

CAPÍTULO 3

Probiogenômica: Análise Genômica dos Probióticos e Seus Benefícios à Saúde

Eduarda Guimarães Sousa, Lucas Gabriel Rodrigues Gomes, Arun Kumar Jaiswal, Laura Diniz Freitas, Rafael Júnio de Oliveira, Letícia Isadora Rodrigues, Luiza Pereira Reis, Aline Ferreira Maciel de Oliveira, Siomar de Castro Soares, Vasco Ariston de Carvalho Azevedo

<https://doi.org/10.69570/mp.978-65-84548-32-9.c3>

Resumo

Segundo a Organização para Alimentação e Agricultura (FAO) e Organização Mundial da Saúde (OMS) a definição de probióticos são microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro. Para cada cepa probiótica a segurança e eficácia deve ser avaliada, e bem como a análise dos efeitos desses microrganismos na garantia de probiose. Nos últimos anos foi observado um avanço nas tecnologias de sequenciamento e bioinformática, os quais impulsionaram a pesquisa em microbiologia. O desenvolvimento das plataformas de análises *in silico*, que utilizam tecnologias baseadas em ômicas, permitiu caracterizar essas linhagens como potenciais probióticos, bem como identificar fatores genéticos, elucidar os complexos mecanismos que promovem a sobrevivência, adaptação ao trato gastrointestinal e promoção de efeitos benéficos desses microrganismos ao hospedeiro. Os dados genômicos possibilitaram uma análise mais aprofundada sobre os fatores genéticos e moleculares relacionados com os efeitos de probiose como atividades antimicrobianas e antifúngicas, produção de metabólitos secundários, genes que codificam compostos bioativos como vitaminas e genes relacionados com a imunomodulação e produção de citocinas anti-inflamatórias. Análises a nível genômico, associadas com estudos *in vitro* e *in vivo*, vêm sendo utilizadas para a caracterização de novos candidatos probióticos, e fornecendo novas perspectivas sobre os principais fatores associados às características funcionais e de segurança destes microrganismos. Através das análises de probiogenômica é possível analisar e revelar a base molecular sobre a diversidade, interação e evolução de bactérias comensais e probióticas na promoção da saúde do hospedeiro. O objetivo deste capítulo é fornecer uma visão global da Probiogenômica, das suas técnicas e das suas aplicações, explorando os seus fundamentos, avanços e perspectivas futuras.

Palavras-chave: Probiogenômica; Probióticos; Bioinformática; Ômicas

1. Introdução

O estudo de probióticos nos últimos anos se tornaram relevantes na indústria farmacêutica e alimentícia, devido sua alta aplicabilidade e benefícios na prevenção de doenças e melhoria do estado nutricional. A probiogenômica é uma evolução nos estudos de probióticos que são definidos como "microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro" (HILL et al., 2014), a qual é uma área crescente devido o sequenciamento de nova geração e o aumento de técnicas e programas de bioinformática para analisar molecularmente todos os benefícios e segurança de uma cepa probiótica (SIMONE, 2019). Esse fenômeno gerou um crescente interesse tanto na pesquisa quanto no mercado global, impulsionado pela demanda crescente por produtos que contenham probióticos, sejam eles convencionais ou inovadores. Nesse contexto, surge a análise de novas cepas probióticas de última geração, isoladas de ecossistemas convencionais e não convencionais, com características que possam agregar valor ao mercado (LIN et al., 2019).

Em 2009, a probiogenômica surgiu como uma disciplina focada em estudar a diversidade de bactérias probióticas e entender os mecanismos moleculares por trás de seus benefícios à saúde (VENTURA et al., 2008). A disponibilização de sequências genômicas desses microrganismos ampliou significativamente nosso conhecimento sobre sua biologia. Apesar disso, técnicas microbiológicas tradicionais ainda são amplamente utilizadas para identificar, classificar e quantificar probióticos, embora sejam demoradas e nem sempre precisas, especialmente ao identificar bactérias em nível de espécie ou detectar microrganismos não cultiváveis (LUGLI et al., 2022).

O processo de identificação e avaliação de novas cepas com potencial probiótico evoluiu e se tornou mais complexo. As cepas candidatas precisam ser analisadas por meio de uma combinação de testes *in silico* e *in vitro*, levando em conta critérios funcionais, propriedades tecnológicas e aspectos relacionados à segurança (DE MELO PEREIRA et al., 2018). Os resultados obtidos nestes primeiros testes devem ser confirmados por modelos experimentais em animais e, por fim, validados em ensaios clínicos com seres humanos (SHARMA et al., 2020). Os benefícios dos microrganismos probióticos para a saúde humana são

frequentemente agrupados em categorias como o fortalecimento da barreira intestinal, a regulação da resposta imunológica e o combate a patógenos, seja pela produção de substâncias antimicrobianas ou pela competição por locais de adesão na mucosa (MARCO et al., 2006; O'HARA e SHANAHAN, 2007). Embora haja evidências que sustentem essas funções, os mecanismos moleculares subjacentes ainda não são totalmente compreendidos. Nesse contexto, a probiogenômica desempenha um papel crucial ao fornecer ferramentas avançadas para explorar esses mecanismos em nível genético e molecular, possibilitando uma compreensão mais detalhada dos processos que sustentam os benefícios dos probióticos (VENTURA et al., 2008).

Nos últimos anos, a probiogenômica se firmou como uma ferramenta crucial no estudo dos probióticos. Com o sequenciamento dos genomas de *Bifidobacterium longum* NCC2705 e *Lactobacillus plantarum* WCFS1, os pesquisadores passaram a investigar mais profundamente as características genéticas de microrganismos com potencial probiótico (SANCHEZ et al., 2013; CASTRO-LOPEZ et al., 2021). Atualmente, a base de dados National Center for Biotechnology Information (NCBI) reúne cerca de milhares de sequências de bactérias probióticas tradicionais e de nova geração, oferecendo um vasto conteúdo para pesquisa sobre probióticos, seus mecanismos de probiose e segurança (LEE et al., 2023). O progresso das tecnologias de sequenciamento tornou a probiogenômica um campo essencial, permitindo a identificação de genes e propriedades funcionais das cepas probióticas, além de possibilitar a seleção mais precisa de novos probióticos com base em seu perfil genético (FONTANA et al., 2020).

No contexto da microbiota intestinal, a probiogenômica é uma ótima metodologia para a compreensão da interação entre probiótico e hospedeiro. Ao explorar o perfil genético dos microrganismos presentes no trato intestinal e como esses organismos influenciam a saúde do hospedeiro, a probiogenômica permite identificar como diferentes cepas de probióticos interagem com o organismo e a comunidade, modulando processos fisiológicos e imunológicos (VENTURA et al., 2008; CARVALHO et al., 2022). Essa área também se conecta estreitamente à metagenômica, que é uma ferramenta possível de estudar a composição genética da microbiota intestinal em seu conjunto, permitindo uma

análise do ecossistema microbiano, por tecnologias de sequenciamento de genoma completo ou metagenômica parcial, com o gene 16s por exemplo (CARVALHO et al., 2022; AW e FUKUDA, 2015). Ao integrar essas abordagens, é possível revelar como os probióticos podem afetar a função da microbiota intestinal, promovendo a saúde intestinal, prevenindo doenças e melhorando a resposta imunológica, e como os compartilham informações, por meio de estudos de plasticidade genômica, sintenia gênica e genômica comparativa. Dessa forma, a probiogenômica oferece insights valiosos para o desenvolvimento de terapias mais personalizadas e eficazes, bem como uma compreensão mais aprofundada na interação entre microrganismo e hospedeiro e toda a organização do ecossistema microbiano (DA SILVA et al., 2024).

A probiogenômica é uma área interdisciplinar que combina diversas tecnologias ômicas, como genômica, transcriptômica, proteômica e metabolômica, proporcionando uma compreensão abrangente e aprofundada dos mecanismos pelos quais os probióticos exercem seus efeitos benéficos no organismo. A integração dessas abordagens permite não apenas o mapeamento detalhado das propriedades fisiológicas dos microrganismos, mas também a análise das interações complexas entre esses microrganismos e o hospedeiro, especialmente no ambiente intestinal (KWOJI et al., 2023).

Por meio da genômica, é possível identificar os genes presentes em cepas probióticas, enquanto a transcriptômica permite o estudo dos padrões de expressão gênica, revelando como essas cepas respondem a diferentes estímulos e condições ambientais (YETIMAN et al., 2023; LEE et al., 2023). A proteômica, por sua vez, ajuda a identificar as proteínas produzidas por essas bactérias e suas funções no contexto do hospedeiro, enquanto a metabolômica oferece uma visão detalhada dos metabólitos produzidos, ajudando a entender como esses compostos influenciam a saúde do hospedeiro, incluindo a modulação da microbiota intestinal e o metabolismo (ESCOBAR-SANCHEZ et al., 2023; ECHEGARAY et al., 2023).

Essas ferramentas ômicas, em conjunto, possibilitam a análise não apenas das interações entre os probióticos e o ambiente intestinal, mas também o exame da adaptação dos microrganismos ao hospedeiro e de como eles influenciam funções imunológicas e metabólicas. Além disso, elas são

essenciais para a descoberta de genes relacionados a características desejáveis nos probióticos, como resistência a condições adversas do Trato Gastrointestinal (TGI) e produção de compostos bioativos, ao mesmo tempo em que permitem a identificação de traços indesejáveis, como a produção de substâncias potencialmente prejudiciais (JIANG et al., 2023; ZMORA et al., 2018).

A integração de abordagens microbiológicas clássicas com as novas ferramentas genômicas permite uma melhor caracterização de microrganismos benéficos, o que pode levar ao desenvolvimento de terapias mais eficazes baseadas em probióticos. Além disso, os avanços na pesquisa de microbiota e sequenciamento de nova geração têm um potencial significativo para personalizar o uso de probióticos e fornecer tratamentos específicos para diferentes condições de saúde. Dessa forma, este capítulo abordará a relevância crescente do estudo de probióticos na probiogenômica, destacando oportunidades e desafios enfrentados pelos pesquisadores. Será discutido o estudo multiômico na caracterização de linhagens probióticas, a importância de sua identificação e a avaliação da probiose e segurança dos microrganismos como potenciais probióticos, conforme ilustrado na **Figura 1**.

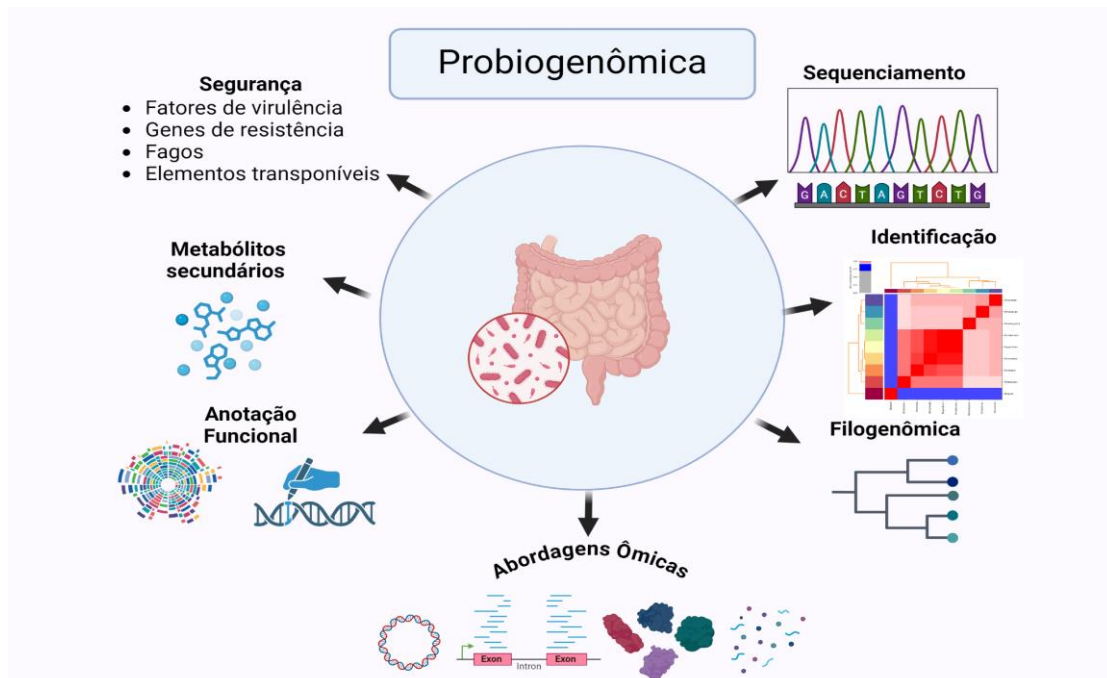


Figura 1. Diagrama abrangente dos principais aspectos relacionados ao estudo de Probiogenômica, destacando as áreas centrais de investigação e as metodologias integradas utilizadas nesse campo interdisciplinar.

2. Abordagens Ômicas na Pesquisa Probióticos

O TGI é um ecossistema complexo com um microbioma consistente de microrganismos em relações que podem variar entre simbiose, comensalidade e patogênese (VENTURA et al., 2012). A interação entre o hospedeiro e sua microbiota intestinal tem efeitos importantes na manutenção da saúde, podendo promover imunidade, garantir a integridade do intestino, melhorar nutrição e defender contra patógenos (YIN et al., 2019). Probióticos, portanto, são definidos como “microrganismos que, quando aplicados em doses adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro” através da modulação da microbiota (HILL et al., 2014).

