura 12.** Coloração de Gram em microscopia ótica, com observação de bacilos Gram-positivos e Gram-negativos. Demonstrando a coagregação entre *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2 e *Escherichia coli* ATCC 10536..... 48
- Figura 13.** Concentração celular do *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2

microencapsulado em escala logarítmica, antes da exposição, após suco gástrico simulado e após suco intestinal simulado. 52

Figura 14. Manutenção da viabilidade celular do *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2 microencapsulado em escala logarítmica. 53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|---------|---|
| ABCB | Associação Brasileira de Criadores de Búfala |
| ACE2 | Enzima Conversora de Angiotensina 2 |
| ANVISA | Agência Nacional de Vigilância Sanitária |
| AMP | Ampicilina |
| ASCRIBU | Associação Sulina de Criadores de Búfalos |
| ATCC | American Type Culture Collection |
| BAL | Bactérias Ácido Lácticas |
| cFDA | Carboxyfluorescein Diacetate |
| CIP | Ciprofloxacina |
| CLI | Clindamicina |
| CLO | Cloranfenicol |
| CRO | Ceftriaxona |
| DO | Densidade Óptica |
| EPS | Exopolissacarídeo |
| ERI | Eritromicina |
| FAO | Food and Agriculture Organization |
| FAOSTAT | The Food and Agriculture Organization Corporate Statistical |
| FDA | Food and Drug Administration |
| Fiocruz | Fundação Oswaldo Cruz |
| FOS | Frutooligossacarídeo |
| GEN | Gentamicina |
| GRAS | Generally Recognized as Safe |
| IN | Instrução Normativa |
| MH | Müeller Hinton |
| MRS | Man Rogosa and Sharpe |
| NCTC | National Collection of Type Cultures |
| PBS | Phosphate-Buffered Saline |
| PCA | Plate Count Agar |
| PCR | Polymerase Chain Reaction |
| PEN | Penicilina G |
| PI | Propidium Iodide |

| | |
|-------|---|
| QPS | Qualified Presumption of Safety |
| RDC | Resolução da Diretoria Colegiada |
| RE | Resolução |
| SGS | Suco Gástrico Simulado |
| SIS | Suco Intestinal Simulado |
| SLC | Sobrenadante Livre de Células |
| TET | Tetraciclina |
| TGI | Trato Gastrointestinal |
| TSA | Trypticase Soy Agar |
| TSB | Trypticase Soy Broth |
| UFC | Unidade Formadora de Colônia |
| UFRGS | Universidade Federal do Rio Grande do Sul |
| UTI | Unidade de Terapia Intensiva |
| VAN | Vancomicina |
| VBNC | Viable But Not Culturable |
| WHO | World Health Organization |

1. INTRODUÇÃO

O leite bubalino é uma excelente fonte nutricional e seu consumo, apesar de ainda pouco difundido em nosso país, vem crescendo e tornando possível a presença de diferentes apresentações de queijos e até mesmo iogurtes nos mercados. Tendo em vista o aumento na produção de queijos bubalinos, o soro resultante dessa produção acaba sendo um resíduo, que é descartado, acarretando um importante problema ambiental. Considerando o impacto ambiental desse resíduo, tem se buscado alternativas para o uso desse soro.

O soro de queijo é um excelente substrato para a fermentação de bactérias ácido lácticas (BAL), que apresentam potenciais probióticos, trazendo diversos benefícios para a saúde humana e animal. As BAL vêm sendo muito estudadas e apresentam resultados promissores que demonstram seus benefícios no estímulo do sistema imunológico. Elas podem auxiliar na diminuição dos níveis de colesterol e da glicemia, trabalhando na prevenção e tratamento de doenças como o diabetes, a hipertensão, a depressão e até mesmo o câncer.

Esses microrganismos vêm sendo empregados na produção de alimentos e utilizados como suplementos alimentares. Para isso, é importante ressaltar que os probióticos são selecionados com base em sua segurança e aplicação, motivo pelo qual são escolhidos ensaios que demonstrem sua capacidade de adaptação e tolerância ao trato gastrointestinal, além de avaliar sua inocuidade e identificação, possibilitando um consumo seguro. Ainda, seu potencial funcional pôde ser avaliado pelas análises de sua atividade antimicrobiana contra patógenos, que comprovaram sua capacidade de promoção da saúde ao inibir outros microrganismos.

Considerando a importância do estudo e prospecção de novos isolados autóctones da matriz alimentar leite-soro de búfala. O presente estudo buscou avaliar o potencial probiótico de uma BAL, isolada de soro de queijo bubalino.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar o potencial probiótico da bactéria *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2 proveniente do soro de queijo de búfala.

2.2. Objetivos Específicos

- 2.2.1. Avaliar a inocuidade e o potencial antimicrobiano da bactéria *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2.
- 2.2.2. Avaliar o potencial probiótico, por meio da avaliação da manutenção e viabilidade celular da bactéria *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2 em condições que simulem o trânsito no trato gastrointestinal em conjunto com sua capacidade de autoagregação, coagregação, hidrofobicidade e adesão às células Caco-2.
- 2.2.3. Determinar a viabilidade e tolerância às condições do trato gastrointestinal com aplicação de uma melhor aplicação tecnológica para contagem e o uso de metodologias de microencapsulação.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. Propriedades do leite de búfala

O búfalo, cientificamente conhecido como *Bubalus bubalis*, é a principal fonte de leite e carne em vários países, tornando-se um animal economicamente importante (Khan *et al.*, 2022). Houve um aumento notável na produção total de leite de búfalas e foi possível observar um aumento populacional constante do rebanho bubalino a uma taxa de 1,65 % ao ano nas últimas cinco décadas (Du *et al.*, 2020).

Atualmente, mais de 97 % da população mundial de búfalos está na Ásia. No entanto, apesar dessa predominância, a produção de leite e derivados tem se popularizado, se espalhando e tornando o *Bubalus bubalis* uma importante espécie leiteira no mediterrâneo e em alguns países da África e América do Sul (Hernández-Castellano *et al.*, 2019; Eldawy *et al.*, 2021). Na Europa, os países que produzem as maiores quantidades de leite de búfala são Itália, Alemanha, Bulgária, Grécia e Turquia. Já na América do Sul, o Brasil tem a maior produção (Freitas *et al.*, 2020). Com o maior rebanho no ocidente, o Brasil, de acordo com a Associação Brasileira de Criadores de Búfalo (ABCB, 2022), possui aproximadamente 3 milhões de búfalos. Entre eles, em torno de 70 mil encontram-se no estado do Rio Grande do Sul, segundo a Associação Sulina de Criadores de Búfalos (ASCRIBU, 2022).

A qualidade do leite é o fator mais importante para o sucesso de sua industrialização. O leite de búfala tem mostrado maior rendimento na produção de derivados e o queijo muçarela de búfala já estabeleceu um mercado com futuro promissor no Brasil (Godinho *et al.*, 2020).

Os búfalos costumam produzir entre 1.500 e 4.500 litros de leite por lactação e podem ter uma vida produtiva longa, fornecendo bezerros até os 20 anos de idade (FAO, 2023). Além disso, a produção de leite bubalina corresponde a 15 % da produção total de leite mundial, sendo a segunda maior produção leiteira (FAOSTAT, 2022).

No entanto, mesmo com uma baixa produção, a qualidade e rendimento do leite demonstram seus benefícios. Ao ser comparado com o leite de vaca, o leite de búfala tem um maior valor nutricional e é caracterizado por uma composição rica em gordura, proteínas, aminoácidos, vitaminas e minerais, além de possuir uma maior predominância de ácidos graxos insaturados, bem como uma menor concentração de fosfolípidios e colesterol (Chen *et al.*, 2020; Hao *et al.*, 2021; Khan *et al.*, 2022).

Um estudo realizado por Godinho *et al.* (2020) caracterizou os padrões de qualidade do leite cru de búfalas em propriedades do estado do Rio Grande do Sul e encontrou 5,5 g/100 g de teor de gordura, 4,06 g/100 g de proteína, 9,96 g/100 g de sólidos não gordurosos, 1,034 g/mL de densidade, uma acidez de 16 °D, um ponto de congelamento de -0,527 °C, 5,07 g/100 g de lactose e 0,161 g/100 g de cálcio.

Ao avaliar a microbiota do leite bubalino Luziatelli *et al.* (2023) encontraram às famílias: *Pseudomonadaceae*, *Xanthomonadaceae*, *Moraxellaceae* e *Enterobacteriaceae* dentro de *Proteobacteria*; *Corynebacteriaceae* dentro de *Actinobacteria*; *Lactobacillaceae* e *Streptococcaceae* dentro de Firmicutes.

As bactérias ácido lácticas (BAL) são a população bacteriana dominante no leite de búfala cru, sendo mais comumente encontrados os *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* e *Enterococcus*. Dentre essas, as principais espécies de *Lactobacillus* isoladas do leite bubalino e que possuem propriedades probióticas são *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus delbrueckii* e *Lactobacillus kefiranafaciens* (Vargas-Ramella *et al.*, 2021).

A utilização de diferentes tipos de leite e derivados tem ganhado espaço, como consequência de os consumidores estarem mais conscientes e os alimentos funcionais estarem ganhando popularidade (Terzioglu *et al.*, 2023). A presença de altos níveis nutricionais no leite bubalino, em conjunto com o fato de que algumas cepas de *lactobacilos* podem estar mais representadas nos produtos bubalinos do que nos bovinos, nos faz pensar em seus produtos e derivados, como alimentos funcionais, com potencial para desenvolver um papel estratégico na prevenção de doenças, promovendo uma melhora na saúde da população em geral (Tatullo *et al.*, 2022). Tendo isso em mente, apesar de seu potencial funcional, ainda pouco estudado, análises têm revelado que o soro de queijo bubalino pode ser uma fonte de componentes imunorreativos, indicando sua função na promoção da saúde (Koirala *et al.*, 2023).

3.2. Propriedades do soro de queijo de búfala

O soro de queijo constitui a fração líquida obtida após a coagulação das proteínas do leite durante a produção de queijo (Luz *et al.*, 2021). É uma solução transparente amarelada a esverdeada, composta por pequenas moléculas que não estão envolvidas na coagulação do leite e podem ser filtradas (Guo e Wang, 2019).

Além disso, é um subproduto com alto valor nutricional (Simões da Silva *et al.*, 2020), e um co-produto muito utilizado na indústria alimentícia devido às suas propriedades (D'Onofre Couto *et al.*, 2021).

Atualmente encontra-se uma maior concentração de trabalhos que caracterizam o soro de queijo bovino, e este representa cerca de 85 a 90 % do volume total de leite utilizado para a produção de queijo, contendo aproximadamente 55 % dos nutrientes do leite, incluindo proteínas, lactose, vitaminas solúveis e minerais (Zandona *et al.*, 2021; Leon-López *et al.*, 2022).

O soro de queijo é o principal e mais poluente subproduto obtido nos processos de fabricação do queijo devido à sua carga orgânica composta por lactose, ácido láctico, proteínas e sais (Alfano *et al.*, 2021). Se descartado sem tratamento, cria um problema significativo para o meio ambiente, devido a uma alta demanda química e bioquímica de oxigênio. Isso significa, que se descartado em fontes de água, reduz o oxigênio dissolvido e representa um grande risco para a vida aquática, bem como para o meio ambiente e a saúde humana (Pires *et al.*, 2021). Com isso, surgiu a necessidade de desenvolver processos para recuperar e concentrar seus nutrientes, evitando seu descarte inadequado e seu impacto ambiental (Argenta *et al.*, 2021).

A composição do soro depende da fonte de leite (ovelha, cabra, camelo, búfala, cabra, vaca etc.), do estado de lactação, do tipo de alimentação dada ao animal em lactação, do método utilizado na produção do queijo e do período de armazenamento (Zhao *et al.*, 2022). O soro de queijo bovino tem sido utilizado em diferentes processos de bioprodução industrial, que aproveitam os nutrientes disponíveis, acarretando a obtenção de produtos com alto valor agregado, incluindo proteínas unicelulares, enzimas, ácidos orgânicos (láctico, succínico e propiônico), exopolissacarídeos, bacteriocinas e bioplásticos (Malvido *et al.*, 2019).

Os peptídeos derivados de proteínas do soro de queijo são amplamente estudados devido às suas propriedades bioativas, que não coagulam sob as condições ácidas presentes no estômago, e são consideradas “proteínas rápidas”, uma vez que atingem o jejuno logo após sua entrada no trato gastrointestinal (Ozorio *et al.*, 2019; Olvera-Rosales *et al.*, 2022; Zhao e Ashaolu, 2020). As proteínas presentes no soro bovino e bubalino exibem uma ampla gama de bioatividades, sendo capazes de atravessar a barreira intestinal e modular respostas nos sistemas nervoso, imunológico, gastrointestinal e cardiovascular, incluindo propriedades antioxidantes,

antibacterianas, antifúngicas, antivirais, anti-hipertensivas, antitrombóticas, opioides e imunomoduladoras (Giblin *et al.*, 2019; Minj e Anand, 2020; Falsafi *et al.*, 2022; Koirala *et al.*, 2023; Zhao *et al.*, 2023).

Devido ao teor de sólidos do leite de búfala, a produção de 1 kg de queijo requer 5 L de leite, gerando cerca de 4 L de soro (Girolodi *et al.*, 2022). A fabricação de queijo acaba acarretando uma produção anual de 145 milhões de toneladas de soro em todo o mundo. Apesar do volume, somente um pouco mais da metade desse soro produzido é utilizado (Meng *et al.*, 2020), motivo pelo qual, seu potencial e benefícios têm sido pesquisados. Além das funções nutricionais, alguns componentes do soro de queijo bubalino, como o ácido butírico, a lactoperoxidase e a lactoferrina, trazem benefícios à saúde do coração, dos ossos, do sistema imunológico e do trato digestivo, tornando o soro, matéria-prima para produção de substâncias funcionais, substâncias que além de suas funções nutricionais, promovem a saúde, como aminoácidos e ácidos graxos (Pu *et al.*, 2021).

Com base na análise da função biológica de proteínas bioativas presentes no soro bubalino, Zhang *et al.* (2020) demonstraram seus benefícios para o sistema imunológico e para a redução da pressão arterial, identificando uma redução no nível característico de angiotensinogênio, além de altos níveis de anticorpos naturais e componentes do complemento, motivo pelo qual, os autores acreditam que seu consumo possa ser eficaz na prevenção e tratamento de doenças por meio do sistema anticorpo-complemento. Peptídeos bioativos podem ser liberados a partir da hidrólise enzimática das proteínas do leite, sugerindo que o soro seja capaz de apresentar atividade protetora contra patógenos (Wang *et al.*, 2020). Muitos peptídeos foram encontrados no soro da produção de muçarela de búfala e estudos mostram que esse extrato de peptídeo exerce uma possível atividade pró-apoptótica em células cancerosas (Garau *et al.*, 2021).

As proteínas do soro de queijo de búfala são semelhantes às do leite bovino. Elas são um grupo polimórfico heterogêneo de proteínas compostas por β -lactoglobulina (50 %), α -lactalbumina (20 %), albumina sérica (10 %), imunoglobulinas (10 %) e outras proteínas menores (<10 %), como lactoferrina, proteose peptona e várias enzimas (Mejares, Huppertz e Chandrapala, 2022). Essas proteínas encontradas no soro, como imunoglobulinas, lactoferrina, lactoperoxidase e lisozima, são conhecidas por seu potencial como proteínas antibacterianas (Khakhariya *et al.*, 2023).

Além do conteúdo proteico é possível encontrar frações de fatores de crescimento celular, como IGF-I, IGF-II, TGF- β 1 e TGF- β 2. Estes compostos conferem ao soro importantes propriedades bioativas para a saúde humana, como funções imunomoduladoras, antimicrobianas e prebióticas. Esses efeitos são possíveis porque esses compostos permanecem ativos após a passagem pelo trato gastrointestinal, podendo exercer suas funções no intestino grosso (Galdino *et al.*, 2022).

As proteínas do soro de queijo são hidrocolóides importantes que oferecem propriedades tecnofuncionais interessantes em formulações de alimentos, por possuírem propriedades emulsificantes, espessantes e gelificantes (Zouari *et al.*, 2020). Reforçando essas propriedades, ainda, foram encontrados no soro sialilactoses, galactosilactoses e N-acetilgalactosilactose, oligossacarídeos funcionais, identificados como prebióticos (Duncan *et al.*, 2020). Complementando o uso tecnofuncional, o soro é um excelente substrato para a fermentação de bactérias ácido lácticas, destacando as bactérias probióticas (Escrivá *et al.*, 2022). Estes microrganismos, vêm sendo empregados na produção de alimentos lácteos funcionais com efeitos positivos no controle de microrganismos deteriorantes e patogênicos (Pires *et al.*, 2020).

Considerando a importância do soro como coproduto, um estudo com soro de queijo de búfalo mostrou a ocorrência de cinco espécies de bactérias lácticas (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactobacillus fermentum*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* e *Lactobacillus helveticus*) em comparação a cinco espécies encontradas no soro de queijo bovino (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Enterococcus faecium* e *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus helveticus* e *Lactobacillus delbrueckii*) (Marasco *et al.*, 2022). Em comparação, Aprea *et al.* (2017) citam oito BAL isoladas de culturas iniciadoras de soro de búfala, que incluem: *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis lactis*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus delbrueckii bulgaricus*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus curvatus*, *Streptococcus thermophilus* e *Pediococcus*.

O interesse e os estudos sobre a microbiota dos produtos lácteos aumentam a cada dia (Delikanlı-Kıyak e Yılmaz, 2024). Dentro dela, as BAL são uma parcela significativa, sendo os *lactobacilos* um gênero predominante, com diversos usos conhecidos e estudos que comprovam seus benefícios (Parente, Ricciardi e Zotta, 2020; Müller, Maciel e Rempel, 2023). Dentro do gênero, o *Lacticaseibacillus*

paracasei, tem se mostrado promissor, com muitas pesquisas evidenciando seu potencial (Terpou *et al.*, 2019; Khanna *et al.*, 2022; Jankiewicz *et al.*, 2023).

3.3. Bactérias lácticas

As bactérias ácido lácticas são microrganismos presentes em produtos lácteos, carnes e produtos vegetais, e são responsáveis por melhorar as propriedades sensoriais, como sabor e textura, podendo melhorar sua vida útil. As culturas de BAL comerciais são amplamente utilizadas no processamento de alimentos, o que inevitavelmente interfere em seus produtos finais, influenciando suas características sensoriais e propriedades tecnológicas (Rama *et al.*, 2020).

Diferentes seleções de BAL *starters* (utilizadas como fermento) permitem a produção de produtos lácteos fermentados com propriedades sensoriais desejadas, maior preservação e benefícios nutricionais para a saúde (Hanlon *et al.*, 2021). Além delas, outras BAL estão implicadas no processo de maturação e são indicadas como BAL não *starters*. Essas bactérias lácticas não iniciadoras, apesar de imediatamente após a produção do queijo estarem presentes em números baixos, são capazes de crescer e prosperar, proliferam-se e competem com as culturas iniciadoras para se tornarem as populações microbianas dominantes durante o amadurecimento do queijo, sendo frequentemente responsáveis pelo desenvolvimento de suas características organolépticas (Leeuwendaal *et al.*, 2022).

O grupo de BAL *starters* inclui principalmente *Lactococcus lactis* e *Leuconostoc* spp. como espécies mesofílicas e *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* e *Lactobacillus helveticus* como espécies termofílicas. Enquanto, o grupo de BAL não *starters* é particularmente heterogêneo e inclui vários *lactobacilos* como *Lactobacillus farciminis* entre as espécies obrigatoriamente homofermentativas, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus curvatus* e *Lactobacillus rhamnosus* entre as espécies facultativamente heterofermentativas. Além disso, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus parabuchneri* e *Lactobacillus brevis* também são espécies obrigatoriamente heterofermentativas utilizadas como grupo de BAL não iniciadoras (Russo *et al.*, 2019).

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), por meio da Instrução Normativa (IN) nº 76, de 5 de novembro de 2020, estabelece a lista de constituintes, seus limites de uso e normas de rotulagem para a fabricação de

suplementos alimentares, autorizando em suas composições a utilização das seguintes BAL: *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* HN019 (ATCC SD5674), *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB12 (DSM 15954), *Bifidobacterium lactis* NCC 2818, *Lactobacillus acidophilus* NCFM (ATCC SD5221), *Lactobacillus gasseri* BNR17 (KCTC 10902BP), *Lactobacillus rhamnosus* GG (DSM 33156), *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103), *Lactobacillus rhamnosus* HN001 (ATCC SD5675), *Limosilactobacillus reuteri* DSM 17938, associação de *Lactobacillus rhamnosus* R0011 (CNCM I-1720) e de *Lactobacillus helveticus* R0052 (CNCM I-1722), associação de *Lactobacillus helveticus* R0052 (CNCM I-1722) e de *Bifidobacterium longum* R0175 (CNCM I-3470), Associação de *Bifidobacterium lactis* BI-07 (ATCC SD5220), de *Lactobacillus acidophilus* NCFM (ATCC SD5221), de *Bifidobacterium lactis* BI-04 (ATCC SD5219) e de *Lactobacillus paracasei* Lpc37 (ATCC SD5275).

3.4. Bactérias lácticas com Potencial Probiótico

Segundo a Organização Mundial da Saúde os probióticos são “microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem um benefício à saúde do hospedeiro” (FAO/WHO, 2001).

A ANVISA regulariza o uso de probióticos, através da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 241, de 26 de julho de 2018, na qual encontramos os requisitos para comprovação de seus benefícios e sua segurança, para que possa ser empregado em alimentos. De acordo com a resolução, a comprovação da segurança dos probióticos requer a caracterização e identificação inequívoca da BAL (ANVISA, 2018).

