

PROBIÓTICOS DE NOVA GERAÇÃO: BENEFÍCIOS E APLICAÇÕES EM ALIMENTOS

Matheus R. S. do Carmo^a, Ramon Silva Rocha^{a,b}, Jonas T. Guimarães^b, Tatiana C. Pimentel^c,
Celso F. Balthazar^b, Erick A. Esmerino^b, Adriano G. Cruz^a

^a Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ),
Departamento de Alimentos,

^b Universidade Federal Fluminense (UFF), Faculdade de Veterinária, Niterói, Rio de Janeiro,
Brasil

^c Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná (IFPR), Campi Paranavaí

RESUMO

Existem uma série de estudos voltados para o descobrimento de novos microrganismos probióticos com potenciais benefícios à saúde humana e aplicações tecnológicas em alimentos. As bactérias ácido lácticas, representadas principalmente pelo gênero lactobacilos e bifidobactérias, foram largamente estudadas como probióticos e aplicadas em produtos alimentícios em função de suas características metabólicas favoráveis para a produção de alimentos fermentados. Atualmente, há um grande interesse na pesquisa de novos microrganismos com potenciais benefícios à saúde humana com o objetivo de ampliar o espectro de probióticos. Esses microrganismos são chamados de próxima geração de probióticos e consistem principalmente em cepas dos gêneros *Bacteroides*, *Clostridium*, *Faecalibacterium* e *Akkermansia*. Entretanto, existem grandes desafios no estudo desses microrganismos como probióticos e sua utilização na produção de alimentos. Esses desafios consistem no entendimento de sua eficácia e segurança para consumo, assim como sua aplicação no desenvolvimento de novos produtos alimentícios e produção de alimentos em escala industrial. A próxima geração de probióticos representa um tema de grande relevância para a ciência e para indústria de alimentos e traz novos desafios para serem enfrentados.

Palavras-chave: probióticos; alimentos; saúde; microbiota.

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos houve um crescente número de estudos direcionados ao descobrimento de novos microrganismos com potencial probiótico na modulação da microbiota intestinal e promoção de benefícios à saúde humana. Os probióticos são definidos como “microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefício à saúde do hospedeiro” (Hill et al., 2014). Os microrganismos aprovados e comercializados como probióticos atualmente são, em sua maioria, pertencentes ao grupo das bactérias ácido lácticas (BAL), representadas principalmente pelo gênero lactobacilos. As BAL habitam naturalmente o trato gastrointestinal e genital de animais e podem também ser isoladas de alimentos fermentados. Devido ao consumo histórico desses alimentos fermentados tradicionais, as bactérias ácido lácticas foram largamente estudadas ao longo dos anos até que de fato pudessem ser reconhecidas como seguras para o consumo humano. No entanto, outros gêneros e espécies de bactérias que naturalmente habitam o intestino humano podem constituir uma próxima geração de probióticos (conhecidos como NGP – do inglês *next generation probiotics*) com uma série de possíveis benefícios (Fernández-Murga & Sanz, 2016).

Os microrganismos atualmente estudados como próxima geração de probióticos podem representar gêneros e espécies que nunca antes foram utilizados pela indústria de alimentos em matrizes alimentícias das mais diversas origens. Atualmente, os principais candidatos que estão sendo estudados nesse novo escopo de probióticos incluem cepas dos gêneros *Bacteroides*, *Clostridium*, *Faecalibacterium* e *Akkermansia*.

Embora o interesse em ampliar o espectro de microrganismos probióticos seja muito relevante, grandes desafios para a ciência e para a indústria são gerados. As principais questões referentes a próxima geração de probióticos são representadas por sua eficácia e segurança, assim como os aspectos tecnológicos sobre a utilização desses microrganismos no processamento de alimentos. A grande maioria desses microrganismos apresentam características metabólicas que as tornam difíceis de serem usadas no desenvolvimento de novos produtos, principalmente na produção

de alimentos em larga escala (O'toole et al., 2017; Saarela, 2019), como métodos de viabilidade.

Potenciais microrganismos de próxima geração de probióticos

O quadro 1 apresenta os principais microrganismos estudados atualmente como próxima geração de probióticos e alguns dos potenciais benefícios encontrados, bem como seus possíveis benefícios à saúde humana relatados por estudos. São relatados estudos positivos em adesão em células epiteliais, atividade anticâncer e imunomoduladora, efeitos benéficos como coadjuvantes em tratamentos de depressão, diabetes, câncer colorretal e psoríase.