Os mecanismos moleculares dos probióticos são pouco compreendidos e específicos à linhagem e hospedeiro (VENTURA et al., 2012). Sua compreensão requer abordagens que avaliem seus mecanismos em todos os níveis, dos genes à regulação no hospedeiro e microbiota, até a síntese de proteínas e metabólitos (KWOJI et al., 2023). As ciências ômicas, como Genômica, Transcriptômica, Proteômica e Metabolômica (**Figura 2**), são ferramentas importantes para avaliar probióticos nesses níveis.

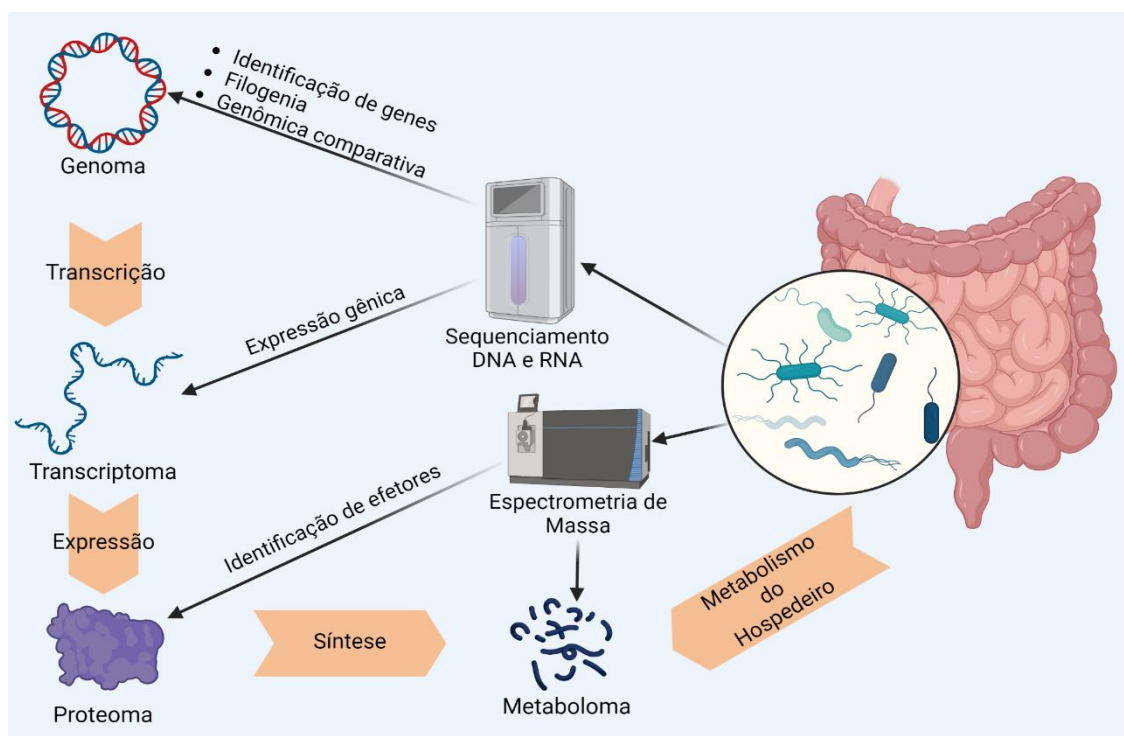


Figura 2. Diagrama das aplicações das ciências ômicas que são chave para a Probiogenômica, destacando as metodologias principais de extração de informação sobre as ômicas dos probióticos e como impactam o campo.

2.1. Genômica

Desenvolvimentos recentes no campo de sequenciamento de genomas têm possibilitado, cada vez mais, o desenvolvimento de robustos bancos de dados como o GenBank, que contém as sequências de uma ampla gama de microrganismos (SAYERS et al., 2023). A análise das sequências codificantes que compõem o genoma de bactérias permite identificar genes relacionados à sua atividade e probiose, prometendo elucidar os fundamentos moleculares por trás de seus benefícios à saúde (VENTURA et al., 2008).

Além da capacidade de sequenciar e caracterizar genes presentes nos genomas de probióticos, a expansão de aplicações da genômica nos permite realizar análises comparativas entre eles. Análises de pangenoma nos permitem caracterizar o repertório gênico de espécies probióticas e avaliar genes compartilhados por grupos de linhagens probióticas, bem como os exclusivos a linhagens de interesse (VENTURA et al., 2008; MAKAROVA et al., 2006; CLAEISSON et al., 2008).

Ainda no campo do sequenciamento de genomas, metodologias amplas para análise de metagenomas também têm tido grande relevância em estudos sobre o TGI. A metagenômica permite avaliar a composição da microbiota e abundância de espécies, bem como avaliar os efeitos da aplicação de probióticos com base na saúde do microbioma MAAKE et al., 2021.

2.2. Transcriptômica

Enquanto a genômica se concentra em sequenciar e analisar os genomas de microrganismos probióticos, a transcriptômica é o estudo do que é transcrito a partir desses genomas. Isto é, a transcriptômica analisa todas as formas de RNA, mensageiro ou não-codificante, bem como suas funções e padrões de transcrição (MILWARD et al., 2016). Isso permite avaliar genes que são transcritos em diferentes condições, como sob estresses ou em contato com outros microrganismos, e as diferenças em expressão entre elas (MILWARD et al., 2016).

Através dessas análises, é possível identificar fatores gênicos envolvidos em sobrevivência a estresses, como por exemplo na passagem dos probióticos

pelo TGI até chegarem na região intestinal (CHEN et al., 2021). A transcriptômica aplicada em comunidades através da metatranscriptômica nos permite avaliar a expressão diferenciada de genes em comunidade com a microbiota e durante processos como a fermentação (EDLUND et al., 2018; SONG et al., 2017).

Indo além da microbiota, a transcriptômica também pode ser usada para medir os efeitos modulatórios dos probióticos nos hospedeiros. Ao avaliar a expressão diferencial de genes em condições de disbiose e com a aplicação de probióticos, é possível avaliar a influência de probióticos em fatores da saúde do hospedeiro (RODRIGUES et al., 2021; KIU et al., 2020).

2.3. Proteômica

A proteômica, por sua vez, é o estudo das proteínas produzidas por uma célula ou tecido através de metodologias capazes de identificar, contabilizar e caracterizar a síntese proteica dos probióticos (RUIZ et al., 2016). Dessa forma, essa disciplina permite a avaliação funcional de efetores de probiose de forma mais específica, uma vez que dados de genoma e transcriptoma não contêm informação precisa de expressão proteica nem de modificações pós-traducionais (KOPONEN et al., 2012).

Em integração com outras análises ômicas, a proteômica permite contabilizar fatores essenciais para a adesão dos probióticos com a mucosa, colonização do TGI, atividade antimicrobiana, dentre outras características funcionais dos probióticos (RUIZ et al., 2016). Adicionalmente, também se podem realizar análises da expressão proteica do hospedeiro e do restante da microbiota através da metaproteômica, permitindo avaliar as interações feitas pelas proteínas dos probióticos (ZHANG et al., 2018). Ao contabilizar e caracterizar proteínas e peptídeos efetores e suas interações com proteínas e tecidos do hospedeiro, é possível analisar como certos probióticos podem modular a saúde humana (ZHANG et al., 2020).

2.4. Metabolômica

Contudo, os efeitos dos probióticos não se dão apenas através de efetores proteicos. A metabolômica é um campo de estudo que se centra na

contabilização e caracterização dos perfis de metabólitos que são fruto de processos biológicos. Esses metabólitos podem vir tanto do hospedeiro quanto da microbiota, sendo eles peptídeos, carboidratos, lipídeos, vitaminas, ácidos orgânicos e outras pequenas moléculas que resultam do metabolismo celular). Probióticos podem, portanto, efetivar mudança no estado de saúde do hospedeiro através da metabolização de compostos no lúmen do TGI e produção de metabólitos secundários bioativos (SALMINEN et al., 2021).

3. Aplicação da probiogenômica para determinação do potencial probiótico

3.1. Identificação molecular dos candidatos à probióticos

A identificação bacteriana é o conjunto de procedimentos utilizados para determinar a espécie ou o grupo ao qual uma determinada bactéria pertence. Esse processo é fundamental tanto para a microbiologia clínica quanto para a pesquisa microbiológica em geral. Ele pode envolver uma variedade de métodos, desde abordagens tradicionais, como a cultura bacteriana em meios específicos e testes bioquímicos, até métodos mais modernos e precisos, como o sequenciamento genético. No contexto do sequenciamento de nova geração (NGS), a identificação bacteriana é baseada principalmente na análise de sequências de DNA extraídas do genoma bacteriano. Essa abordagem molecular permite identificar as características genéticas específicas de uma bactéria, muitas vezes com mais precisão e rapidez do que os métodos tradicionais (WINAND et al., 2019). Demonstrando assim sua eficácia e agilidade nas pesquisas científicas, essas ferramentas baseadas em NGS permitem gerar uma ampla gama de dados que facilitam a classificação dos microrganismos em estudo.

Essas tecnologias têm sido amplamente empregadas em pesquisas sobre potenciais probióticos, possibilitando análises detalhadas de genomas, a identificação de espécies e a avaliação de suas características funcionais. De acordo com o estudo (GARCÍA-HERNÁNDEZ et al., 2016), a determinação das características moleculares de uma bactéria potencialmente probiótica depende, fundamentalmente, do conhecimento da espécie a que ela pertence. Existem diversos métodos de identificação que podem ser aplicados após a montagem

do genoma. Entre eles, destaca-se a análise por Average Nucleotide Identity (ANI) e Hibridização Digital de DNA-DNA, que surgiu da necessidade de um método confiável para a definição de espécies bacterianas, útil para identificar relações evolutivas em cepas com genomas completos ou parciais, sendo um importante programa de bioinformática quando estamos tratando de identificação de cepas bacterianas (LINDSEY et al., 2023; RICHTER e ROSSELLÓ-MÓRA, 2009; AUCH et al., 2010).

O ANI calcula a identidade média de nucleotídeos entre dois genomas bacterianos, comparando as sequências de DNA em regiões conservadas. A alta identidade de ANI (acima de 95%) sugere que as duas amostras pertencem à mesma espécie, enquanto uma baixa identidade (abaixo de 95%) indica que são de espécies diferentes. Por ser uma análise genômica de alta precisão, o ANI oferece uma alternativa eficiente e mais confiável do que métodos tradicionais, como a hibridização do DNA. O pyANI, por exemplo, é uma ferramenta amplamente utilizada para realizar essa análise, sendo útil para identificar relações evolutivas em cepas com genomas completos ou parciais. Essa abordagem tem se consolidado como uma das principais na identificação de cepas bacterianas (PRITCHARD et al., 2015). Outro exemplo é o O GTDB-TK é uma ferramenta de classificação taxonômica, baseada no cálculo de ANI, que utiliza um banco de dados atualizado para atribuir genomas microbianos a uma taxonomia padronizada, melhorando a consistência e precisão na nomenclatura microbiana <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btz848>.

Já o dDDH é uma análise que compara sequências de genomas e mede a similaridade entre dois DNAs pela formação de híbridos e calculando a distância genômica. O dDDH é utilizado para delinear espécies microbianas, baseando-se na quantidade de hibridização entre os fragmentos de DNA. Ferramentas como TYGS são comumente utilizadas para realizar essas análises, para calcular as distâncias genéticas entre pares de genomas. Quando a porcentagem de hibridização é alta (>70%), as cepas são consideradas da mesma espécie, enquanto uma porcentagem baixa (<70%) sugere espécies diferentes (MEIER-KOLTHOFF e GÖKER, 2019).

A anotação de genomas é um processo fundamental na bioinformática que envolve a identificação e a interpretação das funções dos genes presentes

em uma sequência. Esse processo não se limita apenas à localização dos genes, mas também inclui a atribuição de funções, a predição de regiões codificantes e a análise de elementos regulatórios. No contexto dos probióticos, a anotação de genomas desempenha um papel crucial, pois permite a identificação precisa de características genéticas que determinam a viabilidade, a segurança e a eficácia dessas bactérias. Dessa forma, a anotação genômica é uma ferramenta essencial para o desenvolvimento de probióticos mais eficazes e seguros, além de facilitar a compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos em seus efeitos terapêuticos (STEIN, 2001; LOBB et al., 2020).

O Prokaryotic Genome Annotation (Prokka), é uma ferramenta de anotação e automática de genomas de procariotos, identificando genes, RNAs e outros elementos genéticos, fornecendo uma visão detalhada das funções e características presentes no genoma (SEEMANN, 2014), a qual integra programas como o BLAST, HMMER, Prodigal e Aragorn, para realizar buscas em bancos de dados de genes conhecidos e prever funções para os novos genes encontrados. No contexto de probióticos, a anotação de genomas com o Prokka tem grande relevância, pois ela permite a identificação de genes-chave que são essenciais para a atividade probiótica das cepas bacterianas.

A anotação funcional é uma etapa importante quando se trata de identificação de possíveis candidatos a probióticos, predizendo seus genes e anotando o seu genoma de forma completa a fim de observar sua funcionalidade, analisar vias metabólicas bacterianas. A qual irá auxiliar na avaliação das propriedades funcionais dos probióticos, como a capacidade de metabolizar substâncias, produzir enzimas benéficas ou até mesmo interagir de forma positiva com a microbiota intestinal, dentre outras especificidades microbianas (RODRIGUES, 2023).