Com isso em mente, o estudo de uma bactéria probiótica começa com a identificação de seu gênero, espécie, subespécie (quando aplicável) e cepa, que vem com uma designação alfanumérica da espécie probiótica (Johnson *et al.*, 2023). Entre as bactérias ácido lácticas as espécies: *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Lactococcus* e *Leuconostoc* são as bactérias probióticas mais amplamente utilizadas (Carvalho *et al.*, 2020).

Os probióticos devem estar presentes nos alimentos na concentração de 10^{8-9} UFC/g como recomendação diária do produto antes da ingestão para garantir que um mínimo terapêutico suficiente de 10^{6-7} UFC/g possa chegar ao cólon (Osmanov *et al.*, 2023). Diferentes produtos encontram-se no mercado brasileiro contendo

combinações de microrganismos probióticos. Sua venda, regulamentada pela ANVISA por meio da IN nº 76, dispõe em seu anexo III, o limite mínimo de $1,7 \times 10^{10}$, sendo $4,25 \times 10^9$ UFC para cada uma das seguintes linhagens autorizadas para uso associado: *Bifidobacterium lactis* BI-07 (ATCC SD5220), *Lactobacillus acidophilus* NCFM (ATCC SD5221), de *Bifidobacterium lactis* BI-04 (ATCC SD5219) e de *Lactobacillus paracasei* Lpc37 (ATCC SD5275) (ANVISA, 2020).

Os probióticos devem ser selecionados com base na funcionalidade, segurança e aplicação tecnológica, sendo seguros tanto em ambientes culinários como terapêuticos, mesmo para indivíduos com sistema imunológico comprometido, tendo sua eficácia e segurança avaliadas em estudos randomizados e controlados (Sharma *et al.*, 2023).

Antes de selecionar probióticos, a análise da atividade hemolítica (Rajab *et al.*, 2020; Kuerman *et al.*, 2021; M'hamed *et al.*, 2022), além da análise de genes e fatores de virulência (Wang *et al.*, 2021; Rodrigo-Torres *et al.*, 2022; Kioussi *et al.*, 2022) são importantes para avaliar sua segurança. Certas BAL podem exibir propriedades de virulência e serem capazes de produzir compostos tóxicos (Kim *et al.*, 2021). Como a gelatinase é uma protease com efeito significativo na virulência bacteriana, sua presença é vista como critério de rejeição na prospecção de um probiótico (Mortezaei *et al.*, 2021; Trindade *et al.*, 2022; Rwubuzizi *et al.*, 2023).

Segundo a RDC nº 241 da ANVISA a comprovação da segurança deve ser realizada por meio de documentos técnicos ou estudos científicos que demonstrem: histórico de uso seguro, ausência de registro de eventos adversos relevantes, ausência de fatores de virulência, ausência de produção de substâncias ou metabólitos que representem risco à saúde e, ainda, ausência de resistência a antibióticos potencialmente transferível, apresentando susceptibilidade a, pelo menos, dois antibióticos (ANVISA, 2018). O teste de susceptibilidade a antimicrobianos, realizado pelo método de disco difusão de Kirby-Bauer, é uma metodologia simples e confiável para verificar diferentes painéis de antibióticos, convertendo-se em uma importante ferramenta na averiguação de segurança de novos isolados (Akpınar e Yerlikaya, 2021; Kaewarsar *et al.*, 2023; Biswas *et al.*, 2023).

A sobrevivência dos probióticos durante os processos de produção e armazenamento de alimentos e, também, sua sobrevivência através do estresse do trato gastrointestinal (TGI) (resistência ao ambiente ácido, bile e enzimas) são fatores extremamente importantes para a atividade e eficácia das cepas probióticas (Wen *et*

al., 2021; Galdino *et al.*, 2021; Battistini *et al.*, 2023).

Algumas BAL produzem exopolissacarídeos (EPS) durante a fermentação, que podem servir de substrato para bactérias comensais, estimulando o desenvolvimento de microrganismos benéficos a nível intestinal e a produção de metabólitos bioativos (Bengoa *et al.*, 2020). Sabe-se que os EPS produzidos por BAL têm vários efeitos promotores da saúde, como atividades antiinflamatórias, antioxidantes e antibiofilmes (Wang *et al.*, 2019). Além disso, têm sido explorados por suas propriedades funcionais na produção de lácteos, panificação, prebióticos, estabilizantes, emulsionantes, viscosificantes e espessantes, podendo melhorar a espessura dos alimentos (Amini *et al.*, 2022).

Acredita-se que a formação de biofilme seja um mecanismo de autodefesa produzido por microrganismos em resposta a estresses bióticos e abióticos (Chen *et al.*, 2023), permitindo um estilo de vida de crescimento bacteriano sésil (Marra *et al.*, 2023). Como uma das barreiras intestinais, as bactérias intestinais formam biofilme, participam do trabalho intestinal e formam o ambiente vivo das células intestinais (Han *et al.*, 2023). Os biofilmes de BAL despertaram um interesse considerável no biocontrole de microrganismos patogênicos, apesar dos efeitos benéficos, também podem ter propriedades negativas, como por exemplo, alterando as propriedades sensoriais de produtos alimentícios (Mgomi *et al.*, 2023).

A capacidade de autoagregação e coagregação, influenciam a aderência microbiana, limitando a adesão dos patógenos e criando um microambiente, no qual sua estrita proximidade permite o aumento dos efeitos inibitórios das substâncias secretadas (Colautti *et al.*, 2022). A adesão à mucosa intestinal é um critério para que potenciais bactérias probióticas aumentem sua ação benéfica à saúde no intestino do hospedeiro, evitando assim a fixação de enteropatógenos, promovendo a imunomodulação ou estimulando a função metabólica (Rodrigo-Torres *et al.*, 2022). Complementando a adesão, a hidrofobicidade da superfície celular de uma cepa probiótica é uma medida de sua colonização intestinal, isto é, adesão e persistência depois de entrarem na cavidade intestinal; com isso, quanto maior a hidrofobicidade, maior a colonização observada (Farid *et al.*, 2021).

Ainda, um probiótico deve apresentar antagonismo contra patógenos e estimulação do sistema imunológico (Plaza-Diaz *et al.*, 2019). Muitos isolados de *Lactobacillus* têm sido testados, demonstrando uma forte atividade antimicrobiana (Hu *et al.*, 2019; Fijan, 2023; Yuli *et al.*, 2023). Essa capacidade de eliminar ou diminuir

outros microrganismos como *Clostridium difficile* demonstram seu potencial funcional (Kalakuntla *et al.*, 2019).

3.5. *Lacticaseibacillus paracasei* e suas aplicações

Existiam mais de 200 espécies publicadas dentro do complexo do gênero *Lactobacillus* (Wittouck *et al.*, 2019). O grupo *Lactobacillus casei*, era composto principalmente pelas espécies: *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei* e *Lactobacillus rhamnosus* (Hill *et al.*, 2018; Huang *et al.*, 2018) até o ano de 2020, quando uma nova nomenclatura foi proposta e as 261 espécies do gênero *Lactobacillus* foram subdivididas em 25 gêneros. Com isso, o gênero até então conhecido como *Lactobacillus paracasei*, passou a ser denominado *Lacticaseibacillus paracasei* e considerando a heterogeneidade entre as diferentes linhagens foram propostas duas subespécies *Lacticaseibacillus paracasei* subsp. *paracasei* e subsp. *tolerantes* (ANVISA, 2021; Zheng *et al.*, 2020; Bengoa *et al.*, 2021).

As linhagens de *Lacticaseibacillus paracasei* possuem células com atividade de superóxido dismutase, são bastonetes (0,8–1,0×2,0–4,0 µm), muitas vezes com extremidades quadradas, ocorrendo isoladamente ou em cadeias. O crescimento é observado entre 10 e 40 °C, sendo que algumas cepas conseguem crescer em temperaturas de 5 até 45 °C. Suas cepas foram isoladas de locais variados, incluindo a cavidade oral humana, cereais fermentados, vegetais, carnes, laticínios e em hospedeiros invertebrados (Zheng *et al.*, 2020).

Lacticaseibacillus paracasei é utilizado mundialmente com diferentes aplicações. No Brasil, o *L. paracasei* vem sendo utilizado como um ingrediente em formulações farmacêuticas probióticas. É possível encontrá-lo em cápsulas de suplementos isolado (Tito-Farma; Flor de Lis; Drogaria Minas-Brasil; Medicinal, 2024), em *pool* com outras BAL (LEMMA; Vitafor; Sanavita; Puravida, 2024) e como suplemento associado a sais minerais, vitaminas ou prebióticos (FQM FARMA; Fharmonat; Besibz; Acácia, 2024).

Além do uso farmacêutico, a utilização do *Lacticaseibacillus paracasei* vem sendo explorada em diversos setores. Nguyen *et al.* (2019) desenvolveram um protocolo para fermentação láctica de extrato de pepino utilizando *L. paracasei* como redutor de açúcares e um potente ingrediente na produção de produtos dérmicos de magnésio que promovem o tratamento de doenças de pele e inflamações musculares. Outro uso do *L. paracasei* foi sua incorporação como um ingrediente probiótico na

produção de pastas dentais que têm auxiliado na prevenção de cáries (Ballini *et al.*, 2019; Pørksen *et al.*, 2023; Mughal, 2024).

L. paracasei tem apresentado um grande potencial biotecnológico, incluindo a síntese de nanomateriais, que pode ser realizada utilizando diversos tipos de fontes biológicas. Tendo isso em mente, Pomastowki *et al.* (2020) utilizaram uma cepa de *L. paracasei* isolada do soro de queijo para sintetizar de forma eficiente nanocompostos de óxido de zinco que apresentaram propriedades antimicrobianas contra patógenos clinicamente relevantes. Tsai *et al.* (2023) produziram um posbiótico composto de ácido lipoteicóico purificado de um isolado de *L. paracasei* inativado por calor, que foi capaz de inibir a formação de biofilme de *Malasseia furfur*. Ainda, Tsai *et al.* (2023) identificaram que o tratamento de células da pele, com o *L. paracasei* inativado, pôde regular positivamente expressões gênicas de fatores de crescimento do folículo capilar. Esses resultados possibilitaram a produção de um shampoo que trouxe benefícios para a saúde do couro cabeludo. Complementando o uso tecnológico contra patógenos Dong *et al.* (2023) utilizaram o sobrenadante livre de células de *L. paracasei* para inibir a proliferação de fungos na produção de queijos, uma alternativa promissora para a preservação de alimentos.

A utilização de BAL em alimentos já possuem uma história e tradição, no entanto, estão sempre em adaptação e novas descobertas são promissoras. Um estudo realizado por Cuffia *et al.* (2020) avaliou a capacidade de *L. paracasei* produzir compostos aromáticos em um modelo de queijo, concluindo que o isolado ao ser utilizado como cultura adjuvante em queijos pode melhorar e diversificar o sabor do produto. Esse uso de *L. paracasei* como cultura adjunta na produção de queijos, como método para melhorar a produção ou trazer novas características, tem sido muito estudado e bastante reconhecido (Decadt *et al.*, 2023; Bancalari *et al.*, 2020). Kamarinou *et al.* (2023) avaliaram a adição de cepas selecionadas, especialmente uma cepa de *L. paracasei*, confirmando que sua utilização como cultura adjunta origina queijos com características organolépticas desejáveis e distintas.

O *Lacticaseibacillus paracasei* é um habitante natural do trato gastrointestinal humano, com abundantes características probióticas e amplamente utilizado na fermentação de iogurte melhorando suas qualidades organolépticas e a biofunção do iogurte (Gu *et al.*, 2020). Novas matrizes alimentares têm sido empregadas ao *L. paracasei*, Kuerban *et al.* (2023) encontraram uma maneira de aumentar os compostos bioativos do suco de uva, utilizando *L. paracasei* e outras BAL

com o intuito de enriquecer o sabor e reter os polifenóis presentes no suco, em um processo de baixo custo e eficiente. Praia *et al.* (2022) utilizaram uma cepa de *L. paracasei* para a produção de uma cerveja azeda com adição de cajá, concluindo que uma cerveja potencialmente probiótica é viável, apesar de o suco ter ameaçado a sobrevivência dos probióticos. Essas entre tantas aplicações do *L. paracasei*, demonstram seu potencial como uma cultura que tem demonstrado muitos benefícios à saúde.

3.6. *Lacticaseibacillus paracasei* e seus efeitos probióticos

Foi demonstrado que os probióticos afetam diretamente várias células do sistema imunológico, incluindo células dendríticas, macrófagos, células natural killer e células T e B. Ao interagir com os receptores da superfície celular, eles regulam a atividade das células imunológicas, produzem metabólitos que influenciam as respostas imunológicas e controlam a liberação de citocinas e quimiocinas (Guo e Lv, 2023).

Muitos estudos têm demonstrado os benefícios de *Lacticaseibacillus paracasei* para a saúde. Zeng *et al.* (2019) estudaram in vivo o potencial do uso de uma linhagem de *Lacticaseibacillus paracasei* no tratamento da diabetes. Nesse estudo o grupo demonstrou que o consumo, diminuiu a resistência à insulina e o estado de estresse oxidativo, protegendo a função das células beta. Esse potencial probiótico contra o diabetes foi confirmado por Won *et al.* (2021) ao identificarem uma potente atividade inibitória de α -glicosidase e α -amilase, além de avaliar a atividade de eliminação de radicais e antioxidantes, comprovando as características hipoglicêmicas da cepa em estudo. Desde então, diversos estudos têm surgido demonstrando os benefícios da utilização de diferentes isolados de *L. paracasei* como probiótico no auxílio do tratamento de diabetes (Zhao *et al.*, 2022; Talib *et al.*, 2023; Gu *et al.*, 2023). Recentemente, Nachum *et al.* (2024) avaliaram a possibilidade de um isolado de *L. paracasei* trazer benefícios como probiótico para a diabetes gestacional, mas infelizmente não encontraram diferenças significativas nos resultados maternos e neonatais com o uso.

A hipertensão é um problema de saúde pública que afeta uma grande parte da população, Palmu *et al.* (2020) avaliaram amostras de fezes e urina de 24 horas de 6953 pacientes e correlacionaram a presença de maior concentração do probiótico *Lactobacillus paracasei* nas fezes com a regulação da pressão arterial, além de

parecer influenciar positivamente a excreção urinária de sódio. Novos estudos têm tentado desenvolver, tecnologicamente, uma melhora no tratamento da hipertensão com o uso de probióticos. Um estudo realizado por Mei *et al.* (2023) evidenciou que o uso de *Lactobacillus paracasei* geneticamente modificado pode resgatar a enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2) do cólon e atenuar a hipertensão em ratos fêmeas.

Alguns fatores que influenciam a hipertensão e que são constantemente estudados em conjunto são os índices de colesterol e triglicerídeos. Yang *et al.* (2023) afirmaram que o uso de *L. paracasei* reduziu os índices de colesterol e triglicerídeos. Su *et al.* (2024) identificaram que o *L. paracasei* pode aliviar distúrbios do metabolismo dos glicolípídios através do eixo adipo-insular e da microbiota intestinal, diminuindo significativamente as concentrações de colesterol, triglicerídeos, leptina, insulina e ácidos graxos.

Testes in vivo têm comprovado os benefícios de cepas de *L. paracasei* no controle da ansiedade e da depressão. Xu *et al.* (2022) identificaram um aumento significativo na concentração de serotonina cerebral, além de uma diminuição sérica de corticosterona, associados ao alívio dos sintomas depressivos. Kwon *et al.* (2023) pesquisaram os mecanismos subjacentes pelos quais bactérias probióticas podem afetar o comportamento emocional e conseguiram identificar alterações nos níveis de expressão gênica causadas por um *L. paracasei* com compostos bioativos que induziram diretamente respostas transcricionais no genoma.

Os potenciais probióticos de *L. paracasei* têm se mostrado os mais diversos, seu uso tem causado a diminuição de sintomas no tratamento da asma (Xie *et al.*, 2021; Uwaezuoke *et al.*, 2022; Sim *et al.*, 2023). Além disso, seu consumo como probiótico auxilia a modular o sistema imune, diminuindo os efeitos da contaminação por glúten na doença celíaca (Håkansson *et al.*, 2019; Oscarsson *et al.*, 2021; Moawad *et al.*, 2023). Maehata *et al.* (2021) apresentaram os benefícios de posbióticos (produtos ou subprodutos metabólicos secretados por bactérias vivas ou liberados após lise bacteriana) e paraprobióticos (células microbianas intactas inativadas) do isolado *L. paracasei* MCC1849, disponível comercialmente desde 2014. Os autores relataram, como os posbióticos e paraprobióticos foram capazes de potencializar a imunidade, ao induzir o aumento nos níveis de interleucinas, acarretando uma melhor resposta a vacinação em idosos, diminuindo a incidência de resfriados, demonstrando seu potencial em modular, não apenas a imunidade da mucosa intestinal, mas

também a imunidade respiratória e sistêmica.

Diferentes estudos demonstram os benefícios da modulação da microbiota, melhorando a imunidade e trazendo benefícios para a prevenção do câncer (Rahne, Basic e Almstahl, 2021; Zhang *et al.*, 2022; Shi *et al.*, 2024). Mousavi Jam *et al.* (2020) em um estudo in vivo, elucidaram que a administração de *L. paracasei* pode prevenir o aparecimento ou o crescimento (proliferação celular) dos tumores, por ter um efeito na modulação da via de apoptose. O mesmo grupo, no ano seguinte, identificou um aumento de 51,4 % na incidência de células apoptóticas, que acarretaram a diminuição no tamanho do tumor colorretal, além da melhora de sintomas como diarreia, sangramento retal, queda de cabelo e emagrecimento (Jam *et al.*, 2021).

Ainda, complementando suas vantagens, foi possível encontrar estudos que demonstram o potencial da *L. paracasei* na exclusão dos mais diversos patógenos como: *Yersinia enterocolitica* subsp. *enterocolitica* (Damodharan *et al.*, 2020), *Staphylococcus aureus* (Jiang *et al.*, 2022), *Salmonella* Typhimurium (Acurcio *et al.*, 2020), *Escherichia coli* (Belguesmia *et al.*, 2020; Madi-Moussa, Coucheney e Drider, 2021), *Candida albicans* (Zheng *et al.*, 2022; García-Gamboa *et al.*, 2022; Cappello *et al.*, 2023).

Embora numerosos estudos tenham fundamentado o potencial de restauração da saúde, a extrapolação dos rótulos probióticos e o grande número de formulações disponíveis parecem tendenciosas, motivo pelo qual, seu uso deve ser avaliado com prudência, uma vez que o uso desenfreado de probióticos carrega potenciais riscos, podendo agravar condições de saúde em grupos vulneráveis (Kothari, Patel e Kim, 2019).

3.7. Desafios na utilização de uma cultura probiótica

As BAL têm sido extensivamente estudadas e uma variedade de gêneros e/ou espécies de BAL são reconhecidas nos Estados Unidos com a denominação “geralmente reconhecido como seguro” (GRAS) e na União Europeia utiliza-se “presunção qualificada de segurança” (status QPS). O status GRAS é bastante concedido aos *Lactococcus* e *Lactobacillus*, enquanto outros gêneros como *Streptococcus* recebem o status GRAS/QPS. No entanto, as espécies de BAL do gênero *Enterococcus* não recebem essa denominação devido à possibilidade de conter patógenos oportunistas (Kamarinou *et al.*, 2022).

Apesar de serem classificados como microrganismos seguros, as BAL

podem adaptar-se ao ambiente através da aquisição de genes de resistência de outras bactérias resistentes através de um mecanismo de transferência horizontal (Colautti *et al.*, 2022). Na prática clínica, muitos problemas estão associados à utilização de probióticos, incluindo a resistência a medicamentos, reações de hipersensibilidade, infecções induzidas por probióticos e sepse, tornando o tratamento anti-infeccioso, mais difícil quando bactérias potencialmente patogênicas se transformam em bactérias patogênicas (Zhang *et al.*, 2024).

Rossi *et al.* (2022) efetuaram um levantamento dos estudos de caso de infecções causadas por probióticos entre os anos de 2019 e 2021, durante esse período foram notificados 48 casos, com o envolvimento de *Lacticaseibacillus rhamnosus*, *Lacticaseibacillus paracasei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus jensenii*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lactiplantibacillus paraplantarum*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *delbrueckii*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus paragasseri*, *Limosilactobacillus fermentum* e *Lactobacillus reuteri*. Entre elas, um derivado de *L. rhamnosus* GG e um *L. paracasei* LP10266, foram caracterizados como cepas causadoras de virulência, indicando um aumento da capacidade de formação de biofilme que favoreceu a patogenicidade.

Recentemente, Zou *et al.* (2023) relataram dois casos, nos quais, ambas pacientes, idosas e imunocomprometidas, receberam cápsulas de *Bacillus licheniformis* como tratamento complementar para diarreia associada a antibióticos. Os autores concluíram que o uso de anticoagulantes associado a prescrição de probióticos agravou o tratamento, acarretando um sangramento intestinal. Esse dano causado à barreira intestinal acabou levando a uma infecção na corrente sanguínea e o *B. licheniformis* acabou se tornando a fonte de infecção bacteriêmica das pacientes. Yelin *et al.* (2019) também alertaram para o risco de bacteremia por *Lactobacillus* em pacientes de unidade de terapia intensiva (UTI) tratados com probióticos. Os autores realizaram análise genômica de amostras sanguíneas e encontraram mutações, além da presença de resistência a antibióticos, comprovando que cepas probióticas podem causar bacteremia diretamente e evoluir de forma adaptativa em pacientes de UTI.

