



ESTUDO DA ATIVIDADE MUTAGÊNICA E ANTIMUTAGÊNICA DE
BACTÉRIAS LÁCTICAS EM CÉLULAS SOMÁTICAS DE *Drosophila*
melanogaster

Renata Chequeller de Almeida

Aluna de Doutorado do PPGBIOSAÚDE ULBRA Canoas-RS. Laboratório de
Toxicidade Genética – TOXIGEN.

Vanessa de Souza Bizarro

Aluna do Curso de Graduação em Biomedicina e Bolsista PIBIC/CNPq no
Laboratório de Toxicidade Genética – TOXIGEN, ULBRA Canoas-RS.

Guilherme dos Santos Pozzebon

Aluno do Colégio ULBRA São João – Bolsista PIBIC-EM/CNPq no
Laboratório de Toxicidade Genética – TOXIGEN, ULBRA Canoas-RS.

Rafael R. Dihl

Professor do Curso de Graduação em Biologia e PPGBIOSAÚDE.
Laboratório de Toxicidade Genética – TOXIGEN.

Mauricio Lehmann

Professor do Curso de Graduação em Engenharia Ambiental e
PPGBIOSAÚDE. Laboratório de Toxicidade Genética – TOXIGEN,
mauriciol@ulbra.br.

Resumo

Os probióticos são definidos como microrganismos vivos, administrados em quantidades adequadas, que conferem benefícios à saúde do hospedeiro. Dentre estes se destacam as bactérias ácido lácticas (BALs), microrganismos probióticos classificados como autóctones no trato gastrointestinal humano. As BALs têm um amplo potencial de aplicação, abrangendo desde sua incorporação como parte do processo de fermentação em produtos lácteos, tais como queijo, iogurte, sorvetes e outros; até à sua utilização como probióticos na saúde humana e animal. Considerando a amplitude de efeitos benéficos atribuídos aos probióticos, cada vez mais se faz necessário avaliarmos também possíveis riscos associados ao seu consumo. Neste sentido, o presente estudo avaliou a atividade mutagênica e antimutagênica da linhagem LAC104 de *Lactobacillus paracasei* proveniente de queijo artesanal nativo da Região Nordeste do estado do Rio Grande do Sul. Para tanto, foi utilizado o teste para a Detecção de Mutação e Recombinação Somática (SMART) em *Drosophila melanogaster*. Os resultados referentes à atividade mutagênica mostram que a linhagem LAC 104, nas concentrações de 10^4 , 10^6 , 10^8 e 10^{10} células/mL, não

aumentou a frequência de danos genéticos quando comparada ao controle negativo, o que permite caracterizá-la como destituída de atividade mutagênica e recombinogênica no teste SMART. Os resultados da atividade antimutagênica utilizando os protocolos de pré- e pós-tratamento, mostram que houve efeito protetor em algumas concentrações em ambos os sistemas de tratamento com as bactérias vivas e mortas.. Ainda que os dados aqui apresentados sejam preliminares demonstram que a linhagem LAC104 pode ser capaz de modular os efeitos mutagênicos do agente alquilante EMS através de diferentes mecanismos, como interferência nos sistemas de reparação do DNA, atividade de enzimas de detoxificação ou interação direta com o mutágeno. Estes dados reforçam as informações prévias descritas na literatura científica, que mostram a atividade protetora dos probióticos sobre danos genéticos induzidos por agentes químicos. a ausência de atividade mutagênica.

Palavras-chave: Bactérias ácido lácticas. Mutação. Recombinação.

INTRODUÇÃO

Atualmente, as utilizações e aplicações propostas quanto ao uso de bactérias ácido lácticas (BALs) em diversos setores têm crescido notoriamente devido à sua enorme importância industrial (SANDERS et al., 2013). Paralelamente a este aumento crescente, desenvolveu-se um quadro de evolução comportamental por meio dos consumidores em busca de uma alimentação benéfica à saúde (Annunziata e Vecchio, 2013). Para tanto, indústrias agroalimentares integraram novos produtos, sobretudo lácticos, aos quais são atribuídas qualidades probióticas (ASHRAF; SHAH, 2011). Em virtude dos diversos benefícios, deve-se ter em vista que cada propriedade é cepa-dependente e, portanto, não há uma linhagem capaz de prover todos os benefícios propostos, assim como nem todas as linhagens da mesma espécie proporcionam os mesmos efeitos, devendo ser confirmada por experimentos *in vitro*, experimentos com animais e ensaios clínicos (SUSKOVIC et al., 2010).

