



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

KAROLINNY CRISTINY DE OLIVEIRA VIEIRA

SUCO DE LARANJA PROBIÓTICO CONTENDO *Pediococcus acidilactici* CE51
MODULA A MICROBIOTA INTESTINAL E ATENUA INFLAMAÇÃO INDUZIDA EM
UM MODELO MURINO DE COLITE

Presidente Prudente - SP
2021



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

KAROLINNY CRISTINY DE OLIVEIRA VIEIRA

**SUCO DE LARANJA PROBIÓTICO CONTENDO *Pediococcus acidilactici* CE51
MODULA A MICROBIOTA INTESTINAL E ATENUA INFLAMAÇÃO INDUZIDA EM
UM MODELO MURINO DE COLITE**

Dissertação de Mestrado apresentada à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, da Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora:
Profa. Dra. Lizziane Kretli Winkelströter Eller

Presidente Prudente - SP
2021

616.01
V657s

Vieira, Karolinny Cristiny de Oliveira

Suco de laranja probiótico contendo *Pediococcus acidilactici* CE51 modula a microbiota intestinal e atenua inflamação induzida em um modelo murino de colite \ Karolinny Cristiny de Oliveira Vieira ; orientadora Lizziane Kretli Winkelströter Eller. -- Presidente Prudente, 2021.
41 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) -
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente
Prudente, SP, 2021.

Bibliografia.

1. Probiótico. 2. *Pediococcus acidilactici*. 3. Colite
Ulcerativa. 4. Microbiota intestinal. 5. Sucos de Frutas e
Vegetais. I. Eller, Lizziane Kretli Winkelströter, orient. II.
Título.

KAROLINNY CRISTINY DE OLIVEIRA VIEIRA

**SUCO DE LARANJA PROBIÓTICO CONTENDO *Pediococcus acidilactici* CE51
MODULA A MICROBIOTA INTESTINAL E ATENUA INFLAMAÇÃO INDUZIDA EM
UM MODELO MURINO DE COLITE**

Dissertação de Mestrado apresentada à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, da Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Presidente Prudente, 26 de fevereiro de 2021.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora Profa. Dra. Lizziane Kretli Winkelströter Eller
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente-SP

Prof. Dr. Leonardo Mendes de Oliveira
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente-SP

Prof. Dr. Fernando Antonio Pino Anjolette
Instituto Federal do Paraná (IFPR)
Palmas - PR

DEDICATÓRIAS

Primeiramente dedico esta dissertação de mestrado ao único que é digno de receber toda honra e glória, Deus. nEle depositei toda a minha fé para acreditar na conquista desse objetivo da minha vida, o título de Mestre. Dedico a Ele tudo o que sou e faço, pois através dEle, por Ele e para Ele são todas as coisas.

Dedico este trabalho também à minha família, aos meus pais e a minha irmã por toda motivação e todo prestígio que me deram no decorrer desta trajetória, acreditando em minha capacidade para que eu pudesse chegar aonde cheguei e tornar este sonho real.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por até aqui ter me sustentado, por me fazer crescer e desfrutar de grandes experiências nesses dois anos do Mestrado.

Ao meu pai, Cláudio, a minha mãe, Verônica, minha irmã, Kawanny, e todos da minha família pelo suporte dado, por serem meu pilar em oração e terem sempre uma palavra sábia a me dizer. Vocês foram e são essenciais em minha vida.

Ao meu namorado, Emmanuel, que me enche de palavras de fé, por tanto acreditar em mim e mostrar que sou capaz de ir muito além do que eu possa imaginar.

Aos meus amigos, Laiany Neto e João Vitor Neves, pessoas virtuosas que me acompanharam em cada etapa desta conquista.

A todos aqueles que contribuíram nas coletas dos dados de minha dissertação e se disponibilizaram para ajudar no decorrer do projeto, em especial a Maria Alves (Laboratório de Microbiologia e Imunologia – Unoeste/Campus I) Gracielle Vieira Gonçalves (Biotério Central – Unoeste/Campus II), e aos alunos de iniciação científica, Suelen Felício, Ana Beatriz Batista e André Iassugue.

Agradecimento à Unoeste, às secretárias Ina Lima e Keid Kruger, e a todos os professores que contribuíram diretamente para minha formação durante o mestrado e auxiliaram no projeto de pesquisa, em especial, à Dra. Gisele Alborghetti Nai, Dr. Wilson Romero Nakagaki e Dr. Leonardo de Oliveira Mendes.