Apesar de uma recente metanálise realizada por Wang *et al.* (2023) comparar os benefícios do uso de probióticos em prematuros, outra metanálise foi publicada no mesmo ano por Sharif *et al.* (2023) e seus autores acreditam que a qualidade das evidências é baixa e mais estudos são necessários. Ainda nesse mesmo ano o órgão governamental dos Estados Unidos que efetua a regulação de

alimentos, Food and Drug Administration (FDA, 2023), emitiu uma nota alertando sobre o perigo do uso de probióticos em prematuros.

Bernatek *et al.* (2022) avaliaram a qualidade de diferentes cápsulas probióticas disponíveis comercialmente e relacionaram a sobrevivência dos microrganismos ao tipo de cápsula utilizada em sua produção. O estudo mostrou uma variação de 1,08 a 3,12 Log₁₀ UFC/mL entre os produtos testados e evidenciou como diferentes formulações podem interferir na sobrevivência ao TGI e em sua eficácia.

No Brasil, encontram-se muitas manipulações farmacêuticas contendo probióticos a venda como suplemento alimentar. A resolução (RE) número 4.162 de 15 de dezembro de 2022 (ANVISA, 2022), proibiu a comercialização de um probiótico que estava à venda no país sem o devido registro sanitário. Esse exemplo, assim como o alerta do FDA, demonstraram a sensibilidade do assunto e ressalta a cautela necessária na utilização de probióticos. Segundo Kullar *et al.* (2023) somente no ano de 2020 o mercado de probióticos movimentou 34,1 bilhões de dólares e as expectativas são que chegue a movimentar 72,9 bilhões de dólares até 2030, motivo pelo qual é tão importante documentar sua segurança e manter a vigilância.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Microrganismo em estudo e condições de cultivo

Lactocaseibacillus paracasei 12B0-2 foi isolado de soro de queijo produzido com leite cru de búfala obtido na Estação Experimental Agronômica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Eldorado do Sul-RS). Esta bactéria foi obtida em trabalho anterior do grupo de pesquisa (dados não publicados) e previamente identificada, com o auxílio de espectrometria de massas *Time of Flight Mass Spectroscopy* (MALDI-TOF/MS) Biotyper 4.0, através da técnica descrita por (Bessède *et al.*, 2011). O isolado foi conservado em glicerol 10 % a -20 °C, e posteriormente reativado em meio de cultura caldo Man Rogosa e Sharpe (MRS) através de incubação a 37 °C por 48 horas.

Culturas indicadoras foram empregadas neste trabalho nos testes de atividade antimicrobiana ou como controles nos ensaios: *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Escherichia coli* ATCC 10536, *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984, *Corynebacterium fimi* NCTC 7547, *Lactobacillus rhamnosus* FAGRON™ (cultura comercial), *Citrobacter freundii* F30, *Enterobacter aerogenes* B01, *Listeria innocua* C08, *Staphylococcus sciuri* A0902, *Proteus hauseri* BJX, *Proteus vulgaris* C30, *Listeria seeligeri* BP OXFORD, *Listeria welshmeri* PF OXF, *Listeria seeligeri* PB PALCAM, *Listeria innocua* L07, *Listeria monocytogenes* 4B, *Listeria seeligeri* BQ OXFORD, *Listeria innocua* 6B, *Listeria monocytogenes* 17078/03, *Listeria innocua* L10, *Listeria monocytogenes* 4C e *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae* 376, *Klebsiella pneumoniae* 378, *Klebsiella pneumoniae* 379, *Klebsiella pneumoniae* 380, *Klebsiella pneumoniae* 381, *Klebsiella pneumoniae* 382, *Clostridium difficile* CTI/HU RT 106 (Fiocruz) e *Clostridium difficile* ES11 (Fiocruz).

As bactérias ácido lácticas foram mantidas em placas de ágar MRS, enquanto as bactérias patogênicas foram conservadas em placas de ágar Trypticase Soy Agar (TSA) cultivadas a 37°C em aerobiose, com exceção as culturas de *Clostridium difficile* que foram cultivadas em placas de BHI a 37°C em anaerobiose (Anaerobac).

4.2. Sequenciamento parcial do gene 16S rDNA e identificação

O microrganismo em estudo teve sua identificação confirmada por meio do sequenciamento parcial do gene 16S rDNA. Para isso, foi realizada a extração do material genético por sua lise térmica (Dashti, Jadaon, Dashti, 2009). Após a extração, utilizou-se os *primers* 27F e 530R (Lane, 1991) na reação em cadeia de polimerase (PCR). Essa reação foi realizada, empregando 2,5 U Taq DNA polimerase (Quatro G Biotecnologia), 0,2 mM dNTP, 50 mM MgCl₂, tampão 10x e 10 pmol de cada oligonucleotídeo, totalizando 25 µL de reação. Os fragmentos de DNA amplificados foram analisados pela empresa ACTGene Análises Moleculares Ltda. (Centro de Biotecnologia, UFRGS, Porto Alegre, RS) utilizando o sequenciador automático *AB 3500 Genetic Analyzer* equipado com capilares de 50 cm e polímero POP7 (*Applied Biosystems*).

Uma árvore filogenética foi construída utilizando o gene 16S rDNA parcial utilizando o software Mega 11: Análise Genética Evolutiva Molecular (Tamura, Stecher e Kumar, 2021), pela metodologia neighbor-joining (Saitou e Nei, 1987).

4.3. Avaliação da inocuidade de *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2

4.3.1. Avaliação da atividade hemolítica

Para avaliar a atividade hemolítica, foi utilizada a metodologia de Angmo *et al.* (2016). Para isso, *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (utilizado como controle positivo) foram cultivados por esgotamento em placas de ágar sangue de carneiro desfibrinado e incubados aerobicamente a 37 °C por 24 horas. Após incubação, as placas foram analisadas quanto à ausência de hemólise (γ hemólise), presença de hemólise total (β hemólise) ou ainda presença de hemólise parcial (α hemólise) dos eritrócitos.

4.3.2. Avaliação da atividade da gelatinase

Para avaliar a atividade da enzima gelatinase, foi realizada a metodologia de Cruz & Torres (2012). *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (utilizado como controle positivo) foram inoculados em tubos contendo 3 mL de meio gelatina nutriente, ambos foram incubados aerobicamente a 37 °C por 48 horas. Após o período de incubação, os tubos foram refrigerados a 4 °C por 30 minutos. Para avaliação dos resultados, os tubos foram levemente inclinados

para analisar se houve a hidrólise da gelatina. A presença de meio líquido após o período de incubação indicou resultado positivo para atividade de gelatinase.

4.3.3. Susceptibilidade a antimicrobianos

Para este teste foi usado o método de disco difusão (Bauer et al., 1966). Dez antimicrobianos foram testados, sendo eles: clindamicina (2 µg), ceftriaxona (30 µg), cloranfenicol (30 µg), vancomicina (30 µg), tetraciclina (30 µg), ciprofloxacina (5 µg), gentamicina (10 µg), eritromicina (15 µg), ampicilina (10 µg) e penicilina G (10 µg). O isolado foi cultivado em ágar MRS a 37 °C por 24 horas e então diluído em solução salina 0,85 % NaCl até atingir 0.5 na escala MacFarland. A suspensão bacteriana foi inoculada na superfície de meio ágar Mueller Hinton (MH) com o auxílio de suabe. Os discos de antibiótico foram posicionados manualmente sobre a superfície do meio de cultivo, e incubados aerobicamente a 37 °C por 24 horas. Os resultados foram determinados com base no diâmetro dos halos de inibição formados após a incubação, sendo classificados como resistentes (R), intermediários (I) ou sensível (S), conforme Charteris *et al.* (1998) e de acordo com os parâmetros estabelecidos pelo *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (BrCast 2019).

4.4. Produção de exopolissacarídeo de *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2

Para avaliar a produção de exopolissacarídeo (EPS), o isolado *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2 e *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (utilizado como controle positivo) foram cultivados em meio ágar vermelho congo de acordo com Freeman, Falkiner e Keane (1989), com modificações. O meio preparado foi composto de caldo Brain Heart Infusion (BHI), acrescido de 37 g/L de sacarose, 1,5 % de ágar ágar, que foram homogeneizados e autoclavados por 20 minutos a 110 °C. Paralelamente, uma solução aquosa concentrada de corante vermelho congo 0,8 g/L foi autoclavada a 121 °C por 15 minutos. Após o término das autoclavagens, a solução aquosa foi incorporada ao restante do meio ao atingir uma temperatura de 55 °C. A bactéria em estudo e o controle positivo foram semeadas por esgotamento em placas separadas e incubadas aerobicamente a 37 °C por até 72 horas, conforme o tempo de crescimento de cada microrganismo. A coloração das colônias foi verificada em 24, 48 e 72 horas. Um resultado positivo foi indicado pela presença de colônias pretas com consistência cristalina seca. Nesse meio de cultivo, colônias não-produtoras de

EPS permanecem rosadas.

4.5. Formação de Biofilme por *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2

Determinou-se a capacidade da formação de biofilme do isolado conforme descrito por Stenopanovic *et al.* (2004). Microplacas de titulação de poliestireno com 96 poços foram utilizadas em octuplicata. Oito poços foram preenchidos com 180 µL de caldo MRS e 20 µL *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2 na escala 0.5 McFarland, poços controle positivo baseados no estudo de Moura *et al.* (2015), foram preenchidos com caldo *Trypticase Soy Broth* (TSB) contendo *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984 na escala de McFarland e como controle negativo utilizou caldo TSB não semeado. A placa foi incubada a 37 °C por 72 horas para fixação das células e formação do biofilme. Em seguida, as amostras foram lavadas em NaCl 0,85 % e fixadas com metanol P.A. Os poços foram corados com cristal violeta 0,1 % e lavados em água destilada estéril. Após secagem, as amostras foram ressuspensas com etanol 95 % e deixadas em repouso por 30 minutos. A densidade óptica (DO) dos biofilmes foi quantificada através de leitor de ELISA. As amostras foram classificadas segundo Masebe e Thantsha (2022) como não formadoras de biofilme ($DO \leq DOc$), fracas formadoras de biofilme ($DOc \leq DO \leq 2x DOc$), moderadas formadoras de biofilme ($2x DOc < DO \leq 4x DOc$) e fortes formadores de biofilme ($4x DOc > DO$), no qual DOc foi definido como a média de DO do controle negativo.

4.6. Avaliação da atividade antimicrobiana de *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2

O *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2 foi avaliado quanto a produção de atividade antimicrobiana, com base na metodologia “Spot-on-the-lawn” de Sabo *et al.* (2020) com modificações. As culturas indicadoras foram bactérias de importância nas áreas clínica e de alimentos: *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Escherichia coli* ATCC 10536, *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; *Corynebacterium fimi* NCTC 7547; *Citrobacter freundii* F30, *Enterobacter aerogenes* B01, *Listeria innocua* C08, *Staphylococcus sciuri* A0902, *Proteus hauseri* BJX, *Proteus vulgaris* C30, *Listeria seeligeri* BP OXFORD, *Listeria welshmeri* PF OXF, *Listeria seeligeri* PB PALCAM, *Listeria innocua* L07, *Listeria monocytogenes* 4B, *Listeria seeligeri* BQ OXFORD, *Listeria innocua* 6B, *Listeria monocytogenes* 17078/03, *Listeria innocua* L10, *Listeria monocytogenes* 4C e

Enterobacter cloacae, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae* 376, *Klebsiella pneumoniae* 378, *Klebsiella pneumoniae* 379, *Klebsiella pneumoniae* 380, *Klebsiella pneumoniae* 381, *Klebsiella pneumoniae* 382.

Para a realização do teste, *L. paracasei* 12B0-2 foi previamente cultivado em meio caldo MRS a 37 °C por 24 horas. Após incubação foi preparado um inóculo (1 % v/v) do *L. paracasei* 12B0-2, o qual foi incubado em microaerofilia a 37 °C por 72 horas, com o intuito de obter uma concentração de aproximadamente 10⁸ UFC/mL. Após o período de incubação, o cultivo foi centrifugado a 10.000 rpm por 15 minutos. Seu sobrenadante livre de células (SLC) foi transferido para um eppendorf e aquecido a 80 °C por 10 minutos. Alíquotas de 20 µL (triplicata) foram pipetadas em placas de ágar Müller Hinton (MH) contendo o microrganismo patogênico na escala 0.5 de McFarland. As placas foram incubadas aerobicamente a 37 °C por 24 horas e a formação de halos de inibição foi observada, sendo os resultados expressos em milímetros (mm).

4.6.1. Avaliação da atividade antimicrobiana de *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2 contra *Clostridium difficile*

O *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2 foi avaliado quanto a produção de atividade antimicrobiana contra uma amostra clínica humana de *Clostridium difficile* CTI/HU RT 106 e uma amostra clínica canina de *Clostridium difficile* ES11, com base na metodologia “Agar spot test” adaptada de Monteiro (2019). Um inóculo (1% v/v) de *L. paracasei* 12B0-2 foi preparado e incubado em microaerofilia a 37 °C por 72 horas. Após o período de incubação, a BAL foi pipetada em triplicatas de 5 µL em placas de ágar MRS e as placas foram incubadas em microaerofilia a 37 °C por 24 horas, solução salina a 0,85 % foi utilizada como controle negativo. Paralelamente, os isolados de *Clostridium difficile* foram incubados em ágar TSA em anaerobiose (Anaerobac). Após incubação, as placas de MRS contendo *L. paracasei* 12B0-2 foram sobrepostas com ágar tioglicolato, sobre o qual foram semeados os isolados de *Clostridium difficile* preparados na escala 1.0 de McFarland. As placas foram incubadas anaerobicamente a 37 °C por 48 horas. Após período de incubação foi observada a formação de halos de inibição, os quais foram expressos em milímetros (mm).

4.7. Avaliação do potencial probiótico de *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2

4.7.1. Tolerância de *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2 ao trato gastrointestinal

Para avaliar a tolerância às condições do TGI, foram realizadas contagens celulares do *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2 por microdiluição, conforme descrito por Miles, Misra e Irwin (1938). Alíquotas foram retiradas e contagens foram realizadas em placas de ágar Plate Count Agar (PCA) em três condições: antes da exposição ao TGI, após exposição ao suco gástrico simulado (SGS) e após exposição ao suco intestinal simulado (SIS) (Iraporda et al., 2019). Para isso, o isolado foi previamente cultivado em meio caldo MRS aerobicamente a 37 °C por 24 horas. Após incubação foi preparado um inóculo (1% v/v), o qual foi incubado aerobicamente a 37 °C por 24 horas. Na sequência, o material foi centrifugado a 9400 rpm por 10 minutos e 2 lavagens em Phosphate-Buffered Saline (PBS) (pH 7,2) foram realizadas. O isolado foi incubado por 1 hora e 30 minutos em suco gástrico simulado contendo: 125 mM NaCl, 7 mM KCl, 45 mM NaHCO₃, 3 g/L de pepsina, pH=2.

Após o término da simulação do SGS, foram realizadas 2 novas lavagens em PBS e o isolado foi incubado por 2 hora e 30 minutos em suco intestinal simulado, composto de: 22 mM NaCl, 3,2 mM KCl, 7,6 mM NaHCO₃, 0,1 % de pancreatina, 0,15 % de sais biliares, pH=8. *Lactobacillus rhamnosus* FAGRON™ foi empregada como controle e os resultados foram comparados com Breyer *et al.* (2021). Os resultados foram expressos em Log₁₀ UFC/mL.

4.7.2. Tolerância de *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2 ao trato gastrointestinal: avaliação por citometria de fluxo

Para avaliar a tolerância do *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2 às condições do TGI por meio da leitura no citômetro de fluxo FACSCalibur BD Biosciences, o experimento foi realizado conforme descrito no item 4.7.1 com adaptações baseadas no estudo de Bunthof *et al.* (2001). Para isso, o isolado *L. paracasei* 12B0-2 foi cultivado por esgotamento em placa de MRS e incubado aerobicamente a 37 °C por 24 horas. A partir desse cultivo, uma colônia isolada foi inoculada em caldo MRS, o qual foi incubado aerobicamente a 37 °C por 24 horas. Esse inóculo, foi centrifugado a 9400 rpm por 10 minutos e 2 lavagens em PBS

(pH 7,2) foram realizadas. A suspensão celular teve sua densidade óptica mensurada (600 nm) e sua concentração foi ajustada com PBS em aproximadamente 0.8 com auxílio de um espectrofotômetro.

Alíquotas foram retiradas para contagem em placas e guardadas para posterior aplicação no citômetro de fluxo, nas seguintes condições: controle de células vivas, controle de células inativadas (suspensão celular autoclavada), contagem inicial do experimento, após SGS e após SIS. Com exceção das células que foram reservadas para controle de células vivas não marcadas, as demais amostras foram marcadas com iodeto de propídio (PI). Para isso, as alíquotas foram centrifugadas, seus pellets foram ressuspensos em 100µL de PBS, essas suspensões celulares foram marcadas com 8µL de PI e incubadas por 15 minutos a temperatura ambiente. Após incubação, as células marcadas foram diluídas em 400 µL de PBS e mensuradas com auxílio do citômetro de fluxo FACSCalibur BD Biosciences.

4.7.3. Capacidade de adesão de *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2 às células Caco-2

Para avaliar a capacidade de adesão do isolado, foi realizada a metodologia descrita por Todorov & Dicks (2008) com modificações, através de cultivos na presença de células Caco-2. As células Caco-2 foram cultivadas em meio essencial mínimo (MEM) suplementado com soro fetal bovino e um inóculo (1% v/v) do *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2 foi preparado, incubado aerobicamente a 37 °C por 24 horas. Após incubação, foram realizadas 2 lavagens em PBS (pH 7,2).

O ensaio foi realizado em placa de 96 poços contendo 2×10^5 células Caco-2 e em cada poço foi inoculada a suspensão do *L. paracasei* 12B0-2 na concentração de 10^8 UFC/mL, a placa foi incubada aerobicamente a 37 °C por 3 horas e alíquotas foram retiradas para contagem em placas de ágar PCA por microdiluição, conforme descrito por Miles, Misra e Irwin (1938). Após a incubação, o sobrenadante foi descartado de cada poço e cuidadosamente foram realizadas 2 lavagens com PBS para remoção das células bacterianas não aderidas às células CaCo-2. O PBS foi removido e TRITON-X 100 0,5 % foi acrescido e homogeneizado em cada poço, após incubação a temperatura ambiente por 10 minutos, as células bacterianas aderidas foram liberadas e novas alíquotas foram retiradas para contagem. Todas as contagens foram realizadas em triplicata.

A porcentagem de adesão bacteriana do *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2

para com as células CaCo-2 foi expressa usando a fórmula $(R_0/R_t) \times 100$, onde R representa a Razão = (concentração de células bacterianas/concentração de células aderidas CaCo-2). R_0 e R_t são a razão inicial e a razão após o período de incubação, respectivamente.

4.7.4. Capacidade de autoagregação

Para avaliar a capacidade de autoagregação do *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2, foi realizada a metodologia de Kumari et al. (2020), com adaptações. *L. paracasei* 12B0-2 foi cultivado em meio caldo MRS aerobicamente a 37 °C por 24 horas. Após o período de incubação, o material foi centrifugado a 8000 rpm por 15 minutos e 2 lavagens em PBS (pH 7,2) foram realizadas. O isolado foi ressuspenso em PBS e sua densidade óptica (600 nm) foi ajustada a aproximadamente 0.5 com auxílio de um espectrofotômetro.

A amostra foi incubada a 37 °C por 24 horas, em triplicata, e durante esse período alíquotas foram retiradas nos tempos inicial (t_0), 3 horas (t_3) e 24 horas (t_{24}) e tiveram sua densidade óptica (600 nm) mensurada em espectrofotômetro. A porcentagem de autoagregação bacteriana do *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2 foi expressa usando a fórmula $(1 - (A_0/A_t)) * 100$, onde A_0 representa a absorbância inicial e A_t representa a absorbância nos demais tempos mensurados.

4.7.5. Capacidade de coagregação

Para avaliar a capacidade de coagregação do *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2 foi realizada a metodologia de Handley et al. (1987) com modificações, foram escolhidos uma bactéria gram positiva e uma gram negativa que fossem patógenos de importância na área clínica e de alimentos, *Escherichia coli* ATCC 10536 e *Listeria monocytogenes* ATCC 7644.

Lacticaseibacillus paracasei 12B0-2 foi cultivado em caldo MRS, *Escherichia coli* ATCC 10536 e *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 foram cultivados em caldo TSB e os inóculos foram incubados aerobicamente a 37 °C por 24 horas, em triplicata. Após o período de incubação, as amostras foram centrifugadas a 8000 rpm por 15 minutos, 2 lavagens em PBS (pH 7,2) foram realizadas e suas densidades ópticas (600 nm) foram ajustadas com PBS em aproximadamente 0.5 com auxílio de um espectrofotômetro. 2 mL de cada solução contendo *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2 foram adicionadas a 2 mL de cada uma das bactérias indicadoras

e após homogeneização suas densidades ópticas (600 nm) foram mensuradas com um espectrofotômetro.

As amostras foram incubadas a 37 °C por 24 horas, em triplicata, e durante esse período foram retiradas alíquotas nos tempos inicial (t0), 3 horas (t3) e 24 horas (t24) e suas densidades ópticas (600 nm) foram medidas. A porcentagem de coagregação bacteriana foi expressa usando a fórmula $\frac{((A_x + A_y) - 2(A_{xy}))}{(A_x + A_y)} * 100$, onde A_x e A_y representam a média das absorbâncias dos microrganismos sozinhos no tempo inicial e A_{xy} representa a absorbância do *pool* de microrganismo nos demais tempos.

