

INCORPORAÇÃO DE *Lacticaseibacillus paracasei* PROBIÓTICO EM SHAMPOO PARA PEQUENOS ANIMAIS

Eduarda Adiers Agustini¹
Amanda Souza da Motta²

RESUMO

Probióticos são microrganismos vivos que apresentam potencial para prevenção e tratamento de doenças dermatológicas. Em medicina veterinária, sua administração de forma tópica ainda precisa ser explorada. O objetivo deste trabalho foi avaliar a incorporação do isolado probiótico *Lacticaseibacillus paracasei* M1A3 em uma matriz shampoo para tratamento em pequenos animais. Para tal, analisou-se a atividade antimicrobiana frente a microrganismos de interesse veterinário, formação de biofilme, suscetibilidade a antimicrobianos e produção de exopolissacarídeos. A manutenção da viabilidade de *L. paracasei* M1A3 foi avaliada por 28 dias pelo grupo controle (G1) e grupo matriz shampoo (G2). A bactéria probiótica apresentou atividade antimicrobiana contra *Candida albicans* ATCC 90022, *Corynebacterium fimi* NCTC 7547, *Corynebacterium* sp. SA1-2, *Listeria monocytogenes* 17D78/03 e *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, com halos entre 11,7 e 23 mm. Também apresentou forte formação de biofilme, suscetibilidade a quase todos antimicrobianos testados e produção de exopolissacarídeos. As contagens de G1 e G2 foram de, respectivamente, $2,45 \times 10^7$ UFC/mL e $2,02 \times 10^7$ UFC/mL no momento da incorporação, $1,35 \times 10^8$ UFC/mL e $1,75 \times 10^6$ UFC/mL aos 7 dias, $4,06 \times 10^8$ UFC/mL e $1,30 \times 10^5$ UFC/mL aos 14 dias, $1,69 \times 10^7$ UFC/mL e $5,34 \times 10^4$ UFC/mL aos 21 dias e $8,60 \times 10^5$ UFC/mL e $6,97 \times 10^3$ UFC/mL aos 28 dias, respectivamente. Conclui-se que o isolado apresentou potencial para aplicação em um shampoo probiótico terapêutico para pequenos animais, com estabilidade por aproximadamente 21 dias no grupo controle. Contudo, outros estudos devem ser ampliados para prospectar outras formas de incorporação, como, por exemplo, a microencapsulação do isolado probiótico.

Palavras-chave: bioatividade, *Lacticaseibacillus*, pets, shampoo funcional.

INCORPORATION OF PROBIOTIC *Lacticaseibacillus paracasei* INTO SHAMPOO FOR SMALL ANIMALS

ABSTRACT

Probiotics are live microorganisms that have the potential for the prevention and treatment of dermatological diseases. In veterinary medicine, their topical administration still needs to be explored. The objective of this study was to evaluate the incorporation of the probiotic isolate *Lacticaseibacillus paracasei* M1A3 into a shampoo matrix for treatment in small animals. To this end, antimicrobial activity against microorganisms of veterinary interest, biofilm formation, susceptibility to antimicrobials, and exopolysaccharide production were analyzed. The viability of *L. paracasei* M1A3 was assessed for 28 days through the control group (G1) and the shampoo matrix group (G2). The probiotic bacterium demonstrated antimicrobial activity against *Candida albicans* ATCC 90022, *Corynebacterium fimi* NCTC 7547, *Corynebacterium* sp. SA1-2, *Listeria monocytogenes* 17D78/03, and *Listeria monocytogenes*

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul. eduarda.agustini@gmail.com

² Institute of Health Science, Microbiology, Immunology and Parasitology Department, 2600 Ramiro Barcelos Street, 90035-003, Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil. *Correspondência. amanda.motta@ufrgs.br

ATCC 7644, with inhibition halos ranging from 11.7 to 23 mm. It also exhibited strong biofilm formation, susceptibility to almost all tested antimicrobials and exopolysaccharide production. The bacterial counts for G1 and G2 were, respectively, 2.45×10^7 CFU/mL and 2.02×10^7 CFU/mL at the time of incorporation, 1.35×10^8 CFU/mL and 1.75×10^6 CFU/mL at 7 days, 4.06×10^8 CFU/mL and 1.30×10^5 CFU/mL at 14 days, 1.69×10^7 CFU/mL and 5.34×10^4 CFU/mL at 21 days, and 8.60×10^5 CFU/mL and 6.97×10^3 CFU/mL at 28 days. In conclusion, the isolate showed potential for application in a therapeutic probiotic shampoo for small animals, with stability for approximately 21 days in the control group. However, further studies should be expanded to explore other incorporation methods, such as microencapsulation of the probiotic isolate.