Ao Dr. Fabio Santos de Lira, por conceder parceria da nossa pesquisa com o Departamento de Educação Física da UNESP (Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”) – Faculdade de Ciências e Tecnologia – Campus de Presidente Prudente, e ao doutorando Caíque Figueiredo pelo auxílio com as técnicas laboratoriais.

Expresso aqui meu agradecimento a minha orientadora Dra. Lizziane Kretli Winkelströter Eller, que depositou confiança a mim para execução deste projeto e me permitiu vivenciar grandes oportunidades durante o mestrado. Obrigada por me apoiar e me instruir tanto nesta caminhada repleta de desafios que foram vencidos. Grande referência profissional, gratidão a você, Lizziane.

A PROSUP e a CAPES pela taxa de isenção concedida a mim, que foi fundamental e proveitosa durante os dois anos de mestrado.

A FAPESP pelo apoio financeiro na forma de auxílio à pesquisa (processo# 2018/14658-1) e pela concessão da bolsa TT3 (processo# 2020/12040-0). Este período me proporcionou muitos conhecimentos na área e uma ampla bagagem na ciência. Foi usufruída de forma significativa e produtiva. À FAPESP, muito obrigada.

RESUMO

Suco de laranja probiótico contendo *Pediococcus acidilactici* CE51 modula a microbiota intestinal e atenua inflamação induzida em um modelo murino de colite

O manejo de doenças inflamatórias intestinais tem sido amplamente investigado, principalmente a colite ulcerativa. Desta forma, são necessários estudos com aplicação de novos produtos probióticos na prevenção e/ou tratamento destas situações clínicas. O objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos do suco de laranja probiótico contendo *Pediococcus acidilactici* CE51 em modelo murino de colite. Foram utilizados 45 camundongos machos linhagem Swiss, divididos em cinco grupos (n=9): controle, colite, colite + probiótico (suco de laranja probiótico contendo CE51), colite + placebo (suco de laranja) e colite + sulfassalazina (10mg/kg/peso). A indução da colite foi realizada com dextran sulfato de sódio (3%). O tempo de tratamento foi de 5 e 15 dias após a indução. Após a eutanásia foi realizada análises histopatológicas, dosagens sérias de TNF-alfa e proteína C-reativa e análise metagenômica das fezes. O tratamento com probiótico reduziu a inflamação no intestino delgado, intestino grosso e baço. O probiótico não alterou as dosagens séricas de TNF-alfa e proteína C-reativa, manteve a razão quantitativa do filo Firmicutes/Bacteroidetes e aumentou *Lactobacillus helveticus* com 5 e 15 dias de tratamento, respectivamente ($p < 0,05$). O suco de laranja probiótico contendo *P. acidilactici* CE51 modulou a microbiota intestinal e atenuou a inflamação induzida na colite.

Palavras-chave: Probiótico. *Pediococcus acidilactici*. Colite Ulcerativa. Microbiota Intestinal.

ABSTRACT

Probiotic orange juice containing *Pediococcus acidilactici* CE51 modulates intestinal microbiota and attenuates inflammation induced in a murine colitis model

The management of inflammatory bowel diseases has been widely investigated, especially ulcerative colitis. Thus, studies are needed with new probiotic products application in the prevention and/or treatment of these clinical situations. The aim of this study was to evaluate the effects of probiotic orange juice containing *Pediococcus acidilactici* CE51 in murine colitis model. 45 male Swiss lineage mice were used, divided into five groups (n = 9): control, colitis, colitis + probiotic (probiotic orange juice containing CE51), colitis+placebo (orange juice) and colitis+sulfasalazine (10mg / kg /Weight). Colitis induction was performed with dextran sulfate sodium (3%). The treatment time was 5 and 15 days after induction. Histopathological analyzes, serious measurements of TNF-alpha and C-reactive protein and metagenomic analysis of feces were performed after euthanasia. Probiotic treatment reduced inflammation in the small intestine, large intestine and spleen. The probiotic did not alter the serum levels of TNF-alpha and C-reactive protein, maintained the quantitative ratio of the phylum Firmicutes/Bacteroidetes and increased *Lactobacillus helveticus* with 5 and 15 days of treatment, respectively (p <0.05). The probiotic orange juice containing *P. acidilactici* CE51 modulated the intestinal microbiota and attenuated the inflammation induced in colitis.

