

Artículo recibido 22 de agosto de 2023

Publicado 25 de septiembre de 2023

Suplementos dietarios con impacto en nutrición y sanidad para la industria avícolaApella, María C.¹, Babot, Jaime D.¹, Argañaraz Martínez, Fernando E.², Perez Chaia, Adriana B.^{1,2}¹Centro de Referencia para Lactobacilos (CERELA-CCT CONICET NOA Sur), Batalla de Chacabuco 145, T4000ILC-San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina; ²Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia-UNT, Batalla de Ayacucho 449, T4000INJ-San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina.

mapella@cerela.org.ar, jbabot@cerela.org.ar, eloy.arganarazmartinez@fbqf.unt.edu.ar, apchaia@cerela.org.ar

ORCID María Cristina Apella 0000-0002-9148-5773

ORCID Jaime Daniel Babot 0000-0001-9821-977X

ORCID Eloy Argañaraz Martínez 0000-0003-3546-9696

ORCID Adriana Perez Chaia 0000-0003-0281-0923

Resumen

La industria avícola proporciona una fracción significativa de componentes a la dieta humana. Durante décadas, se han utilizado dosis subterapéuticas de antibióticos para controlar el desarrollo microbiano intestinal, prevenir enfermedades infecciosas, y lograr el rápido crecimiento de los animales. En vista de que su uso está prohibido en

muchos países, incluyendo a Argentina, se han buscado distintas alternativas. Esto impulsó el desarrollo de suplementos probióticos multifuncionales, prebióticos y su combinación (sinbióticos). Nuestro grupo de investigación ha aislado numerosas cepas de bacterias lácticas y microorganismos relacionados, las cuales fueron estudiadas exhaustivamente *in vitro* e *in vivo* en bioterio o a campo. Las numerosas propiedades benéficas de estas cepas indican alta probabilidad de éxito en su aplicación a escala de producción. Nuestro grupo también ha avanzado en el estudio de suplementos prebióticos y sinbióticos con resultados prometedores en ensayos a campo. Por otro lado, en nuestro laboratorio se está analizando la microencapsulación de cepas probióticas para garantizar su supervivencia y así aumentar su efectividad. Además, algunas de las actividades beneficiosas para el hospedador no requieren que los microorganismos se encuentren viables (posbióticos), lo que abre nuevas posibilidades de suplementos dietarios para la industria avícola en nuestro país.

Palabras Claves: probióticos, prebióticos, sinbióticos, nutrición, sanidad, aves

Abstract

Dietary supplements with an impact on nutrition and health for the poultry industry

The poultry industry provides a significant fraction of components to the human diet. For decades, subtherapeutic doses of antibiotics have been used to control intestinal microbial development, prevent infectious diseases, and achieve rapid growth in animals. Given that their use is prohibited in many countries, including Argentina, alternatives to their use have been sought. This has boosted the development of multifunctional probiotic supplements, prebiotics, and their combination (synbiotics). Our research group has isolated several strains of lactic acid bacteria and related genera, which were thoroughly studied both *in vitro* and *in vivo* in biotherium or in the field. The numerous beneficial properties of these strains indicate high probability of success in their application at production scale. Our group has also studied prebiotic and synbiotic supplements with promising results in field trials. On the other hand, the microencapsulation of probiotic bacteria to guarantee their survival and thus increase

their effectivity is also being studied in our group. Moreover, some beneficial activities for the host do not require viable microorganisms (posbiotics), which opens up new possibilities for the poultry industry in our country.

Keywords: probiotics, prebiotics, synbiotics, nutrition, health, poultry

ESTADO ACTUAL DE LA INDUSTRIA AVÍCOLA

Las aves de corral proporcionan una fracción significativa de componentes a la dieta humana a través del consumo de su carne y huevos. La carne aviar es valorada como una de las más nutritivas y saludables por su riqueza en proteínas, vitaminas y nutrientes y por su bajo contenido graso, mientras que el huevo es rico en proteínas de elevada calidad nutricional y de fácil digestibilidad, y además aporta cantidades significativas de vitaminas y minerales como hierro, calcio, fósforo, zinc, entre otros. La explotación avícola, incluyendo tanto a grandes establecimientos como a pequeñas granjas familiares, utiliza menos recursos (alimento, agua, tierras), y origina menor cantidad de desechos y degradación del suelo, comparada con otros sistemas de producción de carnes. Por otra parte, produce menor cantidad de CO₂ y no genera CH₄, siendo así de bajo impacto ambiental [1].