4.8. Avaliação da hidrofobicidade de superfície de *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2

A hidrofobicidade da superfície celular foi avaliada de acordo com o método de Lee *et al.* (2017) com adaptações. *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2 foi inoculado em caldo MRS, incubado a 37 °C por 24 horas. Após o período de incubação, o material foi centrifugado a 8000 rpm por 15 minutos e 2 lavagens em PBS (pH 7,2) foram realizadas. O isolado foi ressuspendido em PBS e sua densidade óptica (600 nm) foi padronizada entre 0.6 e 0.8. 2 mL da suspensão celular do *L. paracasei* 12B0-2 foram homogeneizados em vórtex por 5 minutos em 2 mL de solvente n-hexadecano e outros 2 mL em solvente xileno. As misturas foram incubadas a temperatura ambiente por 30 minutos para separação em 2 fases. Após esse período, a densidade óptica (600 nm) da fase aquosa foi medida com um espectrofotômetro. Todas as amostras foram realizadas em triplicata. A afinidade bacteriana para o solvente (hidrofobicidade) foi expressa usando a fórmula $(1 - A_1 / A_0) * 100$, onde A_1 e A_0 , onde A_1 representa a absorbância final da mistura e A_0 representa a absorbância inicial do *L. paracasei* 12B0-2.

4.9. Microencapsulação de *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2

4.9.1. Preparo das microcápsulas de *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2

A viabilidade celular do *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2 microencapsulado foi avaliada conforme Hugues-Ayala *et al.* (2020) com adaptações. *L. paracasei* 12B0-2 foi inoculado em 20 mL de caldo MRS e incubado aerobicamente a 37 °C por 24 horas. Após incubação, o inóculo foi centrifugado a 5050 rpm por

10 minutos e 2 lavagens foram realizadas com água peptonada 0,1 %. Após lavagens e ressuspensão em 5 mL de água peptonada 0,1 %, 3 alíquotas foram retiradas para contagem em placas de PCA por microdiluição, conforme descrito por Miles, Misra e Irwin (1938). A suspensão celular foi homogeneizada em 25 mL de solução de alginato de sódio 2 % e seu conteúdo foi transferido para uma seringa equipada com agulha de 40 x 1,20mm. Esse conteúdo foi ejetado lentamente em 0,05 M CaCl₂ estéril, suplementado com Tween 80 0,1 % sob agitação. Após a formação, as microcápsulas foram mantidas em agitação por 30 minutos a temperatura ambiente para estabilização. Ao término desse período, as microcápsulas foram lavadas em água peptonada para remoção do CaCl₂ e armazenadas em água peptonada a 4°C por 60 dias.

4.9.2. Eficiência de microencapsulação de *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2

Para estimar a eficiência da encapsulação, 1 g de microcápsulas foi disperso em 9 mL de citrato de sódio 1 %, de acordo com Hugues-Ayala *et al.* (2020). Após 5 minutos de vórtex, realizou-se a contagem por microdiluição, conforme descrito por Miles, Misra e Irwin (1938), alíquotas foram retiradas e a contagem foi realizada em placas de ágar PCA em triplicata. A porcentagem de eficiência foi calculada utilizando o valor da alíquota retirada previamente a microencapsulação, conforme descrito no item 4.9.1, pela fórmula: Eficiência= contagem após a microencapsulação/contagem anterior a microencapsulação * 100.

4.9.3. Tolerância de *Lacticaseibacillus paracasei* 12B0-2 microencapsulado ao trato gastrointestinal

O experimento foi realizado conforme descrito no item 4.7.1 com adaptações baseadas no estudo de Bevilacqua *et al.* (2020). Contagens foram realizadas em 3 situações: antes da exposição ao TGI, após exposição ao SGS e após exposição ao SIS. Para isso, 9 tubos contendo 1g de *L. paracasei* 12B0-2 microencapsulado cada foram preparados, 3 tubos para cada estágio da simulação. Para a contagem anterior a exposição do TGI, 3 tubos (triplicata) foram homogeneizados em citrato de sódio 1 % e tiveram sua contagem realizada de acordo com o item 4.9.1.

Os 6 tubos restantes foram expostos ao SGS e incubados conforme o item

4.7.1. Após período de incubação, o SGS foi cuidadosamente retirado e as cápsulas recuperadas. 3 tubos foram imediatamente expostos ao SIS e 3 tubos foram utilizados para contagem após a exposição do SGS. Após incubação do SIS os 3 tubos remanescentes também tiveram suas contagens realizadas.

4.9.4. Manutenção da viabilidade celular por meio da microencapsulação

Lactocaseibacillus paracasei 12B0-2 foi microencapsulado em alginato de sódio 2 % conforme descrito no item 4.9.1. Para avaliar a manutenção da viabilidade celular do *L. paracasei* 12B0-2 microencapsulado a metodologia descrita no item 4.9.2 foi realizada a cada cinco dias por um período de sessenta dias. Os resultados foram expressos em Log_{10} UFC/mL.

7. REFERÊNCIAS

- ABCB – Associação Brasileira de Criadores de Búfalos. Disponível em: <<https://www.bufalo.com.br/home/o-bufalo/>> Acesso em 08 de junho de 2022.
- Acácia Farmácia de Manipulação. Disponível em: <https://www.acaciadeamericana.com.br/simbiotico-disbiose-grave.html?gclid=Cj0KCQiAwwKtBhDrARIsAJj-kTiXh31M7v7HcBzJZ4W0xNEoq-FThrQEn7R85d4JewUD5kMkivh974oaAsvxEALw_wcB> Acesso em 02 de fevereiro de 2024.
- Acurcio LB, Wuyts S, de Cicco Sandes SH, Sant'anna FM, Pedroso SHSP, Bastos RW, Dos Reis DC, Vieira AF, Cassali GD, Lebeer S, de Souza MR, Nicoli JR. Milk Fermented by *Lactobacillus paracasei* NCC 2461 (ST11) Modulates the Immune Response and Microbiota to Exert its Protective Effects Against *Salmonella typhimurium* Infection in Mice. *Probiotics Antimicrob Proteins*. 2020 Dec;12(4):1398-1408. doi: 10.1007/s12602-020-09634-x. PMID: 31970649.
- Akpinar, A. and Yerlikaya, O. (2021) Some potential beneficial properties of *Lactobacillus paracasei* subsp. *Paracasei* and *Leuconostoc mesenteroides* strains originating from raw milk and kefir grains. *J Food Process Preserv* 45, e15986.
- Alfano, A.; D'ambrosio, S.; D'Agostino, A.; Finamore, R.; Schiraldi, C.; Cimini, D. Concentrated Buffalo Whey as Substrate for Probiotic Cultures and as Source of Bioactive Ingredients: A Local Circular Economy Approach towards Reuse of Wastewaters. *Fermentation* 2021, 7, 281. <https://doi.org/10.3390/fermentation7040281>
- Alp D, KuleaŞan H. Determination of competition and adhesion abilities of lactic acid bacteria against gut pathogens in a whole-tissue model. *Biosci Microbiota Food Health*. 2020;39(4):250-258. doi: 10.12938/bmfh.2020-033. Epub 2020 Aug 1. PMID: 33117624; PMCID: PMC7573109.
- Amini E, Salimi F, Imanparast S, Mansour FN. Isolation and characterization of exopolysaccharide derived from *Lactobacillus paracasei* AS20(1) with probiotic potential and evaluation of its antibacterial activity. *Lett Appl Microbiol*. 2022 Oct;75(4):967-981. doi: 10.1111/lam.13771. Epub 2022 Jun 29. PMID: 35716384.
- Angmo, K., Kumari, A., Savitri, and Bhalla, T. C. (2016). Probiotic characterization of lactic acid bacteria isolated from fermented foods and beverage of Ladakh. *LWT Food Sci. Technol*. 66, 428–435.
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA – RDC Nº 241, DE 26 DE JULHO DE 2018 Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2018/rdc0241_26_07_2018.pdf> Acesso em 11 de julho de 2022.
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. INSTRUÇÃO NORMATIVA - IN Nº 76, DE 5 DE NOVEMBRO DE 2020 Disponível em: <<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-in-n-76-de-5-de-novembro-de-2020-287508490>> Acesso em 11 de julho de 2022.
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Lima, TAS; Castro, AKF; Schreiner, LL; Silva, RA; Araujo, ACMF; Vieira, CA; Homerod, DRM; Gaino, DB; Braga, FM; Porto, LBG; Oliveira, LC; Martins, MEV; Goncalves, MF; Angonese, MT; Figueiredo, PM; Zalfa, VMA; Rauber, TL; Vargas, RM; Peretti,

- APR; Moura, CM; Tozetto, LB; Andreotti, PF; Oliveira, AG; Moufarrege, A; Costa, JA; Franca, RR; Lino, RC; Cunha, SC; Novaes, SF. Gerência-Geral de Alimentos. Perguntas&Respostas. ALTERAÇÃO TAXONÔMICA DE ESPÉCIES DO GÊNERO *Lactobacillus*. 1ª Edição. Abril 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/alimentos/perguntas-e-respostas-arquivos/Alteracao-taxonmica-de-linhagens-lactobacillus_1a-versao.pdf> Acesso em 11 de julho de 2022.
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. resolução RE número 4.162 de 15 de dezembro de 2022. Disponível em: < <https://www.in.gov.br/web/dou/-/resolucao-re-n-4.162-de-15-de-dezembro-de-2022-451626840>> Acesso em 02 de fevereiro de 2024.
- Apra G, Mullan WM, Murru N, Fitzgerald G, Buonanno M, Cortesi ML, Prencipe VA, Migliorati G. Multiplex PCR to detect bacteriophages from natural whey cultures of buffalo milk and characterisation of two phages active against *Lactococcus lactis*, ΦApr-1 and ΦApr-2. *Vet Ital*. 2017 Sep 30;53(3):207-214. doi: 10.12834/VetIt.315.1238.3. PMID: 29152703.
- Arellano-Ayala K, Lim J, Yeo S, Bucheli JEV, Todorov SD, Ji Y, Holzapfel WH. Rehydration before Application Improves Functional Properties of Lyophilized *Lactiplantibacillus plantarum* HAC03. *Microorganisms*. 2021 May 8;9(5):1013. doi: 10.3390/microorganisms9051013. PMID: 34066743; PMCID: PMC8150888.
- Argenta AB, De Lima JJ, Nogueira A, Scheer AP. Evaluation of concentration process of bovine, goat and buffalo whey proteins by ultrafiltration. *J Food Sci Technol*. 2021 May;58(5):1663-1672. doi: 10.1007/s13197-020-04675-0. Epub 2020 Aug 6. PMID: 33897005; PMCID: PMC8021684.
- ASCRIBU – Associação Sulina de Criadores de Búfalos Disponível em: < <https://ascribu.com.br/a-ascribu/>> Acesso em 08 de junho de 2022.
- Ballini A, Cantore S, Saini R, Pettini F, Fotopoulou EA, Saini SR, Georgakopoulos IP, Dipalma G, Gargiulo Isacco C, Inchingolo F. Effect of activated charcoal probiotic toothpaste containing *Lactobacillus paracasei* and xylitol on dental caries: a randomized and controlled clinical trial. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2019 May-Jun;33(3):977-981. PMID: 31035741.
- Baliyan N, Dindhoria K, Kumar A, Thakur A, Kumar R. Comprehensive Substrate-Based Exploration of Probiotics From Undistilled Traditional Fermented Alcoholic Beverage '*Lugri*'. *Front Microbiol*. 2021 Mar 12;12:626964. doi: 10.3389/fmicb.2021.626964. PMID: 33776957; PMCID: PMC7994326.
- Bancalari E, Montanari C, Levante A, Alinovi M, Neviani E, Gardini F, Gatti M. *Lactobacillus paracasei* 4341 as adjunct culture to enhance flavor in short ripened Caciotta-type cheese. *Food Res Int*. 2020 Sep;135:109284. doi: 10.1016/j.foodres.2020.109284. Epub 2020 May 5. PMID: 32527479.
- Barajas-Álvarez P, González-Ávila M, Espinosa-Andrews H. 2021. Recent advances in probiotic encapsulation to improve viability under storage and gastrointestinal conditions and their impact on functional food formulation. *Food Rev. Int.* 10.1080/87559129.2021.1928691.
- Battistini C, Herkenhoff ME, de Souza Leite M, Vieira ADS, Bedani R, Saad SMI. Brewer's Spent Grain Enhanced the Recovery of Potential Probiotic Strains in Fermented Milk After Exposure to In Vitro-Simulated Gastrointestinal Conditions. *Probiotics Antimicrob Proteins*. 2023 Apr;15(2):326-337. doi: 10.1007/s12602-021-09839-8. Epub 2021 Sep 7. PMID: 34491541.

- Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol.* 1966 Apr;45(4):493-6. PMID: 5325707.
- Bevilacqua A, Campaniello D, Speranza B, Racioppo A, Altieri C, Sinigaglia M, Corbo MR. Microencapsulation of *Saccharomyces cerevisiae* into Alginate Beads: A Focus on Functional Properties of Released Cells. *Foods.* 2020 Aug 4;9(8):1051. doi: 10.3390/foods9081051. PMID: 32759736; PMCID: PMC7466292.
- Belguesmia Y, Hazime N, Kempf I, Boukherroub R, Drider D. New Bacteriocins from *Lactocaseibacillus paracasei* CNCM I-5369 Adsorbed on Alginate Nanoparticles Are Very Active against *Escherichia coli*. *Int J Mol Sci.* 2020 Nov 17;21(22):8654. doi: 10.3390/ijms21228654. PMID: 33212803; PMCID: PMC7697949.
- Bengoa AA, Dardis C, Gagliarini N, Garrote GL, Abraham AG. Exopolysaccharides From *Lactobacillus paracasei* Isolated From Kefir as Potential Bioactive Compounds for Microbiota Modulation. *Front Microbiol.* 2020 Oct 16;11:583254. doi: 10.3389/fmicb.2020.583254. PMID: 33178165; PMCID: PMC7596202.
- Bengoa AA, Dardis C, Garrote GL, Abraham AG. Health-Promoting Properties of *Lactocaseibacillus paracasei*: A Focus on Kefir Isolates and Exopolysaccharide-Producing Strains. *Foods.* 2021 Sep 22;10(10):2239. doi: 10.3390/foods10102239. PMID: 34681288; PMCID: PMC8534925.
- Bernatek M, Żukiewicz-Sobczak W, Lachowicz-Wiśniewska S, Piątek J. Factors Determining Effective Probiotic Activity: Evaluation of Survival and Antibacterial Activity of Selected Probiotic Products Using an "In Vitro" Study. *Nutrients.* 2022 Aug 13;14(16):3323. doi: 10.3390/nu14163323. PMID: 36014829; PMCID: PMC9413312.
- Besibz. Disponível em: <https://br.carethy.net/nutria-a-o-suplementos/besibz/pf9-com-megaflora-60-caps?r=8470001880727&gad_source=1&gclid=Cj0KCQiAwwKtBhDrARIsAJj-kTgAzDm1_nMFbrdZ9L-HBcDFFqxvILVwZB5LMVYHjZ-iF3e5Uxv_RvkaAlyuEALw_wcB> Acesso em: 02 de fevereiro de 2024
- Bessède E, Angla-gre M, Delagarde Y, Sep Hieng S, Ménard A, Mègraud F. 2011. Matrix-assisted laser-desorption/ionization biotyper: Experience in the routine of a University hospital. *Clin. Microbiol. Infect.* 17: 533-38.
- Bhat B, Bajaj B.K., Hypocholesterolemic potential and bioactivity spectrum of an exopolysaccharide from a probiotic isolate *Lactobacillus paracasei* M7, Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre 19 (2019), 100191, <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2019.100191>
- Bibi A, Xiong Y, Rajoka MSR, Mehwish HM, Radicetti E, Umair M, Shoukat M, Khan MKI, Aadil RM. Recent Advances in the Production of Exopolysaccharide (EPS) from *Lactobacillus* spp. and Its Application in the Food Industry: A Review. *Sustainability.* 2021; 13(22):12429. <https://doi.org/10.3390/su132212429>
- Biswas J, Appasami KP, Gautam H, Mohapatra S, Sood S, Dhawan B, Chaudhry R, Kapil A, Das BK. Tick-tock, beat the clock: comparative analysis of disc diffusion testing with 6-, 10-, and 24-h growth for accelerated antimicrobial susceptibility testing and antimicrobial stewardship. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2023 Aug;42(8):929-943. doi: 10.1007/s10096-023-04611-y. Epub 2023 May 12. PMID: 37171540.

- Bolzon V, Pesando M, Bulfoni M, Nencioni A, Nencioni E. An Integrated Analytical Approach for the Characterization of Probiotic Strains in Food Supplements. *Nutrients*. 2022 Nov 29;14(23):5085. doi: 10.3390/nu14235085. PMID: 36501115; PMCID: PMC9736879.
- Bunthof CJ, Bloemen K, Breeuwer P, Rombouts FM, Abee T. Flow cytometric assessment of viability of lactic acid bacteria. *Appl Environ Microbiol*. 2001 May;67(5):2326-35. doi: 10.1128/AEM.67.5.2326-2335.2001. PMID: 11319119; PMCID: PMC92874. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11319119/> Acesso em: 07 de novembro de 2023
- BrCast – Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Tabelas pontos de corte clínicos. 2019. Brasil. Disponível em: <http://brcast.org.br/documentos/>. Acesso em: 06 jun. 2022.
- Breyer GM, Arechavaleta NN, Siqueira FM, de Souza da Motta A. Characterization of Lactic Acid Bacteria in Raw Buffalo Milk: a Screening for Novel Probiotic Candidates and Their Transcriptional Response to Acid Stress. *Probiotics Antimicrob Proteins*. 2021 Apr;13(2):468-483. doi: 10.1007/s12602-020-09700-4. PMID: 32829420.
- Cappello C, Acin-Albiac M, Pinto D, Polo A, Filannino P, Rinaldi F, Gobbetti M, Di Cagno R. Do nomadic lactobacilli fit as potential vaginal probiotics? The answer lies in a successful selective multi-step and scoring approach. *Microb Cell Fact*. 2023 Feb 11;22(1):27. doi: 10.1186/s12934-023-02030-4. PMID: 36774510; PMCID: PMC9921609.
- Carvalho FM, Teixeira-Santos R, Mergulhão FJM, Gomes LC. The Use of Probiotics to Fight Biofilms in Medical Devices: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Microorganisms*. 2020 Dec 23;9(1):27. doi: 10.3390/microorganisms9010027. PMID: 33374844; PMCID: PMC7824608.
- Chamignon C, Guéneau V, Medina S, Deschamps J, Gil-Izquierdo A, Briandet R, Mousset P-Y, Langella P, Lafay S, Bermúdez-Humarán LG. Evaluation of the Probiotic Properties and the Capacity to Form Biofilms of Various *Lactobacillus* Strains. *Microorganisms*. 2020; 8(7):1053. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8071053>
- Charteris WP, Kelly PM, Morelli L, Collins JK. Antibiotic susceptibility of potentially probiotic *Lactobacillus* species. *J Food Prot*. 1998 Dec;61(12):1636-43. doi: 10.4315/0362-028x-61.12.1636. PMID: 9874341.
- Chen D, Guo C, Ren C, Xia Z, Xu H, Qu H, Wa Y, Guan C, Zhang C, Qian J, Gu R. Screening of *Lactiplantibacillus plantarum* 67 with Strong Adhesion to Caco-2 Cells and the Effects of Protective Agents on Its Adhesion Ability during Vacuum Freeze Drying. *Foods*. 2023 Sep 28;12(19):3604. doi: 10.3390/foods12193604. PMID: 37835257; PMCID: PMC10572606.
- Chen LA, Hourigan SK, Grigoryan Z, Gao Z, Clemente JC, Rideout JR, Chirumamilla S, Rabidazeh S, Saeed S, Elson CO, Oliva-Hemker M, Blaser MJ, Sears CL. Decreased Fecal Bacterial Diversity and Altered Microbiome in Children Colonized With *Clostridium difficile*. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2019 Apr;68(4):502-508. doi: 10.1097/MPG.0000000000002210. PMID: 30540709.
- Chen T, Li B, Zheng K, Liu Y, Zhang Z, Hu H, Qian G, Jiang J. *Lactobacillus paracasei* R3 Alleviates Tumor Progression in Mice with Colorectal Cancer. *Curr Microbiol*. 2023 Dec 13;81(1):38. doi: 10.1007/s00284-023-03525-4. PMID: 38091085.