Durante a última década, muitos estudos têm tentado determinar se componentes da dieta podem ser usados com sucesso para quimioprevenção do câncer. As BALs e seus produtos fermentados são capazes de conferir uma variedade de benefícios nutricionais e terapêuticos importantes, como atividade antimutagênica e antigenotóxica, tanto *in vitro* como *in vivo*, bem como

propriedades antitumorais (COMMANE et al., 2005). A partir deste contexto, pode-se concluir que diversos estudos evidenciam os efeitos biológicos através do uso de bactérias lácticas, ou seja, bactérias vivas que sobrevivem à passagem pelo trato gastrointestinal apresentando benefícios a saúde do hospedeiro.

Considerando a amplitude de efeitos benéficos atribuídos aos probióticos, a sua manipulação e inserção em produtos alimentícios, o aumento no consumo humano de produtos lácteos contendo este grupo de microrganismos e a indicação de seu efeito protetor sobre o material genético, cada vez mais se faz necessário avaliar a amplitude de sua ação antimutagênica frente os diferentes danos genéticos e a segurança de seu consumo.

OBJETIVO

Avaliar a atividade mutagênica e antimutagênica da linhagem LAC104 de *Lactobacillus paracasei*, proveniente de queijo artesanal nativo da Região Nordeste do estado do Rio Grande do Sul, *in vivo* através do teste para a Detecção de Mutação e Recombinação Somática (SMART) em *Drosophila melanogaster*.

METODOLOGIA

O teste SMART foi aplicado de acordo com Andrade; Lehmann e Reguly (2004). Para a avaliação da atividade mutagênica foi utilizado o cruzamento padrão com as linhagens designadas como *flr³* e *mwh*, originando larvas portadoras de nível basal de atividade metabólica dependente de citocromo P-450. Para maiores detalhes sobre o teste SMART ver Andrade, Lehmann e Reguly (2004). As larvas coletadas a partir do cruzamento foram submetidas ao tratamento crônico em tubos plásticos contendo 1,5 g de meio instantâneo onde foram adicionados 5 mL das soluções de tratamento: controle negativo (solução salina), controle positivo (uretano 20 mM) e quatro diferentes concentrações de BALs (10^{10} ; 10^8 ; 10^6 e 10^4 células/mL).

Com o objetivo de avaliar a antigenotoxicidade das cepas de bactérias ácido lácticas, as larvas provenientes do cruzamento padrão foram submetidas

a dois protocolos de tratamento:

- Pré-tratamento: as larvas foram inicialmente submetidas ao tratamento com controle negativo (solução salina) e quatro diferentes concentrações de BALs (10^{10} ; 10^8 ; 10^6 e 10^4 céls/ml) por um período de 3 horas. Após este período, foi adicionado ao meio de tratamento 2 mL das seguintes soluções: (i) água destilada e (ii) EMS 5 mM.

- Pós-tratamento: as larvas foram inicialmente divididas em dois grupos para serem submetidas ao tratamento agudo com o EMS (46 mM) e controle negativo (água destilada) por um período de 3 h. Posteriormente, estas larvas foram lavadas com água e transferidas para o tratamento com: (i) solução salina e (ii) quatro diferentes concentrações de bactérias ácido lácticas (10^4 ; 10^6 ; 10^8 e 10^{10} céls/ml).

As asas das moscas adultas nascidas após o tratamento foram submetidas à montagem em lâminas de vidro e analisadas em microscópio óptico com aumento de 400 vezes para a quantificação de clones de células mutantes gerados pelos tratamentos.

Para avaliar a atividade mutagênica, os dados obtidos no controle positivo e nas diferentes concentrações de BAL foram comparados com o controle negativo. Na avaliação da antimutagenicidade, os resultados obtidos nos pré- e pós-tratamentos foram comparados à frequência de danos observada nos tratamentos nos quais foi administrada apenas a genotoxina (EMS). Por outro lado, os dados dos tratamentos apenas com as genotoxinas foram comparados com o controle negativo. Em ambas avaliações foi utilizado o teste binomial condicional de Kastembaum e Bowman, seguindo o procedimento de decisões múltiplas de acordo com Frei e Würigler (1988).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Atividade Mutagênica

Os resultados referentes à atividade mutagênica obtidos no cruzamento padrão mostram que a linhagem LAC 104, tanto viva quanto morta, não aumentou a frequência de danos genéticos quando comparada ao controle

negativo, o que permite caracterizá-la como destituída de atividade mutagênica e recombinogênica no teste SMART (Tabela 1).