Keywords: bioactivity, *Lacticaseibacillus*, pets, functional shampoo.

INCORPORACIÓN DEL PROBIÓTICO *Lacticaseibacillus paracasei* EN CHAMPÚ PARA PEQUEÑOS ANIMALES

RESUMEN

Los probióticos son microorganismos vivos que tienen el potencial para la prevención y tratamiento de enfermedades dermatológicas. En medicina veterinaria, su administración de forma tópica aún necesita ser explorada. El objetivo de este trabajo fue evaluar la incorporación del aislado probiótico *Lacticaseibacillus paracasei* M1A3 en una matriz de champú para tratamiento en pequeños animales. Para ello, se analizó la actividad antimicrobiana frente a microorganismos de interés veterinario, la formación de biofilm, la susceptibilidad a antimicrobianos y la producción de exopolisacáridos. La viabilidad de *L. paracasei* M1A3 fue evaluada durante 28 días a través del grupo control (G1) y el grupo matriz de champú (G2). La bacteria probiótica mostró actividad antimicrobiana contra *Candida albicans* ATCC 90022, *Corynebacterium fimi* NCTC 7547, *Corynebacterium* sp. SA1-2, *Listeria monocytogenes* 17D78/03 y *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, con halos de inhibición entre 11,7 y 23 mm. También presentó una fuerte formación de biofilm, susceptibilidad a casi todos los antimicrobianos probados y producción de exopolisacáridos. Los recuentos de G1 y G2 fueron de, respectivamente, $2,45 \times 10^7$ UFC/mL y $2,02 \times 10^7$ UFC/mL en el momento de la incorporación, $1,35 \times 10^8$ UFC/mL y $1,75 \times 10^6$ UFC/mL a los 7 días, $4,06 \times 10^8$ UFC/mL y $1,30 \times 10^5$ UFC/mL a los 14 días, $1,69 \times 10^7$ UFC/mL y $5,34 \times 10^4$ UFC/mL a los 21 días y $8,60 \times 10^5$ UFC/mL y $6,97 \times 10^3$ UFC/mL a los 28 días, respectivamente. Se concluye que el aislado mostró potencial para su aplicación en un champú probiótico terapéutico para pequeños animales, con estabilidad durante aproximadamente 21 días en el grupo de control. Sin embargo, se deben ampliar otros estudios para prospectar otras formas de incorporación, como por ejemplo, la microencapsulación del aislado probiótico.

Palabras clave: bioactividad, *Lacticaseibacillus*, mascotas, champú funcional.

INTRODUÇÃO

Probióticos são microrganismos vivos que conferem benefícios à saúde do hospedeiro quando administrados em quantidades adequadas (1). Eles podem ser utilizados em cães e gatos para diversos propósitos, podendo promover a modulação da resposta imune, proteção contra infecções por enteropatogênicos e controle de doenças alérgicas, por exemplo (2).

Os probióticos apresentam grande potencial na prevenção e tratamento de doenças dermatológicas. Já é conhecida a ligação entre a disfunção da microbiota intestinal e as doenças

inflamatórias da pele. Sendo assim, os probióticos orais apresentam bom potencial para prevenção e tratamento dessas condições (3). Ainda, sua aplicação de forma tópica pode ser capaz de promover a melhora da barreira cutânea, a redução da inflamação e a regulação da microbiota da pele, evitando a multiplicação de bactérias patogênicas, enquanto contribui para a multiplicação de bactérias benéficas (4).

Em medicina veterinária, as afecções dermatológicas estão cada vez mais frequentes na clínica de pequenos animais, sendo a dermatite atópica uma das condições mais comuns envolvendo inflamação e disbiose cutânea (5). Para tal, os estudos com probióticos relacionados a essa patologia se restringem ao seu uso de forma oral (6). Por outro lado, na medicina humana já há produtos probióticos tópicos capazes de promover a melhora do quadro clínico (7).

