Постбиотики: новая группа биопрепаратов.

Чистяков В. А.[1,2], Празднова Е. В.[1,2], Денисенко Ю. В.[1], Стаценко В. Н.[1], Матросова С. В.[3], Кучко Т. Ю[3].

vladimirchi@yandex.ru

[1] Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия

344090, Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1, Академия биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского Южного федерального университета

[2] Донской государственный технический университет. Ростов-на-Дону, Россия. 344000, Ростов-на-Дону, пл. Гагарина, 1, Агропромышленный факультет, Центр агробиотехнологии

[3] Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск, Россия

185035, респ. Карелия, Петрозаводск, пр. Ленина, 33, Институт биологии, экологии и агротехнологий

DOI: 10.18522/2308-9709-2023-46-1

Аннотация

Постбиотики представляют собой новую группу препаратов микробного происхождения. В отличие от пробиотиков, основными агентами воздействия на организм в случае постбиотиков являются не живые клетки микроорганизмов, а их метаболиты или отдельные элементы клетки (такие, как фрагменты мембран и клеточных стенок. Постбиотики, несмотря на недостаточное количество исследований в данной области, представляют собой перспективное направление для разработки новых препаратов микробного происхождения, направленных на улучшение качества жизни человека и животных.

Ключевые слова: постбиотики; болезни животных; профилактика и лечение

Postbiotics for the prevention and treatment of major economically significant animal diseases

Chistyakov Vladimir A.[1,2], Prazdnova Evgenia V.[1,2], Denisenko Yury V.[1,2], Statsenko Varvara N.[1,2], Matrosova Svetlana V.[3], Kuchko Tamara Y[3].

vladimirchi@sfedu.ru

[1]*Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russia*

[2] *Don state technical university, Rostov-on-Don, Russia*

[3]*Petrozavodsk State University, Petrozavodsk, Russia*

DOI: 10.18522/2308-9709-2023-46-1

Abstract

Postbiotics are a new group of drugs of microbial origin. Unlike probiotics, the main acting agents on the organism in the case of postbiotics are not living cells of microorganisms, but their metabolites or individual cell elements (such as fragments of membranes and cell walls. Postbiotics study, despite the insufficient number of studies in this area, is a promising direction for the development of new drugs of microbial origin aimed at improving the quality of life of humans and animals.

Keywords: postbiotics; animal diseases; prevention and treatment

Введение

Постбиотики – новая категория препаратов бактериального происхождения, которые потенциально могут приносить пользу здоровью, но, в отличие от пробиотиков, основными агентами воздействия на организм являются не живые клетки микроорганизмов, а их метаболиты или отдельные элементы клетки (такие, как фрагменты мембран и клеточных стенок). Концепция постбиотиков развивает идею использования пробиотиков, при этом снижаются риски, связанные с использованием живых клеток, которые могут мутировать, обмениваться генами антибиотикорезистентности или вызывать атипичный иммунный ответ.

Кроме того, при пероральном введении пробиотиков одной из проблем является сохранение их жизнеспособности во время прохождения через верхние отделы желудочно-кишечного тракта. Действие желудочных кислот и солей может помешать доставке достаточного количества жизнеспособных клеток (Suez et al., 2019).

Поскольку появляется все больше свидетельств того, что польза для здоровья, связанная с пробиотиками, обусловлена метаболитами и секретируемыми соединениями, фрагментами мембран и клеточных стенок микробов, а не только присутствием самих живых микробов, исследования по модуляции микробиома все больше фокусируются на постбиотиках. Многие авторы отмечают также увеличенный срок годности и стабильность постбиотиков по сравнению с пробиотиками (Maguire, Maguire, 2019).

Появление и определение термина «постбиотик»

В научной литературе, индексируемой NCBI термин «постбиотик» в значении, принятом сегодня, впервые появился в 2009 году (Johannsen, Prescott, 2009). С этого времени по настоящий момент индексировано 559 статей, динамика их числа показана на рисунке 1.