A avaliação da atividade mutagênica de BALs não tem sido amplamente estudada e, portanto, há poucos relatos descritos na literatura científica. Neste sentido, não foram observadas atividades mutagênica e clastogênica do sobrenadante obtido de culturas de *Bacillus mojavensis* KJS-3, quando avaliado através do teste de Ames em *Salmonella typhimurium* e do teste de aberrações cromossômicas em células pulmonares de hamster Chinês (CHL), na presença e ausência de ativação metabólica (KIM et al., 2012). Adicionalmente, os autores verificaram redução dose-dependente no número de revertentes de *S. typhimurium* quando comparado ao controle negativo, indicando que compostos antimutagênicos foram produzidos durante o processo de fermentação do meio de cultura pela cepa KJS-3 de *B. mojavensis*.

A ausência de atividade mutagênica da LAC 104 verificada neste estudo está de acordo com alguns resultados descritos na literatura científica com outras bactérias probióticas. Neste sentido, Kim et al. (2012) não observaram atividades mutagênica e clastogênica do sobrenadante obtido de culturas de *Bacillus mojavensis* KJS-3, quando avaliado através do teste de Ames em *Salmonella typhimurium* e do teste de aberrações cromossômicas em células pulmonares de hamster Chinês (CHL), na presença e ausência de ativação metabólica. Adicionalmente, Chiu et al. (2013) analisaram a atividade mutagênica de uma mistura liofilizada contendo as bactérias probióticas *Lactobacillus rhamnosus* LCR177, *Bifidobacterium adolescentis* BA286 e *Pediococcus acidilactici* PA318. Neste estudo foram utilizados diferentes bioensaios: teste de AMES em 5 linhagens de *Salmonella typhimurium*, o teste de aberrações cromossômicas em células de ovário de hamster Chinês CHO-K1 e o teste de micronúcleos em células do sangue periférico de camundongos ICR. Os resultados obtidos mostraram que a mistura probiótica multi-espécies não apresentou atividade mutagênica nas diferentes avaliações realizadas.

Tabela 1: Resultados obtidos no teste SMART com a progênie *mwh/flr³* do cruzamento padrão (CP) após exposição crônica de larvas de 3^o estágio a quatro concentrações de cultura de *Lactobacillus paracasei* (LAC104) vivas e mortas.

Tratamentos	N. de moscas (N)	Manchas por indivíduo (no. de manchas) diag. estatístico ^a				Total de manchas	Total manchas <i>mwh</i> ^c (n)
		Manchas simples pequenas	Manchas simples grandes	Manchas gêmeas			
		(1-2 céls) ^b m = 2	(>2 céls) ^b m = 5	m = 5	m = 2		
Controle negativo	60	0,48 (29)	0,07 (04)	0,02 (01)	0,57 (34)	34	
Controle Positivo	60	3,38 (203) +	0,58 (35) +	0,20 (12) +	4,17 (250) +	249	
<i>Bactérias vivas</i>							
LAC104 10 ⁴ céls/mL	60	0,62 (37) -	0,07 (04) -	0,03 (02) i	0,72 (43) -	43	
LAC104 10 ⁶ céls/mL	60	0,55 (33) -	0,07 (04) -	0,02 (01) -	0,63 (38) -	38	
LAC104 10 ⁸ céls/mL	60	0,52 (31) -	0,07 (04) -	0,00 (00) -	0,58 (35) -	35	
LAC104 10 ¹⁰ céls/mL	60	0,45 (27) -	0,12 (07) i	0,07 (04) i	0,63 (38) -	38	
<i>Bactérias mortas</i>							
LAC104 10 ⁴ céls/mL	60	0,32 (19) -	0,13 (08) i	0,02 (01) -	0,47 (28) -	28	
LAC104 10 ⁶ céls/mL	60	0,60 (36) -	0,05 (03) -	0,00 (00) -	0,65 (39) -	39	
LAC104 10 ⁸ céls/mL	60	0,52 (31) -	0,10 (06) i	0,00 (00) -	0,62 (37) -	36	
LAC104 10 ¹⁰ céls/mL	60	0,40 (24) -	0,10 (06) i	0,03 (02) i	0,53 (32) -	32	

^aDiagnóstico estatístico através do teste binomial condicional: -, negativo; i, inconclusivo. *m*, fator de multiplicação para a avaliação de resultados significativamente negativos. Níveis de significância $\alpha=\beta=0,05$. ^bInclui manchas simples *flr³* raras. ^cConsiderando os clones *mwh* para as manchas simples *mwh* e para as manchas gêmeas.