Há diversas ferramentas de bioinformática que impulsionam a pesquisa na probiogenômica a fim de determinar as características, anotações funcionais e moleculares de microrganismos potencialmente probióticos. Ferramentas como o Rapid Annotation using Subsystem Technology (RAST) é um servidor que identifica genes codificadores de proteínas, rRNA e tRNA além de atribuir aos genes suas devidas funcionalidades, podendo assim fornecer informações para construção de vias metabólicas do genoma bacteriano (AZIZ et al., 2008).

Outro tipo de anotação funcional muito utilizada é na predição baseada em *Clusters of Orthologous Groups of Proteins* (COG), pertencente ao NCBI, que é um banco de dados que organiza proteínas de genomas microbianos completos em famílias de genes ortólogos. Cada COG representa um grupo de genes relacionados evolutivamente, permitindo a classificação filogenética e ajudando a identificar funções conservadas entre diferentes organismos. É amplamente utilizado para análises comparativas e anotações funcionais em genômica microbiana (GALPERIN et al., 2019). Já o EggNOG é um banco de dados que fornece dados de ortologia e informações funcionais para microrganismos, oferecendo árvores filogenéticas, permitindo assim estudo evolutivo de espécies além de eventos de duplicações e especiações (HERNÁNDEZ.PLAZA et al., 2023). O KEGG se destaca por ser um banco de dados e software em que podemos fazer uma simulação de comportamentos funcionais como rede de interação de proteínas e reações químicas de organismos a partir de informações genômicas (KANEHISA e SUBRAMANIAM, 2002) através de uma coleção de genes completamente sequenciados com anotações atualizada das funções genéticas (KANEHISA e GOTO, 2000). Esses são apenas alguns exemplos de ferramentas e programas amplamente utilizados no campo da bioinformática para caracterizar possíveis candidatos com potencial probiótico. Entretanto, o desenvolvimento de métodos computacionais e plataformas bioinformáticas para previsão de genes, identificação de cepas microbianas e anotação funcional continua a ser uma vertente crucial de pesquisa em genômica, dada sua relevância para a identificação de isolados bacterianos (GOLYSHEV e KOROTKOV, 2015).

3.2. Avaliação de segurança de probióticos

O status de *Generally Recognised as Safe* (GRAS) é usado pela *Food and Drug Administration* (FDA) para selecionar, por lei, quais substâncias são reconhecidas como seguras e assim podem se tornar aditivos alimentares (FDA GRAS, 2024). Analogamente, o status *Qualified Presumption of Safety* (QPS) é usado pela *European Food Safety Authority* (EFSA), também para regular os aditivos seguros e autorizados para uso alimentar (ROUQUETTE et al., 1998).

Dessa forma, para que uma cepa probiótica possa ser adicionada em alimentos e comercializada, é necessário que ela tenha o status GRAS e QPS, que podem ser obtidos por meio de procedimentos científicos que comprovem a segurança da mesma. Nesse tópico serão abordadas características avaliadas na segurança de probióticos e programas que auxiliam nessa análise probiogenômica.

3.2.1. Fatores de virulência

Os fatores de virulência englobam diferentes características que uma cepa bacteriana pode possuir, como atividade hemolítica, aderência, degradação de mucina, desconjugação de sais biliares, produção de metabólitos tóxicos e indução de quaisquer efeitos adversos no hospedeiro. Todos esses fatores são característicos de bactérias patogênicas, porém as probióticas podem ter algumas dessas características como adaptação ao ambiente intestinal [63]. Dessa forma, cepas probióticas podem ter a presença de algum fator de virulência, mas o mesmo não afetar os benefícios do microrganismo.

3.2.2. Resistência à antibióticos

A resistência à antibióticos podem ser intrínseca, quando a resistência está no cromossomo do organismo, ou adquirida, que acontece quando um microrganismo demonstra resistência a um antimicrobiano ao qual anteriormente era suscetível. Ao realizar a avaliação da segurança de um probiótico é importante investigar a presença ou não de resistência a uma gama dos principais antimicrobianos e, se presente, se ela é intrínseca ou adquirida. Isso porque a resistência intrínseca, por estar em genes não transferíveis, não apresenta risco ao hospedeiro, enquanto a adquirida, por estar em elementos genéticos móveis, pode ser transferida horizontalmente para outros organismos da microbiota do indivíduo (DE JESUS et al., 2024). Dessa forma, essa resistência em probióticos pode trazer um risco à eficiência de tratamentos para infecções, caso a bactéria que o paciente necessita tratar tenha recebido o gene de resistência ao antimicrobiano que está sendo usado (IMPERIAL e IBANA, 2016).

3.2.3. Elementos transponíveis (Fagos e integrases, ilhas genômicas, plasmídeos e crispr-cas)

Um microrganismo pode possuir diferentes tipos de elementos transponíveis, que são sequências de DNA capazes de se mover entre genomas [66]. Fagos são vírus que infectam bactérias e podem integrar material genético heterólogo no seu genoma, o que pode ser perigoso caso esse material genético possua genes de virulência ou resistência antimicrobiana. Integrases são enzimas responsáveis por integrar segmentos diferentes de DNA, causando um maior risco à segurança da bactéria ao integrar genes transmitidos por bacteriófagos, plasmídeos transmitidos horizontalmente com genes de virulência, entre outros (NEMERGUT et al., 2008). Plasmídeos são DNA circular independente do cromossomo do hospedeiro que possuem genes não essenciais (DOGHATHER e GULL, 2019). Por mais que sua presença na cepa não comprove perigo diretamente, se esse material genético possuir genes de resistência ou virulência ele pode facilmente ser transmitido horizontalmente para outros microrganismos da microbiota ou para patógenos ali presentes e assim dificultar o tratamento do paciente (VARANKOVICH et al., 2015).

O sistema CRISPR-Cas é uma ferramenta análoga ao sistema imunológico adaptativo presente em algumas bactérias, que conseguem inativar vírus e plasmídeos que tentem invadi-la (VAN DER OOST et al., 2014). Porém, da mesma forma que os plasmídeos, esse sistema pode ser passado por transferência horizontal e fornecer imunidade a patógenos no organismo do hospedeiro ou para a própria microbiota, acarretando na diminuição da diversidade do microbioma intestinal (MONSHIZADEH et al., 2022). Ilhas genômicas são segmentos de DNA presentes em linhagens ligadas entre si que participam da diversidade e adaptabilidade dos microrganismos (JUHAS et al., 2009). Semelhante aos últimos citados elas podem possuir genes de resistência e virulência, trazendo perigo para outros microrganismos presentes no hospedeiro (JUHAS et al., 2009).

3.2.4. Produção de aminas biogênicas

Aminas biogênicas são compostos orgânicos nitrogenados formados pelos processos de descarboxilação de aminoácidos ou animação e

transaminação de cetonas e aldeídos. Alguns exemplos das mesmas são histamina, cadaverina, tiramina, putrescina e triptamina (WÓJCIK et al., 2021). Esses compostos, em baixas concentrações, não apresentam risco, mas em níveis mais altos podem ser tóxicos (CASTRO-LÓPEZ et al., 2021), causando sintomas como hipertensão, dores de cabeça, vômito, problemas respiratórios, entre outros (EFSA, 2011).

Não existe uma regulação que especifique os limites da quantidade de aminas biogênicas que podem estar presentes nos alimentos, somente para a histamina em produtos com peixes (REGULATION EU, 2013). Dessa forma, é importante o uso da pesquisa para verificar se o microrganismo probiótico produz ou não aminas biogênicas e, se sim, verificar se ela causaria sintomas no paciente, para assim garantir a segurança da mesma.

3.2.5. Ferramentas bioinformáticas que participam da avaliação da segurança

Todos os elementos citados nos tópicos anteriores impactam de alguma forma na avaliação da segurança de uma cepa probiótica e por isso é importante o uso de ferramentas bioinformáticas para auxiliar a análise desses pontos (PENG et al., 2023) para melhor compreender os mecanismos moleculares e genéticos associados na caracterização de linhagens probióticas em relação a sua segurança, na **Tabela 1** está sumarizado as principais ferramentas de bioinformática utilizadas para avaliação desses fatores.

Tabela 1. Principais ferramentas de Bioinformática utilizadas para análise de segurança para a caracterização de microrganismos probióticos.

Ferramenta/banco de dados/programa	Metodologia	Artigo/documentação
VFAnalyzer/VFDB	Plataforma com banco de dados próprio que constrói grupos ortólogos nos genomas de referência e no genoma inserido para análise, realiza um BLAST para verificar os fatores de virulência.	(EFSA, 2011)

PanViTa	Plataforma que usa o banco de dados VFDB para identificar genes de resistência e virulência através do DIAMOND	(RODRIGUES et al., 2023)
Abriicate	Compara a sequência com diversos bancos de dados (como NCBI, CARD, VFDB e Resfinder) a fim de verificar resistência antimicrobiana ou virulência.	(GITHUB, 2024)
VFARs	Ferramenta que usa de diversos bancos de dados e compara os dados genômicos, proteômicos, metabolômicos e transcriptômicos do microrganismo, a fim de visualizar fatores de virulência ou resistência a antimicrobianos.	WASSEEM et al., 2017)
SPAAN	É um modelo de rede neural validado por bancos de dados que calcula vetores relacionados a atributos de sequências de aminoácidos (frequência de aminoácidos, composição de carga, frequência de dipeptídeos, composição hidrofóbica e frequência de múltiplos) e compara a proteína inserida com padrões desses vetores, resultando na probabilidade da proteína ser uma adesina.	(SACHDEVA et al., 2005)
MAAP	Técnica que usa de primers oligonucleotídicos para amplificar regiões do DNA e gerar perfis característicos, que podem ser usados para identificação molecular do microrganismo, mapeamento genético, detecção de DNAs polimórficos, etc.	CAETANO.ANOLLÉS, 1994)
PathoFact	A ferramenta combina um banco de dados de perfis Hidden Markov Model (HMM) e um modelo de aprendizado baseado em Random Forest para comparar se a sequência inserida é de fatores de virulência ou não.	(DE NIES et al., 2021)
DeepVF	Software que identifica fatores de virulência (VFs) em bactérias Gram-negativas. Ele usa uma abordagem chamada "stacking" (ou "empilhamentos"), que combina vários modelos de aprendizado de máquina e deep learning para melhorar a precisão da previsão.	(XIE et al., 2021)
VF-Pred	A ferramenta usa de recursos extraídos como SeqSim e Seg-Alignment para alimentar modelos clássicos de machine learning, que então gera a	(SINGH et al., 2024)

	probabilidade da variante ter ou não alto potencial funcional de virulência.	
PRAP	Pipeline desenvolvido para rápida identificação de genes de resistência a antibióticos a partir de vários formatos de sequências do genoma completos com base no banco de dados CARD ou Resfinder.	(HE et al., 2020)
ResFinder	Banco de dados que usa BLAST ou KMA para alinhar as sequências gênicas inseridas com as sequências de resistência antimicrobiana do próprio banco de dados.	(FLORENSA et al., 2022)
CARD	Banco de dados que combina dados de genes e mutações ligadas a resistência a antimicrobianos.	(ALCOCK et al., 2023)
PATRIC	Plataforma online que combina dados das ômicas, como proteômica, metabolômica. Além de oferecer ferramentas para estudos de filogenia, detecção de resistência a antibióticos e análise comparativa.	(WATTAM et al., 2014)
RAST	Serviço de anotação totalmente automatizado, para genomas arqueanos ou bacterianos. O serviço busca produzir de forma rápida as funções genéticas e uma reconstrução das vias metabólicas iniciais.	(AZIZ et al., 2008)
AMRFINDER	Identifica genes de resistência de genes antimicrobianos. Ele combina buscas BLAST e HMM para identificar genes de resistência	(FELDGARDEN et al., 2019)
MEGARes	Banco de dados de resistência antimicrobiana são adaptados para perfis funcionais de genes em menor escala usando anotações altamente descritivas.	(LAKIN et al., 2017)
VAMPr	Ferramenta que combina grandes volumes de dados genômicos com análise estatística e computacional para melhorar o entendimento e a previsão da resistência a antibióticos.	(KIM et al., 2020)
PHASTER	Ferramenta que realiza um BLAST com bancos de dados de profagos, agrupa genes semelhantes a fagos e pontua cada região de acordo com a quantidade de genes relacionados a fagos.	(ARNDT et al., 2016)