Quadro 1: Microrganismos estudados atualmente como próxima geração de probióticos e alguns dos possíveis benefícios à saúde humana encontrados.

Microrganismo	Efeito
<i>Akkermansia muciniphila</i>	- Adesão em células epiteliais intestinais, utilização de mucinas como substrato e melhora da integridade da barreira epitelial. - Tratamento com prebiótico (oligofrutose) restaura a abundância de <i>A. muciniphila</i> e melhora os parâmetros metabólicos de camundongos obesos.
<i>Bacteroides fragilis</i>	- Atividade anticâncer e imunomoduladora - Regula células caliciformes, promovendo melhora da barreira intestinal prejudicada causada por antibióticos
<i>Clostridium butyricum</i>	- Tratamento complementar com <i>C. butyricum</i> promoveu melhora nos "scores" de pacientes com transtorno depressivo. <i>C. butyricum</i> exerceu efeitos benéficos na alteração cognitiva e na apoptose em camundongos diabéticos com isquemia cerebral.
<i>Eubacterium hallii</i>	A administração diária melhora a sensibilidade à insulina e o balanço energético em camundongos obesos. <i>E. hallii</i> utiliza carboidratos simples e produz AG de cadeia curta como butirato.

<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	Estudos demonstraram redução significativa de <i>F. prausnitzii</i> nas doenças inflamatórias intestinais, diabetes, câncer colorretal e psoríase.
--	--

Fonte: (Everard et al., 2013; Ferreira-Halder et al., 2017; Miyaoka et al., 2018; Reunanen et al., 2015; Sun et al., 2019; Sun et al., 2016; Udayappan et al., 2016)

2. ***Akkermansia muciniphila***

Akkermansia muciniphila é uma bactéria anaeróbia estrita, Gram-negativa, de formato oval e não apresenta motilidade. Uma das características mais importantes da *A. muciniphila* é a sua capacidade de utilizar as mucinas intestinais, glicoproteínas da camada de muco do epitélio, como única fonte de carbono e nitrogênio (Derrien et al., 2004). Foi possível observar que a *A. muciniphila* habita o trato gastrointestinal (TGI) de mais de 90% dos indivíduos adultos analisados e constitui cerca de 1 a 4% da microbiota fecal desses indivíduos (Collado et al., 2007).

Apesar da *A. muciniphila* ter sido isolada há mais de uma década, houve um recente crescimento nos estudos dessa bactéria devido à sua associação com a saúde de animais e humanos. Níveis reduzidos de *A. muciniphila* foram observados em pacientes com doenças inflamatórias intestinais e distúrbios metabólicos, o que sugere que esse microrganismo possa apresentar propriedades antiinflamatórias importantes (Derrien et al., 2017). Mais especificamente, a *A. muciniphila* tem sido relacionada à saúde intestinal e melhora do estado metabólico de indivíduos que apresentam obesidade e diabetes tipo 2. Esses efeitos benéficos tem sido explicados pela capacidade da *A. muciniphila* de promover a melhora da barreira intestinal prejudicada induzida por dieta rica em gordura (Everard et al., 2013).

No estudo *in vitro* conduzido por Reunanen et al. (2015) constatou-se que a *A. muciniphila* foi capaz de aderir-se ao epitélio intestinal e aumentar a integridade da monocamada das linhagens celulares Caco-2 e HT-29 (células de cólon humano), fortalecendo o conceito de que esse microrganismo pode promover a melhora da barreira intestinal. Além disso, esse estudo também observou que a *A. muciniphila* necessita de concentração 100 vezes maior comparada a *Escherichia coli* para apresentar atividade pró-inflamatória no epitélio, sugerindo que a bactéria possa ser segura em humanos.

3. *Bacteroides* spp.

Por volta de 20 a 80% dos microrganismos presentes na microbiota intestinal de adultos saudáveis corresponde ao filo Bacteroidetes, sendo o gênero *Bacteroides* o grupo mais abundante. Esse gênero de bactéria pode apresentar concentrações de 10^9 a 10^{11} UFC por grama de fezes. Os bacteroides são microrganismos anaeróbios obrigatórios e não formam esporos, não apresentam motilidade, possuem forma de bastonete e pontas arredondadas. A maioria das células é resistente a 20% dos sais biliares e é altamente favorecida na presença de muco colônico (Tan et al., 2019).