Lacticaseibacillus paracasei é uma bactéria probiótica já utilizada em estudos com cães com dermatoses pruriginosas. A administração oral de *L. paracasei* M-1 associado ao prebiótico kestose foi capaz de reduzir as lesões e o prurido, além de reduzir o uso de prednisona durante o tratamento (8). Resultados semelhantes também foram encontrados pela administração oral de *L. paracasei* K71 (9). Shampoo com finalidade terapêutica são frequentemente utilizados no tratamento de afecções pruriginosas em pequenos animais (10). Assim, diante desse cenário, objetivou-se avaliar as propriedades e a incorporação do isolado probiótico *Lacticaseibacillus paracasei* M1A3 em uma matriz shampoo, com vistas no tratamento dermatológico em pequenos animais.

MATERIAL E MÉTODOS

Microrganismo e condições de cultivo

O trabalho foi desenvolvido com a bactéria láctica probiótica *Lacticaseibacillus paracasei* M1A3, isolada do leite de búfala. O isolado foi reativado em caldo *Mann, Rogosa and Sharpe* (MRS) a 37 °C por 48 h e posteriormente semeado em ágar MRS e incubado a 37 °C por 48 h.

Atividade antimicrobiana de Lacticaseibacillus paracasei M1A3

Para determinação da atividade antimicrobiana de *L. paracasei* M1A3, o isolado foi incubado em caldo MRS a 37 °C por 24 h e 48 h. Placas de ágar *Mueller Hinton* foram semeadas por espalhamento com “swab”, utilizando uma suspensão padronizada em 10⁶ UFC/mL para cada microrganismo indicador testado. Alíquotas de 10 µL de cada inóculo (24 h e 48 h) da bactéria probiótica foram acrescidas nas placas de ágar *Mueller Hinton*, que foram incubadas a 37 °C por 24 h. O resultado positivo foi determinado pela formação de halos, sendo classificado em baixa atividade antimicrobiana (< 2 mm), média atividade (2 - 5 mm) e alta atividade (> 5 mm) (11). Foram utilizados os microrganismos indicadores: *Candida albicans* ATCC 90022, *Corynebacterium fimi* NCTC 7547, *Escherichia coli* ATCC 10536, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Salmonella Enteritidis* ATCC 13076, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984. Bactérias patogênicas isoladas do ambiente do Hospital de Clínicas Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (HCV-UFRGS) também foram empregados: *Acinetobacter* sp. SA1-4, *Candida guilliermondii* canga-1, *Corynebacterium* sp. SA1-2, *Citrobacter freundii* F30, *Enterobacter aerogenes* B01, *Leclercia adecarboxylata* GATSA1-2, *Listeria innocua* C08, *Listeria monocytogenes* 17D78/03, *Micrococcus luteus* RXM-2, *Staphylococcus aureus* SA2M-3, *Staphylococcus epidermidis* SA2M-4, *Staphylococcus haemolyticus* SA1M-1, *Staphylococcus* sp. CAN-3, *Staphylococcus* sp. RX-2 e *Staphylococcus* sp. SA1-1 (12).

Avaliação do potencial de formação de biofilme

Para avaliação do potencial de formação de biofilme de *L. paracasei* M1A3, utilizou-se o método da microplaca adaptado de Stepanovic, Cirkovic e Svabix-Vlahovic (13). A bactéria láctica foi ressuspensa em NaCl 0,85% até escala de McFarland de 0,5 (10^8 UFC/mL) e inoculou-se 20 µL nos poços da microplaca contendo 180 µL de MRS. Para controle negativo, foi utilizado *Trypticase Soy Broth* (TSB). Já para controle positivo, foi utilizado o isolado *S. epidermidis* ATCC 35984, descrito como forte formador de biofilme (14), padronizado e inoculado em poços contendo TSB. A microplaca foi incubada a 37 °C por 72 h e os poços com crescimento foram lavados com 200 µL de NaCl 0,85%. Adicionou-se 200 µL de metanol P.A. por 20 min e a microplaca foi mantida invertida *overnight* em temperatura ambiente. Os poços foram corados com 200 µL de cristal violeta 0,1% por 15 min e lavados com água destilada estéril. Então foram ressuspensos com 200 µL de etanol 95% e mantidos em repouso por 30 min. As densidades ópticas dos biofilmes formados pelo probiótico (DO), assim como pelo controle negativo (DOc) e pelo controle positivo, foram quantificadas por leitor de ELISA com comprimento de onda de 600 nm. A classificação foi determinada como não formadoras de biofilme ($DO \leq DO_c$), fracas formadoras de biofilme ($DO_c \leq DO \leq 2 \times DO_c$), moderadas formadoras de biofilme ($2 \times DO_c < DO \leq 4 \times DO_c$) e fortes formadores de biofilme ($4 \times DO_c < DO$), sendo DOc a média de densidade óptica do controle negativo (15).