PHASTEST	Ferramenta que usa o software Prodigal para identificar regiões codificantes de proteínas, compara as sequências com bancos de dado e faz um BLAST para determinar as regiões de fago.	(WISHART et al., 2023)
PhaTYP	Método que usa da arquitetura Transformer, identifica as sequências de fago e alinha usando BLAST. O modelo de linguagem Masked LM é treinado pra prever os tokens de proteínas e refinar o desempenho da ferramenta.	(SHANG et al., 2023)
PhaBOX	Servidor web que utiliza o algoritmo PhaMer para identificar contigs que representam profagos, um módulo PhaTYP para prever se o fago é de estilo virulento ou não, e então classifica o mesmo com a combinação das características de similaridade da sequência e as redes convolucionais usando o PhaGCN.	(SHANG et al., 2023)
VirSorter	Ferramenta que usa dos bancos de dados RefSeqABVir e Viromes e os compara com as proteínas por meio de BLAST, para então categorizar as regiões de profago.	(ROUX et al., 2015)
VIBRANT	Ferramenta que utiliza de rede neural treinado com métricas que incluem proporção de proteínas associadas a vírus, assim ele se baseia em pontos de similaridade para identificar e analisar fagos em microrganismos.	(KIEFT et al., 2020)
PlasmidFinder	Ferramenta que identifica plasmídeos em dados de sequenciamento genômico. Ele utiliza uma base de dados com 116 sequências de replicons, representando grupos de incompatibilidade conhecidos. A análise é feita comparando as sequências carregadas com a base usando o algoritmo BLASTn, com critérios mínimos de 80% de identidade e 60% de cobertura.	(CARATTOLI et al., 2020)
MOB-suite	É um conjunto de ferramentas genômicas que permite identificar, reconstruir e classificar plasmídeos com base em suas sequências genômicas.	(ROBERTSON, 2018)

GIPSy	Software que prevê ilhas genômicas de bactérias e archaea a partir de seu desvio de assinatura, podendo resultar na identificação de ilhas de: patogenicidade, virulência, metabólica, resistência e simbiose. Evolução do Pipsy.	(SOARES et al., 2016)
CRISPRFinder	Software que pode filtrar genomas de bactérias e archaea a partir de seu domínio conservado, e identificar e classificar os loci CRISPR-Cas de alta probabilidade, virulência, resistência, recombinação.	(GRISSA et al., 2007)

Os fatores de virulência podem ser analisados pela plataforma VFAnalyzer, que utiliza do seu próprio banco de dados para construir grupos ortólogos nos genomas inseridos e os de referência e realiza um BLAST para filtrar os parálogos, dessa forma, detectando os fatores de virulência da cepa (LIU et al., 2019). O SPAAN é um modelo de rede neural que calcula os atributos de sequências de aminoácidos como vetores e então compara a proteína inserida com os fatores frequência de aminoácidos, de dipeptídeos e de múltiplos, composição hidrofóbica e composição de carga, informando a chance da cadeia inserida ser uma adesina (SACHDEVA et al., 2005).

Os fatores de resistência antimicrobiana podem ser analisados utilizando o banco de dados CARD, que combina diversos dados de genes de resistência (ALCOCK et al., 2023), ou o ResFinder, que utiliza BLAST ou KMA para alinhar as sequência gênicas de referência da própria *database* com a inserida para análise (FLORENSA et al., 2022). Há também ferramentas que conseguem analisar virulência e resistência ao mesmo tempo. É o exemplo do PanViTa, que é uma plataforma que realiza um BLAST com GenBank e identifica os fatores [78], e o Abricate, que faz uma triagem de contigs comparando a sequência com vários bancos de dados (GITHUB, 2024).

A verificação da presença de plasmídeo no genoma bacteriano pode ser visualizada pelas ferramentas PlasmidFinder, que usa critérios de identidade e cobertura para realizar um BLAST com a sequência (CARATTOLI e HASMAN, 2020), e MOB-suite, que é a junção de várias ferramentas que identificam, reconstroem e classificam plasmídeos (ROBERTSON e NASH, 2018). Já o

PHASTER é usado para predição de profagos, com uma metodologia semelhante a outros em que ele realiza um BLAST com o *database*, agrupa genes de semelhança à fagos e pontua-os de acordo com a quantidade desses genes (ARNDT et al., 2016).

O PIPSy e GIPSy são preditores semelhantes de ilhas genômicas de bactérias. A grande diferença entre os softwares é a quantidade de ilhas genômicas que conseguem predizer, sendo que o GIPSy possui uma ampla gama de preditores resultando na identificação de cinco ilhas genômicas (de patogenicidade, de resistência, de virulência, metabólica e de simbiose) (SOARES et al., 2016), enquanto o PIPS possui apenas um preditor, podendo identificar apenas a ilha de virulência (SOARES et al., 2012). Por fim, o CRISPRFinder é um software que filtra genomas e identifica e classifica os loci com alta chance de ser Crispr-cas (GRISSA et al., 2007).

3.3. Avaliação dos mecanismos e propriedades de efeito de probiose

Os microrganismos também apresentam mecanismos de resposta ao estresse, conjuntos de adaptações moleculares, fisiológicas e bioquímicas para lidar com ambientes hostis ou que ameacem sua homeostase. As bactérias podem apresentar diversos mecanismos como resposta ao estresse, os quais são essenciais para a sobrevivência em ambientes adversos (BOOR et al., 2006). Esses mecanismos vão ser ativados quando ocorrer alguma mudança no ambiente, podendo ser mudança de pH, temperatura, nutrientes disponíveis, estresse oxidativo e outros fatores como exposição a antibióticos (ÇAKAR e SAKA, 2024).

Para as bactérias probióticas a resposta ao estresse é algo positivo, por garantir que estas sobrevivam, além de ser funcional e eficaz. Como as bactérias probióticas atuam no intestino elas precisam sobreviver por todo o TGI, um ambiente que passa por mudanças de pH, temperatura e salinidade, ação de enzimas que atuam na digestão, e outras mudanças físico-químicas (BOOR, 2006). Além disso, as bactérias podem competir com outros microrganismos, com a resposta ao estresse podendo conferir vantagens competitivas sobre os outros microrganismos, como patógenos (CASTRO-LÓPEZ et al., 2022).

Outrossim, algumas bactérias probióticas têm seus benefícios relacionados aos mecanismos de resposta ao estresse (KATHIRIYA, 2023).

Através da probiogenômica é possível identificar os genes e os reguladores gênicos que estão associados à resistência ao estresse. Essas ferramentas são muito importantes para a avaliação de possíveis cepas probióticas, além de entender os mecanismos de estresse que determinada bactéria vai ter (BUSTOS et al., 2024). Os mecanismos de estresse são essenciais para a eficiência das bactérias probióticas como uma ferramenta terapêutica, além de garantir que elas sobrevivam na produção de alimentos funcionais. Além dos mecanismos permitirem que as bactérias sobrevivam, potencializa os efeitos para o hospedeiro (BUSTOS et al., 2024).

3.3.1. Atividade antagonista

A atividade antagonista é a capacidade que algumas bactérias têm de inibir ou impedir o crescimento de outros microrganismos, incluindo patógenos. Existem diferentes mecanismos de atividade antagonista, como produção de compostos antimicrobianos, onde podem ser produzidas bacteriocinas, peróxido de hidrogênio e ácido orgânico, estas substâncias vão atuar em outros microrganismos ou criando um ambiente hostil (ZHU et al., 2023). Outros mecanismos são a competição por recursos, modulação do sistema imunológico e a produção de biosurfactantes, esses mecanismos ajudam a inibir a adesão e colonização de possíveis hospedeiros (BERMUDEZ-BRITO et al., 2012). Através da probiogenômica, conseguimos identificar os genes que atuam para promover a inibição ou eliminação de outros microrganismos.

Para bactérias probióticas a atividade antagonista é uma grande vantagem, isso porque inibindo o crescimento de outras bactérias vai garantir que não tenha competição, facilitando o seu crescimento (BERMUDEZ-BRITO et al., 2012). Esse mecanismo é importante para manter a saúde intestinal e ajudar na prevenção de infecções. Além disso, algumas substâncias antimicrobianas são usadas no combate a doenças, como os antibióticos, essas substâncias também podem ser usadas para aumentar a vida dos alimentos, sendo importante na produção de alimentos funcionais (THUY et al., 2024).

3.3.2. Habilidade de adesão

Uma das características mais importantes para as bactérias probióticas é a habilidade de adesão, uma vez que precisam se fixar ao epitélio do intestino (GORREJA e WALKER, 2022). A habilidade de adesão é a capacidade das bactérias de se fixarem a superfícies biológicas, um processo mediado por interações físico-químicas e por moléculas e estruturas próprias das bactérias. A adesão no intestino é importante para a persistência das bactérias no mesmo, prolongando os efeitos delas, e sem essa capacidade seriam rapidamente eliminadas. Sendo assim, a habilidade de adesão é essencial para a eficácia das bactérias probióticas (SAVAGE e FLETCHER, 1985).

Existem diversos benefícios relacionados à habilidade de adesão, entre elas pode-se citar a exclusão de patógenos por competição, já que se uma bactéria probiótica estiver aderida no intestino, outra bactéria, com um patógeno, não vai conseguir aderir aquele local (PECORARO et al., 2023). Outros benefícios são a interação com o sistema imunológico, além de exercer uma influência positiva no equilíbrio da microbiota nativa, promove a integração da barreira intestinal, se ela tiver comprometida (PERA e PIETERS, 2014).

3.3.3. Imunomodulação

A imunomodulação é alguma alteração no sistema imunológico ou alteração de uma resposta imunológica, essa modulação é mediada por agentes que podem ou ativar ou reprimir alguma função (STRZELEC et al., 2023). Entre os agentes que têm capacidade de imunomodulação estão as bactérias probióticas, elas têm a capacidade de interagir com o sistema imunológico do hospedeiro, modulando as respostas inflamatórias e fazendo a regulação de citocinas (MALDONADO GALDEANO et al., 2007). Essa capacidade de bactérias probióticas de modular o sistema imune é essencial e benéfica para garantir os efeitos positivos dos probióticos para o hospedeiro.

Existem diferentes mecanismos de imunomodulação através dos quais as bactérias podem afetar seus hospedeiros. Entre eles, pode-se citar a interação com o epitélio do intestino, em que as bactérias vão interagir com as células do intestino através de receptores, essa interação pode estimular a produção de peptídeos antimicrobianos e fortalecer a barreira intestinal (CRISTOFORI et al.,

2021). Outros mecanismos são a contribuição para ativar as células dendríticas, produção de citocinas e modulação da resposta imune através de linfócitos T e secreção de IgA (SCHAFFER et al., 2024). Através desses mecanismos as bactérias conseguem estimular o sistema imune a respostas que são positivas para o hospedeiro, primeiro a tolerância a bactéria probiótica, fazendo com que o organismo não tente eliminá-la, também secretando citocinas e outras substâncias anti-inflamatórias (SINGH et al., 2023).

Sendo assim, a imunomodulação é muito importante, não só para ajudar a bactéria a passar pela barreira do sistema imunológico, mas também pelos benefícios que ela pode trazer para o hospedeiro (TSAI et al., 2012). Além disso, a imunomodulação pelas bactérias benéficas pode trazer diversos benefícios para saúde, como redução de infecções, propriedades anti-inflamatórias, além de contribuir para a melhora da microbiota intestinal (STRZELEC et al., 2023).

3.3.4. Produção de metabólitos secundários

A produção de metabólitos secundários é uma característica em que se tem a produção de compostos orgânicos que não são essenciais para o crescimento, desenvolvimento e reprodução de organismos (GRIESEMER e NAVID, 2023). Essa característica é importante porque, frequentemente possuem propriedades bioativas que vão contribuir para o hospedeiro e para o ambiente microbiológico (YAN et al., 2022). Esses metabólitos são importantes porque podem trazer diversos benefícios, como atividade antibiótica, mediar as relações entre os organismos, proteger contra estresses abióticos e bióticos e proteção contra competidores (FU et al., 2017). Os metabólitos secundários podem ser classificados de acordo com a sua composição química, sendo divididos em Compostos nitrogenados; Compostos fenólicos; Glicosídeos; Taninos; Terpenos; Flavonoides (THIRUMURUGAN et al., 2018).

Alguns exemplos de metabólitos secundários são: as bacteriocinas, inibindo o crescimento de outras bactérias; Ácidos Graxos de Cadeia Curta (SCFAs), pode-se citar exemplos como acetato, butirato, propionato, eles vão contribuir com a regulação do pH e estimulação de células imunológicas (MASSE e LU, 2023). Exopolissacarídeos (EPS), é outro tipo de metabólito, são polímeros

que contribuem para a adesão ao epitélio intestinal, formação de biofilmes e modulação imunológica (NETRUSOV et al., 2023). Por fim, tem algumas vitaminas essenciais que podem ser produzidas por bactérias como biotina e vitamina K. Sendo assim, é possível ver os benefícios que os metabólitos secundários podem trazer para o hospedeiro (GU e LI, 2016).

O programa BAGEL4 (VAN HEEL et al., 2018) é uma ferramenta que é usada para identificar e visualizar clusters gênicos em genomas de procariotos envolvidos na produção de peptídeos sintetizados ribossomalmente e modificados pós-traducionalmente (RiPPs) e bacteriocinas. A metodologia do programa consiste em uma entrada de dados, através de um arquivo com as bases, após isso é feita a tradução e identificação de áreas de interesse (AOIs), em que o DNA vai ser traduzido em quadros de leitura para usar os códons de iniciação, depois se compara as proteínas com um banco de dados e através disso são definidas as áreas de interesse. Após isso vai ser feita uma análise detalhada das AOIs e feito um relatório gráfico e algumas informações como modificações pós-traducionais são incorporadas a partir de banco de dados. Pode ter recursos adicionais, como banco de dados de outras fontes, BLAST e visualização de RNA-Seq.