La producción de carne aviar y huevos a nivel nacional ha incrementado en forma constante en los últimos años, y es esperable que esta tendencia continúe primordialmente por el crecimiento acelerado de la población y por su preferencia a ingerir productos de menor costo y con alto valor nutricional. Argentina mantiene un espacio importante en el mercado internacional ocupando el octavo lugar como productor y décimo como exportador, con un consumo interno estimado de 45,7 kg carne/cápita/año y 310 huevos/cápita/año [2].

Las innovaciones tecnológicas y mejoras en la eficacia productiva han convertido a la industria avícola moderna en la de mayor crecimiento de los últimos 60 años. Los logros se deben esencialmente al perfeccionamiento tecnológico basado en cuatro aspectos, representados en la Figura 1. La selección de la línea genética del ave permitió optimizar los parámetros de producción y la conformación de la carcasa,

mientras el control ambiental mejoró las condiciones de cría, fundamentalmente a través de la protección frente a predadores y otros animales que podrían ser transmisores de bacterias patógenas o virus. La implementación de estrictas normas de bioseguridad, sumado al desarrollo de vacunas, nuevos tratamientos terapéuticos y al surgimiento de empresas reproductoras que proveen al mercado de un *stock* de aves libres de los principales patógenos de transmisión vertical, mejoró el aspecto sanitario de los animales. Finalmente, el desarrollo de aditivos para dietas potenció una nutrición óptima para cada etapa de la cría animal, aumentando la eficacia productiva. Estas dimensiones son interdependientes por lo que, si cualquiera de ellas no alcanza su nivel óptimo, el rendimiento productivo puede ser desfavorable.

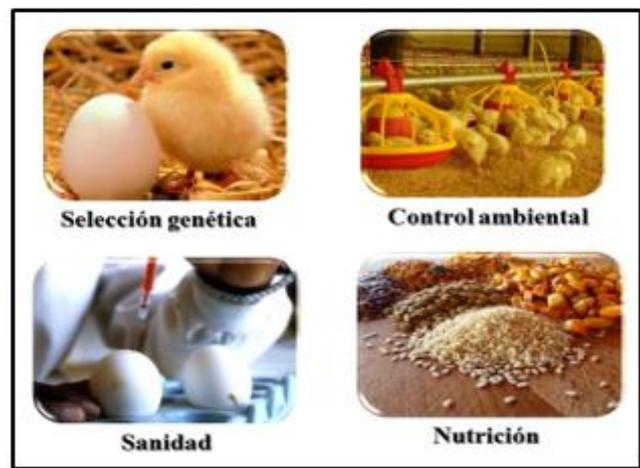


Figura 1. Factores que limitan el crecimiento y la calidad del pollo de engorde

Durante décadas los establecimientos de cría animal utilizaron antibióticos promotores de crecimiento (APC) en dosis subterapéuticas para controlar el sobrecrecimiento microbiano intestinal y favorecer el rápido desarrollo corporal de los animales de consumo humano. Sin embargo, esta práctica condujo a la selección de microorganismos portadores de genes de resistencias a antibióticos y a la propagación de resistencias en las granjas avícolas, con el consecuente riesgo de transferencia al hombre, lo que puede conducir a serios problemas de salud pública. Esta práctica está actualmente prohibida en muchos países. En Argentina, con la sanción de la Ley 27.680 de Prevención y Control de la Resistencia a los Antimicrobianos, publicada el 24 de agosto de 2022, queda establecido por su Artículo 18: "se eliminará gradualmente el uso

de antimicrobianos como promotores de crecimiento en animales para consumo humano. El SENASA, organismo descentralizado del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación, será el responsable de elaborar y mantener actualizada la lista de antimicrobianos prohibidos para este uso, definiendo los plazos para tal fin".