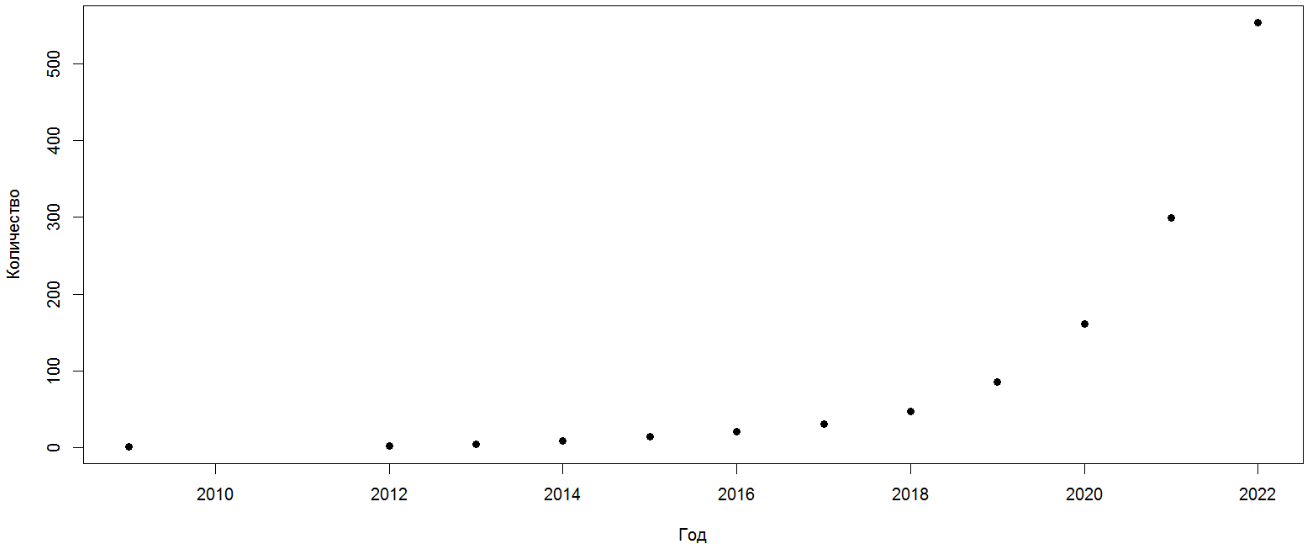

Рис. 1 — Динамика появления статей о постбиотиках в Pubmed

В данных публикациях встречались различные, зачастую противоречивые, определения (Patel, Denning, 2013; Vieira, Fukumori, Ferreira, 2016a; Vieira, 2016b). Например, в работе (Aguilar-Toalá et al., 2018) определение постбиотиков звучит как «Растворимые факторы (продукты или побочные продукты метаболизма), секретируемые живыми бактериями или высвобождаемые после бактериального лизиса, такие как ферменты, пептиды, тейхоевые кислоты, муропептиды пептидогликанового происхождения, полисахариды, белки клеточной поверхности и органические кислоты»

Рост популярности использования термина потребовал его формализации, поэтому в 2019 году Международная научная ассоциация по пробиотикам и пребиотикам (ISAPP) созвала группу экспертов, специализирующихся в области питания, микробной физиологии, гастроэнтерологии, педиатрии, пищевой науки и микробиологии, для пересмотра определения и сферы применения постбиотиков.

Комиссия определила постбиотики как «препараты неживых микроорганизмов и/или их компоненты, которые приносят пользу здоровью хозяина», и включают нежизнеспособные клетки с метаболитами или без них или клеточные компоненты, способные оказывать благотворное воздействие на хозяина прямо или косвенно (например, ферменты, пептиды, тейхоевые кислоты, муропептиды, полученные из пептидогликанов, полисахариды, белки клеточной поверхности и органические кислоты) (Salminen et al., 2021).

Комиссия выразила уверенность, что общепринятое определение приведет к ясности в регулировании и будет способствовать инновациям и разработке новых постбиотических продуктов.

Стоит отметить, что формулировка определения может вносить коррективы в практические использования постбиотиков. Например, в нашей стране широко известен препарат Hylak®forte (Ratiopharm/Merckle GmbH, Вена, Австрия). Препарат содержит метаболиты четырех штаммов бактерий, а именно *Lactobacillus acidophilus* (DSM 4149), *Lactobacillus helveticus* (DSM 4183), *Escherichia coli* (DSM 4087) и *Enterococcus faecalis* (DSM 4086), и был разработан для подавления роста патогенных бактерий за счет снижения pH кишечника (Patil et al., 2019).

До заявления ISAPP года этот продукт вполне мог считаться содержащим постбиотики в соответствии с некоторыми предыдущими определениями, однако сейчас он формально не подпадает под определение постбиотического препарата, которое теперь требует присутствия клеточной биомассы в постбиотическом препарате. Вместо этого, несмотря на доказательства воздействия на здоровье, продукты, которые включают бесклеточные фильтраты и изолированные соединения, теперь должны называться по их химическому названию без какой-либо ссылки на постбиотики. Например, если добавка включает молочную кислоту, выделенную из постбиотического препарата, в консенсусном заявлении ISAPP указывается, что она должна быть помечена как «содержащая молочную кислоту», а не «содержащая постбиотики».

Типы и механизмы действия постбиотиков

Постбиотики могут представлять собой широкий класс субстанций, большей частью являющихся производными от пробиотиков:

1. Бактериальные лизаты
2. Бесклеточные супернатанты
3. Фрагменты клеточной стенки
4. Ферменты
5. Экзополисахариды
6. Липополисахариды
7. Другие метаболиты, такие как витамины и аминокислоты
8. Короткоцепочечные жирные кислоты

Постбиотики могут оказывать свое действие с помощью нескольких механизмов (Spisni et al., 2022), таких как:

- модуляция микробиома (например, за счет антимикробной активности бактериоцинов или молочной кислоты, за счет переноса молекул, чувствительных к кворуму и молекул, подавляющих кворум, за счет обеспечения источников углерода, а также за счет конкуренции с патогенами);
- усиление барьерной функции кишечника,
- модуляция местных и системных иммунных реакций,
- модуляция системных метаболических реакций
- передача сигналов через нервную систему.

Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что постбиотики могут оказаться эффективными в качестве противомикробных препаратов, противовоспалительных (с возможностью выбора органа-мишени), иммунорегуляторных агентов и сигнальных молекул. Например, в работе (Braido et al., 2014) приведены результаты двойного слепого плацебо-контролируемого клинического исследования влияния бактериального лизата

(Лантиген Б) на пациентов с рецидивирующими инфекциями дыхательных путей. В исследовании участвовало 160 пациентов. Применение препарата позволило снизить использование антибиотиков и нестероидных противовоспалительных препаратов на 52% и 30%, соответственно.