Já o antiSMASH (BLIN et al., 2023) é uma ferramenta usada para identificar novos compostos naturais com potencial bioativo, que vão ter diversas aplicações como farmacêuticas, controle agrícola e exploração da biodiversidade química microbiana. A metodologia dele consiste em: entrada dos dados, carregando os genomas dos microrganismos que vão ser analisados, após isso o programa vai utilizar um conjunto de regras baseadas em modelos ocultos de Markov (pHMMs) para identificar funções biossintéticas centrais que caracterizam os BGCs. Com isso, ele vai analisar as classes específicas de BGCs, fiocando em classes específicas como Sintetases de peptídeos não ribossomais (NRPSs) ou Policetídeos tipo I e II (PKSs), depois vai fazer uma previsão da estrutura química dos produtos, e predição de Regulação e Sítios de Ligação de Fatores de Transcrição. Após isso ele vai comparar os peptídeos centrais de precursores identificados com bancos de dados como o antiSMASH-DB e o MIBiG, diferenciando compostos conhecidos de novos. Os resultados vão sair em um gráfico detalhado e em uma tabela interativa.

4. Probiogenômica na Prática: Exemplos de Estudos

A probiogenômica apresenta vários exemplos práticos e aplicáveis que modificaram a forma de realizar investigação nesta área, as quais podem ser demonstradas na **Tabela 2**.

Tabela 2. Métodos de para Análises de Probióticos Baseadas em Abordagem Genômicas

Ferramentas de Bioinformática	Técnicas de Laboratório de Bancada
Análise de Sequenciamento de Nova Geração (NGS)PCR (Reação em Cadeia da Polimerase): sequenciamento rápido de grandes volumes de DNA - identificação de genes e mutações em genomas completos.	PCR (Reação em Cadeia da Polimerase): Técnica para amplificação de pequenas quantidades de DNA para a detecção e análise de genes específicos.
Anotação Genômica: identificação e marcação de genes em uma sequência de DNA por meio de bancos de dados e algoritmos.	Clonagem e Sequenciamento de DNA: Processo de inserção de fragmentos de DNA em vetores plasmidiais para replicação e sequenciamento - análise detalhada de genes.
Predição de Operons: Ferramentas que analisam sequências para identificar grupos de genes transcritos como um único mRNA.	Northern Blot: Técnica de detecção e quantificação de RNA mensageiro (mRNA) específico - indica a expressão de genes.
Modelagem Molecular: simulações computacionais de predição de estrutura tridimensional de proteínas e suas interações com outras moléculas.	Western Blot: Técnica de detecção de proteínas específicas em uma amostra - confirma a expressão de genes a nível proteico.
Análise de Microbioma: Estuda a composição e função de comunidades microbianas em um ambiente específico por meio do sequenciamento de DNA.	Ensaio de Atividade Enzimática: Testes laboratoriais que medem a atividade de enzimas - confirmam a funcionalidade das proteínas codificadas pelos genes.
Comparação Genômica: Compara genomas de diferentes organismos para entender evolução e função de genes - busca identificar similaridades e diferenças.	Mutagenese e Complementação: Técnicas de inativação e reativação de genes específicos para estudar sua função com cópias funcionais dos genes.
Análise de Expressão Gênica: Compara dados de sequenciamento de RNA para medir a expressão gênica em diferentes condições - regulação gênica.	Ensaio de Imunofluorescência: Método que usa anticorpos marcados com fluorescência para detecção de proteínas específicas em células ou tecidos.
Identificação de Clusters de Genes: Ferramentas de análise de sequências para encontrar regiões com múltiplos genes relacionados agrupados.	Análise de Proteômica: Usa técnicas como espectrometria de massa para identificação e quantificação de proteínas em uma amostra - dados de expressão e função das proteínas.

A genômica aplicada ao estudo dos probióticos tornou-se essencial na avaliação da utilização destas substâncias e no desenvolvimento de novas, pois a sua capacidade de identificar cepas ao nível de espécie, munidas desta atividade, de forma mais precisa, possibilitou a realização de estudos mais assertivos, por exemplo, através de métodos como o sequenciamento, que permitiu o reconhecimento do gene 16S rRNA e a aplicação de genes com maior potencial discriminatório, como os codificadores de proteínas de cópia única (pheS) (SANDERS et al., 2010).

Deste modo, as abordagens probióticas baseadas na genômica proporcionaram muitos avanços na pesquisa de cepas específicas de *Lactobacillus*, permitindo a identificação de genes importantes para a adaptação destes microrganismos ao ambiente característico da mucosa intestinal, bem como para a sua capacidade de produzir substâncias probióticas. Além disso, possibilitaram a seleção de propriedades de interesse específicas (LEBEER et al., 2008). Por exemplo, cepas que possuem maior resistência a estresses oxidativos, osmóticos e térmicos, como é o caso de *Lactiplantibacillus plantarum* (BUSTOS et al., 2024; NYABAKO et al., 2020), ou cepas que apresentam capacidade de adesão à mucosa intestinal, garantindo a sobrevivência e efeitos benéficos para a saúde do hospedeiro, como em casos de *Lactobacillus acidophilus* (KRAUSOVA et al., 2019).

L. plantarum é uma cepa muito destacada na literatura, servindo como um bom exemplo da aplicabilidade de abordagens genômicas no desenvolvimento de probióticos. Esta cepa apresenta inúmeras propriedades de interesse capazes de contribuir para a promoção da saúde, determinadas por meio do sequenciamento do seu genoma completo possibilitando identificar a presença de peptídeos antimicrobianos e bacteriocinas, que atualmente são utilizados como conservantes alimentares e coadjuvantes no tratamento com antibióticos, contribuindo para a saúde única (BAUTISTA e BARRADO et al., 2023).

Outras contribuições de análises genômicas estão relacionadas principalmente com a segurança da utilização destes probióticos, dado que estes microrganismos são capazes de desenvolver resistência. De facto, o *L. plantarum* possui uma acidez e bile que facilitam a sua colonização no TGI (HAMON et al., 2011). A fim de garantir essa segurança, são imprescindíveis

análises genômicas para confirmar a ausência de genes de virulência e identificar esses genes de resistência, bem como para verificar se a bactéria tem capacidade de transmitir essa resistência a outras bactérias patogênicas. Na área da saúde, são necessários testes experimentais específicos, como a PCR, para detectar a presença destes genes utilizando certos primers (SEDDIK et al., 2017).

Os *Lacticaseibacillus rhamnosus* são bactérias com potencial probiótico que apresentam operons específicos identificados por meio de análises computacionais de bioinformática, como o spaCBA-srtC1 e spaFED-srtC2, responsáveis por regular certos processos biológicos, bem como clusters de genes que codificam proteínas secretoras de bacteriocinas, como Bact1 e Bact2, e genes de imunidade que protegem a bactéria da sua própria bacteriocina (DUTRA-SILVA et al., 2023). O conhecimento do código genético de qualquer ser vivo e das suas espécies, bem como a dominância de técnicas laboratoriais como a PCR, a clonagem, a CRISPR-CAS, entre outras, possibilitou que os investigadores pudessem mapear a distribuição de genes e reconhecer padrões intra-espécies, bem como promover uma maior compreensão dos mecanismos de ação dos probióticos e do seu comportamento em ambientes específicos onde desempenham funções benéficas no organismo do hospedeiro (DUTRA-SILVA et al., 2023).

A análise de cepas de *Bacillus clausii* e *Bacillus coagulans* é um exemplo notável da aplicabilidade de estudos de probióticos baseados em abordagens genômicas, dado que revelaram a presença de genes de resistência a antibióticos e de produção de enzimas antioxidantes. Estes genes são essenciais para a adaptação das cepas de *Bacillus clausii* a ambientes intestinais adversos e para a sua proteção contra o stress oxidativo. Além disso, foram encontrados genes produtores de enzimas digestivas e de vitaminas, como a B12. Por outro lado, foi também indicada a ausência de genes patogênicos (SADRIMOVAHED et al., 2024). Em relação ao *Bacillus coagulans*, esta bactéria é uma enorme fonte de riboflavina (vitamina B12) e apresenta proteínas essenciais para a esporulação que estão conservadas em todas as suas cepas probióticas. Além disso, apresenta vários domínios funcionais conservados associados à resistência a antibióticos, o que constitui características com um

potencial significativo e diferenciador para melhorar a eficácia e a aplicabilidade dos probióticos de *Bacillus* em comparação com os de *Lactobacillus* (KHATRI et al., 2016).

A união de todas essas informações permitiu maximizar os benefícios dos produtos comerciais que contêm cepas das duas espécies de *Bacillus* citadas, produzindo formulações com menores riscos de efeitos adversos, graças aos testes laboratoriais que comprovam estes benefícios na prática. Por exemplo, são realizados experimentos que simulam condições intestinais adversas com isolados bacterianos, a fim de confirmar a capacidade dessas cepas de aderir ao muco intestinal e sobreviver, reafirmando a eficácia destes probióticos no TGI (MAZZANTINI et al., 2022).

Além disso, abordagens genômicas têm aplicações clínicas avançadas como o desenvolvimento de probióticos personalizados (CUNNINGHAM et al., 2021). A análise do genoma bacteriano associado ao microbioma de um indivíduo permite a identificação de cepas específicas mais adequadas às suas necessidades metabólicas e imunológicas (KESHET e SEGAL, 2024). Por exemplo, estudos recentes podem explorar como a integração de conjuntos de dados genômicos e metabolômicos pode ajudar na formulação de probióticos direcionados para condições específicas, como síndrome do intestino irritável, doenças inflamatórias intestinais e até mesmo distúrbios metabólicos como obesidade e diabetes (PUIG-CASTELLVÍ et al., 2023; ZHAO et al., 2023). Outra técnica promissora atualmente é o uso da tecnologia CRISPR-Cas para modificar geneticamente cepas probióticas, aumentando sua funcionalidade ou segurança. Essa abordagem já foi usada para otimizar a produção de bacteriocinas, substâncias antimicrobianas naturais que podem servir como alternativas aos antibióticos (MU et al., 2022). A engenharia de probióticos com propriedades imunomoduladoras também está surgindo como um foco significativo, especialmente para o tratamento ou prevenção de condições inflamatórias crônicas (MU et al., 2022).

Perspectivas futuras da probiogenômica podem ajudar a incorporar a aplicação de técnicas multiômicas, combinando genômica, transcriptômicas, proteômica e metabolômica para fornecer uma compreensão holística do impacto dos probióticos na saúde do hospedeiro. Esses avanços podem levar à

criação de formulações probióticas altamente personalizadas e específicas, minimizando riscos e maximizando benefícios.

5. Conclusão

Neste capítulo, foram explorados os principais tópicos relacionados ao estudo de probióticos utilizando a metodologia de probiogenômica, uma abordagem interdisciplinar que combina testes *in vitro*, *in vivo* e *in silico* para caracterizar e avaliar microrganismos tradicionais e de nova geração como potenciais probióticos. Essa metodologia integra análises multiômicas, abrangendo desde genômica até o estudo de metabólitos secundários, para compreender, em nível genético e molecular, a complexa relação simbiótica entre probiótico e hospedeiro. Tal compreensão é essencial para elucidar como essa interação promove a saúde do hospedeiro, contribuindo para a prevenção de doenças, modulação imunológica e controle da microbiota intestinal por meio de mecanismos antagonistas.

O capítulo aprofundou as abordagens ômicas empregadas na pesquisa de probióticos, destacando tecnologias avançadas para identificar potenciais candidatos a probióticos em nível molecular. Foram discutidos aspectos fundamentais da avaliação de segurança, que inclui a análise de fatores de virulência, resistência a antibióticos, presença de elementos transponíveis (como fagos, integrases, ilhas genômicas, plasmídeos e sistemas CRISPR-Cas), bem como a capacidade de produzir aminas biogênicas. Além disso, o texto apresentou uma visão detalhada sobre as ferramentas bioinformáticas que facilitam essas avaliações, proporcionando maior precisão e confiabilidade no processo de seleção e validação de linhagens.

Outro aspecto abordado foi a avaliação dos mecanismos de probiose, incluindo propriedades como a atividade antagonista contra patógenos, a habilidade de adesão às células do hospedeiro, a capacidade imunomoduladora e a produção de metabólitos secundários com impacto direto na saúde intestinal. Essas características são cruciais para determinar a eficácia de um microrganismo como probiótico e seu potencial de aplicação clínica.

Por fim, foram apresentados exemplos práticos de estudos que ilustram a aplicação da probiogenômica em diferentes contextos. Esses estudos destacam como a integração de abordagens multiômicas e técnicas avançadas pode acelerar a identificação e o desenvolvimento de probióticos utilizando probiogenômica, sendo mais seguros e eficazes, alinhados às demandas da ciência e da saúde moderna. Assim, o capítulo oferece uma visão abrangente e aprofundada sobre as etapas críticas no estudo de probióticos, desde a identificação molecular até a avaliação de segurança e funcionalidade, consolidando a probiogenômica como uma ferramenta essencial no campo da microbiologia aplicada e da biotecnologia.