ESTRATEGIAS PARA LA ELIMINACIÓN DE LOS ANTIBIÓTICOS PROMOTORES DE CRECIMIENTO

Aun antes de la puesta en vigencia de la prohibición de los APC en Argentina, e igualmente a nivel global, la industria avícola incursionó en diferentes estrategias que permitieran la eliminación de los APC durante la producción animal. Gran parte de las tecnologías desarrolladas y adoptadas por las granjas de cría intensiva, se relacionan con el mayor aprovechamiento de los nutrientes por el animal. Con este objetivo, actualmente se recomienda utilizar diferentes aditivos alimentarios, como las enzimas microbianas exógenas (fitasas, proteasas, amilasas, glicosidasas, α -galactosidasa) que mejoran la digestión y aprovechamiento de los piensos y, en algunas dietas, se ensaya la sustitución parcial de algunos ingredientes dietarios por otros más fácilmente digeribles o de mayor absorción (aminoácidos, hidrolizados proteicos) y distintas formas de administración de minerales con mayor absorción intestinal. Este tipo de dietas modificadas cumple varias funciones. En parte, llevan a reducir en el intestino la cantidad de nutrientes no digeridos totalmente y minerales no absorbidos, lo que disminuye la probabilidad de sobrecrecimiento intestinal de patógenos oportunistas. Por otra parte, al disminuir el contenido de materia orgánica no digerida en las heces, se facilita la disposición de los desechos producidos durante la cría intensiva y disminuye la contaminación ambiental. Finalmente, el mayor aprovechamiento de los nutrientes por el animal lleva a mejorar la nutrición de las aves y, consecuentemente, aumenta la calidad nutricional de la carne y los huevos para consumo humano. Sin embargo, a pesar de las grandes innovaciones que aplica la industria avícola para aumentar la producción y el valor nutricional de sus productos, no ha logrado aún reemplazos totalmente satisfactorios de los APC y continúa en la búsqueda de alternativas que permitan una alta producción, sin incrementar los costos y evitar daños al ambiente.

Entre las estrategias más antiguas para limitar el desarrollo de microorganismos patógenos, podemos citar el uso de ácidos orgánicos incluidos en el

agua de bebida. La administración de acidificantes a pollos de engorde se puede utilizar para evitar la proliferación de patógenos en las horas previas al sacrificio del animal, en cambio no parece efectivo como práctica preventiva durante la crianza, ya que afecta por igual a bacterias patógenas e inoñas.

Otra estrategia disponible para el control dietario de la microbiota intestinal es la administración de prebióticos. Estos se definen actualmente como sustratos utilizados selectivamente por bacterias lácticas, bifidobacterias y algunos otros microorganismos que poseen enzimas necesarias capaces de metabolizarlos [3]. Ellos favorecen bacterias productoras de ácidos orgánicos que reducen las infecciones aviares, mejoran la densidad ósea, y la calidad del huevo. Se han atribuido propiedades prebióticas a un gran número de componentes alimenticios, principalmente oligosacáridos y polisacáridos. Hasta hace unos años, inulina, extractos de pared celular de levadura, lactulosa y galactooligosacáridos (GOS) se reconocían para aves. Sin embargo, nuestro grupo ha demostrado la función prebiótica de una mezcla de oligofructosa y melaza (sacarosa, glucosa, fructosa) como coadyuvante suministrada a gallinas ponedoras [4].

Otra de las opciones, conceptualmente optimista, ha sido el uso de microorganismos probióticos como suplementos dietarios. Ellos son microorganismos viables, identificados a nivel de género y especie, y en lo posible a nivel de cepa, que ejercen efectos benéficos en el hospedador cuando se administran en cantidad adecuada (dosis). Esta descripción simplificada genera varios interrogantes, tales como: cuál sería el género y especie que se debería utilizar, su origen, dosis sugerida, forma de administración, y los efectos benéficos que serían de mayor interés. La falta de definición en estos aspectos, ha llevado a utilizar en aves a microorganismos aislados del intestino de otros animales y de humanos, que no se adaptan adecuadamente al hospedador en el que se pretenden utilizar y, como consecuencia, no cumplen la función esperada o no son estables. El objetivo de utilizar probióticos es también muy variable y crea expectativas que no siempre se cumplen, tales como esperar una mayor eficiencia alimenticia utilizando un solo tipo de probiótico para contribuir a la digestión de dietas complejas. El momento en el que se debe iniciar la administración de probióticos o cómo influirían estos en el aprovechamiento de los alimentos, tampoco está definido, aunque las aves reciben dietas con diferente composición porcentual de nutrientes

dependiendo de la etapa de desarrollo. Por último, en cada suplemento dietario que contiene probióticos, estos deben conservar su viabilidad durante el proceso de elaboración y posterior almacenamiento, y aún deben mantenerse viables y funcionalmente activos en el hospedador para ejercer el efecto deseado. Sin tener en cuenta estas condiciones, ningún suplemento probiótico sería efectivo. En este sentido, propiedades generales, fisiológicas, funcionales y tecnológicas son los criterios sugeridos para la evaluación y selección de nuevas cepas potencialmente probióticas (Tabla 1). Asimismo, se debe valorar la eficacia del suplemento en el hospedador.