Keywords: Probiotic. *Pediococcus acidilactici*. Ulcerative Colitis. Intestinal Microbiota

SUMÁRIO

SUCO DE LARANJA PROBIÓTICO CONTENDO <i>Pediococcus acidilactici</i> CE51 MODULA A MICROBIOTA INTESTINAL E ATENUA INFLAMAÇÃO INDUZIDA EM UM MODELO MURINO DE COLI	13
Introdução.....	15
Material e Métodos	17
Resultados	21
Discussão	28
Referências	31
ANEXO - NORMAS DE SUBMISSÃO SCIENTIFIC REPORTS – NATURE	37

Referências

- ¹ Flynn, S. & Eisenstein, S. Inflammatory bowel disease presentation and diagnosis. *Surg Clin North Am.* **99**, 1051-1062 (2019).
- ² Sairenji, T., Collins, K. L. & Evans, D. V. An Update on Inflammatory Bowel Disease. *Prim Care.* **44**, 673-692 (2017).
- ³ Silva, A. P. F. & Mello Júnior, M. R. Fecal biomarkers useful on inflammatory bowel disease: a systematic review. *Arq Ciênc Saúde.* **23**, 16-20 (2016).
- ⁴ Wehkamp, J., Götz, M., Herrlinger, K., Steurer, W. & Stange, E. F. Inflammatory Bowel Disease. *Dtsch Arztebl Int.* **113**, 72-82 (2016).
- ⁵ Ramos, G. P. & Papadakis, K. A. Mechanisms of disease: Inflammatory Bowel Diseases. *Mayo Clin Proc.* **94**, 155–165 (2019).
- ⁶ Gajendran, M. *et al.* A comprehensive review and update on ulcerative colitis. *Dis Mon.* **65**, 100851 (2019).
- ⁷ Seyedian, S. S., Nokhostin, F. & Malamir, M. D. A review of the diagnosis, prevention, and treatment methods of inflammatory bowel disease. *J Med Life.* **12**, 113-122 (2019).
- ⁸ Jeong, D. Y. *et al.* Induction and maintenance treatment of inflammatory bowel disease: A comprehensive review. *Autoimmun Rev.* **18**, 439-454 (2019).
- ⁹ Batista, R. R., Pozzobon, B. H. Z., Albuquerque, I. C. & Formiga, J. S. Hepatotoxicity induced by sulfasalazine: case report. *Rev Bras Colo-Proctol.* **31**, 210-212 (2011).
- ¹⁰ Travis, S. P. L. *et al.* European evidence-based Consensus on the management of ulcerative colitis: Current management. *J Crohns Colitis.* **2**, 24-62 (2008).
- ¹¹ Nikfar, S., Rahimi, R., Rezaie, A. & Abdollahi, M. A Meta-Analysis of the efficacy of sulfasalazine in comparison with 5-aminosalicylates in the induction of improvement and maintenance of remission in patients with ulcerative colitis. *Dig Dis Sci.* **54**, 1157–1170 (2009).
- ¹² Cardozo, W. S. & Sobrado, C. W. *Doença Inflamatória Intestinal* (2 ed. Manole, 2015).
- ¹³ Granato, D. *et al.* Functional foods: Product development, technological trends, efficacy testing, and safety. *Annu Rev Food Sci Technol.* **11**, 93-118 (2020).
- ¹⁴ Min, M., Bunt, C. R., Mason, S. L. & Hussain, M. A. Non-dairy probiotic food products: An emerging group of functional foods. *Crit Rev Food Sci Nutr.* **59**, 2626-2641 (2019).
- ¹⁵ Tulini, F. L., Winkelströter, L. K. & De Martinis, E. C. Identification and evaluation of the probiotic potential of *Lactobacillus paraplantarum* FT259, a bacteriocinogenic strain isolated from Brazilian semi-hard artisanal cheese. *Anaerobe.* **22**, 57-63 (2013).
- ¹⁶ Food and Agriculture Organization (FAO). World Health Organization (WHO). Report of a joint FAO/WHO expert consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. 1-4 (2001).