A cepa *B. xylanisolvens* DSM 23964 foi aprovada como cultura iniciadora em produtos lácteos fermentados sob o Regulamento de Novos Alimentos nº 258/97 da Comissão Europeia, tornando-se a primeira cepa do gênero *Bacteroides* autorizada como ingrediente alimentar. Entretanto, a cepa pode apenas ser utilizada como cultura iniciadora em produto pasteurizado e, portanto, tornando-se uma cultura inativada no produto final (Brodmann et al., 2017). A cepa *B. fragilis* ATCC25285 é considerada um promissor probiótico de próxima geração em função da sua capacidade em atenuar a inflamação induzida por patógenos e melhorar o quadro do espectro autista. Outra cepa promissora é a *B. fragilis* ZY312, capaz de atenuar a infecção por *Vibrio parahaemolyticus* e a diarreia induzida por antibióticos. No entanto, o fato de que algumas cepas de *B. fragilis* são capazes de induzir diarreia em animais e humanos, levanta uma discussão de que as características benéficas e de segurança do gênero *Bacteroides* são dependentes da cepa (Tan et al., 2020).

No trabalho de Zhang et al. (2018), os autores utilizaram a cepa de *Bacteroides fragilis* ZY-312 no tratamento de diarreia iatrogênica induzida por antibióticos em modelo de ratos. O tratamento oral com a cepa *B. fragilis* ZY-312 melhorou os sintomas da diarreia associada a antibióticos (DAA), aumentando a abundância da microbiota comensal específica. Além disso, os autores observaram uma restauração da função da barreira intestinal e regeneração dos enterócitos nos ratos tratados. Esse estudo demonstrou um potencial terapêutico no uso do *B. fragilis* não-toxicogênico no DAA em função de sua característica moduladora da microbiota e promoção da melhora da barreira gastrointestinal.

4. *Clostridium butyricum*

O *Clostridium butyricum* é um bacilo Gram-positivo, formador de esporo e anaeróbico obrigatório, sendo um microrganismo muito sensível a presença de oxigênio. O microrganismo recebe esse nome em função de sua capacidade de produzir grandes quantidades de ácido butírico. Seu primeiro isolamento aconteceu em 1880 por Prazmowski e desde então uma série de novas cepas tem sido descrita. *C. butyricum* pode ser encontrado em uma grande variedade de ambientes, tanto no intestino de animais quanto em alimentos como vegetais, leite e queijos (Cassir et al., 2016). A principal característica que tornou essa espécie de *Clostridium* interessante para a pesquisa em probióticos é a sua capacidade de fermentação de carboidratos não digeríveis, produzindo ácidos graxos de cadeia curta (principalmente ácido butírico) que, por sua vez, são um grande alicerce para a proliferação de enterócitos e possuem um papel importante na manutenção da saúde colônica (Hamer et al., 2008).

Nos últimos anos, alguns estudos utilizando cepas de *C. butyricum* buscaram encontrar evidências que relacionem sua administração com a prevenção e/ou tratamento de algumas doenças. No estudo de Sun et al. (2016), observaram que a administração de *C. butyricum* em camundongos diabéticos submetidos a 30 minutos de oclusão bilateral das artérias carótidas comuns, foi capaz de modular a microbiota, além de atenuar a isquemia e reperfusão cerebral induzida e inibição da apoptose neuronal dos camundongos, sugerindo uma possível função terapêutica na lesão cerebral. Já na prevenção e tratamento do câncer, foi constatado que o *C. butyricum* é capaz de inibir significativamente o desenvolvimento de tumor intestinal induzido por dieta rica em gordura em camundongos, além disso, as células tumorais intestinais tratadas com a bactéria exibem proliferação reduzida e aumento da apoptose (Chen et al., 2020). Por fim, o tratamento com a cepa *C. butyricum* MIYAIRI 588 em combinação com antidepressivos proporcionou melhora significativa na depressão de pacientes que apresentam transtorno depressivo. Esses dados preliminares sugerem que a administração de *C. butyricum* é eficaz e bem tolerado no tratamento da depressão (Miyaoaka et al., 2018).