6. Referências

- AL DOGHAITHER, H.; GULL, M. Plasmids as Genetic Tools and Their Applications in Ecology and Evolution. *Plasmid*, 2019. DOI: <https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.85705>.
- ALCOCK, B.P. et al. CARD 2023: expanded curation, support for machine learning, and resistome prediction at the Comprehensive Antibiotic Resistance Database. *Nucleic Acids Research*, v. 51, n. D1, p. D690–D699, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1093/NAR/GKAC920>.
- ARNDT, D. et al. PHASTER: a better, faster version of the PHAST phage search tool. *Nucleic Acids Research*, v. 44, n. W1, p. W16–W21, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1093/NAR/GKW387>.
- AUCH, A.F.; VON JAN, M.; KLENK, H.P.; GÖKER, M. Digital DNA-DNA hybridization for microbial species delineation by means of genome-to-genome sequence comparison. *Standards in Genomic Sciences*, v. 2, n. 1, p. 117–134, 2010. DOI: <https://doi.org/10.4056/SIGS.531120/FIGURES/8>.
- AW, W.; FUKUDA, S. An Integrated Outlook on the Metagenome and Metabolome of Intestinal Diseases. *Diseases*, v. 3, n. 4, p. 341–359, 2015. DOI: <https://doi.org/10.3390/DISEASES3040341>.
- AZIZ, R.K. et al. The RAST Server: Rapid annotations using subsystems technology. *BMC Genomics*, v. 9, n. 1, p. 1–15, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-75/TABLES/3>.
- BAUTISTA, A.G.; BARRADO, A.G. Bacteriocinas como bioconservador alimentario: características generales y aplicación en alimentos. *PubSaúde*, v. 12, 2023, 1–9. DOI: <https://doi.org/10.31533/PUBSAUDE12.A366>.

- BERMUDEZ-BRITO, M.; PLAZA-DÍAZ, J.; MUÑOZ-QUEZADA, S.; GÓMEZ-LLORENTE, C.; GIL, A. Probiotic Mechanisms of Action. *Annals of Nutrition and Metabolism*, v. 61, n. 2, p. 160–174, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1159/000342079>.
- BLIN, K. et al. antiSMASH 7.0: new and improved predictions for detection, regulation, chemical structures and visualisation. *Nucleic Acids Research*, v. 51, n. W1, p. W46–W50, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1093/NAR/GKAD344>.
- BOOR, K.J. Bacterial Stress Responses: What Doesn't Kill Them Can Make Them Stronger. *PLoS Biology*, v. 4, n. 2, 2006, e23. DOI: <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PBIO.0040023>.
- BUSTOS, A.Y.; TARANTO, M.P.; GEREZ, C.L.; AGRIOPOULOU, S.; SMAOUI, S.; VARZAKAS, T.; EL ENSHASY, H.A. Recent Advances in the Understanding of Stress Resistance Mechanisms in Probiotics: Relevance for the Design of Functional Food Systems. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 2024, p. 1–21. DOI: <https://doi.org/10.1007/S12602-024-10273-9>.
- CAETANO-ANOLLES, G. MAAP: a versatile and universal tool for genome analysis. *Plant Molecular Biology*, v. 25, n. 6, p. 1011–1026, 1994. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00014674/METRICS>.
- ÇAKAR, Z.P.; SAKA, H.A.; ECHENIQUE, J. Editorial: New insights in microbial stress tolerance mechanisms. *Frontiers in Microbiology*, v. 15, 2024, 1513485. DOI: <https://doi.org/10.3389/FMICB.2024.1513485>.
- CARATTOLI, A.; HASMAN, H. PlasmidFinder and In Silico pMLST: Identification and Typing of Plasmid Replicons in Whole-Genome Sequencing (WGS). *Methods in Molecular Biology*, v. 2075, p. 285–294, 2020. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9877-7_20.
- CARVALHO, R.D.O.; GUÉDON, E.; ABURJAILE, F.F.; AZEVEDO, V. Editorial: Probiogenomics of classic and next-generation probiotics. *Frontiers in Microbiology*, v. 13, 2022, 982642. DOI: <https://doi.org/10.3389/FMICB.2022.982642/BIBTEX>.
- CASTRO-LÓPEZ, C. et al. Genomics-based approaches to identify and predict the health-promoting and safety activities of promising probiotic strains – A probiogenomics review. *Trends in Food Science & Technology*, v. 108, p. 148–163, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2020.12.017>.
- CASTRO-LÓPEZ, C. et al. Key Stress Response Mechanisms of Probiotics During Their Journey Through the Digestive System: A Review. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, v. 15, n. 5, p. 1250–1270, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/S12602-022-09981-X>.
- CHEN, E. J. et al. Effects of different initial pH values on freeze-drying resistance of *Lactiplantibacillus plantarum* LIP-1 based on transcriptomics and proteomics. *Food Research International*, v. 149, 2021, 110694. DOI:

<https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2021.110694>.

- CLAESSON, M.J.; VAN SINDEREN, D.; O'TOOLE, P.W. *Lactobacillus* phylogenomics - Towards a reclassification of the genus. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 1 v. 58, n. 12, p. 2945–2954, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1099/IJS.0.65848-0/CITE/REFWORKS>.
- CRISTOFORI, F. et al. Anti-Inflammatory and Immunomodulatory Effects of Probiotics in Gut Inflammation: A Door to the Body. *Frontiers in Immunology*, v. 12, 2021, 578386. DOI: <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2021.578386/BIBTEX>.
- CUNNINGHAM, M. et al. Shaping the Future of Probiotics and Prebiotics. *Trends in Microbiology*, v. 29, n. 8, p. 667–685, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2021.04.003>.
- DA SILVA, T.F. et al. Unlocking the Potential of Probiotics: A Comprehensive Review on Research, Production, and Regulation of Probiotics. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, v. 16, n. 5, p. 1687–1723, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1007/S12602-024-10247-X>.
- DE JESUS, L.C.L. et al. Health-promoting effects and safety aspects of *Lactobacillus delbrueckii*: A food industry species. *Trends in Food Science & Technology*, v. 150, 2024, 104605. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2024.104605>.
- DE MELO PEREIRA, G.V. et al. How to select a probiotic? A review and update of methods and criteria. *Biotechnology Advances*, v. 36, n. 8, p. 2060–2076, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.BIOTECHADV.2018.09.003>.
- DE NIES, L. et al. PathoFact: a pipeline for the prediction of virulence factors and antimicrobial resistance genes in metagenomic data. *Microbiome*, v. 9, n. 1, p. 1–14, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1186/S40168-020-00993-9/FIGURES/6>.
- DE SIMONE, C. The Unregulated Probiotic Market. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, v. 17, n. 5, p. 809–817, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2018.01.018>.
- DUTRA-SILVA, L.; MATTEOLI, F.P.; ARISI, A.C.M. Distribution of Genes Related to Probiotic Effects Across *Lactobacillus rhamnosus* Revealed by Population Structure. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, v. 15, n. 3, p. 548–557, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/S12602-021-09868-3/FIGURES/6>.
- ECHEGARAY, N. et al. A novel approach to *Lactiplantibacillus plantarum*: From probiotic properties to the omics insights. *Microbiological Research*, v. 268, 2023, 127289. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.MICRES.2022.127289>.
- EDLUND, A. et al. Uncovering complex microbiome activities via metatranscriptomics during 24 hours of oral biofilm assembly and

- maturation. *Microbiome*, v. 6, n. 1, p. 1–22, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1186/S40168-018-0591-4/FIGURES/4>.
- EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). Scientific Opinion on risk based control of biogenic amine formation in fermented foods. *EFSA Journal*, v. 9, n. 10, 2393, 2011. DOI: <https://doi.org/10.2903/J.EFSA.2011.2393>.
- ESCOBAR-SÁNCHEZ, M. et al. Probiotic Properties and Proteomic Analysis of *Pediococcus pentosaceus* 1101. *Foods*, v. 12, n. 1, 2023, 46. DOI: <https://doi.org/10.3390/FOODS12010046/S1>.
- FEDOROFF, N.V. Transposable elements, epigenetics, and genome evolution. *Science*, v. 338, n. 6108, p. 758–767, 2012. DOI: https://doi.org/10.1126/SCIENCE.338.6108.758/ASSET/4D4639DF-CF55-418E-9680-EFB443D9A854/ASSETS/GRAPHIC/338_758_F9.JPEG.
- FELDGARDEN, M. et al. Validating the AMRFINDER tool and resistance gene database by using antimicrobial resistance genotype-phenotype correlations in a collection of isolates. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, v. 63, 2019. DOI: https://doi.org/10.1128/AAC.00483-19/SUPPL_FILE/AAC.00483-19-S0004.XLSX.
- FLORENZA, A.F.; KAAS, R.S.; CLAUSEN, P.T.L.C.; AYTAN-AKTUĞ, D.; AARESTRUP, F.M. ResFinder – an open online resource for identification of antimicrobial resistance genes in next-generation sequencing data and prediction of phenotypes from genotypes. *Microbial Genomics*, v. 8, n. 1, 2022, 000748. DOI: <https://doi.org/10.1099/MGEN.0.000748/CITE/REFWORKS>.
- FONTANA, F. et al. Probiogenomics Analysis of 97 *Lactobacillus crispatus* Strains as a Tool for the Identification of Promising Next-Generation Probiotics. *Microorganisms*, v. 9, n. 1, 2020, 73. DOI: <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS9010073>.
- FU, R.H.; WU, D.C.; YANG, W.; SCOFFIELD, J.; BENVENISTE, E.N. Probiotic Metabolites Promote Anti-inflammatory Functions of Immune Cells. *FASEB Journal*, v. 31, n. 1_supplement, p. 1048.1-1048.1, 2017. DOI: https://doi.org/10.1096/FASEBJ.31.1_SUPPLEMENT.1048.1.
- GALDEANO, C.M.; DE LEBLANC, A.D.M.; VINDEROLA, G.; BONET, M.E.B.; PERDIGÓN, G. Proposed model: Mechanisms of immunomodulation induced by probiotic bacteria. *Clinical and Vaccine Immunology*, v. 14, n. 5, p. 485–492, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1128/CVI.00406-06/ASSET/1D11DF3F-7794-4E66-8623-2BEE10AE2854/ASSETS/GRAPHIC/ZCD0050729630004.JPEG>.
- GALPERIN, M.Y.; KRISTENSEN, D.M.; MAKAROVA, K.S.; WOLF, Y.I.; KOONIN, E.V. Microbial genome analysis: the COG approach. *Briefings in Bioinformatics*, v. 20, n. 4, p. 1063–1070, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1093/BIB/BBX117>.

- GARCÍA-HERNÁNDEZ, Y. et al. Isolation, characterization and evaluation of probiotic lactic acid bacteria for potential use in animal production. *Research in Veterinary Science*, v. 108, p. 125–132, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.RVSC.2016.08.009>.
- GENERALLY Recognized as Safe (GRAS) | FDA. [S. l.], [s. d.]. Disponível em: <https://www.fda.gov/food/food-ingredients-packaging/generally-recognized-safe-gras>. Acesso em: 10 dez. 2024.
- GITHUB - tseemann/abricate: :mag_right: Mass screening of contigs for antimicrobial and virulence genes. [S. l.], [s. d.]. Disponível em: <https://github.com/tseemann/abricate>. Acesso em: 13 dez. 2024.
- GOLYSHEV, M.A.; KOROTKOV, E.V. Developing of the Computer Method for Annotation of Bacterial Genes. *Advances in Bioinformatics*, 2015, 635437. DOI: <https://doi.org/10.1155/2015/635437>.
- GORREJA, F.; WALKER, W.A. The potential role of adherence factors in probiotic function in the gastrointestinal tract of adults and pediatrics: a narrative review of experimental and human studies. *Gut Microbes*, v. 14, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1080/19490976.2022.2149214>.
- GRIESEMER, M.; NAVID, A. Uses of Multi-Objective Flux Analysis for Optimization of Microbial Production of Secondary Metabolites. *Microorganisms*, v. 11, n. 9, 2023, 2149. DOI: <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS11092149/S1>.
- GRISSA, I.; VERGNAUD, G.; POURCEL, C. CRISPRFinder: a web tool to identify clustered regularly interspaced short palindromic repeats. *Nucleic Acids Research*, v. 35, n. Web Server issue, p. W52–W57, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1093/NAR/GKM360>.
- GU, Q.; LI, P. Biosynthesis of Vitamins by Probiotic Bacteria. In: *Probiotics and Prebiotics in Human Nutrition and Health*. [S. l.]: IntechOpen, 2016. DOI: <https://doi.org/10.5772/63117>.
- HAMON, E. et al. Comparative proteomic analysis of *Lactobacillus plantarum* for the identification of key proteins in bile tolerance. *BMC Microbiology*, v. 11, 2011, 63. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2180-11-63/TABLES/3>.
- HE, Y. et al. PRAP: Pan Resistome analysis pipeline. *BMC Bioinformatics*, v. 21, n. 1, p. 1–8, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1186/S12859-019-3335-Y/FIGURES/5>.
- HERNÁNDEZ-PLAZA, A. et al. eggNOG 6.0: enabling comparative genomics across 12 535 organisms. *Nucleic Acids Research*, v. 51, n. D1, p. D389–D394, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1093/NAR/GKAC1022>.
- HILL, C. et al. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, v. 11, n. 8, p. 506–514, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.66>.