- ¹⁷ Judkins, T. C., Archer, D. L., Kramer, D. C. & Solch, R. J. Probiotics, nutrition, and the small intestine. *Curr Gastroenterol Rep.* **22**, 2 (2020).
- ¹⁸ Zhang, C. X., Wang, H. Y. & Chen, T. X. Interactions between intestinal microflora/probiotics and the immune system. *Biomed Res Int.* 6764919 (2019).
- ¹⁹ Nishida, A. *et al.* Gut microbiota in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Clin J Gastroenterol.* **11**, 1-10 (2018).
- ²⁰ Collado, M. C., Meriluoto, J. & Salminen, S. Adhesion and aggregation properties of probiotic and pathogen strains. *Eur Food Res Technol.* **226**, 1065-1073 (2008).
- ²¹ Zoetendal, E. G., Rajilic-Stojanovic, M. & De Vos, W. M. High-throughput diversity and functionality analysis of the gastrointestinal tract microbiota. *Gut.* **57**, 1605-1615 (2008).
- ²² Yoo, J. Y. & Kim, S. S. Probiotics and prebiotics: present status and future perspectives on metabolic disorders. *Nutrients.* **8**, 1-20 (2016).
- ²³ Mainville, I., Acand, Y. & Farnworth, E. R. A dynamic model that simulates the human upper gastrointestinal tract for the study of probiotics. *Int Journal Food Microbiol.* **99**, 287– 296 (2005).
- ²⁴ Pandey, K. R., Naik, S. R. & Vakil, B.V. Probiotics, prebiotics and synbiotics- a review. *J Food Sci Tech.* **52**, 7577–7587 (2015).
- ²⁵ Hemaiswarya, S., Raja, R., Ravikumar, R. & Carvalho, I. S. Mechanism of action of probiotics *Braz Arch Biol Technol.* **56**, 113-119 (2013).
- ²⁶ Busanello, M., Pozza, M. S. S., Barros, P. C., Chambo, A. P. S. & Eckstein, I. S. Probiotics, their forms of action and the animal production. *Rev Sci Agrár Parana.* **11**, 14-24 (2012).
- ²⁷ Markowiak, P. & Slizewska, K. Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health *Nutrients.* **9**, 2-30 (2017).
- ²⁸ Vandenplas, Y., Huys, G. & Daube, G. Probiotics: na update *J. Pediatr.* **91**, 6-21 (2015).
- ²⁹ Meghwanshi, G. K., Praveen, G., Rakesh, P. & Sinh, S. K. Probiotics and prebiotics. *Int Journal Food Microbiol Res.* **8**, 762-768 (2016).
- ³⁰ Shi, L. H., Balakrishnan, K., Thiagarajah, K., Ismail, N. I. & Yin, O. S. Beneficial properties of probiotics. *Trop Life Sci Res.* **27**, 73-90 (2016).
- ³¹ Lemos Júnior, H. P. & Lemos, A. L. A. Efetividade e segurança dos probióticos nas doenças intestinais. *Diagn Tratamento.* **19**, 77-80 (2014).
- ³² Vieira, K. C. O. *et al.* Development and viability of probiotic orange juice supplemented by *Pediococcus acidilactici* CE51. *LWT-Food Sci Technol.* **130**, 109637 (2020).
- ³³ Mantzourani, I. *et al.* Production of a novel functional fruit beverage consisting of cornelian cherry juice and probiotic bacteria. *Antioxidants* **7**, 163 (2018).