В последнее время появилась концепция геробиотиков, которая включает пробиотики или производные от них постбиотики, участвующие в замедлении процесса старения, в том числе влияющие на течение болезни Альцгеймера. Болезнь Альцгеймера является заболеванием, характеризующимся когнитивными нарушениями, при этом зарегистрировано влияние кишечной микробиоты на развитие и лечение заболевания (Ağagündüz et al., 2022).

Обсуждается послеоперационное применение постбиотиков при бариатрической хирургии (Gasmi et al., 2022), профилактика колоректального рака с применением различных терапевтических стратегий для модификации иммунной системы кишечника (Wang, Li, 2022), что представляется вполне естественным с учетом несомненной связи этих состояний с микробиотой, на которую постбиотики действуют непосредственно.

Широкий спектр научных исследований, появившихся в связи с пандемией COVID-19 последовательно выявил связь между тяжестью инфекции SARS-CoV-2 и аномальными микробиомами кишечника, что указывает на возможную эффективность применения постбиотиков (Alzahrani et al., 2022).

Был протестирован постбиотический препарат на модели диареи, связанной с COVID-19 *in vitro*. Установлено, что постбиотики останавливают диарею, подавляя энтеротоксическое действие и окислительный стресс (Poeta M. et al., 2023).

В то же время, доказательств заметной эффективности в применении постбиотических препаратов в качестве добавок к детскому питанию не имеется. Преимущественно некоторый эффект наблюдался в отношении расстройств желудочно-кишечного тракта, можно предположить, что основные декларируемые механизмы воздействия пробиотиков в этом случае не действуют. В обзоре (Szajewska, Skorka, Pieścik-Lech, 2015) показано, что ферментированные смеси по сравнению с использованием стандартных детских смесей не дают явных дополнительных преимуществ, за исключением некоторой пользы при желудочно-кишечных симптомах и диарее; никаких негативных последствий для здоровья задокументировано не было. В исследовании участвовало 1326 пациентов.

Обсуждается и применение постбиотиков как альтернативы антибиотикам в птицеводстве. Например, в работе (Danladi et al., 2022; Zhong et al., 2022) показано, что они могут заменить антибиотики без ущерба для показателей роста, выхода тушки и иммунного статуса цыплят-бройлеров.

В другой работе (Saeed M. et al., 2023) постбиотики показали антиоксидантные эффекты благодаря высоким концентрациям уроновой кислоты. Постбиотики улучшали работу ворсинок кишечника птиц, увеличивали выработку молочной кислоты и снижали уровень энтеробактерий и pH кала, что приводило к улучшению иммунитета.

Результаты другого исследования (Maina T. W. et al., 2023) показывают, что добавление постбиотиков модулирует как системный иммунный ответ, так и иммунный ответ слизистой оболочки у крупного рогатого скота, что приводит к развитию устойчивости к респираторным заболеваниям.

Важно отметить, что для квалификации препарата как такового, необходимо обратить внимание на ряд вопросов:

- подробное описание исходного материала (включая всестороннюю характеристику микроорганизмов-предшественников);
- средства инактивации (и подтверждение их эффективности);

- гарантии безопасности в организме целевого хозяина;

Только тщательный контроль этих параметров позволит проводить надежные и воспроизводимые исследования для комплексного использования постбиотиков в медицинских, фармацевтических и других целях.

Ниже приведен краткий список видов бактерий, используемых в качестве исходного материала постбиотиков. Этот список не претендует на полноту, в него включены лишь те виды, которые так или иначе упомянуты в тексте:

1. *Akkermansia muciniphila*
2. *Bacillus subtilis*
3. *Bifidobacterium animalis*
4. *Bifidobacterium bifidum*
5. *Branhamella catarrhalis*
6. *Enterococcus faecalis*
7. *Enterococcus faecium*
8. *Faecalibacterium prausnitzii*
9. *Haemophilus influenzae*
10. *Klebsiella ozaena*
11. *Klebsiella pneumoniae*
12. *Lactiplantibacillus plantarum*
13. *Lactobacillus acidophilus*
14. *Lactobacillus bulgaricus*
15. *Lactobacillus crispatus*
16. *Lactobacillus delbrueckii*
17. *Lactobacillus gasseri*
18. *Lactobacillus paracasei*
19. *Lactobacillus rhamnosus*

20. *Lactobacillus salivarius*
21. *Lactococcus chungangensis*
22. *Lactococcus lactis*
23. *Latilactobacillus curvatus*
24. *Leuconostoc mesenteroides*
25. *Leuconostoc pseudomesenteroides*
26. *Levilactobacillus brevis*
27. *Limosilactobacillus fermentum*
28. *Limosilactobacillus reuteri*
29. *Mycobacterium manresensis*
30. *Mycobacterium phlei*
31. *Pediococcus acidilactici*
32. *Staphylococcus aureus*
33. *Streptococcus pneumoniae*
34. *Streptococcus pyogenes*
35. *Streptococcus viridans*
36. *Vitreoscilla filiformis*

В целом следует отметить, что исследования постбиотиков находятся в зачаточном состоянии. Этого же мнения придерживаются, например, авторы обзора (Scott, De Paepe, Van de Wiele, 2022).

Информация об основных наиболее типичных постбиотиках, использующихся в настоящее время, обобщена в таблице 1.