Atividade Antimutagênica

Os resultados preliminares da atividade antimutagênica obtidos com a linhagem LAC104 referem-se à modulação exercida sobre os danos induzidos pelo mutágeno EMS, utilizando os protocolos de pré- e pós-tratamento, que estão descritos nas Tabelas 2 e 3.

Considerando o total de manchas, foi observado efeito protetor da linhagem viva estudada sobre os danos induzidos pelo EMS nas concentrações

de 10^4 e 10^8 céls/mL no sistema de pré-tratamento. Resultados semelhantes foram encontrados no pré-tratamento com as bactérias mortas. Houve redução na frequência total de manchas nas concentrações de 10^4 , 10^8 e 10^{10} céls/mL (Tabela 2).

Da mesma forma, quando avaliada no sistema de pós-tratamento, observa-se que a LAC104 viva reduziu significativamente a frequência de manchas gêmeas em todas as concentrações e do total de manchas nas concentrações de 10^6 , 10^8 e 10^{10} células/mL (Tabela 3). Os resultados positivos na redução da frequência de manchas gêmeas indicam que as bactérias probióticas estejam atuando na promoção dos mecanismos de reparo envolvidos na correção de danos de origem recombinacional, uma vez que este tipo de mancha é causado exclusivamente por este evento.

Neste sentido, a literatura científica apresenta alguns dados referentes à atividade antimutagênica/antigenotóxica de probióticos, mostrando que, de forma geral, estes microrganismos são capazes de reduzir a atividade mutagênica de diferentes agentes químicos. Pool-Zobel et al. (1993) demonstraram que a administração de *L. casei* Shirota a ratos expostos ao mutágeno N-metil-N'-nitro-N-nitrosoguanidina (MNNG) reduziu a frequência de danos no DNA de células da mucosa do esôfago, estômago, duodeno e cólon quando avaliado através do teste cometa. Em estudo subsequente, utilizando este mesmo bioensaio, em células da mucosa colônica, foi confirmado o efeito antigenotóxico de diferentes espécies de lactobacilos (*L. acidophilus*, *L. gasseri* (P79), *L. confusus* (DSM 20196), *Bifidobacterium breve* e *B. longum*) em ratos tratados com o carcinógeno de cólon 1,2-dimetilhidrazina (DMH). Este efeito protetor não foi observado no tratamento com *Streptococcus thermophilus* NCIM 50038 e também quando as culturas de *L. acidophilus* foram submetidas ao calor. Este último resultado associa o efeito protetor à presença de organismos vivos (POOL-ZOBEL et al., 1996).

Villarini et al. (2008), investigando os efeitos antigenotóxicos através do uso de linhagens de *L. casei* na dieta de ratos tratados com o carcinógeno de cólon 1,2-dimetilhidrazina hidrocloreto (DMH), evidenciaram claramente os efeitos protetores no DNA pelo uso destes microrganismos, isolados a partir de um produto lácteo comercialmente disponível, através da versão alcalina do

teste cometa em células do fígado e cólon intestinal. (BALANSKY et al., 1999).

Tabela 2: Resultados obtidos no teste SMART com a progênie *mwh/flr³* do cruzamento padrão (CP) após exposição crônica de larvas de 3^o estágio ao pré-tratamento com quatro concentrações de cultura de *Lactobacillus paracasei* (LAC104) vivas e mortas seguido do tratamento com EMS (5 mM)