Tabla 1. Criterios de selección

Generales	Inocuidad (GRAS, <i>Generally Regarded as Safe</i> , EEUU; QPS, <i>Qualified Presumption of Safe</i> , UE) Origen preferentemente autóctono Identificación fenotípica y genotípica de género, especie, cepa Ausencia de resistencia a antibióticos adquirida y ausencia de factores de virulencia Estabilidad genética
Fisiológicos	Resistencia a las condiciones del tracto gastrointestinal (tolerancia a acidez, sales biliares, enzimas digestivas) Capacidad de crecimiento y permanencia en el ecosistema intestinal Adherencia a células epiteliales y/o mucus
Funcionales	Modulación de actividades metabólicas Actividad antimicrobiana Exclusión competitiva de patógenos Estimulación de la respuesta inmune Otras propiedades de interés
Tecnológicos	Viabilidad y estabilidad funcional bajo las condiciones del procesamiento industrial y almacenamiento
Eficacia	Efectos benéficos demostrados <i>in vivo</i>

La mayoría de los cultivos probióticos comerciales contienen lactobacilos, enterococos, bifidobacterias, algunas especies del género *Bacillus*, y levaduras, como monocultivos o cultivos mixtos, aunque en muchos casos, no existe una descripción completa de la función que cumple cada especie en la combinación ofrecida [5]. Al presente, nuestro grupo de investigación ha logrado aislar e identificar por métodos bioquímicos y de la biología molecular, a microorganismos de varios géneros a partir de

buche, intestino delgado y grueso de aves de corral de diferentes edades. Es interesante mencionar al género *Acidipropionibacterium*, particularmente a la especie *A. acidipropionici*, que se encuentra presente en gallinas en etapa productiva, pero no se aisló hasta ahora en pollos parrilleros [6]. A diferencia de las bacterias lácticas y bifidobacterias, las propionibacterias no producen ácido láctico, y en cambio lo consumen generando ácidos acético y propiónico como productos de su metabolismo. Ambos ácidos tienen capacidad para inhibir microorganismos patógenos en la luz intestinal; mientras el ácido propiónico, al igual que el ácido butírico producido por algunos géneros habitantes normales del intestino, estimula la producción de mucus intestinal al ser absorbidos en el intestino grueso.

Las propiedades de cada microorganismo aislado en nuestro laboratorio, fueron exhaustivamente investigadas mediante ensayos *in vitro*, y ensayos *in vivo* en bioterio o a campo. Entre estas propiedades, se destaca la contribución a la digestión de alimentos por acción de enzimas digestivas *in situ* como proteasas de bacterias lácticas [7] y fitasas [8], captura y depuración de lectinas dietarias citotóxicas (lectina de trigo, WGA; lectina de soja, SBA [9]), refuerzo de la barrera intestinal por adhesión a epitelio y estimulación de la producción de mucus [10], competición/desplazamiento de patógenos del epitelio intestinal, producción de compuestos con actividad antimicrobiana (bacteriocinas [11] y [12], ácidos orgánicos [13]) o antioxidante (péptidos bioactivos derivados de alimentos [7]).

Sobre la base de las propiedades de los microorganismos mencionados previamente, es posible conformar suplementos multifuncionales constituidos por varios microorganismos viables, compatibles entre sí, y que aporten diferentes propiedades funcionales.

Con respecto a las lectinas dietarias citotóxicas, estas son bastante resistentes a los procesos de inactivación térmica y a la digestión gastrointestinal, por lo que las dietas avícolas contienen cantidades residuales de estas glicoproteínas, que llegan intactas al intestino. Su unión a carbohidratos expresados en la superficie de los enterocitos, causa acortamiento de las microvellosidades, inhibición de enzimas digestivas del ribete en cepillo y citotoxicidad. En nuestro laboratorio, demostramos que una combinación de cepas de *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Ligilactobacillus* y

Acidipropionibacterium, seleccionadas por que expresan en su superficie los carbohidratos complementarios de estas lectinas, protegen a las células epiteliales de la citotoxicidad causada por una combinación de SBA, WGA y Con A *in vitro* [9] e *in vivo* [14]. La mezcla de bacterias administrada en pollitos BB desde el nacimiento hasta los 21 días de vida, aumentó la actividad de varias enzimas digestivas y el marcador de maduración intestinal fosfatasa alcalina en aves alimentadas con una dieta convencional. Además, contrarrestó parcialmente los efectos nocivos del aumento del contenido de SBA, así como los efectos negativos de utilizar trigo como reemplazo parcial de maíz, sobre la actividad de las enzimas digestivas y la integridad de la mucosa intestinal. Los resultados destacan la capacidad de las mezclas bacterianas multifuncionales para proteger el sistema digestivo de las aves contra lectinas dietarias residuales.