5. *Eubacterium hallii*

E. hallii é uma bactéria anaeróbia, Gram positiva, catalase negativa, pertencente à família *Lachnospiraceae* do filo *Firmicutes*. Pode estar presente em amostras fecais tanto de murinos quanto de humanos (Duncan et al., 2004). *E. hallii* é uma espécie que possui a capacidade de produzir butirato através da fermentação de carboidratos. O que a torna especial quando comparada a outros gêneros de bactérias de origem intestinal é a sua habilidade de produzir butirato utilizando tanto lactato quanto acetato como substrato de seu metabolismo (Louis et al., 2009). *E. hallii* tem sido descrita como uma espécie-chave dentro da cadeia trófica intestinal com o potencial de impactar fortemente o equilíbrio metabólico, bem como a microbiota intestinal pela formação de diferentes ácidos graxos de cadeia curta a partir de polissacarídeos de origem dietética ou do próprio hospedeiro (Engels et al., 2016).

Constatou-se que a administração oral diária de *E. hallii* em camundongos obesos e diabéticos melhora a sensibilidade à insulina e aumenta o metabolismo energético. Além disso, a administração de doses crescentes de *E. hallii* não afetou o peso corporal ou a ingestão de alimentos dos camundongos tratados, indicando que a bactéria pode ser uma nova cepa probiótica segura e eficaz para melhorar a sensibilidade à insulina no tratamento da obesidade e do diabetes (Udayappan et al., 2016). As bifidobactérias presentes naturalmente na microbiota intestinal e no leite materno são capazes de fermentar carboidratos complexos, produzindo monossacarídeos que, por sua vez, podem ser utilizados pela *E. hallii* para a produção final de ácidos graxos de cadeia curta (Bunesova et al., 2018). Essa interação entre bifidobactérias e *E. hallii* sugere uma importante e benéfica simbiose para o hospedeiro.

6. *Faecalibacterium prausnitzii*

F. prausnitzii é uma bactéria anaeróbia, não formadora de esporo, gram-negativa e produtora de butirato. É uma das espécies mais comuns do filo *firmicutes* presentes em humanos, representando cerca de 8% da microbiota colônica total e desempenhando função importante na saúde intestinal (Heinken et al., 2014). Os

benefícios da *F. prausnitzii* têm sido associados principalmente ao butirato produzido pela fermentação de carboidratos e incluem resposta imunomoduladora no hospedeiro, melhora da integridade da barreira intestinal e propriedades anti-inflamatórias (Saarela, 2019).

A administração de *F. prausnitzii* em camundongos com colite ulcerativa, uma doença inflamatória intestinal, foi capaz de atenuar os danos da barreira intestinal, além de promover uma ação anti-inflamatória desempenhada pela resposta imunomoduladora induzida pela interação da bactéria com os enterócitos dos camundongos (Carlsson et al., 2013). Em outro estudo, os metabólitos de *F. prausnitzii* exerceram efeitos anti-inflamatórios significativos na colite colorretal em modelo de ratos, atenuando as lesões teciduais causadas pela inflamação (Zhang et al., 2014). Esses efeitos anti-inflamatórios observados nos estudos com *F. prausnitzii*, permitem acender futuras investigações sobre o uso terapêutico dessa cepa em doenças inflamatórias intestinais.

Apesar de ser uma bactéria extremamente sensível ao oxigênio, o que a torna desafiadora para se trabalhar em laboratório ou na indústria, a *F. prausnitzii* possui a capacidade de utilizar uma série de carboidratos como substrato de seu metabolismo. Entre esses carboidratos estão os polissacarídeos prebióticos inulina e pectina (Heinken et al., 2014), levantando grandes possibilidades de investigação sobre o metabolismo desses carboidratos pela *F. prausnitzii* e um possível futuro desenvolvimento de um produto simbiótico.

7. PERSPECTIVAS

Probióticos de próxima geração representa um tema de grande relevância para a ciência e para a indústria de alimentos, uma vez que novos microrganismos com potenciais características benéficas à saúde humana aumentam o espectro de probióticos e contribuem para o desenvolvimento e elaboração de novos produtos alimentícios que respondem ao crescente interesse da população por saúde e qualidade de vida. Entretanto, existe uma tendência para que esses microrganismos

sejam possivelmente utilizados como produtos bioterapêuticos e comercializados principalmente como suplementos dietéticos no futuro.