Таблица 1— Применение постбиотиков для человека, млекопитающих и птиц

Штамм	Метаболиты/тип препарата	Функция	Ссылка
Faecalibacterium prausnitzii	Инактивированный препарат содержит бутират, Microbial Anti-inflammatory Molecule (MAM)	Укрепление здоровья кишечника, оказывает противовоспалительное действие у млекопитающих	(Rooks, Garrett 2016)
Lactococcus chungangensis CAU 1447	Пальмитиновая, пальмитолеиновая, стеариновая и линолевая кислоты	Индукция экспрессии цитокинов, способствующих заживлению ран, факторов роста и хемокинов у мышей, страдающих диабетом	(Nam et al., 2021)
Vitreoscilla filiformis	Постбиотический препарат	Улучшает барьерную функцию, стимулируя рост эндогенных бактерий и способствуя восстановлению здорового микробиома кожи человека	(Baldwin et al., 2020)
Lactobacillus crispatus	Постбиотический препарат D-лактат	Защита от преждевременных родов, подавляет рост вагинальных патогенов, иммуномодулирующие функции, которые могут ингибировать адгезию бактерий у человека	(Bayar et al., 2020)
Lactococcus lactis	Бактериоцин низин	Проявляет антибиопленочное и антимикробное действие в отношении патогенов полости рта, включая *Porphyromonas gingivalis, Prevotella intermedia, Aggregatibacter actinomycetemcomitans, Fusobacterium nucleatum* и *Treponema denticola (in vitro)*	(Nguyen et al., 2021)
Lactiplantibacillus plantarum	Фрагменты стенок, пептидогликан из β-1,4-связанных нацетилглюкозаминовых и N-ацетилмураминовых дисахаридных звеньев	Ингибирует выработку IL-12 через Toll-подобный рецептор 2 (TLR2) в кишечнике, который в дальнейшем поддерживает гомеостаз в организме хозяина (самки мышей BALB/c и самцы мышей C57BL/6)	(Shida et al., 2009)
Lacticaseibacillus rhamnosus	Термоинактивированная культура	Повышенная скорость роста поросят, повышение эффективности корма и общей усвояемости в желудочно-кишечном тракте; снижение уровня TNF-α, TGF-β1 и кортизола в сыворотке крови	(Kang et al., 2021)

Lactiplantibacillus plantarum, штаммы TL1, RS5, RF14, RG11, RI11	Супернатант	Увеличение коэффициента конверсии корма, количества молочнокислых бактерий и короткоцепо́чечных жирных кислот в кишечнике; уменьшенное значение pH кала, количества интоксикаций и частота диареи у поросят	(Thu et al., 2011)
Lactiplantibacillus plantarum, штаммы TL1, RS5, RF14,	Супернатант	Улучшен среднесуточный прирост, потребление корма и усвояемость белка; снижена частота диареи, значение pH и количество энтеробактерий в кишечнике поросят.	(Loh et al., 2013)
Enterococcus faecalis EC-12	Термоинактивированная культура	Сниженная атрофия ворсинок и увеличение высоты ворсинок в тонкой кишке поросят	(Tsukahara et al., 2011)
Enterococcus faecium NHRD IHARA	Термоинактивированная культура	Улучшенные показатели роста, IgA и морфология кишечника поросят; показана та же эффективность, что и у живого штамма	(Sukegawa et al., 2014)
Lactiplantibacillus plantarum L-137	Термоинактивированная культура	Повышенный уровень мРНК IFN-β в сыворотке крови при вирусной инфекции гриппа А у поросят.	(Arimori et al., 2012)
Enterococcus faecalis EC-12	Термоинактивированная культура	Повышенный уровень общего IgA в пищеварительном тракте слепой кишки и IgG в сыворотке крови; снижение количества колоний энтерококков, устойчивых к ванкомицину в кишечнике 1-дневевых цыплят-бройлеров	(Sakai et al., 2006)
Lactiplantibacillus plantarum, штаммы TL1, RS5, RF14, RG11, RG14, и RI11	Супернатант	Увеличение суточной яйценоскости кур, уменьшение популяции фекальных патогенов; увеличение конечной массы тела, привеса, коэффициента конверсии корма, морфологии кишечника и уровня короткоцепочечных жирных кислот в кишечнике цыплят-бройлеров в возрасте 1 дня и несушек в возрасте 23 недель	(Thanh et al., 2009; Loh et al., 2014)
Lactiplantibacillus plantarum RI11	Супернатант	Увеличенная масса тела, коэффициент конверсии корма; улучшенная высота ворсинок в тонком кишечнике, повышенные уровни IgM и IgG в сыворотке крови, повышенный уровень экспрессии мРНК IGF-1 в печени	(Humam et al., 2019, 2021)