Avaliação da susceptibilidade a antimicrobianos

A susceptibilidade a antimicrobianos de *L. paracasei* M1A3 foi avaliada, pelo método de disco difusão (16) frente a ampicilina (10 µg), ciprofloxacino (5 µg), clindamicina (2 µg), cloranfenicol (30 µg), gentamicina (10 µg), penicilina (10 U), tetraciclina (30 µg) e vancomicina (30 µg). A cultura foi ressuspensa em NaCl 0,85% até escala de McFarland de 0,5 (10^8 UFC/mL) e posteriormente semeada por espalhamento em placa de ágar *Mueller Hinton*. Os discos foram dispostos sobre a superfície e a placa foi incubada a 37 °C por 24 h. O resultado foi determinado pela mensuração dos halos (mm) e a classificação em resistente ou sensível foi baseada em Charteris et al. (17).

Avaliação da produção de exopolissacarídeos (EPS)

A capacidade de produção de EPS de *L. paracasei* M1A3 foi avaliada pela semeadura por esgotamento em placa contendo o meio Vermelho Congo. Esta foi incubada a 37 °C por 48 h e o resultado positivo foi determinado com base na formação de colônias escuras (18). A cultura de *S. aureus* ATCC 25923 foi utilizada como controle positivo.

Aplicação e viabilidade de *Lacticaseibacillus paracasei* M1A3 na matriz shampoo

O isolado *L. paracasei* M1A3 foi cultivado em caldo MRS a 37 °C por 48 h. A partir deste, fez-se um inóculo a 2% em caldo MRS, incubado a 37 °C por 72 h. O inóculo foi transferido para tubos falcon e estes foram centrifugados a 6000 rpm por 15 min. Os sobrenadantes foram descartados e os pellets foram lavados com NaCl 0,9%. Foi adicionado em cada falcon 15 mL de solução estabilizadora e os mesmos foram congelados e liofilizados. Para posterior aplicação, os liofilizados da cultura probiótica foram ressuspensos em 10 mL de caldo MRS e ativados a 37 °C por 1 h.

A viabilidade de *L. paracasei* M1A3 na matriz shampoo foi avaliada por meio de dois grupos: controle (G1) e matriz shampoo (G2). Para G1, pesou-se 10 g de caldo MRS preparado e adicionou-se a cultura probiótica ressuspensa. Enquanto para G2, pesou-se 10 g de matriz

shampoo e a cultura probiótica ressuspensa foi acrescida. Ambos foram mantidos em temperatura ambiente. Foram realizadas microdiluições seriadas (10^{-1} à 10^{-6}) com alíquotas de 100 µL. Para cada diluição, foram inoculados 20 µL em placas de *Plate Count Agar* (PCA), incubadas a 37 °C por 48 h (19). Contagens das células viáveis (expressas em UFC/mL) foram realizadas no momento da incorporação e nos tempos 7, 14, 21 e 28 dias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Atividade antimicrobiana de Lacticaseibacillus paracasei M1A3

Na avaliação da atividade antimicrobiana, *L. paracasei* M1A3 demonstrou efeito antimicrobiano contra *Candida albicans* ATCC 90022, *Corynebacterium fimi* NCTC 7547, *Corynebacterium* sp. SA1-2, *Listeria monocytogenes* 17D78/03 e *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, com halos entre 11,7 mm e 23 mm. Entretanto, tal capacidade não foi observada para nenhum dos outros isolados patogênicos, não havendo formação de halos de inibição, conforme apresentado na Tabela 1.

A atividade antimicrobiana do isolado probiótico contra *L. monocytogenes* corrobora com outros trabalhos, como os de Reuben et al. (20), Falfán-cortés et al. (21) e Shahverdi et al. (22). Porém, em todos esses estudos houve também formação de halos de inibição contra *S. aureus* e *E. coli*, o que difere do resultado encontrado. No estudo de Ribeiro et al. (23), *L. paracasei* 28.4 apresentou capacidade antifúngica contra *C. albicans*, semelhante a *L. paracasei* M1A3.