En el contexto del uso de prebióticos, nuestro grupo ha demostrado la función prebiótica de una mezcla de oligofruktosa y melaza en la dieta de gallinas ponedoras [4]. La combinación de ambos componentes, administrados en igual proporción en la dieta, no afectó la salud de los animales y favoreció el desarrollo de los géneros bacterianos productores de ácido láctico y SCFA en el intestino. No indujo daños en el tejido intestinal, pero sí un aumento en la longitud de las microvellosidades en la superficie apical de las células epiteliales. En consecuencia, favoreció la absorción de minerales y condujo posteriormente a un mejor contenido de calcio en la porción comestible de los huevos y sus cáscaras, y de hierro en los huevos y los músculos. Esta modificación de la dieta podría ser útil para mejorar el contenido mineral de los productos avícolas y, por lo tanto, la nutrición humana. Además, diversificar el uso de la melaza en avicultura puede ser una estrategia para agregar valor a este subproducto, y reducir el impacto ambiental de su potencial descarte.

Por otra parte, comparamos el uso de prebióticos y combinaciones sinbióticas, evaluando la administración a pollitos BB en una granja de producción, de un suplemento probiótico multicepa (cepas de bacterias lácticas y propionibacterias) y uno sinbiótico (adición de oligofruktosa con función prebiótica), desde la eclosión hasta la faena (42 días de vida). Las aves que recibieron cualquiera de estos suplementos mostraron un estado saludable sin mortalidad, incremento significativo del perímetro

corporal y de la conversión alimenticia. Se favoreció el equilibrio normal de la microbiota intestinal con incremento de los géneros productores de los ácidos que inhiben el desarrollo de patógenos y causan pérdida de su viabilidad. En consecuencia, no se evidenció presencia de microorganismos patogénicos en el intestino ni tampoco translocación de microbiota autóctona en órganos externos como hígado y bazo. Además, se detectó un aumento del contenido de proteínas en la carne aviar lo cual añade valor nutricional a uno de los productos cárnicos de mayor consumo por la población de nuestro país. En conclusión, los resultados obtenidos constituyen un desafío para generar alternativas naturales eficientes para la cría de aves de corral con impacto favorable sobre sanidad, nutrición y producción.

TECNOLOGÍAS DE PRODUCCIÓN

La eficiencia de suplementos probióticos depende en gran medida de las tecnologías de producción y conservación de los cultivos, de la sobrevivencia en la matriz utilizada para vehicular las bacterias hasta el intestino del hospedador y del método de almacenamiento de los productos.

El estrés producido por el congelamiento, liofilización o secado por aspersion de suspensiones de diferentes cultivos provoca daños que van desde un leve aumento de la permeabilidad celular hasta daños estructurales irreversibles que conducen a la pérdida de viabilidad de los microorganismos. Dado que estos aspectos tecnológicos resultan críticos en la administración posterior de los probióticos, los medios de cultivo, métodos de conservación de los microorganismos, y los productos comerciales que se elaboren con ellos, deben ser especialmente desarrollados con el objetivo de preservar las estructuras superficiales responsables de la actividad metabólica, viabilidad y funcionalidad de los cultivos.

Una forma de proteger a los microorganismos del estrés tecnológico e intestinal, es la encapsulación en matrices poliméricas. En este sentido, nuestro grupo ha avanzado en el uso de aislado de proteína de soja (SPI) y alginato por diferentes metodologías para la encapsulación de lactobacilos de origen aviar. En una publicación reciente [15] se utilizó como microorganismo modelo la cepa *Ligilactobacillus salivarius* CRL 2217,

con capacidad de ligar a WGA en su superficie y proteger a las células epiteliales intestinales de la citotoxicidad de esta glicoproteína. Se investigó la viabilidad de la bacteria luego de someter a las microcápsulas a una digestión gastrointestinal simulada, y se verificó que su liberación ocurre al alcanzar las condiciones imperantes en el intestino aviar. Las bacterias recuperadas después de la digestión completa conservaban la capacidad de ligar WGA. Este trabajo es punto de inicio para el diseño de suplementos probióticos para aves de corral que incluyan bacterias susceptibles a la digestión gastrointestinal.