- ³⁴ Saad, S. M. I. Probiotics and prebiotics: the state of the art. *Braz J Pharm Sci.* **42**, 1-16 (2006).
- ³⁵ Suda, Y. *et al.* Immunobiotic *Lactobacillus jensenii* as immune-health promoting factor to improve growth performance and productivity in post-weaning pigs. *BMC Immunol.* **15**, 24 (2014).
- ³⁶ Cavallini, O. P., Zordão, L. S., Celiberto, J. A. S., Zuanon, L. C. & Spolidorio, L. C. Efeito da ingestão regular de uma bebida probiótica na fase aguda da colite ulcerativa induzida em camundongos D.C.U. In: *Anais Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Gramado RS, (2016).
- ³⁷ Celiberto, L. S. *Efeito de uma bebida probiótica (Enterococcus faecium CRL 183 e Bifidobacterium longum ATCC 15707) à base de extrato aquoso de soja no desenvolvimento de colite quimicamente induzida em ratos.* Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara, SP (2014).
- ³⁸ Chassaing, B., Aitken, J. D., Malleshappa, M. & Vijay-Kumar, M. Dextran Sulfate Sodium (DSS)-induced colitis in mice. *Curr Protocol Immunol.* **47**, 15-25 (2014).
- ³⁹ Laroui, H. *et al.* Dextran Sodium Sulfate (DSS) Induces colitis in mice by forming nanopiposomes with medium-chain-length fatty acids in the colon. *PLoS ONE.* **7**, e32084 (2012).
- ⁴⁰ Silva, F. M., Silva, R. C. & Medeiros, J. S. Research of blood hidden by Meyer's method. *Journal of Biology & Pharmacy and Agricultural Management.* **17** (2014).
- ⁴¹ Andrade, S. D. E. *Efeitos da administração intragástrica de Bifidobacterium longum subsp. infantis CHCC2228 em um modelo murino agudo de colite ulcerativa induzida por sulfato sódico de dextrana.* Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, Belo Horizonte, MG (2013).
- ⁴² Utrilla, M. P. *et al.* Pea (*Pisum sativum L.*) seed albumin extracts show anti-inflammatory effect in the DSS model of mouse colitis. *Mol Nutr Food Res.* **59**, 807–819 (2015).
- ⁴³ Gerhard, D. *et al.* Probiotic therapy reduces inflammation and improves intestinal morphology in rats with induced oral mucositis. *Braz Oral Res.* **31**, e71 (2017).
- ⁴⁴ Pegoraro, C. M. R. *et al.* Protective effects of *Bidens pilosa* on hepatotoxicity and nephrotoxicity induced by carbon tetrachloride in rats. *Drug Chem Toxicol.* **44**, 64-74 (2021).
- ⁴⁵ Nguyen, B. T. *et al.* Probiotic beverage from pineapple juice fermented with *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. *Front Nutr.* **6**, 54 (2019).
- ⁴⁶ Srutkova, D. *et al.* *Bifidobacterium longum* CCM 7952 promotes epithelial barrier function and prevents acute DSS-induced colitis in strictly strain-specific manner. *PLoS One.* **10**, e0134050 (2015).
- ⁴⁷ Rodríguez-Nogales, A. *et al.* Differential intestinal anti-inflammatory effects of *Lactobacillus fermentum* and *Lactobacillus salivarius* in DSS mouse colitis: impact on microRNAs expression and microbiota composition. *Mol Nutr Food Res.* **61**, 1700144 (2017).
- ⁴⁸ Pelicano, E. R. L. *et al.* Intestinal mucosa structure and ultrastructure in broilers fed with diets supplemented with different probiotics. *Rev Port Ciên Vet.* **98**, 125-134 (2003).

- ⁴⁹ Coelho, R. C. L. A., Hermsdorff, H. H. M. & Bressan, J. Anti-inflammatory Properties of Orange Juice: Possible Favorable Molecular and Metabolic Effects. *Plant Foods Hum Nutr* **68**, 1–10 (2013).
- ⁵⁰ Duary, R. K., Bhausheb, M. A., Batish, V. K. & Grover, S. Anti-inflammatory and immunomodulatory efficacy of indigenous probiotic *Lactobacillus plantarum* Lp91 in colitis mouse model. *Mol Biol Rep* **39**, 4765–4775 (2012).
- ⁵¹ Wang, Y., Guo, Y., Chen, H., Wei, H. & Wan, C. Potential of *Lactobacillus plantarum* ZDY2013 and *Bifidobacterium bifidum* WBIN03 in relieving colitis by gut microbiota, immune, and anti-oxidative stress. *Can J of Microbiol.* **64**, 327-337 (2018).
- ⁵² Groeger, D., *et al.* *Bifidobacterium Infantis* 35624 Modulates Host Inflammatory Processes beyond the Gut. *Gut Microbes.* **4**, 325–339 (2013).
- ⁵³ Mazidi, M., Rezaie, P., Ferns, G. A. & Vatanparast, H. Impact of probiotic administration on serum c-reactive protein concentrations: systematic review and meta-analysis of randomized control trials. *Nutrients.* **9**, 20 (2017).
- ⁵⁴ Volp, A. C. P. *et al.* Inflammation biomarkers capacity in predicting the metabolic syndrome. *Arq Bras Endocrinol Metab.* **52**, 537-549 (2008).
- ⁵⁵ Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature.* **486**, 207–214 (2012).
- ⁵⁶ Gophna, U. *et al.* Differences between tissue-associated intestinal microfloras of patients with Crohn's Disease and Ulcerative Colitis. *J Clin Microbiol.* **44**, 4136–4141 (2006).
- ⁵⁷ Walker, A. W. *et al.* High-throughput clone library analysis of the mucosa-associated microbiota reveals dysbiosis and differences between inflamed and non-inflamed regions of the intestine in inflammatory bowel disease. *BMC Microbiol.* **11**, 7 (2011).
- ⁵⁸ Stojanov, S., Berlec, A., & Štrukelj, B. A The influence of probiotics on the Firmicutes/Bacteroidetes ratio in the treatment of obesity and Inflammatory Bowel Disease. *Microorganisms.* **8**, 1715 (2020).
- ⁵⁹ Lo Sasso G. *et al.* Inflammatory Bowel Disease–associated changes in the gut: Focus on Kazan patients. *Inflamm Bowel Dis.* (2020).
- ⁶⁰ Jandhyala, S. *et al.* Role of the normal gut microbiota. *World J Gastroenterol.* **21**, 8787–8803 (2015).
- ⁶¹ Pickard, J. M., Zeng, M. Y., Caruso, R., & Núñez, G. Gut microbiota: Role in pathogen colonization, immune responses, and inflammatory disease. *Immunol Rev.* **279**, 70–89 (2017).
- ⁶² Sharon, M. J. *et al.* Time series community genomics analysis reveals rapid shifts bacterial species, strains, and phage during infant gut colonization. *Genome Res.* **23**, 111-120 (2013).
- ⁶³ Grimm, V., Radulovic, K. & Riedel, C. U. Colonization of c57bl/6 mice by a potential probiotic *Bifidobacterium bifidum* strain under germ-free and specific pathogen-free conditions and during experimental colitis. *PLoS One.* **10**, e0139935 (2015).