- Chen Z, Xie Y, Luo J, Chen T, Xi Q, Zhang Y, Sun J. Milk exosome-derived miRNAs from water buffalo are implicated in immune response and metabolism process. *BMC Vet Res.* 2020 Apr 29;16(1):123. doi: 10.1186/s12917-020-02339-x. PMID: 32349776; PMCID: PMC7191744.
- Colautti A, Arnoldi M, Comi G, Iacumin L. Antibiotic resistance and virulence factors in lactobacilli: something to carefully consider. *Food Microbiol.* 2022 May;103:103934. doi: 10.1016/j.fm.2021.103934. Epub 2021 Nov 8. PMID: 35082060.
- Conceição RCN, Batista RD, Leal Zimmer FMDA, Trindade IKM, de Almeida AF, Santos CCADA. Effect of co-encapsulation using a calcium alginate matrix and fructooligosaccharides with gelatin coating on the survival of *Lactobacillus paracasei* cells. *Braz J Microbiol.* 2021 Sep;52(3):1503-1512. doi: 10.1007/s42770-021-00484-5. Epub 2021 Apr 10. PMID: 33840071; PMCID: PMC8324630.
- Cruz, T. E. E.; Torres, J. M. O. Gelatin hydrolysis test protocol. Washington: Microbial Library American Society for Microbiology, 2012.
- Cuffia F, Bergamini CV, Hynes ÉR, Wolf IV, Perotti MC. Evaluation of autochthonous cultures to improve the cheese flavor: A case study in hard cheese model. *Food Sci Technol Int.* 2020 Mar;26(2):173-184. doi: 10.1177/1082013219881512. Epub 2019 Oct 11. PMID: 31604385.
- Cui HL, Li MF, Liu SY, Yu M, Lou WY. Regulation of Hepatocellular Cholesterol Metabolism By *Lactobacillus Paracasei* BY2 and Its Embedding Delivery. *Probiotics Antimicrob Proteins.* 2024 Feb;16(1):181-195. doi: 10.1007/s12602-022-10023-9. Epub 2022 Dec 16. PMID: 36525182.
- Damodharan K, Palaniyandi SA, Suh JW, Yang SH. Probiotic Characterization of *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* KNI9 Inhibiting Adherence of *Yersinia enterocolitica* on Caco-2 Cells In Vitro. *Probiotics Antimicrob Proteins.* 2020 Jun;12(2):600-607. doi: 10.1007/s12602-019-09535-8. PMID: 31289994.
- Das DJ, Shankar A, Johnson JB, Thomas S. Critical insights into antibiotic resistance transferability in probiotic *Lactobacillus*. *Nutrition.* 2020 Jan;69:110567. doi: 10.1016/j.nut.2019.110567. Epub 2019 Aug 13. PMID: 31733594.
- Dashti, A.A.; Jadaon, M.M.; Dashti, H. Heat Treatment of Bacteria: A Simple Method of DNA Extraction for Molecular Techniques. *Kuwait Medical Journal*, v. 41, n. 2, p. 117-122, 2009.
- Davey H, Guyot S. Estimation of Microbial Viability Using Flow Cytometry. *Curr Protoc Cytom.* 2020 Jun;93(1):e72. doi: 10.1002/cpcy.72. PMID: 32289207.
- Decadt H, Weckx S, De Vuyst L. The rotation of primary starter culture mixtures results in batch-to-batch variations during Gouda cheese production. *Front Microbiol.* 2023 Feb 16;14:1128394. doi: 10.3389/fmicb.2023.1128394. PMID: 36876114; PMCID: PMC9978159.
- Dehghani Champiri I, Bamzadeh Z, Rahimi E, Rouhi L. *Lacticaseibacillus paracasei* LB12, a Potential Probiotic Isolated from Traditional Iranian Fermented Milk (Doogh). *Curr Microbiol.* 2023 Sep 2;80(10):333. doi: 10.1007/s00284-023-03376-z. PMID: 37658854.
- Delikanlı-Kiyak B, Yılmaz İ. Metataxonomic Sequencing to Assess Microbial Safety of Buffalo Yogurts in Amasra Region. *Foodborne Pathog Dis.* 2024 Feb;21(2):134-136. doi: 10.1089/fpd.2023.0082. Epub 2023 Nov 3. PMID: 37917929.

- Devarajan A, Mudgil P, Aldhaheeri F, Hamed F, Dhital S, Maqsood S. Camel milk-derived probiotic strains encapsulated in camel casein and gelatin complex microcapsules: Stability against thermal challenge and simulated gastrointestinal digestion conditions. *J Dairy Sci.* 2022 Mar;105(3):1862-1877. doi: 10.3168/jds.2021-20745. Epub 2022 Jan 5. PMID: 34998543.
- Dong J, Wang S, Li M, Liu J, Sun Z, Mandlaa, Chen Z. Application of a Chitosan-based Active Packaging Film Prepared with Cell-free Supernatant of *Lactobacillus paracasei* ALAC-4 in Mongolian Cheese Preservation. *J Food Prot.* 2023 Dec;86(12):100158. doi: 10.1016/j.jfp.2023.100158. Epub 2023 Sep 11. PMID: 37699510.
- D'Onofre Couto B, Novaes da Costa R, Castro Laurindo W, Moraes da Silva H, Rocha da Silva C, Sélia Dos Reis Coimbra J, Barbosa Mageste A, de Cássia Dias S, José Boggione Santos I. Characterization, techno-functional properties, and encapsulation efficiency of self-assembled β -lactoglobulin nanostructures. *Food Chem.* 2021 Sep 15;356:129719. doi: 10.1016/j.foodchem.2021.129719. Epub 2021 Mar 30. PMID: 33831831.
- Drogaria Minas-Brasil. Disponível em: <<https://www.drogariaminasbrasil.com.br/lactobacillus-paracasei-reducao-peso-corporal-30-capsulas>> Acesso em: 02 de fevereiro de 2024.
- Du C, Deng TX, Zhou Y, Ghanem N, Hua GH. Bioinformatics analysis of candidate genes for milk production traits in water buffalo (*Bubalus bubalis*). *Trop Anim Health Prod.* 2020 Jan;52(1):63-69. doi: 10.1007/s11250-019-01984-1. Epub 2019 Jul 18. PMID: 31321660.
- Duan X., Duan S., Wang Q., Ji R., Cao Y., Miao J. Effects of the natural antimicrobial substance from *Lactobacillus paracasei* FX-6 on shelf life and microbial composition in chicken breast during refrigerated storage, *Food Control* 109 (2020) 106906–106915, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019>
- Duncan PI, Aitio O, Heiskanen A, Niemelä R, Saarinen J, Helin J, Porta N, Fiaux M, Moënnoz D, Golliard M, Cherbut C, Berrocal R, Austin S, Sprenger N. Structure and Function of Bovine Whey Derived Oligosaccharides Showing Synbiotic Epithelial Barrier Protective Properties. *Nutrients.* 2020 Jul 6;12(7):2007. doi: 10.3390/nu12072007. PMID: 32640639; PMCID: PMC7400958.
- El Hage R, El Hage J, Snini SP, Ammoun I, Touma J, Rachid R, Mathieu F, Sabatier JM, Abi Khattar Z, El Rayess Y. The Detection of Potential Native Probiotics *Lactobacillus* spp. against *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Infantis and *Salmonella* Kentucky ST198 of Lebanese Chicken Origin. *Antibiotics* (Basel). 2022 Aug 24;11(9):1147. doi: 10.3390/antibiotics11091147. PMID: 36139927; PMCID: PMC9495222.
- El Issaoui, K., Senhaji, N.S., Wieme, A., Abrini, J., & Khay, E.O.. (2022). Probiotic Properties and Physicochemical Potential of Lactic Acid Bacteria Isolated from Moroccan Table Olives. *JOURNAL OF FOOD QUALITY AND HAZARDS CONTROL*, 9(3), 169-178. SID. <https://sid.ir/paper/1073846/en>
- Eldawy MH, Lashen ME, Badr HM, Farouk MH. Milk production potential and reproductive performance of Egyptian buffalo cows. *Trop Anim Health Prod.* 2021 Apr 22;53(2):282. doi: 10.1007/s11250-021-02722-2. PMID: 33890173.
- Escrivá L, Agahi F, Vila-Donat P, Mañes J, Meca G, Manyes L. Bioaccessibility Study of Aflatoxin B₁ and Ochratoxin A in Bread Enriched with Fermented Milk Whey and/or Pumpkin. *Toxins* (Basel). 2021 Dec 22;14(1):6. doi: 10.3390/toxins14010006. PMID: 35050983; PMCID: PMC8779489.

- Falfán-Cortés RN, Mora-Peñaflor N, Gómez-Aldapa CA, Rangel-Vargas E, Acevedo-Sandoval OA, Franco-Fernández MJ, Castro-Rosas J. Characterization and Evaluation of the Probiotic Potential In Vitro and In Situ of *Lactobacillus paracasei* Isolated from Tenate Cheese. *J Food Prot.* 2022 Jan 1;85(1):112-121. doi: 10.4315/JFP-21-021. PMID: 34324685.
- Falsafi SR, Karaca AC, Deng L, Wang Y, Li, Askari G, Rostamabadi H, Insights into whey protein-based carriers for targeted delivery and controlled release of bioactive components, *Food Hydrocoll.* 133 (2022), 108002, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108002>.
- FAO/WHO – Food and Agriculture Organization and World Health Organization Expert Consultation. Evaluation of health and nutritional properties of powder milk and live lactic acid bacteria. Córdoba, Argentina: Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization; 2001. Disponível em: < <https://www.fao.org/3/a0512e/a0512e.pdf>> Acesso em: 11 de julho de 2022
- FAO – Food and Agriculture Organization. Gateway to dairy production and products. Disponível em: <<https://www.fao.org/dairy-production-products/production/dairy-animals/buffaloes/en/>> Acesso em: 15 de novembro de 2023.
- FAOSTAT - The Food and Agriculture Organization Corporate Statistical. Crops and Livestock products. Relatórios disponíveis de 1961 a 2022. Disponível em: <<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>> Acesso em: 15 de novembro de 2023.
- Farid W, Masud T, Sohail A, Ahmad N, Naqvi SMS, Khan S, Ali A, Khalifa SA, Hussain A, Ali S, Saghir M, Siddeeg A, Manzoor MF. Gastrointestinal transit tolerance, cell surface hydrophobicity, and functional attributes of *Lactobacillus Acidophilus* strains isolated from Indigenous Dahi. *Food Sci Nutr.* 2021 Jul 13;9(9):5092-5102. doi: 10.1002/fsn3.2468. PMID: 34532018; PMCID: PMC8441270.
- FDA Food and Drug Administration. WARNING REGARDING USE OF PROBIOTICS IN PRETERM INFANTS. Disponível em: <<https://www.fda.gov/media/172606/download?attachment>>. Acesso em: 02 de fevereiro de 2024
- Fharmonat <<https://www.fharmonat.pt/produtos/slim-limao-duo-fibras-30-comprimidos-2/>> Acesso em: 02 de fevereiro de 2024
- Fijan, S. Probiotics and Their Antimicrobial Effect. *Microorganisms* 2023, 11, 528. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020528>
- Flor de Lis manipulação e medicamentos. Disponível em: <<https://www.farmacიაflordelis.com.br/saude-e-bem-estar/funcao-intestinal/lactobacillus-paracasei-2-bilhoes-ufc>> Acesso em: 02 de fevereiro de 2024.
- Fonseca HC, de Sousa Melo D, Ramos CL, Dias DR, Schwan RF. Probiotic Properties of Lactobacilli and Their Ability to Inhibit the Adhesion of Enteropathogenic Bacteria to Caco-2 and HT-29 Cells. *Probiotics Antimicrob Proteins.* 2021 Feb;13(1):102-112. doi: 10.1007/s12602-020-09659-2. PMID: 32415515.
- FQM FARMA. Disponível em: < <https://www.fqmgrupo.com.br/fqmfarma/produtos>> Acesso em 02 de fevereiro de 2024.

- Freeman DJ, Falkiner FR, Keane CT. New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. *J Clin Pathol*. 1989 Aug;42(8):872-4. doi: 10.1136/jcp.42.8.872. PMID: 2475530; PMCID: PMC1142068.
- Freitas AC, Stafuzza NB, Barbero MMD, Santos DJA, Fortes MRS, Tonhati H. Polymorphisms in major histocompatibility complex genes and its associations with milk quality in Murrah buffaloes. *Trop Anim Health Prod*. 2020 Jan;52(1):415-423. doi: 10.1007/s11250-019-02030-w. Epub 2019 Aug 5. PMID: 31385169.
- Galdino ABS, Anaya K, Barbosa IM, Borba LHF, Silva EGSO, Macêdo CS, Ribeiro CVDM, Oliveira JPF, Rangel AHN. Nutritional and physicochemical quality of formulations based on colostrum and bovine whey. *PLoS One*. 2022 May 2;17(5):e0267409. doi: 10.1371/journal.pone.0267409. PMID: 35500007; PMCID: PMC9060355.
- Galdino, I. K. C. P. O., Oliveira, M. M., Oliveira, A. T., da Silva, G. M., de Oliveira, T. A., dos Santos, K. M. O., et al. (2021). Fermentative behavior of native lactobacilli in goat milk and their survival under in vitro simulated gastrointestinal conditions. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie*, 135, Article 109905.
- Garau V, Manis C, Scano P, Caboni P. Compositional Characteristics of Mediterranean Buffalo Milk and Whey. *Dairy*. 2021; 2(3):469-488. <https://doi.org/10.3390/dairy2030038>
- García-Gamboa R, Domínguez-Simi MÁ, Gradilla-Hernández MS, Bravo-Madrigal J, Moya A, González-Avila M. Antimicrobial and Antibiofilm Effect of Inulin-Type Fructans, Used in Synbiotic Combination with *Lactobacillus* spp. Against *Candida albicans*. *Plant Foods Hum Nutr*. 2022 Jun;77(2):212-219. doi: 10.1007/s11130-022-00966-3. Epub 2022 Apr 23. PMID: 35461373.
- Giblin L, Yalçın AS, Biçim G, Krämer AC, Chen Z, Callanan MJ, Arranz E, Davies MJ. Whey proteins: targets of oxidation, or mediators of redox protection. *Free Radic Res*. 2019;53(sup1):1136-1152. doi: 10.1080/10715762.2019.1632445. Epub 2019 Sep 12. PMID: 31510814.
- Girolodi, M., Grambusch, I.M., Schlabitz, C., Kuhn, D., Lehn, D.N. and Volken de Souza, C.F. (2022), Encapsulation of protein hydrolysates by spray drying: feasibility of using buffalo whey proteins. *Int J Food Sci Technol*, 57: 3419-3427. <https://doi.org/10.1111/ijfs.15665>
- Goderska K, Agudo Pena S. An in vitro gastrointestinal model to evaluate the tolerance of encapsulated *Lactobacillus* and *Lactococcus* strains with synbiotic containing lactobionic acid via lyophilization technique to harsh gastric conditions during storage time. *Eur J Pharm Biopharm*. 2023 Nov 13:S0939-6411(23)00301-6. doi: 10.1016/j.ejpb.2023.11.012. Epub ahead of print. PMID: 37967725.
- Godinho FMS, Krug M, Figueiredo RP, Müller A, Jank L, Tomaszewski CA, Hillesheim DR, Kinast ÉJ, Frazzon APG, Motta AS. Microbiological and physicochemical characteristics of buffalo milk used for dairy products in southern Brazil. *J Dairy Res*. 2020 Nov;87(4):463-468. doi: 10.1017/S002202992000093X. Epub 2020 Oct 30. PMID: 33121547.
- Gu, Y., Li, X., Xiao, R., Dudu, O. E., Yang, L., & Ma, Y. (2020). Impact of *Lactobacillus paracasei* IMC502 in coculture with traditional starters on volatile and non-volatile metabolite profiles in yogurt. *Process Biochemistry*, 99, 61–69. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2020.07.003>
- Gu Y, Chen H, Li X, Li D, Sun Y, Yang L, Ma Y, Chan ECY. *Lactobacillus paracasei*

- IMC 502 ameliorates type 2 diabetes by mediating gut microbiota-SCFA-hormone/inflammation pathway in mice. *J Sci Food Agric.* 2023 Apr;103(6):2949-2959. doi: 10.1002/jsfa.12267. Epub 2022 Nov 1. PMID: 36221226.
- Gunaratnam S, Diarra C, Paquette PD, Ship N, Millette M, Lacroix M. The Acid-Dependent and Independent Effects of *Lactobacillus acidophilus* CL1285, *Lactocaseibacillus casei* LBC80R, and *Lactocaseibacillus rhamnosus* CLR2 on *Clostridioides difficile* R20291. *Probiotics Antimicrob Proteins.* 2021 Aug;13(4):949-956. doi: 10.1007/s12602-020-09729-5. Epub 2021 Jan 25. PMID: 33492661.
- Guo, M.; Wang, G. History of Whey Production and Whey Protein Manufacturing. In *Whey Protein Production, Chemistry, Functionality, and Applications*; Guo, M., Ed.; JohnWiley & Sons: Hoboken, NJ, USA, 2019; pp. 1–12.
- Guo N, Lv LL. Mechanistic insights into the role of probiotics in modulating immune cells in ulcerative colitis. *Immun Inflamm Dis.* 2023 Oct;11(10):e1045. doi: 10.1002/iid3.1045. PMID: 37904683; PMCID: PMC10571014.
- Habib, B., Vaid, S., Bangotra, R. *et al.* Bioprospecting of probiotic lactic acid bacteria for cholesterol lowering and exopolysaccharide producing potential. *Biologia* 77, 1931–1951 (2022). <https://doi.org/10.1007/s11756-022-01058-y>
- Håkansson Å, Andrén Aronsson C, Brundin C, Oscarsson E, Molin G, Agardh D. Effects of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus paracasei* on the Peripheral Immune Response in Children with Celiac Disease Autoimmunity: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Clinical Trial. *Nutrients.* 2019 Aug 16;11(8):1925. doi: 10.3390/nu11081925. PMID: 31426299; PMCID: PMC6723580.
- Han C, Xiao Y, Liu E, Su Z, Meng X, Liu B. Preparation of Ca-alginate-whey protein isolate microcapsules for protection and delivery of *L. bulgaricus* and *L. paracasei*. *Int J Biol Macromol.* 2020 Nov 15;163:1361-1368. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.07.247. Epub 2020 Jul 31. PMID: 32745547.
- Han J, Zhang B, Zhang Y, Yin T, Cui Y, Liu J, Yang Y, Song H, Shang D. Gut microbiome: decision-makers in the microenvironment of colorectal cancer. *Front Cell Infect Microbiol.* 2023 Dec 12;13:1299977. doi: 10.3389/fcimb.2023.1299977. PMID: 38156313; PMCID: PMC10754537.
- Handley PS, Harty DW, Wyatt JE, Brown CR, Doran JP, Gibbs AC. A comparison of the adhesion, coaggregation and cell-surface hydrophobicity properties of fibrillar and fimbriate strains of *Streptococcus salivarius*. *J Gen Microbiol.* 1987 Nov;133(11):3207-17. doi: 10.1099/00221287-133-11-3207. PMID: 2895798.
- Hanlon M, Choi J, Goddik L, Park SH. Microbial and chemical composition of Cheddar cheese supplemented with prebiotics from pasteurized milk to aging. *J Dairy Sci.* 2022 Mar;105(3):2058-2068. doi: 10.3168/jds.2021-21167. Epub 2022 Jan 5. PMID: 34998558.
- Hao M, Jiang J, Zhang Y, Wang S, Fu G, Zou F, Xie Y, Zhao S, Li W. Transcriptional profiling of buffalo mammary gland with different milk fat contents. *Gene.* 2021 Nov 15;802:145864. doi: 10.1016/j.gene.2021.145864. Epub 2021 Aug 2. PMID: 34352300.
- Hernández-Castellano LE, Nally JE, Lindahl J, Wanapat M, Alhidary IA, Fangueiro D, Grace D, Ratto M, Bambou JC, de Almeida AM. Dairy science and health in the tropics: challenges and opportunities for the next decades. *Trop Anim Health Prod.* 2019 Jun;51(5):1009-1017. doi: 10.1007/s11250-019-01866-6. PMID: 30911961.