		цыплят-бройлеров в возрасте 1 дня, 22 дней и 88 дней.	
Bacillus subtilis, Lactobacillus acid ophilus BF1	Термоинактивированная культура	Повышенная эффективность кормления, снижение содержания холестерина и креатинина в плазме крови, изменение состава микробиоты слепой кишки у 1-дневеых цыплят-бройлеров	(Johnson et al., 2019)
Lactobacillus salivarius, Bacillus subtilis	Термоинактивированная культура	Улучшен суточный выход яиц, конверсия корма, доля поврежденных яиц; снижен уровень общего холестерина; повышено количество антител к вирусу птичьего гриппа у несушек в возрасте 24 недель.	(Zhang et al., 2012)
Lactiplantibacillus . plantarum RG14	Супернатант	Увеличенный прирост массы тела, потребления корма, питательных веществ и усвояемости питательных веществ; увеличение количества бактерий, разлагающих клетчатку, снижение общего количества простейших в рубце; снижение уровня лейкоцитов, лимфоцитов, базофилов, нейтрофилов и тромбоцитов; улучшение роста эпителия рубца и целостности кишечного барьера; увеличение мРНК IL-6 и снижение мРНК IL-1β, IL-10, TNF в тощей кишке у ягнят возрасте 112 дней.	(Izuddin et al., 2020)
Lactobacillus acidophilus	Лиофилизированная и инактивированная культура	Уничтожение *Helicobacter pylori* в контрольной группе (терапия на основе рабепразола, кларитромицина и амоксициллина) - 72%, в опытной группе (терапия + инактивированная культура) - 87% (p = 0.02, 120 человек)	(Canducci et al., 2000)
Lactobacillus acidophilus LB	Лактеол (инактивированный Lactobacillus acidophilus LB плюс ферментированная питательная среда), две капсулы в день	Ослабление болей, вздутия живота, уменьшение частоты диареи, улучшение качества жизни (группа с синдромом раздраженного кишечника и диареей, 297 человек)	(Tarrerias et al., 2011)
Bifidobacterium bifidum MIMBb75	Термоинактивированная культура	Облегчение боли более чем на 30%, облегчение симптомов раздраженного кишечника, 34% в активной группе против 19% в группе плацебо. Всего 443	(Andresen, Gschossmann, Layer et al.,

		человека	2020)
Lactobacillus acidophilus LB	Термоинактивированная культура	Уменьшилась частота стула; общие симптомы улучшились через 4 недели (137 пациентов с хронической диареей)	(Xiao et al., 2003)
Lactobacillus gasseri CP2305	Термоинактивированная культура, промытая и высушенная	Реакция на стресс студентов-медиков (работа с трупами), у студентов-мужчин улучшилось качество сна и была предотвращена диарея, у студенток женского пола эффекта не было (всего 32 человека)	(Nishida et al., 2017)
Lactobacillus gasseri CP2305	Термоинактивированная культура, промытая и высушенная	Реакции на хронический стресс у студентов-медиков. Значимое сокращение (P <0,05) тревоги и нарушений сна, сопровождающиеся изменениями электроэнцефалограммы, снижением уровня хромогранина в слюне и устранением изменений микробиоты, связанных со стрессом (60 человек)	(Nishida et al., 2019)
Mycobacterium manresensis	Термоинактивированная культура	Повышенный регуляторный Т-клеточный ответ; хорошая переносимость у взрослых с латентным туберкулезом и без него (51 человек)	(Montané et al., 2017)
Mycobacterium phlei	Инактивированная культура	Показатели симптомов и спирометрия улучшились у пациентов с умеренной, персистирующей астмой	(Zhang et al., 2012)
Haemophilus influenzae	Инактивированная культура	У 38 пациентов с хронической обструктивной болезнью легких уменьшились тяжелые обострения на 63%, обострения, требующие терапии кортикостероидами на 56% и госпитализации - на 90%	(Tandon et al., 2010)
Staphylococcus aureus, Streptococcus viridans, Streptococcus pneumoniae (6 штаммов),	Лиофилизированные бактериальные фрагменты	Снижение количества обострений на 25% в группе из 288 человек с синдромом раздраженного кишечника	(Braido et al., 2015)

Streptococcus pyogenes, Klebsiella pneumoniae, Klebsiella ozaena			
Streptococcus pneumoniae типа 3, Streptococcus pyogenes группы A, Branhamella catarrhalis, Staphylococcus aureus, Haemophilus influenzae типа B Klebsiella pneumoniae	Суспензия бактериальных антигенов	В группе 160 пациентов с рецидивирующими инфекциями дыхательных путей значимое (P <0,05) снижение числа эпизодов острой инфекции и применения антибиотиков	(Braido et al., 2014)
Lactobacillus bulgaricus штамм «I. Bogdanov patent strain Tumoronecroticance B-51» ATCC 21815	Лизоцимный лизат	Восстановление уровня лейкоцитов в крови (>3000/мм3) между 3 и 5 днями у всех 78 пациентов с раком и лейкопенией после химиотерапии	(Krusteva et al., 1997)

Заключение

Таким образом, постбиотики, несмотря на недостаточное количество исследований в данной области, представляют собой перспективное направление для разработки новых препаратов как для животных, так и для человека. Исследования в области постбиотиков имеют потенциальные практические применения в ветеринарии для улучшения пищеварения животных, повышения иммунитета и снижения риска развития различных заболеваний, а также в медицине для лечения и профилактики различных патологий, связанных с нарушением состава микробиома кишечника. Дальнейшие исследования в этой области могут также привести к разработке инновационных препаратов для улучшения качества жизни животных и людей.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания в сфере научной деятельности № FENW-2023–0008.

Литература (References)

1. Ağagündüz, D., Kocaadam-Bozkurt, B., Bozkurt, O., Sharma, H., Esposito, R., Özoğul, F., & Capasso, R. (2022). Microbiota alteration and modulation in Alzheimer's disease by gerobiotics: The gut-health axis for a good mind. Biomedicine & Pharmacotherapy, 153, 113430.
2. Aguilar-Toalá, J. E., Garcia-Varela, R., Garcia, H. S., Mata-Haro, V., González-Córdova, A. F., Vallejo-Cordoba, B., & Hernández-Mendoza, A. (2018). Postbiotics: An evolving term within the functional foods field. Trends in food science & technology, 75, 105-114.