Tabela 1. Atividade antimicrobiana de *Lacticaseibacillus paracasei* M1A3, cultivado por 24 h e 48 h, contra isolados indicadores e isolados do HCV-UFRGS.

Isolado	Origem	Halo de inibição (mm)	
		Cultivo 24 h	Cultivo 48 h
<i>Acinetobacter</i> sp. SA1-4	HCV-UFRGS	0	0
<i>Candida albicans</i> ATCC 90022	ATCC	0	12,7
<i>Candida guilliermondii</i> canga-1	HCV-UFRGS	0	0
<i>Citrobacter freundii</i> F30	HCV-UFRGS	0	0
<i>Corynebacterium fimi</i> NCTC 7547	NCTC	23	0
<i>Corynebacterium</i> sp. SA1-2	HCV-UFRGS	11,7	14,7
<i>Enterobacter aerogenes</i> B01	HCV-UFRGS	0	0
<i>Escherichia coli</i> ATCC 10536	ATCC	0	0
<i>Leclercia adecarboxylata</i> GATSA1-2	HCV-UFRGS	0	0
<i>Listeria innocua</i> C08	HCV-UFRGS	0	0
<i>Listeria monocytogenes</i> 17D78/03	HCV-UFRGS	13,7	11,3
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 7644	ATCC	0	13,3
<i>Micrococcus luteus</i> RXM-2	HCV-UFRGS	0	0
<i>Salmonella Enteritidis</i> ATCC 13076	ATCC	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	ATCC	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i> SA2M-3	HCV-UFRGS	0	0
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 35984	ATCC	0	0
<i>Staphylococcus epidermidis</i> SA2M-4	HCV-UFRGS	0	0
<i>Staphylococcus haemolyticus</i> SA1M-1	HCV-UFRGS	0	0
<i>Staphylococcus</i> sp. CAN-3	HCV-UFRGS	0	0
<i>Staphylococcus</i> sp. RX-2	HCV-UFRGS	0	0
<i>Staphylococcus</i> sp. SA1-1	HCV-UFRGS	0	0

Avaliação do potencial de formação de biofilme

Com base nos critérios já descritos, *L. paracasei* M1A3 foi considerado como forte formador de biofilme (DO: 1,13; DOc: 0,13). Tal capacidade poderia auxiliar em casos de disbiose cutânea, evitando a formação de biofilme por bactérias patogênicas (24). Esse potencial já foi relatado em outros estudos, como no de Balyan et al. (25), em que seis isolados de *L. paracasei* foram avaliados quanto à formação de biofilme e todos foram classificados como fortes formadores. Resultado semelhante também foi encontrado por Shahverdi et al. (22) para o isolado de *L. paracasei* empregado em seu estudo.

Avaliação da susceptibilidade a antimicrobianos

O isolado *L. paracasei* M1A3 foi suscetível a ampicilina, ciprofloxacino, clindamicina, cloranfenicol, gentamicina, penicilina e tetraciclina, sendo resistente apenas à vancomicina. A resistência à vancomicina já é conhecida aos *Lactobacillus* sp. Sendo considerada intrínseca. Já em relação aos demais antibióticos, destaca-se que é possível a transmissão de genes de resistência a outras bactérias, especialmente as patogênicas, por isso essa avaliação deve também ser considerada na escolha de um probiótico (26).

Em um estudo com 11 isolados de *Lactobacillus* sp., 90% foram sensíveis à clindamicina, 95% foram sensíveis a tetraciclina, eritromicina e rifampicina e a grande maioria foi resistente à vancomicina, ciprofloxacino e aminoglicosídeos (27). No trabalho de Falfán-cortés et al. (21), *L. paracasei* T40 foi sensível a 50% dos antibióticos testados, como ampicilina, cloranfenicol, gentamicina e tetraciclina, sendo resistente a outros como ciprofloxacino.

Avaliação da produção de exopolissacarídeos (EPS)

A cultura de *L. paracasei* M1A3 foi positiva para a produção de EPS, já que foram observadas colônias escuras no ágar Vermelho Congo. Esse resultado corrobora com Kiray e Raheel (28) e M'hamed et al. (29), em que os isolados *L. paracasei* L1 e *L. paracasei* L2, respectivamente, demonstraram-se também positivos para a produção de EPS. Tal produção está associada ao oferecimento de várias funções vantajosas, como efeitos antioxidantes, anticancerígenos e imunomoduladores, capacidade de adesão e formação de biofilme (28).