Además, algunas de las actividades beneficiosas para el hospedador no requieren que los microorganismos seleccionados se encuentren viables. Esto ha dado lugar al desarrollo de diferentes tecnologías para la obtención de posbióticos. La declaración de consenso de la Asociación Científica Internacional de Probióticos y Prebióticos define a los posbióticos como "preparaciones de microorganismos inanimados y/o sus componentes, que confieren un beneficio a la salud del hospedador" [16]. Los microorganismos usados pueden o no ser probióticos, y las preparaciones pueden o no incluir los metabolitos producidos por el microorganismo durante su desarrollo. Este concepto, abre nuevas posibilidades para el diseño y uso de suplementos dietarios para la industria avícola en nuestro país.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] P.J. Gerber, H. Steinfeld, B. Henderson, A. Mottet, C. Opio, J. Dijkman, A. Falcucci & G. Tempio, *Enfrentando el cambio climático a través de la ganadería – Una evaluación global de las emisiones y oportunidades de mitigación*, Editorial Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), Roma, 2013.
- [2] K. Lamelas, G. Mair, E. Oliva, G. & Beczkowski, *Anuario Avícola Año XXVII* **85**, 1 (2022).

- [3] G. R. Gibson, R. Hutkins, M.E. Sanders, S.L. Prescott, R.A. Reimer, S.J. Salminen, K. Scott, C. Stanton, K.S. Swanson, P.D. Cani, K. Verbeke & G. Reid, *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* **14**, 491 (2017).
- [4] M.L. Gultemiriam, H.R. Corti, A. Perez Chaia & M.C. Apella, *Anim. Feed Sci. Technol.* **191**, 76 (2014).
- [5] FAO, *Probiotics in animal nutrition – Production, impact and regulation*, Y.S. Bajagai, A.V. Klieve, P.J. Dart & W.L. Bryden, Editor H.P.S. Makkar FAO Animal Production and Health Paper No. 179, Roma, 2016.
- [6] E. Argañaraz Martínez, J.D. Babot, M.C. Apella & A. Perez Chaia, *Anaerobe* **23**, 27 (2013).
- [7] M. Quiroga, Contribución de bacterias lácticas y otros microorganismos aislados de cereales y semillas a la nutrición de pollitos BB [Tesis de Doctorado, Universidad Nacional de Tucumán], 2020.
- [8] S.M.M. Grande, Estudio del género *Bifidobacterium* en el tracto intestinal de aves de corral. Potencial probiótico y efectos en la nutrición aviar, [Tesis de Doctorado, Universidad Nacional de Tucumán], 2021.
- [9] J.D. Babot, E. Argañaraz Martínez, L. Saavedra, M.C. Apella & A. Perez Chaia, *Benef. Microbes* **9**, 927 (2018).
- [10] E. Argañaraz Martínez, J.D. Babot, M.J. Lorenzo Pisarello, M.C. Apella & A. Perez Chaia, *Benef. Microbes* **7**, 687 (2016).
- [11] C. Iburguren, C.R.F. Grosso, M.C. Apella & M.C. Audisio, *Food Hydrocoll.* **29**, 21 (2012).
- [12] M.C. Audisio & M.C. Apella, *Res. J. Microbiol.* **1**, 61 (2006).

- [13] V.M. Hidalgo, J.D. Babot, M.M. Fernández, A. Perez Chaia, M.C. Audisio & M.C. Apella, *Braz. J. Microbiol.* **54**, 435 (2021).
- [14] J.D. Babot, E. Argañaraz Martínez, M. Quiroga, S.M. Grande, M.C. Apella & A. Perez Chaia, *Res. Vet. Sci.* **135**, 27 (2021).
- [15] J.D. Babot, E. Argañaraz Martínez, M.C. Apella & A. Perez Chaia, *Food Bioproc. Tech.* **16**, 1478 (2023).
- [16] S. Salminen, M.C. Collado, A. Endo, C. Hill, S. Lebeer, E.M.M. Quigley, M.E. Sanders, R. Shamir, J.R. Swann, H. Szajewska & G. Vinderola, *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* **18**, 649 (2019).