3. Alzahrani, O. R., Hawsawi, Y. M., Alanazi, A. D., Alatwi, H. E., & Rather, I. A. (2022). In Vitro Evaluation of *Leuconostoc mesenteroides* Cell-Free-Supernatant GBUT-21 against SARS-CoV-2. Vaccines, 10(10), 1581.
4. Andresen, V., Gschossmann, J., & Layer, P. (2020). Heat-inactivated *Bifidobacterium bifidum* MIMBb75 (SYN-HI-001) in the treatment of irritable bowel syndrome: a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled clinical trial. The lancet Gastroenterology & hepatology, 5(7), 658-666.
5. Arimori, Y., Nakamura, R., Hirose, Y., Murosaki, S., Yamamoto, Y., Shidara, O., ... & Yoshikai, Y. (2012). Daily intake of heat-killed *Lactobacillus plantarum* L-137 enhances type I interferon production in healthy humans and pigs. Immunopharmacology and immunotoxicology, 34(6), 937-943.
6. Bayar, E., Bennett, P. R., Chan, D., Sykes, L., & MacIntyre, D. A. (2020, August). The pregnancy microbiome and preterm birth. In Seminars in immunopathology (Vol. 42, pp. 487-499). Springer Berlin Heidelberg.
7. Braido, F., Melioli, G., Candoli, P., Cavalot, A., Di Gioacchino, M., Ferrero, V., ... & Lantigen Study Group. (2014). The bacterial lysate Lantigen B reduces the number of acute episodes in patients with recurrent infections of the respiratory tract: the results of a double blind, placebo controlled, multicenter clinical trial. Immunology Letters, 162(2), 185-193.
8. Braido, F., Melioli, G., Cazzola, M., Fabbri, L., Blasi, F., Moretta, L., ... & Contini, P. (2015). Sub-lingual administration of a polyvalent mechanical bacterial lysate (PMBL) in patients with moderate, severe, or very severe chronic obstructive pulmonary disease (COPD) according to the GOLD spirometric classification: a multicentre, double-blind, randomised, controlled, phase IV study (AIACE study: advanced immunological

approach in COPD exacerbation). Pulmonary Pharmacology & Therapeutics, 33, 75-80.

9. Canducci, F., Armuzzi, A., Cremonini, F., Cammarota, G., Bartolozzi, F., Pola, P., ... & Gasbarrini, A. (2000). A lyophilized and inactivated culture of *Lactobacillus acidophilus* increases Helicobacter pylori eradication rates. Alimentary pharmacology & therapeutics, 14(12), 1625-1629.
10. Danladi, Y., Loh, T. C., Foo, H. L., Akit, H., Md Tamrin, N. A., & Naeem Azizi, M. (2022). Effects of postbiotics and paraprobiotics as replacements for antibiotics on growth performance, carcass characteristics, small intestine histomorphology, immune status and hepatic growth gene expression in broiler chickens. Animals, 12(7), 917.
11. Farberg, A. S., Jorizzo, J. L., Lio, P. A., Woolery-Lloyd, H. C., & FAAD, J. Z. M. (2020). Atopic dermatitis and the role of the skin microbiome in choosing prevention, treatment, and maintenance options. Journal of drugs in dermatology, 19(10), 935-940.
12. Gasmi, A., Bjørklund, G., Mujawdiya, P. K., Semenova, Y., Dosa, A., Piscopo, S., ... & Costea, D. O. (2022). Gut microbiota in bariatric surgery. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 1-16.
13. Humam, A. M., Loh, T. C., Foo, H. L., Izuddin, W. I., Zulkifli, I., Samsudin, A. A., & Mustapha, N. M. (2021). Supplementation of postbiotic RI11 improves antioxidant enzyme activity, upregulated gut barrier genes, and reduced cytokine, acute phase protein, and heat shock protein 70 gene expression levels in heat-stressed broilers. Poultry science, 100(3), 100908.
14. Humam, A. M., Loh, T. C., Foo, H. L., Samsudin, A. A., Mustapha, N. M., Zulkifli, I., & Izuddin, W. I. (2019). Effects of feeding different postbiotics produced by *Lactobacillus plantarum* on growth performance, carcass yield, intestinal morphology, gut microbiota composition, immune status, and growth gene expression in broilers under heat stress. Animals, 9(9), 644.