- IMPERIAL, I.C.V.J.; IBANA, J.A. Addressing the Antibiotic Resistance Problem with Probiotics: Reducing the Risk of Its Double-Edged Sword Effect. *Frontiers in Microbiology*, v. 7, 2016. DOI: <https://doi.org/10.3389/FMICB.2016.01983>.
- JIANG, S. et al. Multi-omics analysis of the effects of dietary changes and probiotics on diet-induced obesity. *Current Research in Food Science*, v. 6, 2023, 100435. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.CRFS.2023.100435>.
- JUHAS, M.; VAN DER MEER, J.R.; GAILLARD, M.; HARDING, R.M.; HOOD, D.W.; CROOK, D.W. Genomic islands: tools of bacterial horizontal gene transfer and evolution. *FEMS Microbiology Reviews*, v. 33, n. 2, p. 376–393, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1111/J.1574-6976.2008.00136.X>.
- KANEHISA, M. The KEGG Database. *Novartis Foundation Symposium*, v. 247, p. 91–103, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1002/0470857897.CH8>.
- KANEHISA, M.; GOTO, S. KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. *Nucleic Acids Research*, v. 28, n. 1, p. 27–30, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1093/NAR/28.1.27>.
- KATHIRIYA, M.R.; VEKARIYA, Y.V.; HATI, S. Understanding the Probiotic Bacterial Responses Against Various Stresses in Food Matrix and Gastrointestinal Tract: A Review. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, v. 15, n. 4, p. 1032–1048, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/S12602-023-10104-3>.
- KESHET, A.; SEGAL, E. Identification of gut microbiome features associated with host metabolic health in a large population-based cohort. **Nature Communications**, v. 15, n. 1, 2024, 1–13. DOI: [\[https://doi.org/10.1038/s41467-024-53832-y\]](https://doi.org/10.1038/s41467-024-53832-y)(<https://doi.org/10.1038/s41467-024-53832-y>).
- KHATRI, I.; SHARMA, S.; RAMYA, T.N.C.; SUBRAMANIAN, S. Complete Genomes of *Bacillus coagulans* S-lac and *Bacillus subtilis* TO-A JPC, Two Phylogenetically Distinct Probiotics. *PLoS One*, v. 11, n. 6, 2016, e0156745. DOI: <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0156745>.
- KIEFT, K.; ZHOU, Z.; ANANTHARAMAN, K. VIBRANT: Automated recovery, annotation and curation of microbial viruses, and evaluation of viral community function from genomic sequences. *Microbiome*, v. 8, n. 1, p. 1–23, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1186/S40168-020-00867-0/TABLES/2>.
- KIM, J. et al. VAMPr: VArant Mapping and Prediction of antibiotic resistance via explainable features and machine learning. *PLOS Computational Biology*, v. 16, n. 12, 2020, e1007511. DOI: <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PCBI.1007511>.
- KIU, R. et al. *Bifidobacterium breve* UCC2003 Induces a Distinct Global Transcriptomic Program in Neonatal Murine Intestinal Epithelial Cells. *iScience*, v. 23, 2020. DOI:

<https://doi.org/10.1016/J.ISCI.2020.101336/ATTACHMENT/F9F94FE8-4166-4144-A2CA-5EECB6AA4A8A/MMC5.XLSX>.

- KOLLI, U. et al. Multi-omics analysis revealing the interplay between gut microbiome and the host following opioid use. *Gut Microbes*, v. 15, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1080/19490976.2023.2246184>.
- KOPONEN, J.; LAAKSO, K.; KOSKENNIEMI, M.; KANKAINEN, M.; SAVIJOKI, K.; NYMAN, T.A.; DE VOS, W.M.; TYNKKYNNEN, S.; KALKKINEN, N.; VARMANEN, P. Effect of acid stress on protein expression and phosphorylation in *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Journal of Proteomics*, v. 75, p. 1357–1374, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.JPROT.2011.11.009>.
- KRAUSOVA, G.; HYRSLOVA, I.; HYNSTOVA, I. In Vitro Evaluation of Adhesion Capacity, Hydrophobicity, and Auto-Aggregation of Newly Isolated Potential Probiotic Strains. *Fermentation*, v. 5, n. 4, 2019, 100. DOI: <https://doi.org/10.3390/FERMENTATION5040100>.
- KWOJI, I.D.; AIYEGORO, O.A.; OKPEKU, M.; ADELEKE, M.A. ‘Multi-omics’ data integration: applications in probiotics studies. *Npj Science of Food*, v. 7, n. 1, p. 1–10, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41538-023-00199-x>.
- LAKIN, S.M. et al. MEGARes: an antimicrobial resistance database for high throughput sequencing. *Nucleic Acids Research*, v. 45, n. D1, p. D574–D580, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1093/NAR/GKW1009>.
- LEBEER, S.; VANDERLEYDEN, J.; DE KEERSMAECKER, S.C.J. Genes and Molecules of *Lactobacilli* Supporting Probiotic Action. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, v. 72, n. 4, p. 728–764, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1128/MMBR.00017-08/ASSET/436254AA-E677-4D30-9B6C-C8821F01B7C4/ASSETS/GRAPHIC/ZMR0040821960004.JPEG>.
- LEE, Y. et al. Characterization of a Potential Probiotic *Lactiplantibacillus plantarum* LRCC5310 by Comparative Genomic Analysis and its Vitamin B6 Production Ability. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 33, n. 3, p. 644–655, 2023. DOI: <https://doi.org/10.4014/JMB.2211.11016>.
- LEE, Y. et al. Mechanisms underlying probiotic effects on neurotransmission and stress resilience in fish via transcriptomic profiling. *Fish & Shellfish Immunology*, v. 141, 2023, 109063. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.FSI.2023.109063>.
- LIN, T.-L. et al. Investiture of next generation probiotics on amelioration of diseases – Strains do matter. *Medical Microecology*, v. 1-2, 2019, 100002. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.MEDMIC.2019.100002>.
- LINDSEY, R.L. et al. Rapid identification of enteric bacteria from whole genome sequences using average nucleotide identity metrics. *Frontiers in Microbiology*, v. 14, 2023, 1225207. DOI: <https://doi.org/10.3389/FMICB.2023.1225207/BIBTEX>.

- LIU, B.; ZHENG, D.; JIN, Q.; CHEN, L.; YANG, J. VFDB 2019: a comparative pathogenomic platform with an interactive web interface. *Nucleic Acids Research*, v. 47, n. D1, p. D687–D692, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1093/NAR/GKY1080>.
- LOBB, B.; TREMBLAY, B.J.M.; MORENO-HAGELSIEB, G.; DOXEY, A.C. An assessment of genome annotation coverage across the bacterial tree of life. *Microbial Genomics*, v. 6, n. 1, 2020, e000341. DOI: <https://doi.org/10.1099/MGEN.0.000341/CITE/REFWORKS>.
- LUGLI, G.A. et al. The Probiotic Identity Card: A Novel “Probiogenomics” Approach to Investigate Probiotic Supplements. *Frontiers in Microbiology*, v. 12, 2022, 790881. DOI: <https://doi.org/10.3389/FMICB.2021.790881/BIBTEX>.
- MAAKE, T.W.; AIYEGORO, O.A.; ADELEKE, M.A. Effects of *Lactobacillus rhamnosus* and *Enterococcus faecalis* supplementation as direct-fed microbials on rumen microbiota of boer and speckled goat breeds. *Veterinary Sciences*, v. 8, n. 6, 2021, 103. DOI: <https://doi.org/10.3390/VETSCI8060103/S1>.
- MAKAROVA, K. et al. Comparative genomics of the lactic acid bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 103, n. 42, p. 15611–15616, 2006. DOI: https://doi.org/10.1073/PNAS.0607117103/SUPPL_FILE/07117TABLE1.DOC.
- MARCO, M.L.; PAVAN, S.; KLEEREBEZEM, M. Towards understanding molecular modes of probiotic action. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 17, n. 2, p. 204–210, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.COPBIO.2006.02.005>.
- MASSE, K.E.; LU, V.B. Short-chain fatty acids, secondary bile acids and indoles: gut microbial metabolites with effects on enteroendocrine cell function and their potential as therapies for metabolic disease. *Frontiers in Endocrinology (Lausanne)*, v. 14, 2023, 1169624. DOI: <https://doi.org/10.3389/FENDO.2023.1169624/BIBTEX>.
- MAZZANTINI, D.; CALVIGIONI, M.; CELANDRONI, F.; LUPETTI, A.; GHELARDI, E. In vitro assessment of probiotic attributes for strains contained in commercial formulations. *Scientific Reports*, v. 12, n. 1, 2022, 1–11. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-25688-z>.
- MEIER-KOLTHOFF, J.P.; CARBASSE, J.S.; PEINADO-OLARTE, R.L.; GÖKER, M. TYGS and LPSN: a database tandem for fast and reliable genome-based classification and nomenclature of prokaryotes. *Nucleic Acids Research*, v. 50, n. D1, p. D801–D807, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1093/NAR/GKAB902>.
- MEIER-KOLTHOFF, J.P.; GÖKER, M. TYGS is an automated high-throughput platform for state-of-the-art genome-based taxonomy. *Nature*

Communications, v. 10, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1038/S41467-019-10210-3>.

- MILWARD, E.A.; SHAHANDEH, A.; HEIDARI, M.; JOHNSTONE, D.M.; DANESHI, N.; HONDERMARCK, H. Transcriptomics. *Encyclopedia of Cell Biology*, v. 4, p. 160–165, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394447-4.40029-5>.
- MONSHIZADEH, M.; ZOMORODI, S.; MORTENSEN, K.; YE, Y. Revealing bacteria-phage interactions in human microbiome through the CRISPR-Cas immune systems. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 12, 2022, 933516. DOI: <https://doi.org/10.3389/FCIMB.2022.933516/BIBTEX>.
- MU, Y. et al. Development and Applications of CRISPR/Cas9-Based Genome Editing in *Lactobacillus*. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 23, n. 21, 2022, 12852. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms232112852>.
- NEMERGUT, D.R.; ROBESON, M.S.; KYSELA, R.F.; MARTIN, A.P.; SCHMIDT, S.K.; KNIGHT, R. Insights and inferences about integron evolution from genomic data. *BMC Genomics*, v. 9, 2008, p. 1–12. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-261/FIGURES/5>.
- NETRUSOV, A.I.; LIYASKINA, E.V.; KURGAEVA, I.V.; LIYASKINA, A.U.; YANG, G.; REVIN, V.V. Exopolysaccharides Producing Bacteria: A Review. *Microorganisms*, v. 11, n. 6, 2023, 1541. DOI: <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS11061541>.
- NYABAKO, B.A.; FANG, H.; CUI, F.J.; LIU, K.Y.; TAO, T.L.; ZAN, X.Y.; SUN, W.J. Enhanced Acid Tolerance in *Lactobacillus acidophilus* by Atmospheric and Room Temperature Plasma (ARTP) Coupled with Adaptive Laboratory Evolution (ALE). *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 191, n. 4, p. 1499–1514, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/S12010-020-03264-3/TABLES/2>.
- O'HARA, A.M.; SHANAHAN, F. Mechanisms of Action of Probiotics in Intestinal Diseases. *The Scientific World Journal*, v. 7, 2007, p. 31–46. DOI: <https://doi.org/10.1100/TSW.2007.26>.
- PECORARO, C.; CARBONE, D.; PARRINO, B.; CASCIOFERRO, S.; DIANA, P. Recent Developments in the Inhibition of Bacterial Adhesion as Promising Anti-Virulence Strategy. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 24, n. 5, 2023, 4872. DOI: <https://doi.org/10.3390/IJMS24054872>.
- PENG, X.; ED-DRA, A.; YUE, M. Whole genome sequencing for the risk assessment of probiotic lactic acid bacteria. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, v. 63, n. 28, p. 11244–11262, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2087174>.
- PERA, N.P.; PIETERS, R.J. Towards bacterial adhesion-based therapeutics and detection methods. *MedChemComm*, v. 5, n. 7, p. 1027–1035, 2014.

DOI: <https://doi.org/10.1039/C3MD00346A>.

PRITCHARD, L. et al. Genomics and taxonomy in diagnostics for food security: soft-rotting enterobacterial plant pathogens. *Analytical Methods*, v. 8, n. 1, p. 12–24, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1039/C5AY02550H>.

PUIG-CASTELLVÍ, F. et al. Advances in the integration of metabolomics and metagenomics for human gut microbiome and their clinical applications. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 167, 2023, 117248. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2023.117248>(<https://doi.org/10.1016/j.trac.2023.117248>).

QUALIFIED presumption of safety (QPS) | EFSA. [S. l.], [s. d.]. Disponível em: <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/qualified-presumption-safety-qps>. Acesso em: 13 dez. 2024.

Regulation (EU) No 1019/2013 of 23 October 2013 amending Annex I to Regulation (EC) No 2073/2005 as regards histamine in fishery products. 1 [S. l.], [s. d.]. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2013>.

RICHTER, M.; ROSSELLÓ-MÓRA, R. Shifting the genomic gold standard for the prokaryotic species definition. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 106, n. 45, p. 19126–19131, 2009. DOI: https://doi.org/10.1073/PNAS.0906412106/SUPPL_FILE/0906412106SI.PDF.

ROBERTSON, J.; NASH, J.H.E. MOB-suite: software tools for clustering, reconstruction and typing of plasmids from draft assemblies. *Microbial Genomics*, v. 4, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1099/MGEN.0.000206>.

RODRIGUES, D.L.N. Desafios na padronização da anotação genômica. *BIOINFO*, v. 3, 2023, 05. DOI: <https://doi.org/10.51780/BIOINFO-03-05>.