Viabilidade de *Lacticaseibacillus paracasei* M1A3 na matriz shampoo

O probiótico *L. paracasei* M1A3 demonstrou estabilidade no grupo controle (G1) até o dia 21, mantendo valores médios de contagem celular acima de 10^7 UFC/mL. Entretanto, no grupo matriz shampoo (G2) o isolado apresentou redução na sua viabilidade celular. O valor médio do dia 0 foi satisfatório, estando acima de 10^7 UFC/mL, porém os valores mantiveram-se decaindo nos dias subsequentes avaliados, como apresentado na Tabela 2. Desse modo, os estudos devem ser ampliados para que se obtenha uma formulação que permita a estabilidade de *L. paracasei* M1A3 em uma matriz voltada para terapêutica de doenças de pele em animais de companhia.

Deve-se também avaliar qual a concentração necessária do isolado probiótico para que se obtenha um resultado satisfatório com a utilização do shampoo. Arshad et al. (30) reuniu uma série de estudos relacionados à utilização de culturas probióticas em forma de hidrogel de uso tópico para auxiliar na cicatrização de feridas causadas por queimaduras. Resultados efetivos com *Lactiplantibacillus plantarum* foram obtidos utilizando-se a concentração de 10^8 UFC/mL (31). Para *Lactobacillus rhamnosus*, resultados satisfatórios foram alcançados com a

concentração de 10^7 UFC/mL (32). Já para *L. paracasei* TYM202, foi necessária a concentração de 10^6 UFC/mL (33).

Tabela 2. Viabilidade celular de *Lacticaseibacillus paracasei* M1A3 no grupo controle (G1) e no grupo matriz shampoo (G2) por 28 dias.

Grupo	Tempo (dias)	Valores médios (UFC/mL)
G1	0	$2,45 \times 10^7$
	7	$1,35 \times 10^8$
	14	$4,06 \times 10^8$
	21	$1,69 \times 10^7$
	28	$8,60 \times 10^5$
G2	0	$2,02 \times 10^7$
	7	$1,75 \times 10^6$
	14	$1,30 \times 10^5$
	21	$5,34 \times 10^4$
	28	$6,97 \times 10^3$

CONCLUSÃO

No presente trabalho, *Lacticaseibacillus paracasei* M1A3 demonstrou atividade antimicrobiana contra *Candida albicans* ATCC 90022, *Corynebacterium fimi* NCTC 7547, *Corynebacterium* sp. SA1-2, *Listeria monocytogenes* 17D78/03 e *Listeria monocytogenes* ATCC 7644. O mesmo foi considerado como forte formador de biofilme e foi positivo para a produção de EPS. Além disso, apresentou um perfil de suscetibilidade a antimicrobianos desejado, sendo suscetível a todos aqueles testados. Em relação a viabilidade da cultura probiótica na matriz shampoo, não houve estabilidade e as concentrações decaíram a cada dia avaliado, apesar de se manter estável no grupo controle por aproximadamente 21 dias.

Sendo assim, considera-se que o isolado possui interessantes propriedades probióticas e apresenta potencial para ser utilizado em um shampoo probiótico para tratamento de afecções dermatológicas em pequenos animais. Deve-se ampliar os estudos a respeito da sua viabilidade na matriz utilizada, além de determinar outras formas de incorporação, como a microencapsulação deste isolado. Por fim, destaca-se a importância deste tipo de pesquisa no sentido de estimular o estudo do desenvolvimento de produtos probióticos tópicos com vistas à aplicação na medicina veterinária.

REFERÊNCIAS

1. Food and Agricultural Organization of the United Nations, World Health Organization. Working group report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. London: FAO/WHO; 2002.
2. Grześkowiak Ł, Endo A, Beasley S, Salminen S. Microbiota and probiotics in canine and feline welfare. *Anaerobe*. 2015;34:14-23. doi: 10.1016/j.anaerobe.2015.04.002.
3. Habeebuddin M, Karnati RK, Shiroorkar PN, Nagaraja S, Asdaq SMB, Khalid Anwer Md, et al. Topical probiotics: more than a skin deep. *Pharmaceutics*. 2022;14(3):557. doi: 10.3390/pharmaceutics14030557.
4. Dou J, Feng N, Guo F, Chen Z, Liu J, Wang T, et al. Applications of probiotic constituents in cosmetics. *Molecules*. 2023;28(19):6765-5. doi: 10.3390/molecules28196765.