- ⁶⁴ Hemme, D., *et al.* *Lactobacillus murinus* N. Sp., une nouvelle espèce de la flore dominante autochtone du tube digestif du rat et de la souris [*"Lactobacillus murinus"* n. sp., a new species of the autochthonous dominant flora of the digestive tract of rat and mouse (author's transl)]. *Ann Microbiol.* **131**, 297-308 (1980).
- ⁶⁵ Cousin, S. *et al.* Draft Genome Sequence of *Lactobacillus hominis* Strain CRBIP 24.179T, Isolated from Human Intestine. *Genome announc.* **1**, e00662-13 (2013).
- ⁶⁶ Rong J. *et al.* Probiotic and anti-inflammatory attributes of an isolate *Lactobacillus helveticus* NS8 from Mongolian fermented koumiss. *BMC Microbiol.* **2**, 196 (2015).
- ⁶⁷ Evans, M., Salewski, R., Christman, M., Girard, S. & Tompkins, T. Effectiveness of *Lactobacillus helveticus* and *Lactobacillus rhamnosus* for the management of antibiotic-associated diarrhea in healthy adults: A randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Br J Nutri.* **116**, 94-103 (2016).
- ⁶⁸ Wang, Q. *et al.* *Lactobacillus helveticus* R0052 alleviates liver injury by modulating gut microbiome and metabolome in D-galactosamine-treated rats. *Appl Microbiol Biotechnol.* **103**, 9673–9686 (2019).
- ⁶⁹ Palumbo, V. D. *et al.* "The long-term effects of probiotics in the therapy of ulcerative colitis: A clinical study." *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* **160**, 372-7 (2016).
- ⁷⁰ Kruis, W. *et al.* Maintaining remission of ulcerative colitis with the probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 is as effective as with standard mesalazine. *Gut.* **53**, 1617–1623 (2004).
- ⁷¹ Rembacken, B. J., Snelling, A. M., Hawkey, P. M., Chalmers, D. M. & Axon, A. T. Non-pathogenic *Escherichia coli* versus mesalazine for the treatment of ulcerative colitis: a randomised trial. *Lancet.* **354**, 635–639 (1999).
- ⁷² Kokesova, A. *et al.* Oral administration of probiotic bacteria (*E. coli* Nissle, *E. coli* O83, *Lactobacillus casei*) influences the severity of Dextran Sodium Sulfate-induced colitis in BALB/c mice. *Folia Microbiol.* **51**, 478–484 (2006).
- ⁷³ Ukena, S. N. *et al.* Probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 inhibits leaky gut by enhancing mucosal integrity. *PLoS One.* **2**, e1308 (2007).
- ⁷⁴ Peterson, L. & Artis, D. Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis. *Nat Rev Immunol.* **14**, 141–153 (2014).