RODRIGUES, D.L.N.; ARIUTE, J.C.; RODRIGUES DA COSTA, F.M.; BENKO-ISEPPON, A.M.; BARH, D.; AZEVEDO, V.; ABURJAILE, F. PanViTa: Pan Virulence and resisTance analysis. *Frontiers in Bioinformatics*, v. 3, 2023, 1070406. DOI: <https://doi.org/10.3389/FBINF.2023.1070406>.

RODRIGUES, R.R. et al. Transkingdom interactions between *Lactobacilli* and hepatic mitochondria attenuate western diet-induced diabetes. *Nature Communications*, v. 12, n. 1, p. 1–15, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20313-x>.

ROUQUETTE, C.; DE CHASTELLIER, C.; NAIR, S.; BERCHE, P. The ClpC ATPase of *Listeria monocytogenes* is a general stress protein required for virulence and promoting early bacterial escape from the phagosome of macrophages. *Molecular Microbiology*, v. 27, n. 6, p. 1235–1245, 1998. DOI: <https://doi.org/10.1046/J.1365-2958.1998.00775.X>.

ROUX, S.; ENAULT, F.; HURWITZ, B.L.; SULLIVAN, M.B. VirSorter: Mining viral signal from microbial genomic data. *PeerJ*, 2015, e985. DOI: <https://doi.org/10.7717/PEERJ.985/SUPP-2>.

- RUIZ, L.; HIDALGO, C.; BLANCO-MÍGUEZ, A.; LOURENÇO, A.; SÁNCHEZ, B.; MARGOLLES, A. Tackling probiotic and gut microbiota functionality through proteomics. *Journal of Proteomics*, v. 147, p. 28–39, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.JPROT.2016.03.023>.
- SACHDEVA, G.; KUMAR, K.; JAIN, P.; RAMACHANDRAN, S. SPAAN: a software program for prediction of adhesins and adhesin-like proteins using neural networks. *Bioinformatics*, v. 21, n. 3, p. 483–491, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BI028>.
- SADRIMOVAHED, M.; ULUSOY, B.H. *Bacillus clausii*: A Review into Story of Its Probiotic Success and Potential Food Applications. *Fermentation*, v. 10, n. 10, 2024, 522. DOI: <https://doi.org/10.3390/FERMENTATION10100522>.
- SALMINEN, S. et al. The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, v. 18, n. 9, p. 649–667, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41575-021-00440-6>.
- SÁNCHEZ, B. et al. Omics for the study of probiotic microorganisms. *Food Research International*, v. 54, n. 1, p. 1061–1071, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2013.01.029>.
- SANDERS, M.E. et al. Safety assessment of probiotics for human use. *Gut Microbes*, v. 1, n. 3, p. 164–185, 2010. DOI: <https://doi.org/10.4161/GMIC.1.3.12127>.
- SAVAGE, D.C.; FLETCHER, M. (Eds.). *Bacterial Adhesion*. [S. l.]: Springer US, 1985. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-1-4615-6514-7>.
- SAYERS, E.W. et al. Database resources of the National Center for Biotechnology Information in 2023. *Nucleic Acids Research*, v. 51, n. D1, p. D29–D38, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1093/NAR/GKAC1032>.
- SCHAFER, S.; CHEN, K.; MA, L. Crosstalking with dendritic cells: a path to engineer advanced T Cell immunotherapy. *Frontiers in Systems Biology*, v. 4, 2024, 1372995. DOI: <https://doi.org/10.3389/FSYS>
- SEDDIK, H.A.; BENDALI, F.; GANCEL, F.; FLISS, I.; SPANO, G.; DRIDER, D. *Lactobacillus plantarum* and Its Probiotic and Food Potentialities. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, v. 9, n. 2, p. 111–122, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/S12602-017-9264-Z/TABLES/2>.
- SEEMANN, T. Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. *Bioinformatics*, v. 30, n. 14, p. 2068–2069, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTU153>.
- SHANG, J.; PENG, C.; LIAO, H.; TANG, X.; SUN, Y. PhaBOX: a web server for identifying and characterizing phage contigs in metagenomic data. *Bioinformatics Advances*, v. 3, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1093/BIOADV/VBAD101>.

- SHANG, J.; TANG, X.; SUN, Y. PhaTYP: predicting the lifestyle for bacteriophages using BERT. *Briefings in Bioinformatics*, v. 24, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1093/BIB/BBAC487>.
- SHARMA, A.; LEE, S.; PARK, Y.S. Molecular typing tools for identifying and characterizing lactic acid bacteria: a review. *Food Science and Biotechnology*, v. 29, n. 6, p. 1301–1318, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/S10068-020-00802-X/TABLES/1>.
- SINGH, D.; SINGH, A.; KUMAR, S. Probiotics: friend or foe to the human immune system. *Bulletin of the National Research Centre*, v. 47, n. 1, 2023, 47. DOI: <https://doi.org/10.1186/S42269-023-01098-7>.
- SINGH, S.; LE, N.Q.K.; WANG, C. VF-Pred: Predicting virulence factor using sequence alignment percentage and ensemble learning models. *Computational Biology and Medicine*, v. 168, 2024, 107662. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.COMPBIOMED.2023.107662>.
- SOARES, S.C.; ABREU-VINÍ, V.A.C.; RAMOS, R.T.J.; CERDEIRA, L.; SILVA, A.; BAUMBACH, J.; TROST, E.; TAUCH, A.; HIRATA, R.; MATTOS-GUARALDI, A.L.; MIYOSHI, A.; AZEVEDO, V. PIPS: Pathogenicity Island Prediction Software. *PLoS One*, v. 7, n. 1, 2012, e30848. DOI: <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0030848>.
- SOARES, S.C.; GEYIK, H.; RAMOS, R.T.J.; DE SÁ, P.H.C.G.; BARBOSA, E.G.V.; BAUMBACH, J.; FIGUEIREDO, H.C.P.; MIYOSHI, A.; TAUCH, A.; SILVA, A.; AZEVEDO, V. GIPSy: Genomic island prediction software. *Journal of Biotechnology*, v. 232, p. 2–11, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.JBIOTEC.2015.09.008>.
- SONG, Z.; DU, H.; ZHANG, Y.; XU, Y. Unraveling core functional microbiota in traditional solid-state fermentation by high-throughput amplicons and metatranscriptomics sequencing. *Frontiers in Microbiology*, v. 8, 2017, 262958. DOI: <https://doi.org/10.3389/FMICB.2017.01294/BIBTEX>.
- STEIN, L. Genome annotation: from sequence to biology. *Nature Reviews Genetics*, v. 2, n. 7, p. 493–503, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1038/35080529>.
- STRZELEC, M.; DETKA, J.; MIESZCZAK, P.; SOBOCIŃSKA, M.K.; MAJKA, M. Immunomodulation—a general review of the current state-of-the-art and new therapeutic strategies for targeting the immune system. *Frontiers in Immunology*, v. 14, 2023, 1127704. DOI: <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2023.1127704/BIBTEX>.
- THIRUMURUGAN, D.; CHOLARAJAN, A.; VIJAYAKUMAR, R. An Introductory Chapter: Secondary Metabolites. In: *Secondary Metabolites - Sources and Applications*. [S. l.]: IntechOpen, 2018. DOI: <https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.79766>.
- THUY, T.T.D. et al. Characterization of the broad-spectrum antibacterial activity of bacteriocin-like inhibitory substance-producing probiotics isolated from

- fermented foods. *BMC Microbiology*, v. 24, 2024, 1–15. DOI: <https://doi.org/10.1186/S12866-024-03245-0/FIGURES/6>.
- TSAL, Y.T.; CHENG, P.C.; PAN, T.M. The immunomodulatory effects of lactic acid bacteria for improving immune functions and benefits. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 96, n. 4, p. 853–862, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/S00253-012-4407-3/FIGURES/3>.
- VAN DER OOST, J.; WESTRA, E.R.; JACKSON, R.N.; WIEDENHEFT, B. Unravelling the structural and mechanistic basis of CRISPR–Cas systems. *Nature Reviews Microbiology*, v. 12, n. 7, p. 479–492, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrmicro3279>.
- VAN HEEL, A.J.; DE JONG, A.; SONG, C.; VIEL, J.H.; KOK, J.; KUIPERS, O.P. BAGEL4: a user-friendly web server to thoroughly mine RiPPs and bacteriocins. *Nucleic Acids Research*, v. 46, n. W1, p. W278–W281, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1093/NAR/GKY383>.
- VARANKOVICH, N.V.; NICKERSON, M.T.; KORBER, D.R. Probiotic-based strategies for therapeutic and prophylactic use against multiple gastrointestinal diseases. *Frontiers in Microbiology*, v. 6, 2015, 133694. DOI: <https://doi.org/10.3389/FMICB.2015.00685/BIBTEX>.
- VENTURA, M. et al. Genome-scale analyses of health-promoting bacteria: probiogenomics. *Nature Reviews Microbiology*, v. 7, n. 1, p. 61–71, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrmicro2047>.
- VENTURA, M.; TURRONI, F.; VAN SINDEREN, D. Probiogenomics as a tool to obtain genetic insights into adaptation of probiotic bacteria to the human gut. *Bioengineered*, v. 3, p. 73–79, 2012. DOI: <https://doi.org/10.4161/bbug.18540>. (Note: References 25 and 27 are identical.)
- WASEEM, H. et al. Virulence factor activity relationships (VFARs): a bioinformatics perspective. *Environmental Science: Processes & Impacts*, v. 19, n. 2, p. 247–260, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1039/C6EM00689B>.
- WATTAM, A.R. et al. PATRIC, the bacterial bioinformatics database and analysis resource. *Nucleic Acids Research*, v. 42, n. D1, p. D581–D591, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1093/NAR/GKT1099>.
- WINAND, R. et al. Targeting the 16S rRNA Gene for Bacterial Identification in Complex Mixed Samples: Comparative Evaluation of Second (Illumina) and Third (Oxford Nanopore Technologies) Generation Sequencing Technologies. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 21, n. 1, 2019, 298. DOI: <https://doi.org/10.3390/IJMS21010298>.
- WISHART, D.S. et al. PHASTEST: faster than PHASTER, better than PHAST. *Nucleic Acids Research*, v. 51, n. W1, p. W443–W450, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1093/NAR/GKAD382>.
- WÓJCIK, W.; ŁUKASIEWICZ, M.; PUPPEL, K. Biogenic amines: formation,

- action and toxicity – a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 101, n. 7, p. 2634–2640, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1002/JSFA.10928>.
- XIE, R. et al. DeepVF: a deep learning-based hybrid framework for identifying virulence factors using the stacking strategy. *Briefings in Bioinformatics*, v. 22, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1093/BIB/BBAA125>.
- YAN, S.; ZENG, M.; WANG, H.; ZHANG, H. Micromonospora: A Prolific Source of Bioactive Secondary Metabolites with Therapeutic Potential. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1 v. 65, n. 6, p. 8735–8771, 2022. DOI: https://doi.org/10.1021/ACS.JMEDCHEM.2C00626/SUPPL_FILE/JM2C00626_SI_001.PDF.
- YETIMAN, A.E.; ORTAKCI, F. Genomic, probiotic, and metabolic potentials of *Liquorilactobacillus nagelii* AGA58, a novel bacteriocinogenic motile strain isolated from lactic acid-fermented shalgam. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, v. 135, p. 34–43, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.JBIOSC.2022.10.008>.
- YIN, R. et al. Gut Microbiota, Dietary Phytochemicals, and Benefits to Human Health. *Current Pharmacology Reports*, v. 5, n. 5, p. 332–344, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/S40495-019-00196-3>.
- ZHANG, P. et al. A dynamic mouse peptidome landscape reveals probiotic modulation of the gut-brain axis. *Science Signaling*, v. 13, 2020. DOI: https://doi.org/10.1126/SCISIGNAL.ABB0443/SUPPL_FILE/ABB0443_S M.PDF.
- ZHANG, X. et al. Metaproteomics reveals associations between microbiome and intestinal extracellular vesicle proteins in pediatric inflammatory bowel disease. *Nature Communications*, v. 9, n. 1, p. 1–14, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05357-4>.
- ZHAO, Q. et al. Drug-microbiota interactions: an emerging priority for precision medicine. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 8, n. 1, 2023, 1–27. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01619-w>
- ZHU, J. et al. Mechanisms of probiotic *Bacillus* against enteric bacterial infections. *One Health Advances*, v. 1, n. 1, 2023, 1–22. DOI: <https://doi.org/10.1186/S44280-023-00020-0>.
- ZMORA, N. et al. Personalized Gut Mucosal Colonization Resistance to Empiric Probiotics Is Associated with Unique Host and Microbiome Features. *Cell*, v. 174, n. 6, p. 1388-1405.e21, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2018.08.041/ASSET/4F76245A-B166-475C-B964-7AA2683CA6DE/MAIN.ASSETS/GR7.JPG>.

Autores

Eduarda Guimarães Sousa¹, Lucas Gabriel Rodrigues Gomes¹, Arun Kumar Jaiswal¹, Laura Diniz Freitas¹, Rafael Júnio de Oliveira¹, Letícia Isadora Rodrigues¹, Luiza Pereira Reis¹, Aline Ferreira Maciel de Oliveira¹, Siomar de Castro Soares² e Vasco Ariston de Carvalho Azevedo¹

1. Laboratório de Genética Celular e Molecular, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 31270-901, Minas Gerais, Brasil.
2. Laboratório de Bioinformática, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, Minas Gerais, Brasil.