Tratamentos		N. de moscas (N)	Manchas por indivíduo (no. de manchas) diag. estatístico ^a				Total manchas <i>mwh</i> ^c (n)
LAC104 (célis/mL)	EMS (mM)		Manchas simples pequenas (1-2 céls) ^b m = 2	Manchas simples grandes (>2 céls) ^b m = 5	Manchas gêmeas m = 5	Total de manchas m = 2	
<i>Vivas</i>							
0	0	30	0,43 (13)	0,03 (01)	0,00 (00)	0,47 (14)	14
0	5	50	7,94 (397) *	3,72 (186) *	1,72 (86) *	13,38 (669) *	630
10 ⁴	5	50	5,84 (292) f+	3,38 (169) -	1,64 (82) -	10,86 (543) f+	498
10 ⁶	5	50	6,38 (319) -	2,86 (143) f+	1,70 (85) -	10,94 (547) -	520
10 ⁸	5	60	7,00 (420) f+	3,23 (194) -	1,55 (93) -	11,78 (707) f+	672
10 ¹⁰	5	30	6,63 (199) f+	4,20 (126) -	1,67 (50) -	12,50 (375) -	364
<i>Mortas</i>							
0	0	30	0,43 (13)	0,03 (01)	0,00 (00)	0,47 (14)	14
0	5	50	7,94 (397) *	3,72 (186) *	1,72 (86) *	13,38 (669) *	630
10 ⁴	5	50	7,86 (393) -	3,62 (181) -	1,90 (95) -	13,38 (669) f+	627
10 ⁶	5	60	6,88 (413) f+	3,25 (195) f+	1,72 (103) -	11,85 (711) -	671
10 ⁸	5	50	6,58 (329) f+	3,00 (150) -	1,64 (82) f+	11,22 (561) f+	594
10 ¹⁰	5	30	6,27 (188) f+	2,90 (87) -	1,97 (59) -	11,13 (334) f+	302

^aDiagnóstico estatístico através do teste binomial condicional: *, positivo quando comparado ao controle negativo; -, negativo; f+, fraco positivo, quando comparado ao tratamento com EMS 5 mM. *m*, fator de multiplicação para a avaliação de resultados significativamente negativos. Níveis de significância $\alpha=\beta=0,05$. ^bInclui manchas simples *flr3* raras. ^cConsiderando os clones *mwh* para as manchas simples *mwh* e para as manchas gêmeas.

Tabela 3: Resultados obtidos no teste SMART com a progênie *mwh/flr³* do cruzamento padrão (CP) após exposição aguda de larvas de 3º estágio ao EMS (5 mM), seguida do pós-tratamento com quatro concentrações de cultura de *Lactobacillus paracasei* (LAC104) vivas

Tratamentos		N. de moscas (N)	Manchas por indivíduo (no. de manchas) diag. estatístico ^a				Total manchas <i>mwh</i> ^c (n)
EMS (mM)	LAC 104 (céls./mL)		Manchas simples pequenas (1-2 céls) ^b m = 2	Manchas simples grandes (>2 céls) ^b m = 5	Manchas gêmeas m = 5	Total de manchas m = 2	
0	0	30	0,63 (19)	0,20 (06)	0,10 (03)	0,93 (28)	28
46	0	30	1,47 (44) *	2,63 (79) *	1,90 (57) *	6,00 (180) *	167
46	10 ⁴	30	1,73 (52) -	2,60 (78) -	0,93 (28) +	5,27 (158) -	144
46	10 ⁶	30	1,30 (39) -	2,40 (72) -	0,77 (23) +	4,47 (134) f+	120
46	10 ⁸	30	0,83 (25) +	2,17 (65) -	0,87 (26) +	3,87 (116) f+	103
46	10 ¹⁰	30	1,73 (52) -	1,63 (49) +	1,13 (34) +	4,50 (135) f+	122

^aDiagnóstico estatístico através do teste binomial condicional: *, positivo quando comparado ao controle negativo; -, negativo; i, inconclusivo; +, positivo, quando comparado ao tratamento com EMS 46 mM. m, fator de multiplicação para a avaliação de resultados significativamente negativos. Níveis de significância $\alpha=\beta=0,05$. ^bInclui manchas simples *flr3* raras. ^cConsiderando os clones *mwh* para as manchas simples *mwh* e para as manchas gêmeas.

Cepas de *L. casei* isoladas de queijos de ovelha italianos tradicionais mostraram um alto potencial de redução de danos genéticos induzidos pelo MNNG e 4-nitroquinoleína-1-óxido (4NQO) quando avaliadas *in vitro* através do SOS Cromoteste em *E. coli* PQ37 (CALDINI et al, 2008; CORSETTI et al, 2008). Neste mesmo bioensaio, Raipulis et al. (2005) verificaram que diferentes linhagens de *Lactobacillus*, *Streptococcus* e *Bifidobacterium* foram capazes de reduzir a atividade genotóxica da furazolidona.