Entretanto, ainda existem poucos estudos que demonstram a eficácia e segurança desses microrganismos, sendo necessários mais estudos em sistemas *in vivo* e ensaios clínicos. Finalmente, estudos que avaliam o potencial de aplicação dos probióticos de próxima geração em matrizes alimentícias ainda são escassos e fazem-se necessário para que sejam avaliados seus efeitos nos parâmetros intrínsecos tecnológicos e sensoriais.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Brodmann, T., Endo, A., Gueimonde, M., Vinderola, G., Kneifel, W., De Vos, W. M., Salminen, S. & Gómez-Gallego, C. (2017). Safety of Novel Microbes for Human Consumption: Practical Examples of Assessment in the European Union. 8, 1725.

Bunesova, V., Lacroix, C. & Schwab, C. (2018). Mucin Cross-Feeding of Infant Bifidobacteria and Eubacterium hallii. *Microbial Ecology*, 75, 1, 228-238.

Carlsson, A. H., Yakymenko, O., Olivier, I., Håkansson, F., Postma, E., Keita, Å. V. & Söderholm, J. D. (2013). Faecalibacterium prausnitzii supernatant improves intestinal barrier function in mice DSS colitis. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 48, 1136-1144.

Cassir, N., Benamar, S. & La Scola, B. (2016). Clostridium butyricum: from beneficial to a new emerging pathogen. *Clinical Microbiology and Infection*, 22, 1, 37-45.

Chen, D., Jin, D., Huang, S., Wu, J., Xu, M., Liu, T., Dong, W., Liu, X., Wang, S., Zhong, W., Liu, Y., Jiang, R., Piao, M., Wang, B. & Cao, H. (2020). Clostridium butyricum, a butyrate-producing probiotic, inhibits intestinal tumor development through modulating Wnt signaling and gut microbiota. *Cancer Letters*, 469, 456-467.

Collado, M. C., Derrien, M., Isolauri, E., De Vos, W. M. & Salminen, S. (2007). Intestinal Integrity and Akkermansia muciniphila, a Mucin-Degrading Member of the Intestinal Microbiota Present in Infants, Adults, and the Elderly. *Applied and Environmental Microbiology*, 73, 7767.

Derrien, M., Belzer, C. & De Vos, W. M. (2017). Akkermansia muciniphila and its role in regulating host functions. *Microbial Pathogenesis*, 106, 171-181.

Derrien, M., Vaughan, E. E., Plugge, C. M. & De Vos, W. M. (2004). Akkermansia muciniphila gen. nov., sp. nov., a human intestinal mucin-degrading bacterium. 54, 1469-1476.

Duncan, S. H., Louis, P. & Flint, H. J. (2004). Lactate-Utilizing Bacteria, Isolated from Human Feces, That Produce Butyrate as a Major Fermentation Product. *Applied and Environmental Microbiology*, 70, 10, 5810.

Engels, C., Ruscheweyh, H.-J., Beerenwinkel, N., Lacroix, C. & Schwab, C. (2016). The Common Gut Microbe *Eubacterium hallii* also Contributes to Intestinal Propionate Formation. *Frontiers in microbiology*, 7, 713-713.

Everard, A., Belzer, C., Geurts, L., Ouwerkerk, J. P., Druart, C., Bindels, L. B., Guiot, Y., Derrien, M., Muccioli, G. G., Delzenne, N. M., De Vos, W. M. & Cani, P. D. (2013). Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110, 22, 9066.

Fernández-Murga, M. L. & Sanz, Y. (2016). Safety Assessment of *Bacteroides uniformis* CECT 7771 Isolated from Stools of Healthy Breast-Fed Infants. *PLOS ONE*, 11, e0145503.

Ferreira-Halder, C. V., Faria, A. V. d. S. & Andrade, S. S. (2017). Action and function of *Faecalibacterium prausnitzii* in health and disease. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 31, 6, 643-648.

Hamer, H. M., Jonkers, D., Venema, K., Vanhoutvin, S., Troost, F. J. & Brummer, R. J. (2008). Review article: the role of butyrate on colonic function. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 27, 104-119.