5. Drechsler Y, Dong C, Clark DE, Kaur G. Canine atopic dermatitis: prevalence, impact, and management strategies. *Vet Med (Auckl)*. 2024;15:15-29. doi: 10.2147/VMRR.S412570.
6. Gedon NKY, Mueller RS. Atopic dermatitis in cats and dogs: a difficult disease for animals and owners. *Clin Transl Allergy*. 2018;8:41. doi: 10.1186/s13601-018-0228-5.
7. Gelmetti C, Rigoni C, Cantù A, Agolzer A, Agrusa A, Brenna M, et al. Topical prebiotics/postbiotics and PRURISCORE validation in atopic dermatitis. International study of 396 patients. *J Dermatolog Treat*. 2022;34(1):2131703. doi: 10.1080/09546634.2022.2131703.
8. Kawano K, Iyori K, Kondo N, Yamakawa S, Fujii T, Funasaka K, et al. Clinical effects of combined *Lactobacillus paracasei* and kestose on canine atopic dermatitis. *Pol J Vet Sci*. 2023;26(1):131-6. doi: 10.24425/pjvs.2023.145014.
9. Ohshima-Terada Y, Higuchi Y, Kumagai T, Hagiwara A, Nagata M. Complementary effect of oral administration of *Lactobacillus paracasei* K71 on canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol*. 2015;26(5):350-e75. doi: 10.1111/vde.12224.
10. Schilling J, Mueller RS. Double-blinded, placebo-controlled study to evaluate an antipruritic shampoo for dogs with allergic pruritus. *Vet Rec*. 2012;171(4):97. doi: 10.1136/vr.100635.
11. Purutoğlu K, İspirli H, Yüzer MO, Serencam H, Dertli E. Diversity and functional characteristics of lactic acid bacteria from traditional kefir grains. *Int J Dairy Technol*. 2019;73(1):57-66. doi: 10.1111/1471-0307.12633.
12. Giacon MM, Siqueira FM, Motta AS. Microbial Contamination and Antimicrobial Resistance Profiles Indicate Potential Risks of Infection at the Veterinary Medical Teaching Hospital - UFRGS, Porto Alegre, Brazil. *Acta Sci Vet*. 2021;49. doi: 10.22456/1679-9216.108992.
13. Stepanovic S, Cirkovic I, Ranin L, Svabic-Vlahovic M. Biofilm formation by *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* on plastic surface. *Lett Appl Microbiol*. 2004;38(5):428-32. doi: 10.1111/j.1472-765X.2004.01513.x.
14. Schmidt K, Estes C, McLaren A, Spangehl MJ. Chlorhexidine Antiseptic Irrigation Eradicates *Staphylococcus epidermidis* From Biofilm: An In Vitro Study. *Clin Orthop Relat Res*. 2018;476(3):648-53. doi: 10.1007/s11999-0000000000000052.
15. Masebe RD, Thantsha MS. Anti-Biofilm Activity of Cell Free Supernatants of Selected Lactic Acid Bacteria against *Listeria monocytogenes* Isolated from Avocado and Cucumber Fruits, and from an Avocado Processing Plant. *Foods*. 2022;11(18):2872. doi: 10.3390/foods11182872.
16. Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol*. 1966;45(4):493-6. doi: 10.1093/ajcp/45.4_ts.493.