15. Izuddin, W. I., Humam, A. M., Loh, T. C., Foo, H. L., & Samsudin, A. A. (2020). Dietary postbiotic *Lactobacillus plantarum* improves serum and ruminal antioxidant activity and upregulates hepatic antioxidant enzymes and ruminal barrier function in post-weaning lambs. Antioxidants, 9(3), 250.
16. Johannsen, H., & Prescott, S. L. (2009). Practical prebiotics, probiotics and synbiotics for allergists: how useful are they?. Clinical & Experimental Allergy, 39(12), 1801-1814.
17. Johnson, C. N., Kogut, M. H., Genovese, K., He, H., Kazemi, S., & Arsenault, R. J. (2019). Administration of a postbiotic causes immunomodulatory responses in broiler gut and reduces disease pathogenesis following challenge. Microorganisms, 7(8), 268.
18. Kang, J., Lee, J. J., Cho, J. H., Choe, J., Kyoung, H., Kim, S. H., ... & Song, M. (2021). Effects of dietary inactivated probiotics on growth performance and immune responses of weaned pigs. Journal of Animal Science and Technology, 63(3), 520.
19. Krusteva, E., Hristova, S., Damyanov, D., Bogdanov, A., Altaparmakov, I., & Pacelli, E. (1997). Clinical study of the effect of the preparation DEODAN on leukopenia, induced by cytostatics. International journal of immunopharmacology, 19(9-10), 487-492.
20. Loh, T. C., Choe, D. W., Foo, H. L., Sazili, A. Q., & Bejo, M. H. (2014). Effects of feeding different postbiotic metabolite combinations produced by *Lactobacillus plantarum* strains on egg quality and production performance, faecal parameters and plasma cholesterol in laying hens. BMC veterinary research, 10, 1-9.
21. Loh, T. C., Thu, T. V., Foo, H. L., & Bejo, M. H. (2013). Effects of different levels of metabolite combination produced by *Lactobacillus plantarum* on growth performance, diarrhoea, gut environment and digestibility of postweaning piglets. Journal of Applied Animal Research, 41(2), 200-207.

22. Maguire, M., & Maguire, G. (2019). Gut dysbiosis, leaky gut, and intestinal epithelial proliferation in neurological disorders: towards the development of a new therapeutic using amino acids, prebiotics, probiotics, and postbiotics. Reviews in the Neurosciences, 30(2), 179-201.
23. Maina, T. W., McDonald, P. O., Samuel, B. E. R., Sardi, M. I., Yoon, I., Rogers, A., & McGill, J. L. (2023). Feeding *Saccharomyces cerevisiae* fermentation postbiotic products alters immune function and the lung transcriptome of preweaned calves with an experimental viral-bacterial coinfection. Journal of Dairy Science.
24. Montané, E., Barriocanal, A. M., Arellano, A. L., Valderrama, A., Sanz, Y., Perez-Alvarez, N., ... & Cardona, P. J. (2017). Pilot, double-blind, randomized, placebo-controlled clinical trial of the supplement food Nyaditum resae® in adults with or without latent TB infection: Safety and immunogenicity. PLoS One, 12(2), e0171294.
25. Nam, Y., Kim, J., Baek, J., & Kim, W. (2021). Improvement of cutaneous wound healing via topical application of heat-killed *lactococcus chungangensis* cau 1447 on diabetic mice. Nutrients, 13(8), 2666.
26. Nguyen, T., Brody, H., Radaic, A., & Kapila, Y. (2021). Probiotics for periodontal health—Current molecular findings. Periodontology 2000, 87(1), 254-267.
27. Nishida, K., Sawada, D., Kawai, T., Kuwano, Y., Fujiwara, S., & Rokutan, K. (2017). Para-psychobiotic *Lactobacillus gasseri* CP2305 ameliorates stress-related symptoms and sleep quality. Journal of applied microbiology, 123(6), 1561-1570.
28. Nishida, K., Sawada, D., Kuwano, Y., Tanaka, H., & Rokutan, K. (2019). Health benefits of *Lactobacillus gasseri* CP2305 tablets in young adults exposed to chronic stress: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. Nutrients, 11(8), 1859.

29. Patel, R. M., & Denning, P. W. (2013). Therapeutic use of prebiotics, probiotics, and postbiotics to prevent necrotizing enterocolitis: what is the current evidence? Clinics in perinatology, 40(1), 11-25.
30. Patel, R. M., Myers, L. S., Kurundkar, A. R., Maheshwari, A., Nusrat, A., & Lin, P. W. (2012). Probiotic bacteria induce maturation of intestinal claudin 3 expression and barrier function. The American journal of pathology, 180(2), 626-635.
31. Patil, S., Sawant, S., Hauff, K., & Hampp, G. (2019). Validated postbiotic screening confirms presence of physiologically active metabolites, such as short-chain fatty acids, amino acids and vitamins in Hylak® Forte. Probiotics and antimicrobial proteins, 11, 1124-1131.
32. Poeta, M., Cioffi, V., Tarallo, A., Damiano, C., Lo Vecchio, A., Bruzzese, E., ... & Guarino, A. (2023). Postbiotic Preparation of *Lacticaseibacillus rhamnosus* GG against Diarrhea and Oxidative Stress Induced by Spike Protein of SARS-CoV-2 in Human Enterocytes. Antioxidants, 12(10), 1878.
33. Rooks, M. G., & Garrett, W. S. (2016). Gut microbiota, metabolites and host immunity. Nature reviews immunology, 16(6), 341-352.
34. Saeed, M., Afzal, Z., Afzal, F., Kha, R. U., Elnesr, S. S., Alagawany, M., & Chen, H. (2023). Use of Postbiotic as Growth Promoter in Poultry Industry-Current Knowledge and Future Prospects. Food Science of Animal Resources.
35. Sakai, Y., Tsukahara, T., Bukawa, W., Matsubara, N., & Ushida, K. (2006). Cell preparation of *Enterococcus faecalis* strain EC-12 prevents vancomycin-resistant enterococci colonization in the cecum of newly hatched chicks. Poultry science, 85(2), 273-277.
36. Salminen, S., Collado, M. C., Endo, A., Hill, C., Lebeer, S., Quigley, E. M., ... & Vinderola, G. (2021). The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and

scope of postbiotics. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 18(9), 649-667.