- Hill D, Sugrue I, Tobin C, Hill C, Stanton C, Ross RP. The *Lactobacillus casei* Group: History and Health Related Applications. *Front Microbiol.* 2018 Sep 10;9:2107. doi: 10.3389/fmicb.2018.02107. PMID: 30298055; PMCID: PMC6160870.
- Hooshdar P., Kermanshahi R.K., Ghadam P., Khosravi-Darani K. A review on production of exopolysaccharide and biofilm in probiotics like Lactobacilli and methods of analysis. *Biointerface Res. Appl. Chem.* 2020;10:6058–6075.
- Hu CH, Ren LQ, Zhou Y, Ye BC. Characterization of antimicrobial activity of three *Lactobacillus plantarum* strains isolated from Chinese traditional dairy food. *Food Sci Nutr.* 2019 Apr 29;7(6):1997-2005. doi: 10.1002/fsn3.1025. PMID: 31289647; PMCID: PMC6593389.
- Huang CH, Li SW, Huang L, Watanabe K. Identification and Classification for the *Lactobacillus casei* Group. *Front Microbiol.* 2018 Aug 22;9:1974. doi: 10.3389/fmicb.2018.01974. PMID: 30186277; PMCID: PMC6113361.
- Hugues-Ayala, A. M., Sarabia-Sainz, J. A. I., González-Rios, H., Vázquez-Moreno, L., & Ramos-Clamont Montfort, G. (2020). Airbrush encapsulation of *Lactobacillus rhamnosus* GG in dry microbeads of alginate coated with regular buttermilk proteins. *LWT*, 117, Article 108639. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108639>
- Huligere SS, Kumari V B C, Desai SM, Wong LS, Firdose N, Ramu R. Investigating the antidiabetic efficacy of dairy-derived *Lactocaseibacillus paracasei* probiotic strains: modulating α -amylase and α -glucosidase enzyme functions. *Front Microbiol.* 2023 Dec 4;14:1288487. doi: 10.3389/fmicb.2023.1288487. PMID: 38111646; PMCID: PMC10725979.
- Icer, M.A.; Özbay, S.; Ağagündüz, D.; Kelle, B.; Bartkiene, E.; Rocha, J.M.F.; Ozogul, F. The Impacts of Acidophilic Lactic Acid Bacteria on Food and Human Health: A Review of the Current Knowledge. *Foods* 2023, 12, 2965. <https://doi.org/10.3390/foods12152965>
- Iraporda C, Rubel IA, Manrique GD, Abraham AG. 2019. Influence in inulin rich carbohydrates from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers on probiotic properties of *Lactobacillus* strains. *LWT Food Sci. Tech.* 101: 738-46.
- Jam, S.A.M.; Talebi, M.; Alipour, B.; Khosroushahi, A.Y. The therapeutic effect of potentially probiotic *Lactobacillus paracasei* on dimethylhydrazine induced colorectal cancer in rats. *Food Biosci.* 2021, 41, 101097.
- Jankiewicz M, Łukasik J, Kotowska M, Kołodziej M, Szajewska H. Strain-Specificity of Probiotics in Pediatrics: A Rapid Review of the Clinical Evidence. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2023 Feb 1;76(2):227-231. doi: 10.1097/MPG.0000000000003675. Epub 2022 Dec 1. PMID: 36563089.
- Jarocki P, Komoń-Janczara E, Glibowska A, Dworniczak M, Pytka M, Korzeniowska-Kowal A, Wzorek A, Kordowska-Wiater M. Molecular Routes to Specific Identification of the *Lactobacillus Casei* Group at the Species, Subspecies and Strain Level. *Int J Mol Sci.* 2020 Apr 13;21(8):2694. doi: 10.3390/ijms21082694. PMID: 32294944; PMCID: PMC7216162.
- Jia G, Liu X, Zhi A, Li J, Wu Y, Zhang Y. Characterization and Selection of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus paracasei* for prevention of oral bacterial infections from Chinese pickle. *AMB Express.* 2021 Jun 9;11(1):84. doi: 10.1186/s13568-021-01245-1. PMID: 34109457; PMCID: PMC8190212.
- Jiang X, Shekarforoush E, Muhammed MK, Whitehead K, Simonsen AC, Arneborg N, Risbo J. Efficient chemical hydrophobization of lactic acid bacteria - One-

- step formation of double emulsion. *Food Res Int.* 2021 Sep;147:110460. doi: 10.1016/j.foodres.2021.110460. Epub 2021 May 31. PMID: 34399460.
- Jiang YH, Xin WG, Yang LY, Ying JP, Zhao ZS, Lin LB, Li XZ, Zhang QL. A novel bacteriocin against *Staphylococcus aureus* from *Lactobacillus paracasei* isolated from Yunnan traditional fermented yogurt: Purification, antibacterial characterization, and antibiofilm activity. *J Dairy Sci.* 2022 Mar;105(3):2094-2107. doi: 10.3168/jds.2021-21126. PMID: 35180941.
- Johnson D, Letchumanan V, Thum CC, Thurairajasingam S, Lee LH. A Microbial-Based Approach to Mental Health: The Potential of Probiotics in the Treatment of Depression. *Nutrients.* 2023 Mar 13;15(6):1382. doi: 10.3390/nu15061382. PMID: 36986112; PMCID: PMC10053794.
- Juntarachot N, Sunpaweravong S, Kaewdech A, Wongsuwanlert M, Ruangsri P, Pahumunto N, Teanpaisan R. Characterization of adhesion, anti-adhesion, co-aggregation, and hydrophobicity of *Helicobacter pylori* and probiotic strains. *J Taibah Univ Med Sci.* 2023 Mar 10;18(5):1048-1054. doi: 10.1016/j.jtumed.2023.02.017. PMID: 36969318; PMCID: PMC10031481.
- Kaewarsar E, Chaivasut C, Lailerd N, Makhamrueang N, Peerajan S, Sirilun S. Effects of Synbiotic *Lactocaseibacillus paracasei*, *Bifidobacterium breve*, and Prebiotics on the Growth Stimulation of Beneficial Gut Microbiota. *Foods.* 2023 Oct 20;12(20):3847. doi: 10.3390/foods12203847. PMID: 37893739; PMCID: PMC10606279.
- Kahraman, B., Şenol, B. M., Dertli, E., Arici, M. (2024). A Comparative Study of *Bacillus* Spp. Isolated from Various Sources and Commercial Food Supplements and Evaluation of Some Probiotic Properties. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 21(1), 265-276. <https://doi.org/10.33462/jotaf.1329533>
- Kalakuntla AS, Nalakonda G, Nalakonda K, Pidikiti CV, Aasim SA. Probiotics and *Clostridium Difficile*: A Review of Dysbiosis and the Rehabilitation of Gut Microbiota. *Cureus.* 2019 Jul 2;11(7):e5063. doi: 10.7759/cureus.5063. PMID: 31516774; PMCID: PMC6721914.
- Kamarinou CS, Papadopoulou OS, Doulgeraki AI, Tassou CC, Galanis A, Chorianopoulos NG, Argyri AA. Mapping the Key Technological and Functional Characteristics of Indigenous Lactic Acid Bacteria Isolated from Greek Traditional Dairy Products. *Microorganisms.* 2022 Jan 23;10(2):246. doi: 10.3390/microorganisms10020246. PMID: 35208701; PMCID: PMC8875946.
- Kamarinou CS, Papadopoulou OS, Doulgeraki AI, Tassou CC, Galanis A, Chorianopoulos NG, Argyri AA. Application of multi-functional lactic acid bacteria strains in a pilot scale feta cheese production. *Front Microbiol.* 2023 Oct 11;14:1254598. doi: 10.3389/fmicb.2023.1254598. PMID: 37886066; PMCID: PMC10598639.
- Kardooni Z, Alizadeh Behbahani B, Jooyandeh H, Noshad M. Assessing Protection Mechanisms against *Escherichia coli* by Analyzing Auto-and Co-Aggregation, Adhesion Ability, Antagonistic Activity and Safety Characteristics of Potentially Probiotic *Lactobacillus acidophilus* B103. *Nutr Food Sci Res* 2023; 10 (1) :11-21
- Kavas N, Kavas G, Kinik Ö, Ates M, Kaplan M, Şatir G. Symbiotic microencapsulation to enhance *Bifidobacterium longum* and *Lactobacillus paracasei* survival in goat cheese. *Food Sci Technol [Internet].* 2022;42:e55620. Available from: <https://doi.org/10.1590/fst.55620>
- Khakhariya, R., Sakure, A. A., Maurya, R., Bishnoi, M., Kondepudi, K. K., Padhi,

- S., Hati, S. (2023). A comparative study of fermented buffalo and camel milk with antiinflammatory, ACE-inhibitory and anti-diabetic properties and release of bio active peptides with molecular interactions: In vitro, in silico and molecular study. *Food Bioscience*, 52. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102373>
- Khan A, Singh K, Jaiswal S, Raza M, Jasrotia RS, Kumar A, Gurjar AKS, Kumari J, Nayan V, Iquebal MA, Angadi UB, Rai A, Datta TK, Kumar D. Whole-Genome-Based Web Genomic Resource for Water Buffalo (*Bubalus bubalis*). *Front Genet*. 2022 Apr 11;13:809741. doi: 10.3389/fgene.2022.809741. PMID: 35480326; PMCID: PMC9035531.
- Khanna HN, Roy S, Shaikh A, Bandi V. Emerging Role and Place of Probiotics in the Management of Pediatric Neurodevelopmental Disorders. *Euroasian J Hepatogastroenterol*. 2022 Jul-Dec;12(2):102-108. doi: 10.5005/jp-journals-10018-1384. PMID: 36959989; PMCID: PMC10028704.
- Kieps J, Juzwa W, Olejnik A, Sip A, Tomaszewska-Gras J, Dembczyński R. The Effects of Cellular Membrane Damage on the Long-Term Storage and Adhesion of Probiotic Bacteria in Caco-2 Cell Line. *Nutrients*. 2023; 15(15):3484. <https://doi.org/10.3390/nu15153484>
- Kim T, Mondal SC, Jeong CR, Kim SR, Ban OH, Jung YH, Yang J, Kim SJ. Safety evaluation of *Lactococcus lactis* IDCC 2301 isolated from homemade cheese. *Food Sci Nutr*. 2021 Nov 17;10(1):67-74. doi: 10.1002/fsn3.2648. PMID: 35035910; PMCID: PMC8751446.
- Kiousi DE, Efstathiou C, Tegopoulos K, Mantzourani I, Alexopoulos A, Plessas S, Kolovos P, Koffa M, Galanis A. Genomic Insight Into *Lacticaseibacillus paracasei* SP5, Reveals Genes and Gene Clusters of Probiotic Interest and Biotechnological Potential. *Front Microbiol*. 2022 Jun 16;13:922689. doi: 10.3389/fmicb.2022.922689. PMID: 35783439; PMCID: PMC9244547.
- Klimko AI, Cherdyntseva TA, Brioukhanov AL, Netrusov AI. In Vitro Evaluation of Probiotic Potential of Selected Lactic Acid Bacteria Strains. *Probiotics Antimicrob Proteins*. 2020 Sep;12(3):1139-1148. doi: 10.1007/s12602-019-09599-6. PMID: 31650413.
- Ko HI, Jeong CH, Hong SW, Eun JB, Kim TW. Optimizing Conditions in the Acid Tolerance Test for Potential Probiotics Using Response Surface Methodology. *Microbiol Spectr*. 2022 Aug 31;10(4):e0162522. doi: 10.1128/spectrum.01625-22. Epub 2022 Jul 25. PMID: 35876583; PMCID: PMC9430379.
- Koirala P, Dahal M, Rai S, Dhakal M, Nirmal NP, Maqsood S, Al-Asmari F, Buranasompob A. Dairy Milk Protein-Derived Bioactive Peptides: Avengers Against Metabolic Syndrome. *Curr Nutr Rep*. 2023 Jun;12(2):308-326. doi: 10.1007/s13668-023-00472-1. Epub 2023 May 19. PMID: 37204636; PMCID: PMC10198026.
- Kothari D, Patel S, Kim SK. Probiotic supplements might not be universally-effective and safe: A review. *Biomed Pharmacother*. 2019 Mar;111:537-547. doi: 10.1016/j.biopha.2018.12.104. Epub 2018 Dec 28. PMID: 30597307.
- Kuerban D, Lu J, Huangfu Z, Wang L, Qin Y, Zhang M. Optimization of Fermentation Conditions and Metabolite Profiling of Grape Juice Fermented with Lactic Acid Bacteria for Improved Flavor and Bioactivity. *Foods*. 2023 Jun 18;12(12):2407. doi: 10.3390/foods12122407. PMID: 37372618; PMCID: PMC10297718.
- Kuerman M, Bao Y, Guo M, Jiang S. Safety assessment of two strains and anti-obese effects on mice fed a high-cholesterol diet. *Biochem Biophys Res*

- Commun. 2021 Oct 1;572:131-137. doi: 10.1016/j.bbrc.2021.07.089. Epub 2021 Jul 30. PMID: 34364292.
- Kullar R, Goldstein EJC, Johnson S, McFarland LV. *Lactobacillus* Bacteremia and Probiotics: A Review. *Microorganisms*. 2023 Mar 30;11(4):896. doi: 10.3390/microorganisms11040896. PMID: 37110319; PMCID: PMC10145752.
- Kumari, M., Kumar, R., Singh, D., Bhatt, S., and Gupta, M. (2020). Physiological and genomic characterization of an exopolysaccharide-producing *Weissella cibaria* CH2 from cheese of the western Himalayas. *Food Biosci*. 35:100570. doi: 10.1016/j.fbio.2020.100570
- Kwon H, Lee EH, Choi J, Park JY, Kim YK, Han PL. Extracellular Vesicles Released by *Lactobacillus paracasei* Mitigate Stress-induced Transcriptional Changes and Depression-like Behavior in Mice. *Exp Neurol*. 2023 Oct 31;32(5):328-342. doi: 10.5607/en23024. PMID: 37927131; PMCID: PMC10628865.
- Lane, D.J. 16S/23S rRNA sequencing. Em Stackebrandt E, Goodfellow M (Eds). *Nucleic acid techniques in bacterial systematics*. John Wiley & Sons, Nova Iorque. 1991.
- Lee JY, Park JY, Jeong Y, Kang CH. Anti-Inflammatory Response in TNF α /IFN γ -Induced HaCaT Keratinocytes and Probiotic Properties of *Lacticaseibacillus rhamnosus* MG4644, *Lacticaseibacillus paracasei* MG4693, and *Lactococcus lactis* MG5474. *J Microbiol Biotechnol*. 2023 Aug 28;33(8):1039-1049. doi: 10.4014/jmb.2301.01028. Epub 2023 May 5. PMID: 37280776; PMCID: PMC10468673.
- Lee S., Lee J., Jin Y.-I., Jeong J.-C., Chang Y.H., Lee Y., Jeong Y., Kim M., Probiotic characteristics of *Bacillus* strains isolated from Korean traditional soy sauce, *Lebensm. Wiss. Technol.* 79 (2017) 518–524.
- Leeuwendaal NK, Stanton C, O'Toole PW, Beresford TP. Fermented Foods, Health and the Gut Microbiome. *Nutrients*. 2022 Apr 6;14(7):1527. doi: 10.3390/nu14071527. PMID: 35406140; PMCID: PMC9003261.
- LEMMA Disponível em: <<https://www.lemma.com.br/produtos/probioticos>> Acesso em 02 de fevereiro de 2024.
- León-López, A.; Pérez-Marroquín, X.A.; Estrada-Fernández, A.G.; Campos-Lozada, G.; Morales-Peñaloza, A.; Campos-Montiel, R.G.; Aguirre-Álvarez, G. Milk Whey Hydrolysates as High Value-Added Natural Polymers: Functional Properties and Applications. *Polymers* 2022, 14, 1258. <https://doi.org/10.3390/polym14061258>
- Lin Q, Si Y, Zhou F, Hao W, Zhang P, Jiang P, Cha R. Advances in polysaccharides for probiotic delivery: Properties, methods, and applications. *Carbohydr Polym*. 2024 Jan 1;323:121414. doi: 10.1016/j.carbpol.2023.121414. Epub 2023 Sep 18. PMID: 37940247.
- Liu D, Zeng L, Yan Z, Jia J, Gao J, Wei Y. The mechanisms and safety of probiotics against toxigenic *clostridium difficile*. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2020 Oct;18(10):967-975. doi: 10.1080/14787210.2020.1778464. Epub 2020 Jun 16. PMID: 32520637.
- Liu J, Yang L, Kjellerup BV, Xu Z. Viable but nonculturable (VBNC) state, an underestimated and controversial microbial survival strategy. *Trends Microbiol*. 2023 Oct;31(10):1013-1023. doi: 10.1016/j.tim.2023.04.009. Epub 2023 May 23. PMID: 37225640.
- Luz, C., Quiles, J.M., Romano, R., Blaiotta, G., Rodriguez, L. & Meca, G. (2021).

- Application of whey of Mozzarella di Bufala Campana fermented by lactic acid bacteria as a bread biopreservative agent. *International Journal of Food Science and Technology*, 56, 4585–4593.
- Ma Y, Yang JY, Peng X, Xiao KY, Xu Q, Wang C. Which probiotic has the best effect on preventing *Clostridium difficile*-associated diarrhea? A systematic review and network meta-analysis. *J Dig Dis*. 2020 Feb;21(2):69-80. doi: 10.1111/1751-2980.12839. PMID: 31875427.
- Madi-Moussa D, Coucheney F, Drider D. Expression of five class II bacteriocins with activity against *Escherichia coli* in *Lactocaseibacillus paracasei* CNCM I-5369, and in a heterologous host. *Biotechnol Rep (Amst)*. 2021 May 25;30:e00632. doi: 10.1016/j.btre.2021.e00632. PMID: 34136365; PMCID: PMC8181189.
- Maehata H, Arai S, Iwabuchi N, Abe F. Immuno-modulation by heat-killed *Lactocaseibacillus paracasei* MCC1849 and its application to food products. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2021 Jan-Dec;35:20587384211008291. doi: 10.1177/20587384211008291. PMID: 33787390; PMCID: PMC8020404.
- Malmö C, Giordano I, Mauriello G. Effect of Microencapsulation on Survival at Simulated Gastrointestinal Conditions and Heat Treatment of a Non Probiotic Strain, *Lactiplantibacillus plantarum* 48M, and the Probiotic Strain *Limosilactobacillus reuteri* DSM 17938. *Foods*. 2021 Jan 21;10(2):217. doi: 10.3390/foods10020217. PMID: 33494235; PMCID: PMC7909834.
- Malvido MC, González EA, Bazán Tantaleán DL, Bendaña Jácome RJ, Guerra NP. Batch and fed-batch production of probiotic biomass and nisin in nutrient-supplemented whey media. *Braz J Microbiol*. 2019 Oct;50(4):915-925. doi: 10.1007/s42770-019-00114-1. Epub 2019 Aug 5. PMID: 31385286; PMCID: PMC6863325.
- Marasco R, Gazzillo M, Campolattano N, Sacco M, Muscariello L. Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from Natural Whey Cultures of Buffalo and Cow Milk. *Foods*. 2022 Jan 16;11(2):233. doi: 10.3390/foods11020233. PMID: 35053966; PMCID: PMC8774387.
- Marra D, Perna I, Pota G, Vitiello G, Pezzella A, Toscano G, Luciani G, Caserta S. Nanoparticle Coatings on Glass Surfaces to Prevent *Pseudomonas fluorescens* AR 11 Biofilm Formation. *Microorganisms*. 2023 Feb 28;11(3):621. doi: 10.3390/microorganisms11030621. PMID: 36985196; PMCID: PMC10057769.
- Martín I., Rodríguez A., Alía A., Martínez R., Córdoba J.J. Selection and characterization of lactic acid bacteria with activity against *Listeria monocytogenes* from traditional RTE ripened foods. *LWT*. 2022;163:113579. doi: 10.1016/j.lwt.2022.113579.
- Masebe, R.D.; Thantsha, M. Anti-biofilm activity of cell free supernatants of selected lactic acid bacteria against *Listeria monocytogenes* isolated from avocado and cucumber fruits and from avocado processing plant. *Foods*. v. 11. 2872. 2022.
- Medicinal Farmácia e Manipulação. Disponível em: <<https://www.medicinalnaweb.com.br/lactobacillus-paracasei-2blh-30-dos>> Acesso em 02 de fevereiro de 2024
- Megur A, Daliri EB, Balnionytė T, Stankevičiūtė J, Lastauskienė E, Burokas A. *In vitro* screening and characterization of lactic acid bacteria from Lithuanian fermented food with potential probiotic properties. *Front Microbiol*. 2023 Sep

- 8;14:1213370. doi: 10.3389/fmicb.2023.1213370. PMID: 37744916; PMCID: PMC10516296.
- Mei X, Mell B, Aryal S, Manandhar I, Tummala R, Zubcevic J, Lai K, Yang T, Li Q, Yeoh BS, Joe B. Genetically engineered *Lactobacillus paracasei* rescues colonic angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) and attenuates hypertension in female Ace2 knock out rats. *Pharmacol Res.* 2023 Oct;196:106920. doi: 10.1016/j.phrs.2023.106920. Epub 2023 Sep 14. PMID: 37716548.
- Mejares, C.T., Huppertz, T. & Chandrapala, J. (2022). Thermal processing of buffalo milk—a review. *International Dairy Journal*, 129, 105311.
- Meng W, Zhang Y, Cao M, Zhang W, Lü C, Yang C, Gao C, Xu P, Ma C. Efficient 2,3-butanediol production from whey powder using metabolically engineered *Klebsiella oxytoca*. *Microb Cell Fact.* 2020 Aug 10;19(1):162. doi: 10.1186/s12934-020-01420-2. PMID: 32778112; PMCID: PMC7419187.
- Meybodi, N. M., Mortazavian, A. M., Arab, M., & Nematollahi, A. (2020). Probiotic viability in yoghurt: A review of influential factors. *International Dairy Journal*, 109, Article 104793. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104793>
- Mgomi FC, Yang YR, Cheng G, Yang ZQ. Lactic acid bacteria biofilms and their antimicrobial potential against pathogenic microorganisms. *Biofilm.* 2023 Apr 5;5:100118. doi: 10.1016/j.bioflm.2023.100118. PMID: 37125395; PMCID: PMC10139968.
- M'hamed AC, Ncib K, Merghni A, Migaou M, Lazreg H, Snoussi M, Noumi E, Mansour MB, Maaroufi RM. Characterization of Probiotic Properties of *Lactocaseibacillus paracasei* L2 Isolated from a Traditional Fermented Food "Lben". *Life (Basel).* 2022 Dec 21;13(1):21. doi: 10.3390/life13010021. PMID: 36675968; PMCID: PMC9863983.
- Miao Z, Zheng H, Liu WH, Cheng R, Lan H, Sun T, Zhao W, Li J, Shen X, Li H, Feng H, Hung WL, He F. *Lactocaseibacillus paracasei* K56 Attenuates High-Fat Diet-Induced Obesity by Modulating the Gut Microbiota in Mice. *Probiotics Antimicrob Proteins.* 2023 Aug;15(4):844-855. doi: 10.1007/s12602-022-09911-x. Epub 2022 Jan 24. PMID: 35067837.
- Michelutti L, Bulfoni M, Nencioni E. A novel pharmaceutical approach for the analytical validation of probiotic bacterial count by flow cytometry. *J Microbiol Methods.* 2020 Mar;170:105834. doi: 10.1016/j.mimet.2020.105834. Epub 2020 Jan 7. PMID: 31917164.
- Miles AA, Misra SS, Irwin JO. The estimation of the bactericidal power of the blood. *J Hyg (Lond).* 1938 Nov;38(6):732-49. doi: 10.1017/s002217240001158x. PMID: 20475467; PMCID: PMC2199673.
- Minj, S.; Anand, S. Whey Proteins and Its Derivatives: Bioactivity, Functionality, and Current Applications. *Dairy* 2020, 1, 233-258. <https://doi.org/10.3390/dairy1030016>
- Moawad MH, Alkhaldeh IM, Naswhan AJ. Efficacy of probiotics supplementation in amelioration of celiac disease symptoms and enhancement of immune system. *World J Clin Cases.* 2023 Nov 16;11(32):7741-7744. doi: 10.12998/wjcc.v11.i32.7741. PMID: 38073702; PMCID: PMC10698417.
- Mohar Lorbeg P, Golob M, Kramer M, Treven P, Bogovič Matijašić B. Evaluation of Dietary Supplements Containing Viable Bacteria by Cultivation/MALDI-TOF Mass Spectrometry and PCR Identification. *Front Microbiol.* 2021 Jul 19;12:700138. doi: 10.3389/fmicb.2021.700138. PMID: 34349743; PMCID: PMC8326757.