17. Charteris WP, Kelly PM, Morelli L, Collins JK. Antibiotic susceptibility of potentially probiotic lactobacillus species. *J Food Prot.* 1998;61(12):1636-43. doi: 10.4315/0362-028x-61.12.1636.
18. Freeman DJ, Falkiner FR, Keane CT. New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. *J Clin Pathol.* 1989;42(8):872-4. doi: 10.1136/jcp.42.8.872.
19. Miles AA, Misra SS, Irwin JO. The estimation of the bactericidal power of the blood. *J Hyg (Lond).* 1938;38(6):732-49. doi: 10.1017/s002217240001158x.
20. Reuben RC, Roy PC, Sarkar SL, Rubayet Ul Alam ASM, Jahid IK. Characterization and evaluation of lactic acid bacteria from indigenous raw milk for potential probiotic properties. *J Dairy Sci.* 2019;103(2):1223-37. doi: 10.3168/jds.2019-17092.
21. Falfán-Cortés RN, Mora-Peñaflor N, Gómez-Aldapa CA, Rangel-Vargas E, Acevedo-Sandoval OA, Franco-Fernández MJ, et al. Characterization and Evaluation of the Probiotic Potential In Vitro and In Situ of *Lacticaseibacillus paracasei* Isolated from Tenate Cheese. *J Food Prot.* 2022;85(1):112-21. doi: 10.4315/JFP-21-021.
22. Shahverdi S, Barzegari AA, Bakhshayesh RV, Nami Y. In-vitro and in-vivo antibacterial activity of potential probiotic *Lactobacillus paracasei* against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Heliyon.* 2023;9(4):e14641. doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e14641.
23. Ribeiro FC, Junqueira JC, Santos JD, Barros PP, Rossoni RD, Shukla S, et al. Development of Probiotic Formulations for Oral Candidiasis Prevention: Gellan Gum as a Carrier To Deliver *Lactobacillus paracasei* 28.4. *Antimicrob Agents Chemother.* 2020;64(6):e02323-19. doi: 10.1128/AAC.02323-19.
24. Di Domenico EG, Cavallo I, Capitanio B, Ascenzioni F, Pimpinelli F, Morrone A, et al. *Staphylococcus aureus* and the Cutaneous Microbiota Biofilms in the Pathogenesis of Atopic Dermatitis. *Microorganisms.* 2019;7(9):301. doi: 10.3390/microorganisms7090301.
25. Baliyan N, Dindhoria K, Kumar A, Thakur A, Kumar R. Comprehensive Substrate-Based Exploration of Probiotics From Undistilled Traditional Fermented Alcoholic Beverage “Lugri”. *Front Microbiol.* 2021;12:626964. doi: 10.3389/fmicb.2021.626964.
26. Gueimonde M, Sánchez B, De Los Reyes-Gavilán CG, Margolles A. Antibiotic resistance in probiotic bacteria. *Front Microbiol.* 2013;4:202. doi: 10.3389/fmicb.2013.00202.
27. Anisimova EA, Yarullina DR. Antibiotic Resistance of LACTOBACILLUS Strains. *Curr Microbiol.* 2019;76(12):1407-16. doi: 10.1007/s00284-019-01769-7.
28. Kıray E, Raheel NM. A New Approach to Exopolysaccharides of Post Probiotic *Lactobacillus paracasei* L1 Strain: Anti-quorum Sensing Activity. *Balkan Med J.* 2023;40(5):351-7. doi: 10.4274/balkanmedj.galenos.2023.2023-1-96.

29. M'hamed AC, Ncib K, Merghni A, Migaou M, Lazreg H, Snoussi M, et al. Characterization of Probiotic Properties of *Lacticaseibacillus paracasei* L2 Isolated from a Traditional Fermented Food “Lben.” Life. 2022;13(1):21. doi: 10.3390/life13010021.
30. Arshad T, Mundrathi V, Perez VE, Nunez JM, Cho H. Topical Probiotic Hydrogels for Burn Wound Healing. Gels. 2024;10(9):545. doi: 10.3390/gels10090545.
31. Tao S, Zhang S, Wei K, Maniura-Weber K, Li Z, Ren Q. An Injectable Living Hydrogel with Embedded Probiotics as a Novel Strategy for Combating Multifaceted Pathogen Wound Infections. Adv Healthc Mater. 2024;13(27):e2400921. doi: 10.1002/adhm.202400921.
32. Mei L, Zhang D, Shao H, Hao Y, Zhang T, Zheng W, et al. Injectable and Self-Healing Probiotics-Loaded Hydrogel for Promoting Superbacteria-Infected Wound Healing. ACS Appl Mater Interfaces. 2022;14(18):20538-50. doi: 10.1021/acsami.1c23713.
33. Xu H, Li Y, Song J, Zhou L, Wu K, Lu X, et al. Highly active probiotic hydrogels matrixed on bacterial EPS accelerate wound healing via maintaining stable skin microbiota and reducing inflammation. Bioact Mater. 2024;35:31-44. doi: 10.1016/j.bioactmat.2024.01.011.

Recebido em: 13/03/2025

Aceito em: 26/03/2025