CONCLUSÕES

Os dados aqui apresentados demonstram que a linhagem LAC 104 de *Lactobacillus paracasei* com células viáveis e não viáveis não induz danos no DNA quando avaliada através do cruzamento padrão do teste SMART em *D. melanogaster*.

No que se refere à atividade antimutagênica, ainda que os dados aqui apresentados sejam preliminares demonstram que a linhagem LAC 104 de *Lactobacillus paracasei* é capaz de modular os efeitos mutagênicos do agente alquilante EMS, nos protocolos de pré e pós-tratamento, entretanto sem relação dose-efeito. Estes resultados reforçam as informações prévias descritas na literatura científica, que mostram a segurança do consumo de probióticos e sua atividade de proteção sobre danos genéticos induzidos por agentes químicos.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, H. H. R.; REGULY, M. L.; LEHMANN, M. Wing Somatic Mutation and Recombination Test (SMART). In: HENDERSON, D. S. (Ed.). **Drosophila Cytogenetics Protocols**. Totowa: Human Press Inc., 2004. p. 389-412.

ASHRAF, R.; SHAH, N. P. Selective and differential enumerations of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium spp.* in yoghurt - A review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 149, p. 194-208, 2011.

BALANSKY, R. et al. Inhibitory effects of freeze-dried milk fermented by selected *Lactobacillus bulgaricus* strains on carcinogenesis induced by 1,2-dimethylhydrazine in rats and by diethylnitrosamine in hamsters. **Cancer Letters**, v. 147, p. 125-137, 1999.

CALDINI, G., et al. Evidence for *in vitro* antigenotoxicity of cheese non starter lactobacilli. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 93, p. 51-59, 2008.

CHIU, Y-J., et al. Genotoxicity assessment of multispecies probiotics using reverse mutation, mammalian chromosomal aberration, and rodent micronucleus tests. **The ScientificWorld Journal**, v. 2013, Article ID 254239.

COMMANE, D. et al. The potential mechanisms involved in the anti-carcinogenic action of probiotics. **Mutation Research**, v. 591, p. 276-289, 2005.

CORSETTI, A. et al. Raw milk traditional Italian ewe cheeses as a source of *Lactobacillus casei* strains with acid-bile resistance and antigenotoxic properties. **International Journal of Food Microbiology**, v. 125, p. 330-335, 2008.

FREI, H.; WÜRGLER, F. E. Statistical methods to decide whether mutagenicity test data from *Drosophila* assays indicate positive, negative or inconclusive result. **Mutation Research**, v. 203, p. 297-308, 1988.

GEIER, M. S.; BUTLER, R. N.; HOWARTH, G. S. Probiotics, prebiotics and synbiotics: A role in chemoprevention of colorectal cancer? **Cancer Biology & Therapy**, v. 5, p. 1265-1269, 2006.

HSIEH, M. L.; CHOU, C.C. Mutagenicity and antimutagenic effect of soymilk fermented with lactic acid bacteria and bifidobacteria. **International Journal of Food Microbiology**, v. 111, p. 43-47, 2006.

KIM, K. M., et al. Evaluation of genotoxicity of *Bacillus mojavensis* KJS-3 on culture supernatant for use as a probiotic. **Molecular & Cellular Toxicology**, v. 8, p. 77-81, 2012.

POOL-ZOBEL, B. et al. Antigenotoxic properties of lactic acid bacteria in vivo in the GI tract of rats. **Nutrition and Cancer**, v. 20, p. 271-281, 1993.

POOL-ZOBEL, B. L. et al. Lactobacillus and Bifidobacterium mediated antigenotoxicity in the colon of rats. **Nutritiun and Cancer**, v. 26, p. 365-380, 1996.

RAIPULIS, J.; TOMA, M. M.; SEMJONOV, P. The effect of probiotics on the genotoxicity of furazolidone. **International Journal of Food Microbiology**, v. 102, p. 343-347, 2005.

SANDERS, M. E. et al. An update on the use and investigation of probiotics in health and disease. **Gut**, v. 62, p. 787-796, 2013.

SUSKOVIC, J. et al. Antimicrobial activity – The most important property of probiotic and starter lactic acid bacteria. **Food Technology and Biotechnology**, v.48, p. 296- 307, 2010.

VILLARINI, M. et al. Modulatory activity of a *Lactobacillus casei* strain on 1,2-dimethylhydrazine induced genotoxicity in rats. **Environmental and Molecular Mutagenesis**, v. 49, p. 192-199, 2008.