- Monteiro CRAV, do Carmo MS, Melo BO, Alves MS, Dos Santos CI, Monteiro SG, Bomfim MRQ, Fernandes ES, Monteiro-Neto V. In Vitro Antimicrobial Activity and Probiotic Potential of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* against Species of *Clostridium*. *Nutrients*. 2019 Feb 21;11(2):448. doi: 10.3390/nu11020448. PMID: 30795551; PMCID: PMC6412307. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30795551/> Acesso em: 20 de julho de 2023.
- Mortezaei M, Dadmehr M, Korouzhdehi B, Hakimi M, Ramshini H. Colorimetric and label free detection of gelatinase positive bacteria and gelatinase activity based on aggregation and dissolution of gold nanoparticles. *J Microbiol Methods*. 2021 Dec;191:106349. doi: 10.1016/j.mimet.2021.106349. Epub 2021 Oct 23. PMID: 34699865.
- Moura TM, Campos FS, Caierão J, Franco AC, Roehe PM, d'Azevedo PA, Frazzon J, Frazzon AP. Influence of a subinhibitory concentration of vancomycin on the in vitro expression of virulence-related genes in the vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis*. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2015 Sep-Oct;48(5):617-21. doi: 10.1590/0037-8682-0017-2015. PMID: 26516976.
- Mousavi Jam SA, Morshedi M, Yari Khosroushahi A, Eftekharsadat AT, Alipour M, Alipour B. Preventive and Tumor-Suppressive Effects of *Lactobacillus Paracasei* X12 in Rat Model of Colorectal Cancer. *Iran J Pharm Res*. 2020 Fall;19(4):330-342. doi: 10.22037/ijpr.2019.112135.13547. PMID: 33841546; PMCID: PMC8019866.
- Mughal, R. PRO—biotics? Are pre- and probiotics a valuable adjunct to fluoridated toothpaste in the battle against dental decay?. *Evid Based Dent* (2024). <https://doi.org/10.1038/s41432-024-00976-x>
- Müller, T., Maciel, M. J., & Rempel, C.. (2023). Milk microbiota from dairy factories in the Central Region of Rio Grande do Sul, Brazil. *Ciência E Agrotecnologia*, 47, e018322. <https://doi.org/10.1590/1413-7054202347018322>
- Nachum Z, Perlitz Y, Shavit LY, Magril G, Vitner D, Zipori Y, Weiner E, Alon AS, Ganor-Paz Y, Nezer M, Harel N, Soltzman S, Yefet E. The effect of oral probiotics on glycemic control of women with gestational diabetes mellitus—a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Am J Obstet Gynecol MFM*. 2024 Jan;6(1):101224. doi: 10.1016/j.ajogmf.2023.101224. Epub 2023 Nov 12. PMID: 37956906.
- Nami Y, Lornezhad G, Kiani A, Abdullah N, Haghshenas B. Alginate-Persian Gum-Prebiotics microencapsulation impacts on the survival rate of *Lactococcus lactis* ABRINW-N19 in orange juice, *LWT*, Volume 124, 2020, 109190, ISSN 0023-6438, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109190>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002364382030178X>)
- Nguyen VK, Tran T, Crimmins T, Luong VT, Kang HY. Fermentation of Cucumber Extract with Hydromagnesite as a Neutralizing Agent to Produce an Ingredient for Dermal Magnesium Products. *Materials (Basel)*. 2019 May 25;12(10):1701. doi: 10.3390/ma12101701. PMID: 31130636; PMCID: PMC6566975.
- Nwoko, El-shama Q. A.; Okeke, Iruka N.; Bacteria autoaggregation: how and why bacteria stick together. *Biochem Soc Trans* 30 June 2021; 49 (3): 1147–1157. doi: <https://doi.org/10.1042/BST20200718>
- Olvera-Rosales LB, Cruz-Guerrero AE, García-Garibay JM, Gómez-Ruiz LC, Contreras-López E, Guzmán-Rodríguez F, González-Olivares LG. Bioactive peptides of whey: obtaining, activity, mechanism of action, and further applications. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2022 May 25:1-31. doi: 10.1080/10408398.2022.2079113. Epub ahead of print. PMID: 35612490.

- Oruc, O., Cetin, O., Darilmaz, D. O., & Yüsekdağ, Z. N. (2021). Determination of the biosafety of potential probiotic *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* strains isolated from traditional white cheeses. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 148. Article 111741.
- Oscarsson E, Håkansson Å, Andrén Aronsson C, Molin G, Agardh D. Effects of Probiotic Bacteria *Lactobacillaceae* on the Gut Microbiota in Children With Celiac Disease Autoimmunity: A Placebo-Controlled and Randomized Clinical Trial. *Front Nutr*. 2021 Jun 25;8:680771. doi: 10.3389/fnut.2021.680771. PMID: 34249990; PMCID: PMC8267153.
- Ospanov, A., Velyamov, S., Tlevlessova, D., Schetinina, E., Kairbayeva, A., Makeeva, R., & Tastanova, R.. (2023). Survival of lactic acid bacteria when using the developed yogurt from the milk of small cattle under in-vitro conditions. *Food Science and Technology*, 43, e117722. <https://doi.org/10.1590/fst.117722>
- Ozorio L, Silva LP, Prates MV, Bloch C Jr, Takeiti CY, Gomes DM, da Silva-Santos JE, Deliza R, Brígida AIS, Furtado A, Mellinger-Silva C, Cabral LMC. Whey hydrolysate-based ingredient with dual functionality: From production to consumer's evaluation. *Food Res Int*. 2019 Aug;122:123-128. doi: 10.1016/j.foodres.2019.03.060. Epub 2019 Mar 27. PMID: 31229063.
- Palmu J, Salosensaari A, Havulinna AS, Cheng S, Inouye M, Jain M, Salido RA, Sanders K, Brennan C, Humphrey GC, Sanders JG, Vartiainen E, Laatikainen T, Jousilahti P, Salomaa V, Knight R, Lahti L, Niiranen TJ. Association Between the Gut Microbiota and Blood Pressure in a Population Cohort of 6953 Individuals. *J Am Heart Assoc*. 2020 Aug 4;9(15):e016641. doi: 10.1161/JAHA.120.016641. Epub 2020 Jul 21. PMID: 32691653; PMCID: PMC7792269.
- Parente E., Ricciardi A., Zotta T. (2020). The microbiota of dairy milk: a review. *Int Dairy J*. 107, 107104714. 10.1016/j.idairyj.2020.104714
- Pazhooan M, Sadeghi F, Moghadami M, Soltanmoradi H, Davoodabadi A. Antimicrobial and antiadhesive effects of *Lactobacillus* isolates of healthy human gut origin on Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) and Enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC). *Microb Pathog*. 2020 Nov;148:104271. doi: 10.1016/j.micpath.2020.104271. Epub 2020 Aug 21. PMID: 32835777.
- Pereira JV, Gamage HKAH, Cain AK, Hayes E, Paulsen IT, Tetu SG. High-Throughput Viability Testing of Microbial Communities in a Probiotic Product Using Flow Cytometry. *Applied Microbiology*. 2023; 3(3):1068-1082. <https://doi.org/10.3390/applmicrobiol3030074>
- Pires AF, Marnotes NG, Bella A, Viegas J, Gomes DM, Henriques MHF, Pereira CJD. Use of ultrafiltrated cow's whey for the production of whey cheese with Kefir or probiotics. *J Sci Food Agric*. 2021 Jan 30;101(2):555-563. doi: 10.1002/jsfa.10667. Epub 2020 Aug 6. PMID: 32672836.
- Pires AF, Marnotes NG, Rubio OD, Garcia AC, Pereira CD. Dairy By-Products: A Review on the Valorization of Whey and Second Cheese Whey. *Foods*. 2021 May 12;10(5):1067. doi: 10.3390/foods10051067. PMID: 34066033; PMCID: PMC8151190.
- Plaza-Diaz J, Ruiz-Ojeda FJ, Gil-Campos M, Gil A. Mechanisms of Action of Probiotics. *Adv Nutr*. 2019 Jan 1;10(suppl_1): S49-S66. doi: 10.1093/advances/nmy063. Erratum in: *Adv Nutr*. 2020 Jul 1;11(4):1054. PMID: 30721959; PMCID: PMC6363529.

- Poimenidou SV, Skarveli A, Saxami G, Mitsou EK, Kotsou M, Kyriacou A. Inhibition of *Listeria monocytogenes* Growth, Adherence and Invasion in Caco-2 Cells by Potential Probiotic Lactic Acid Bacteria Isolated from Fecal Samples of Healthy Neonates. *Microorganisms*. 2023 Jan 31;11(2):363. doi: 10.3390/microorganisms11020363. PMID: 36838329; PMCID: PMC9959105.
- Pomastowski P, Król-Górniak A, Railean-Plugaru V, Buszewski B. Zinc Oxide Nanocomposites-Extracellular Synthesis, Physicochemical Characterization and Antibacterial Potential. *Materials (Basel)*. 2020 Sep 30;13(19):4347. doi: 10.3390/ma13194347. PMID: 33007802; PMCID: PMC7579083.
- Pørksen CJ, Ekstrand KR, Markvart M, Larsen T, Garrido LE, Bakhshandeh A. The efficacy of combined arginine and probiotics as an add-on to 1450 ppm fluoride toothpaste to prevent and control dental caries in children - A randomized controlled trial. *J Dent*. 2023 Oct;137:104670. doi: 10.1016/j.jdent.2023.104670. Epub 2023 Aug 20. PMID: 37604396.
- Praia AB, Herkenhoff ME, Broedel O, Frohme M, Saad SMI. Sour Beer with *Lactocaseibacillus paracasei* subsp. *paracasei* F19: Feasibility and Influence of Supplementation with *Spondias mombin* L. Juice and/or By-Product. *Foods*. 2022 Dec 16;11(24):4068. doi: 10.3390/foods11244068. PMID: 36553809; PMCID: PMC9778371.
- Pu J, Vinitchaikul P, Gu Z, Mao H, Zhang F. The use of metabolomics to reveal differences in functional substances of milk whey of dairy buffaloes raised at different altitudes. *Food Funct*. 2021 Jun 21;12(12):5440-5450. doi: 10.1039/d0fo03231j. PMID: 33997869.
- Puravida. Disponível em: <<https://www.puravida.com.br/purabiotics-70349>>. Acesso em 02 de fevereiro de 2024.
- Qayyum, N., Wang, S. X., Qin, Y. T., Wang, R. L., Shuang, W., Ismael, M., & Xin, L. (2023). Characterization of Short-chain fatty acid-producing and cholesterol assimilation potential probiotic Lactic acid bacteria from Chinese fermented rice. *Food Bioscience*, 52, Article 102404. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102404>
- Rahne M, Basic A, Almståhl A. Explorative study on *Lactobacillus* species and their acid-producing capacity and anti-microbial activity in head and neck cancer patients. *Clin Exp Dent Res*. 2021 Oct;7(5):924-933. doi: 10.1002/cre2.426. Epub 2021 Mar 31. PMID: 33787075; PMCID: PMC8543467.
- Rajab S, Tabandeh F, Shahraky MK, Alahyaribeik S. The effect of lactobacillus cell size on its probiotic characteristics. *Anaerobe*. 2020 Apr;62:102103. doi: 10.1016/j.anaerobe.2019.102103. Epub 2019 Sep 13. PMID: 31525452.
- Rama GR, Führ AJ, da Silva JABS, Gennari A, Girolodi M, Goettert MI, Volken de Souza CF. Encapsulation of *Lactobacillus* spp. using bovine and buffalo cheese whey and their application in orange juice. *3 Biotech*. 2020 Jun;10(6):263. doi: 10.1007/s13205-020-02255-9. Epub 2020 May 22. PMID: 32509496; PMCID: PMC7244677.
- Rashid H, Zaidi A, Anwar MA, Tariq M. A synbiotic made of an autochthonous *Enterococcus durans* strain and microbial polysaccharides improves broiler chicken health, *Journal of Agriculture and Food Research*, Volume 14, 2023,100812, ISSN 2666-1543, <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2023.100812>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2666154323003198>)
- Razavi, S.; Janfaza, S.; Tasnim, N.; Gibson, D.L.; Hoorfar, M. Microencapsulating polymers for probiotics delivery systems: Preparation, characterization, and

- applications. *Food Hydrocoll.* 2021, 120, 106882.
- Reuben RC, Roy PC, Sarkar SL, Rubayet UI Alam ASM, Jahid IK. Characterization and evaluation of lactic acid bacteria from indigenous raw milk for potential probiotic properties. *J Dairy Sci.* 2020 Feb;103(2):1223-1237. doi: 10.3168/jds.2019-17092. Epub 2019 Nov 20. PMID: 31759592.
- Rocha-Mendoza D, Kosmerl E, Miyagusuku-Cruzado G, Giusti MM, Jiménez-Flores R, García-Cano I. Growth of lactic acid bacteria in milk phospholipids enhances their adhesion to Caco-2 cells. *J Dairy Sci.* 2020 Sep;103(9):7707-7718. doi: 10.3168/jds.2020-18271. Epub 2020 Jul 16. PMID: 32684482.
- Rodrigo-Torres L, María Landete J, Huedo P, Peirotén Á, Langa S, Rodríguez-Minguez E, Medina M, Arahal DR, Aznar R, Arqués JL. Complete genome sequences of *Lactocaseibacillus paracasei* INIA P272 (CECT 8315) and *Lactocaseibacillus rhamnosus* INIA P344 (CECT 8316) isolated from breast-fed infants reveal probiotic determinants. *Gene.* 2022 Oct 5;840:146743. doi: 10.1016/j.gene.2022.146743. Epub 2022 Jul 20. PMID: 35868412.
- Rodrigues FJ, Cedran MF, Bicas JL, Sato HH. Encapsulated probiotic cells: Relevant techniques, natural sources as encapsulating materials and food applications - A narrative review. *Food Res Int.* 2020 Nov;137:109682. doi: 10.1016/j.foodres.2020.109682. Epub 2020 Sep 18. PMID: 33233258.
- Rodrigues NPA, Garcia EF, Sampaio KB, do Nascimento HMA, de Sousa Guedes JP, de Souza EL. Dynamics of physiological responses of potentially probiotic fruit-derived *Limosilactobacillus fermentum* in apple and orange juices during refrigeration storage and exposure to simulated gastrointestinal conditions. *Arch Microbiol.* 2021 Dec 20;204(1):38. doi: 10.1007/s00203-021-02672-1. PMID: 34928420.
- Romero-Luna HE, Peredo-Lovillo A, Hernández-Mendoza A, Hernández-Sánchez H, Cauich-Sánchez PI, Ribas-Aparicio RM, Dávila-Ortiz G. Probiotic Potential of *Lactobacillus paracasei* CT12 Isolated from Water Kefir Grains (Tibicos). *Curr Microbiol.* 2020 Oct;77(10):2584-2592. doi: 10.1007/s00284-020-02016-0. Epub 2020 May 5. PMID: 32372103.
- Rossi F, Amadoro C, Gasperi M, Colavita G. Lactobacilli Infection Case Reports in the Last Three Years and Safety Implications. *Nutrients.* 2022 Mar 11;14(6):1178. doi: 10.3390/nu14061178. PMID: 35334835; PMCID: PMC8954171.
- Ruíz-Ramírez Y, Guadarrama-Mendoza PC, Escalante A, Giles-Gómez M, Valadez-Blanco R. Probiotic activity traits in vitro and production of antimicrobial peptides by Lactobacillaceae isolates from pulque using *Lactobacillus acidophilus* NCFM as control. *Braz J Microbiol.* 2022 Jun;53(2):921-933. doi: 10.1007/s42770-022-00684-7. Epub 2022 Jan 29. PMID: 35094300; PMCID: PMC9151957.
- Russo R, Valletta M, Rega C, Marasco R, Muscariello L, Pedone PV, Sacco M, Chambery A. Reliable identification of lactic acid bacteria by targeted and untargeted high-resolution tandem mass spectrometry. *Food Chem.* 2019 Jul 1;285:111-118. doi: 10.1016/j.foodchem.2019.01.127. Epub 2019 Jan 31. PMID: 30797325.
- Rwubuzizi R, Carneiro KO, Holzapfel WH, Vaz-Velho M, Todorov SD. Bacteriocin and Antioxidant Production, a Beneficial Properties of Lactic Acid Bacteria Isolated from Fermented Vegetables of Northwest Bulgaria. *Probiotics Antimicrob Proteins.* 2023 Aug 17. doi: 10.1007/s12602-023-10140-z. Epub ahead of print. PMID: 37589786.

- Sabo SDS, Mendes MA, Araújo EDS, Muradian LBA, Makiyama EN, LeBlanc JG, Borelli P, Fock RA, Knöbl T, Oliveira RPS. Bioprospecting of probiotics with antimicrobial activities against *Salmonella Heidelberg* and that produce B-complex vitamins as potential supplements in poultry nutrition. *Sci Rep*. 2020 Apr 29;10(1):7235. doi: 10.1038/s41598-020-64038-9. PMID: 32350311; PMCID: PMC7190695.
- Sadeghi M., Panahi B., Mazlumi A., Hejazi M.A., Nami Y. Screening of potential probiotic lactic acid bacteria with antimicrobial properties and selection of superior bacteria for application as biocontrol using machine learning models, *LWT* 162 (2022), 113471, <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2022.113471>.
- Salman MK, Abuqwider J, Mauriello G. Anti-Quorum Sensing Activity of Probiotics: The Mechanism and Role in Food and Gut Health. *Microorganisms*. 2023 Mar 20;11(3):793. doi: 10.3390/microorganisms11030793. PMID: 36985366; PMCID: PMC10056907.
- Sampaio KB, de Brito Alves JL, do Nascimento YM, Tavares JF, da Silva MS, Dos Santos Nascimento D, de Araújo Rodrigues NP, Monteiro MC, Garcia EF, de Souza EL. Effects of Simulated Gastrointestinal Conditions on Combined Potentially Probiotic *Limosilactobacillus fermentum* 296, Quercetin, and/or Resveratrol as Bioactive Components of Novel Nutraceuticals. *Probiotics Antimicrob Proteins*. 2024 Feb;16(1):308-319. doi: 10.1007/s12602-023-10046-w. Epub 2023 Jan 28. PMID: 36708461.
- Sanavita Disponível em: <https://www.sanavita.com.br/floraliv-probiotico/p?gad_source=1&gclid=Cj0KCQiAwvKtBhDrARIsAJj-kTgAEI821YzizTti6MpggMn-au_MrRMftlNeDa5rWOMnpKiYldlJX_caAtqvEALw_wcB> Acesso em 02 de fevereiro de 2024.
- Sánchez-Juanes F, Teixeira-Martín V, González-Buitrago JM, Velázquez E, Flores-Félix JD. Identification of Species and Subspecies of Lactic Acid Bacteria Present in Spanish Cheeses Type "Torta" by MALDI-TOF MS and *pheS* gene Analyses. *Microorganisms*. 2020 Feb 21;8(2):301. doi: 10.3390/microorganisms8020301. PMID: 32098253; PMCID: PMC7074959.
- Sekhvatizadeh SS, Afrasiabi F, Montaseri Z. Encapsulation of probiotic *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 in alginate-galbanum (*Ferula Gummosa* Boiss) gum microspheres and evaluation of the survival in simulated gastrointestinal conditions in probiotic Tahini halva. *Braz J Microbiol*. 2023 Sep;54(3):1589-1601. doi: 10.1007/s42770-023-01074-3. Epub 2023 Jul 29. PMID: 37515666; PMCID: PMC10485199.
- Servain-Viel S, Aknin ML, Domenichini S, Perlemuter G, Cassard AM, Schlecht-Louf G, Moal VL. A flow cytometry method for safe detection of bacterial viability. *Cytometry A*. 2024 Feb;105(2):146-156. doi: 10.1002/cyto.a.24794. Epub 2023 Oct 3. PMID: 37786349.
- Sharif S, Meader N, Oddie SJ, Rojas-Reyes MX, McGuire W. Probiotics to prevent necrotising enterocolitis in very preterm or very low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2023 Jul 26;7(7):CD005496. doi: 10.1002/14651858.CD005496.pub6. PMID: 37493095; PMCID: PMC10370900.
- Sharma N, Kang DK, Paik HD, Park YS. Beyond probiotics: a narrative review on an era of revolution. *Food Sci Biotechnol*. 2022 Nov 30;32(4):413-421. doi: 10.1007/s10068-022-01212-x. PMID: 36911329; PMCID: PMC9992473.
- Shi Y, Zhang C, Cao W, Li L, Liu K, Zhu H, Balcha F, Fang Y. Extracellular vesicles