37. Scott, E., De Paepe, K., & Van de Wiele, T. (2022). Postbiotics and Their Health Modulatory Biomolecules. Biomolecules, 12(11), 1640.

38. Shapiro, H., Thaiss, C. A., Levy, M., & Elinav, E. (2014). The cross talk between microbiota and the immune system: metabolites take center stage. Current opinion in immunology, 30, 54-62.

39. Shida, K., Kiyoshima-Shibata, J., Kaji, R., Nagaoka, M., & Nanno, M. (2009). Peptidoglycan from lactobacilli inhibits interleukin-12 production by macrophages induced by *Lactobacillus casei* through Toll-like receptor 2-dependent and independent mechanisms. Immunology, 128(1pt2), e858-e869.

40. Spisni, E., Turroni, S., Alvisi, P., Spigarelli, R., Azzinnari, D., Ayala, D., ... & Valerii, M. C. (2022). Nutraceuticals in the modulation of the intestinal microbiota: Current status and future directions. Frontiers in Pharmacology, 13, 841782.

41. Suez, J., Zmora, N., Segal, E., & Elinav, E. (2019). The pros, cons, and many unknowns of probiotics. Nature medicine, 25(5), 716-729.

42. Sukegawa, S., Ihara, Y., Yuge, K., Rao, S., Oka, K., Arakawa, F., ... & Morimatsu, F. (2014). Effects of oral administration of heat-killed *Enterococcus faecium* strain NHRD IHARA in post-weaning piglets. Animal Science Journal, 85(4), 454-460.

43. Szajewska, H., Skorka, A., & Pieścik-Lech, M. (2015). Fermented infant formulas without live bacteria: a systematic review. European journal of pediatrics, 174, 1413-1420.

44. Tandon, M. K., Phillips, M., Waterer, G., Dunkley, M., Comans, P., & Clancy, R. (2010). Oral immunotherapy with inactivated nontypeable

Haemophilus influenzae reduces severity of acute exacerbations in severe COPD. Chest, 137(4), 805-811.

45. Tarrerias, A. L., Costil, V., Vicari, F., Letard, J. C., Adenis-Lamarre, P., Aisene, A., ... & Canard, J. M. (2011). The effect of inactivated *Lactobacillus* LB fermented culture medium on symptom severity: observational investigation in 297 patients with diarrhea-predominant irritable bowel syndrome. Digestive Diseases, 29(6), 588-591.
46. Thanh, N. T., Loh, T. C., Foo, H. L., Hair-Bejo, M., & Azhar, B. K. (2009). Effects of feeding metabolite combinations produced by *Lactobacillus plantarum* on growth performance, faecal microbial population, small intestine villus height and faecal volatile fatty acids in broilers. British poultry science, 50(3), 298-306.
47. Thu, T. V., Loh, T. C., Foo, H. L., Yaakub, H., & Bejo, M. H. (2011). Effects of liquid metabolite combinations produced by *Lactobacillus plantarum* on growth performance, faeces characteristics, intestinal morphology and diarrhoea incidence in postweaning piglets. Tropical animal health and production, 43, 69-75.
48. Tsukahara, T., Yoshida, Y., Tsushima, T., Watanabe, T., Matsubara, N., Inoue, R., & Ushida, K. (2011). Evaluation of the heat-killed and dried cell preparation of *Enterococcus faecalis* against villous atrophy in early-weaned mice and pigs. Animal science journal, 82(2), 302-306.
49. Vieira, A. T., Fukumori, C., & Ferreira, C. M. (2016). New insights into therapeutic strategies for gut microbiota modulation in inflammatory diseases. Clinical & translational immunology, 5(6), e87.
50. Vieira, A. T., Rocha, V. M., Tavares, L., Garcia, C. C., Teixeira, M. M., Oliveira, S. C., ... & Nicoli, J. R. (2016). Control of *Klebsiella pneumoniae* pulmonary infection and immunomodulation by oral treatment with the

commensal probiotic Bifidobacterium longum 51A. Microbes and infection, 18(3), 180-189.

51. Vinderola, G., Sanders, M. E., & Salminen, S. (2022). The concept of postbiotics. Foods, 11 (8): 1077.
52. Wang, Y., & Li, H. (2022). Gut microbiota modulation: a tool for the management of colorectal cancer. Journal of Translational Medicine, 20(1), 178.
53. Xiao, S. D., De Zhang, Z., Lu, H., Jiang, S. H., Liu, H. Y., Wang, G. S., ... & Wang, G. L. (2003). Multicenter, randomized, controlled trial of heat-killed *Lactobacillus acidophilus* LB in patients with chronic diarrhea. Advances in therapy, 20, 253-260.
54. Zhang, J. L., Xie, Q. M., Ji, J., Yang, W. H., Wu, Y. B., Li, C., ... & Bi, Y. Z. (2012). Different combinations of probiotics improve the production performance, egg quality, and immune response of layer hens. Poultry science, 91(11), 2755-2760.
55. Zhang, J. L., Xie, Q. M., Ji, J., Yang, W. H., Wu, Y. B., Li, C., ... & Bi, Y. Z. (2012). Different combinations of probiotics improve the production performance, egg quality, and immune response of layer hens. Poultry science, 91(11), 2755-2760.
56. Zhong, Y., Wang, S., Di, H., Deng, Z., Liu, J., & Wang, H. (2022). Gut health benefit and application of postbiotics in animal production. Journal of Animal Science and Biotechnology, 13(1), 1–12.