Heinken, A., Khan, M. T., Paglia, G., Rodionov, D. A., Harmsen, H. J. M. & Thiele, I. (2014). Functional Metabolic Map of *Faecalibacterium prausnitzii*, a Beneficial Human Gut Microbe. *Journal of Bacteriology*, 196, 3289.

Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R. B., Flint, H. J., Salminen, S., Calder, P. C. & Sanders, M. E. (2014). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 11, 506-514.

Louis, P., Young, P., Holtrop, G. & Flint, H. (2009). Diversity of human colonic butyrate-producing bacteria revealed by analysis of the butyryl-CoA:acetate CoA-transferase gene. *Environmental microbiology*, 12, 304-314.

Miyaoka, T. M., PhD, Kanayama, M. M. W., Rei MD, PhD, Hashioka, S. M., PhD, Hayashida, M. M., PhD, Nagahama, M. M., Okazaki, S. M., Yamashita, S. M., Miura, S. M., Miki, H. M., Matsuda, H. M., Koike, M. M., Izuhara, M. M., Araki, T. M. T., Keiko MSc, Azis, I. A. M., Arauchi, R. M., Abdullah, R. A. M., Oh-Nishi, A. P. & Horiguchi, J. M., PhD. (2018). *Clostridium butyricum* MIYAIRI 588 as Adjunctive Therapy for Treatment-Resistant Major Depressive Disorder: A Prospective Open-Label Trial. *Clinical Neuropharmacology*, 41, 151-155.

O'toole, P., Marchesi, J. & Hill, C. (2017). Next-generation probiotics: The spectrum from probiotics to live biotherapeutics. *Nature Microbiology*, 2, 17057.

Reunanen, J., Kainulainen, V., Huuskonen, L., Ottman, N., Belzer, C., Huhtinen, H., De Vos, W. M. & Satokari, R. (2015). Akkermansia muciniphila Adheres to Enterocytes and Strengthens the Integrity of the Epithelial Cell Layer. *Applied and Environmental Microbiology*, 81, 3655.

Saarela, M. H. (2019). Safety aspects of next generation probiotics. *Current Opinion in Food Science*, 30, 8-13.

Sun, F., Zhang, Q., Zhao, J., Zhang, H., Zhai, Q. & Chen, W. (2019). A potential species of next-generation probiotics? The dark and light sides of Bacteroides fragilis in health. *Food Research International*, 126, 108590.

Sun, J., Wang, F., Ling, Z., Yu, X., Chen, W., Li, H., Jin, J., Pang, M., Zhang, H., Yu, J. & Liu, J. (2016). Clostridium butyricum attenuates cerebral ischemia/reperfusion injury in diabetic mice via modulation of gut microbiota. *Brain Research*, 1642, 180-188.

Tan, H., Wang, C., Zhang, Q., Tang, X., Zhao, J., Zhang, H., Zhai, Q. & Chen, W. (2020). Preliminary safety assessment of a new Bacteroides fragilis isolate. *Food and Chemical Toxicology*, 135, 110934.

Tan, H., Zhai, Q. & Chen, W. (2019). Investigations of Bacteroides spp. towards next-generation probiotics. *Food Research International*, 116, 637-644.

Udayappan, S., Manneras-Holm, L., Chaplin-Scott, A., Belzer, C., Herrema, H., Dallinga-Thie, G. M., Duncan, S. H., Strees, E. S. G., Groen, A. K., Flint, H. J., Backhed, F., De Vos, W. M. & Nieuwdorp, M. (2016). Oral treatment with Eubacterium hallii improves insulin sensitivity in db/db mice. *npj Biofilms and Microbiomes*, 2, 1, 16009.

Zhang, M., Qiu, X., Zhang, H., Yang, X., Hong, N., Yang, Y., Chen, H. & Yu, C. (2014). Faecalibacterium prausnitzii inhibits interleukin-17 to ameliorate colorectal colitis in rats. *PloS One*, 9, 10, e109146-e109146.

Zhang, W., Zhu, B., Xu, J., Liu, Y., Qiu, E., Li, Z., Li, Z., He, Y., Zhou, H., Bai, Y. & Zhi, F. (2018). Bacteroides fragilis Protects Against Antibiotic-Associated Diarrhea in Rats by Modulating Intestinal Defenses. *Frontiers in immunology*, 9, 1040.