- from *Lactocaseibacillus paracasei* PC-H1 inhibit HIF-1 α -mediated glycolysis of colon cancer. *Future Microbiol.* 2024 Jan 25. doi: 10.2217/fmb-2023-0144. Epub ahead of print. PMID: 38270125.
- Sim S, Park HJ, Kim YK, Choi Y, Park HS. Lactobacillus paracasei-derived extracellular vesicles alleviate neutrophilic asthma by inhibiting the JNK pathway in airway epithelium. *Allergol Int.* 2023 Nov 10:S1323-8930(23)00112-0. doi: 10.1016/j.alit.2023.10.008. Epub ahead of print. PMID: 37953104.
- Simões da Silva TM, Piazzentin ACM, Mendonça CMN, Converti A, Bogsan CSB, Mora D, de Souza Oliveira RP. Buffalo milk increases viability and resistance of probiotic bacteria in dairy beverages under in vitro simulated gastrointestinal conditions. *J Dairy Sci.* 2020 Sep;103(9):7890-7897. doi: 10.3168/jds.2019-18078. Epub 2020 Jun 26. PMID: 32600759.
- Singh S, Gupta R, Chawla S, Gauba P, Singh M, Tiwari RK, Upadhyay S, Sharma S, Chanda S, Gaur S. Natural sources and encapsulating materials for probiotics delivery systems: Recent applications and challenges in functional food development. *Front Nutr.* 2022 Sep 21;9:971784. doi: 10.3389/fnut.2022.971784. PMID: 36211518; PMCID: PMC9534265.
- Sophatha, B., Teanpaisan, R. Factors Relating to Adhesion and Aggregation of *Lactobacillus paracasei* and *Lactobacillus rhamnosus* Strains. *Microbiology* 90, 793–800 (2021). <https://doi.org/10.1134/S0026261721060151>
- Souza BMS, Borgonovi TF, Casarotti SN, Todorov SD, Penna ALB. Lactobacillus casei and Lactobacillus fermentum Strains Isolated from Mozzarella Cheese: Probiotic Potential, Safety, Acidifying Kinetic Parameters and Viability under Gastrointestinal Tract Conditions. *Probiotics Antimicrob Proteins.* 2019 Jun;11(2):382-396.
- Szopa K, Szajnar K, Pawlos M, Znamirowska-Piotrowska A. Probiotic Fermented Goat's and Sheep's Milk: Effect of Type and Dose of Collagen on Survival of Four Strains of Probiotic Bacteria during Simulated In Vitro Digestion Conditions. *Nutrients.* 2023 Jul 21;15(14):3241. doi: 10.3390/nu15143241. PMID: 37513662; PMCID: PMC10384213.
- Stepanović S, Cirković I, Ranin L, Svabić-Vlahović M. Biofilm formation by Salmonella spp. and Listeria monocytogenes on plastic surface. *Lett Appl Microbiol.* 2004;38(5):428-32. doi: 10.1111/j.1472-765X.2004.01513.x. PMID: 15059216.
- Su Y, Ren J, Zhang J, Zheng J, Zhang Q, Tian Y, Zhang Y, Jiang Y, Zhang W. *Lactobacillus paracasei* JY062 Alleviates Glucolipid Metabolism Disorders via the Adipoinular Axis and Gut Microbiota. *Nutrients.* 2024 Jan 16;16(2):267. doi: 10.3390/nu16020267. PMID: 38257160; PMCID: PMC10819581.
- Talib N, Mohamad NE, Yeap SK, Ho CL, Masarudin MJ, Abd-Aziz S, Izham MNM, Kumar MR, Hussin Y, Alitheen NB. Anti-Diabetic Effect of Lactobacillus Paracasei Isolated from Malaysian Water Kefir Grains. *Probiotics Antimicrob Proteins.* 2023 Sep 27. doi: 10.1007/s12602-023-10159-2. Epub ahead of print. PMID: 37755545.
- Tan LL, Mahotra M, Chan SY, Loo SCJ. In situ alginate crosslinking during spray-drying of lactobacilli probiotics promotes gastrointestinal-targeted delivery. *Carbohydr Polym.* 2022 Jun 15;286:119279. doi: 10.1016/j.carbpol.2022.119279. Epub 2022 Feb 22. PMID: 35337503.
- Tan LL, Tan CH, Ng NKJ, Tan YH, Conway PL, Loo SCJ. Potential Probiotic

- Strains From Milk and Water Kefir Grains in Singapore-Use for Defense Against Enteric Bacterial Pathogens. *Front Microbiol.* 2022 Apr 1;13:857720. doi: 10.3389/fmicb.2022.857720. PMID: 35432232; PMCID: PMC9011154.
- Tang Q, Hao Y, Wang L, Lu C, Li M, Si Z, Wu X, Lu Z. Characterization of a bacterial strain *Lactobacillus paracasei* LP10266 recovered from an endocarditis patient in Shandong, China. *BMC Microbiol.* 2021 Jun 17;21(1):183. doi: 10.1186/s12866-021-02253-8. PMID: 34134621; PMCID: PMC8210379.
- Tatullo M, Marrelli B, Benincasa C, Aiello E, Amantea M, Gentile S, Leonardi N, Balestrieri ML, Campanile G. Potential impact of functional biomolecules-enriched foods on human health: A randomized controlled clinical trial. *Int J Med Sci.* 2022 Mar 6;19(3):563-571.
- Terpou A, Papadaki A, Lappa IK, Kachrimanidou V, Bosnea LA, Kopsahelis N. Probiotics in Food Systems: Significance and Emerging Strategies Towards Improved Viability and Delivery of Enhanced Beneficial Value. *Nutrients.* 2019 Jul 13;11(7):1591. doi: 10.3390/nu11071591. PMID: 31337060; PMCID: PMC6683253.
- Terzioglu, M. E., Bakırcı, I., Oz, E., Brennan, C. S., Huppertz, T., Amarowicz, R., et al. (2023). Comparison of camel, buffalo, cow, goat, and sheep yoghurts in terms of various physicochemical, biochemical, textural and rheological properties. *International Dairy Journal*, 146, Article 105749. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2023.105749>
- Tito Farma farmácia de manipulação. Disponível em: <
<https://www.titofarma.com.br/lactobacillus-paracasei-1blh-60-cps-1104>>
Acesso em: 02 de fevereiro de 2024.
- Todorov SD, Dicks LMT. 2008. Evaluation of lactic acid bacteria from kefir, molasses and olive brine as possible probiotics based on physiological properties. *Annals of Microbiology.* 58(4):661-70.
- Tracey H, Coates N, Hulme E, John D, Michael DR, Plummer SF. Insights into the enumeration of mixtures of probiotic bacteria by flow cytometry. *BMC Microbiol.* 2023 Feb 27;23(1):48. doi: 10.1186/s12866-023-02792-2. PMID: 36849905; PMCID: PMC9969615.
- Trindade, D. P.d. A., Barbosa, J. P., Martins, E. M. F., & Tette, P. A. S. (2022). Isolation and identification of lactic acid bacteria in fruit processing residues from the Brazilian Cerrado and its probiotic potential. *Food Bioscience*, 48, 101739-101739.
- Tsai WH, Fang YT, Huang TY, Chiang YJ, Lin CG, Chang WW. Heat-killed *Lactobacillus paracasei* GMNL-653 ameliorates human scalp health by regulating scalp microbiome. *BMC Microbiol.* 2023 Apr 29;23(1):121. doi: 10.1186/s12866-023-02870-5. PMID: 37120517; PMCID: PMC10148562.
- Uwaezuoke SN, Ayuk AC, Eze JN, Odimegwu CL, Ndiokwelu CO, Eze IC. Postnatal probiotic supplementation can prevent and optimize treatment of childhood asthma and atopic disorders: A systematic review of randomized controlled trials. *Front Pediatr.* 2022 Aug 19;10:956141. doi: 10.3389/fped.2022.956141. PMID: 36061384; PMCID: PMC9437454.
- Valdiviezo-Marcelo Jaime, Arana-Torres Nancy Maribel, Vega-Portalatino Edwin Jorge, Ruiz-Flores Luis Alberto, Tamariz-Angeles Carmen, Olivera-Gonzales Percy, Rosales-Cuentas Miriam Marleni, Espinoza-Espinoza Luis Alfredo. Technological potential of native lactic acid bacteria isolated from Swiss-type artisanal cheese (Ancash, Peru) for their application in food. *Frontiers in*

- Sustainable Food Systems VOLUME=7 YEAR=2023
 URL=https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fsufs.2023.1212229
 DOI=10.3389/fsufs.2023.1212229 ISSN=2571-581X
- Vargas-Ramella M, Pateiro M, Maggiolino A, Faccia M, Franco D, De Palo P, Lorenzo JM. Buffalo Milk as a Source of Probiotic Functional Products. *Microorganisms*. 2021 Nov 5;9(11):2303. doi: 10.3390/microorganisms9112303. PMID: 34835429; PMCID: PMC8620832.
- Vitafor suplementos nutricionais. Disponível em: <https://www.vitafor.com.br/simfort-plus---30-cap---vitafor/p?idsku=211&utm_term=&campaignid=19815730529&adgroupid=&adid=&targetid=&gad_source=1&gclid=Cj0KCQiAwvKtBhDrARIsAJj-kTiEz2vpSreU8lasZvpakxUkMRDUKSAgzRpJdpoggB7UHqQoF08GpPEaAhzrEALw_wcB>. Acesso em 02 de fevereiro de 2024.
- Wang B, Song Q, Zhao F, Han Y, Zhou Z. Production optimization, partial characterization and properties of an exopolysaccharide from *Lactobacillus sakei* L3. *Int J Biol Macromol*. 2019 Dec 1;141:21-28. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.08.241. Epub 2019 Aug 29. PMID: 31473313.
- Wang G, Zeng H. Antibacterial Effect of Cell-Free Supernatant from *Lactobacillus pentosus* L-36 against *Staphylococcus aureus* from Bovine Mastitis. *Molecules*. 2022 Nov 7;27(21):7627. doi: 10.3390/molecules27217627. PMID: 36364454; PMCID: PMC9658419.
- Wang R, Han Z, Ji R, Xiao Y, Si R, Guo F, He J, Hai L, Ming L, Yi L. Antibacterial Activity of Trypsin-Hydrolyzed Camel and Cow Whey and Their Fractions. *Animals (Basel)*. 2020 Feb 20;10(2):337. doi: 10.3390/ani10020337. PMID: 32093356; PMCID: PMC7070643.
- Wang X, Gao S, Yun S, Zhang M, Peng L, Li Y, Zhou Y. Microencapsulating Alginate-Based Polymers for Probiotics Delivery Systems and Their Application. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2022 May 23;15(5):644. doi: 10.3390/ph15050644. PMID: 35631470; PMCID: PMC9144165.
- Wang Y, Liang Q, Lu B, Shen H, Liu S, Shi Y, Leptihn S, Li H, Wei J, Liu C, Xiao H, Zheng X, Liu C, Chen H. Whole-genome analysis of probiotic product isolates reveals the presence of genes related to antimicrobial resistance, virulence factors, and toxic metabolites, posing potential health risks. *BMC Genomics*. 2021 Mar 24;22(1):210. doi: 10.1186/s12864-021-07539-9. PMID: 33761872; PMCID: PMC7988973.
- Wang Y, Florez ID, Morgan RL, Foroutan F, Chang Y, Crandon HN, Zeraatkar D, Bala MM, Mao RQ, Tao B, Shahid S, Wang X, Beyene J, Offringa M, Sherman PM, El Gouhary E, Guyatt GH, Sadeghirad B. Probiotics, Prebiotics, Lactoferrin, and Combination Products for Prevention of Mortality and Morbidity in Preterm Infants: A Systematic Review and Network Meta-Analysis. *JAMA Pediatr*. 2023 Nov 1;177(11):1158-1167. doi: 10.1001/jamapediatrics.2023.3849. Erratum in: *JAMA Pediatr*. 2024 Jan 1;178(1):99. PMID: 37782505; PMCID: PMC10546299.
- Wen Fang Wu Wu J, Redondo-Solano M, Uribe L, WingChing-Jones R, Usaga J, Barboza N. First characterization of the probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from Costa Rican pineapple silages. *PeerJ*. 2021 Nov 30;9:e12437. doi: 10.7717/peerj.12437. PMID: 34909269; PMCID: PMC8641478.
- Wilkinson, M. G. (2018). Flow cytometry as a potential method of measuring bacterial viability in probiotic products: a review. *Trends Food Sci. Technol*. 78,

- 1–10. doi: 10.1016/j.tifs.2018.05.006
- Wittouck S, Wuyts S, Meehan CJ, van Noort V, Lebeer S. A Genome-Based Species Taxonomy of the *Lactobacillus* Genus Complex. *mSystems*. 2019 Sep 3;4(5):e00264-19. doi: 10.1128/mSystems.00264-19. PMID: 31481601; PMCID: PMC6722421.
- Won G, Choi SI, Park N, Kim JE, Kang CH, Kim GH. In Vitro Antidiabetic, Antioxidant Activity, and Probiotic Activities of *Lactiplantibacillus plantarum* and *Lacticaseibacillus paracasei* Strains. *Curr Microbiol*. 2021 Aug;78(8):3181-3191. doi: 10.1007/s00284-021-02588-5. Epub 2021 Jul 2. PMID: 34213618; PMCID: PMC8289794.
- Xie A, Song J, Lu S, Liu Y, Tang L, Wen S. Influence of Diet on the Effect of the Probiotic *Lactobacillus paracasei* in Rats Suffering From Allergic Asthma. *Front Microbiol*. 2021 Sep 27;12:737622. doi: 10.3389/fmicb.2021.737622. PMID: 34659167; PMCID: PMC8516095.
- Xu M, Tian P, Zhu H, Zou R, Zhao J, Zhang H, Wang G, Chen W. *Lactobacillus paracasei* CCFM1229 and *Lactobacillus rhamnosus* CCFM1228 Alleviated Depression- and Anxiety-Related Symptoms of Chronic Stress-Induced Depression in Mice by Regulating Xanthine Oxidase Activity in the Brain. *Nutrients*. 2022 Mar 18;14(6):1294. doi: 10.3390/nu14061294. PMID: 35334950; PMCID: PMC8953819.
- Yang J, Huang J, Huang Z, Xu Y, Li W, Zhu S, Zhao Y, Ye B, Liu L, Zhu J, Xia M, Liu Y. Cardiometabolic benefits of *Lacticaseibacillus paracasei* 8700:2: A randomized double-blind placebo-controlled trial. *Clin Nutr*. 2023 Sep;42(9):1637-1646. doi: 10.1016/j.clnu.2023.07.017. Epub 2023 Jul 21. PMID: 37506599.
- Yelin I, Flett KB, Merakou C, Mehrotra P, Stam J, Snesrud E, Hinkle M, Lesho E, McGann P, McAdam AJ, Sandora TJ, Kishony R, Priebe GP. Genomic and epidemiological evidence of bacterial transmission from probiotic capsule to blood in ICU patients. *Nat Med*. 2019 Nov;25(11):1728-1732. doi: 10.1038/s41591-019-0626-9. Epub 2019 Nov 7. PMID: 31700189; PMCID: PMC6980696.
- Yuli Haryani, Nadrah Abd Halid, Goh Sur Guat, M A R Nor-Khaizura, Asyraf Hatta, Suriana Sabri, Son Radu, Hanan Hasan, Characterization, molecular identification, and antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from selected fermented foods and beverages in Malaysia, *FEMS Microbiology Letters*, Volume 370, 2023, fnad023, <https://doi.org/10.1093/femsle/fnad023>
- Zanane C, Mitro S, Mazigh D, Lekchiri S, Hakim T, El Louali M, Latrache H, Zahir H. Characterization of *Streptomyces* Cell Surface by the Microbial Adhesion to Solvents Method. *Int J Microbiol*. 2023 May 11;2023:8841509. doi: 10.1155/2023/8841509. PMID: 37214152; PMCID: PMC10195169.
- Zandona E, Blažić M, Režek Jambrak A. Whey Utilization: Sustainable Uses and Environmental Approach. *Food Technol Biotechnol*. 2021 Jun;59(2):147-161. doi: 10.17113/ftb.59.02.21.6968. PMID: 34316276; PMCID: PMC8284110.
- Zawistowska-Rojek A, Kośmider A, Stępień K, Tyski S. Adhesion and aggregation properties of *Lactobacillaceae* strains as protection ways against enteropathogenic bacteria. *Arch Microbiol*. 2022 Apr 27;204(5):285. doi: 10.1007/s00203-022-02889-8. PMID: 35478049; PMCID: PMC9046290.
- Zeng Z, Yuan Q, Yu R, Zhang J, Ma H, Chen S. Ameliorative Effects of Probiotic *Lactobacillus paracasei* NL41 on Insulin Sensitivity, Oxidative Stress, and Beta-Cell Function in a Type 2 Diabetes Mellitus Rat Model. *Mol Nutr Food*

- Res. 2019 Nov;63(22):e1900457. doi: 10.1002/mnfr.201900457. Epub 2019 Sep 12. PMID: 31433912.
- Zhang C, Li G, Lu T, Liu L, Sui Y, Bai R, Li L, Sun B. The Interaction of Microbiome and Pancreas in Acute Pancreatitis. *Biomolecules*. 2023 Dec 31;14(1):59. doi: 10.3390/biom14010059. PMID: 38254659; PMCID: PMC10813032.
- Zhang F, Pu J, Gu Z, Mao H. DIA proteomics reveals hypotensive and immune-enhancing constituents in buffalo whey from different altitudes. *Int J Biol Macromol*. 2020 Dec 1;164:4146-4154. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2020.08.213. Epub 2020 Aug 31. PMID: 32882282.
- Zhang SL, Han B, Mao YQ, Zhang ZY, Li ZM, Kong CY, Wu Y, Chen GQ, Wang LS. *Lacticaseibacillus paracasei* sh2020 induced antitumor immunity and synergized with anti-programmed cell death 1 to reduce tumor burden in mice. *Gut Microbes*. 2022 Jan-Dec;14(1):2046246. doi: 10.1080/19490976.2022.2046246. PMID: 35259052; PMCID: PMC8920197.
- Zhao C., & Ashaolu, T. J. (2020). Bioactivity and safety of whey peptides. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie*, 134. Article 109935.
- Zhao C., Chen, N., & Ashaolu, T. J. (2022). Whey proteins and peptides in healthpromoting functions – a review. *International Dairy Journal*, 126, Article 105269. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105269>
- Zhao J, Wang L, Cheng S, Zhang Y, Yang M, Fang R, Li H, Man C, Jiang Y. A Potential Synbiotic Strategy for the Prevention of Type 2 Diabetes: *Lactobacillus paracasei* JY062 and Exopolysaccharide Isolated from *Lactobacillus plantarum* JY039. *Nutrients*. 2022 Jan 16;14(2):377. doi: 10.3390/nu14020377. PMID: 35057558; PMCID: PMC8782018.
- Zhao Q, Zheng W, Yuan Z, Wang X, Huang A. Anti-inflammatory effect of two novel peptides derived from Binglangjiang buffalo whey protein in lipopolysaccharide-stimulated RAW264.7 macrophages. *Food Chem*. 2023 Dec 15;429:136804. doi: 10.1016/j.foodchem.2023.136804. Epub 2023 Jul 8. PMID: 37490818.
- Zheng J, Wittouck S, Salvetti E, Franz CMAP, Harris HMB, Mattarelli P, O'Toole PW, Pot B, Vandamme P, Walter J, Watanabe K, Wuyts S, Felis GE, Gänzle MG, Lebeer S. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2020 Apr;70(4):2782-2858. doi: 10.1099/ijsem.0.004107. Epub 2020 Apr 15. PMID: 32293557.
- Zheng X, Nie W, Xu J, Zhang H, Liang X, Chen Z. Characterization of antifungal cyclic dipeptides of *Lacticaseibacillus paracasei* ZX1231 and active packaging film prepared with its cell-free supernatant and bacterial nanocellulose. *Food Res Int*. 2022 Dec;162(Pt A):112024. doi: 10.1016/j.foodres.2022.112024. Epub 2022 Oct 7. PMID: 36461308.
- Zimmermann JA, Sirini N, Olivero CR, Renna MS, Signorini ML, Zbrun MV, Frizzo LS, Soto LP. Macroencapsulation of *Limosilactobacillus reuteri* DSPV002C as nutritional supplement for piglets: Storage stability and survival in gastrointestinal conditions. *Rev Argent Microbiol*. 2023 Nov 1:S0325-7541(23)00082-2. doi: 10.1016/j.ram.2023.07.005. Epub ahead of print. PMID: 37923699.
- Zommara M, El-Ghaish S, Haertle T, Chobert JM, Ghanimah M. Probiotic and technological characterization of selected *Lactobacillus* strains isolated from

- different egyptian cheeses. *BMC Microbiol.* 2023 Jun 3;23(1):160. doi: 10.1186/s12866-023-02890-1. PMID: 37270482; PMCID: PMC10238244.
- Zou Q, Cai M, Hu Y, Ge C, Wang X, Duan R. *Bacillus licheniformis* bloodstream infections associated with oral probiotic administration: Two case reports. *Indian J Med Microbiol.* 2023 Nov 1;47:100485. doi: 10.1016/j.ijmmb.2023.100485. Epub ahead of print. PMID: 37922701.
- Zouari A, Briard-Bion V, Gaucheron F, Schuck P, Gaiani C, Triki M, Attia H, Ayadi MA. Effect of pH on the physicochemical characteristics and the surface chemical composition of camel and bovine whey protein's powders. *Food Chem.* 2020 Dec 15;333:127514. doi: 10.1016/j.foodchem.2020.127514. Epub 2020 Jul 10. PMID: 32683259.