



Revista Médica de Trujillo

Publicación oficial de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Trujillo - Perú

Artículo Original

Efecto intestinal y esplénico en *Mus musculus* con la administración oral de prebióticos y cepas probióticas

Gut and spleen effect in *Mus musculus* after the oral administration of pre and probiotics

Vladimir Alexander Rodas-Malca^{1,2,3}

1. Escuela de Posgrado sección de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Trujillo. 2. Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, Escuela de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Trujillo. 3. Servicio de Medicina, Hospital I Luis Albrecht – ESSALUD Red Asistencial La Libertad.

Correspondencia.

Vladimir Alexander Rodas Malca

Celular: +51 942073644

vladimirestudiente@hotmail.com

Dirección: Calle New York 155
Urb. San Nicolás. Trujillo - Perú

Recibido: 24/09/20

Aceptado: 28/01/21

RESUMEN:

Objetivos: Demostrar que la administración oral de prebióticos y cepas probióticas produce un efecto beneficioso histopatológico intestinal y esplénico del *Mus musculus*.

Material y métodos: La población de estudio fueron Ratones albinos (*Mus musculus*) a los que se les administró prebióticos o cepas probióticas, luego se analizó las muestras histopatológicas de intestino y bazo de cada ratón, se realizó las fijaciones y coloración de las muestras. El análisis estadístico se dio por la prueba T de Bonferroni; se usaron las pruebas de comparaciones múltiples en la variable de inflamación, el análisis de varianza Kruskal-Wallis fue usado para determinar la diferencia entre los grupos.

Resultados: El grupo que recibió 5 cepas probióticas y 1 prebiótico presentó mayor número de placas de peyer y de proteínas como albúmina y globulinas a diferencia de los demás grupos ($p < 0.001$); al igual que mayor altura en las criptas y vellosidades del intestino delgado y grueso así como una mucosa más gruesa con una relación vellosidad/cripta que presentó diferencia significativa ($p < 0.001$).

Conclusiones: Las cepas Probióticas modifican la actividad del intestino delgado, grueso y Bazo; del *Mus musculus*, aumentando su actividad inmune, produciendo cambios histomorfométricos, que a su vez si van acompañadas de sustancias prebióticas el resultado será el óptimo.

Palabras clave: Microbioma gastrointestinal, prebiótico, probiótico, *Mus musculus*.

SUMMARY:

Objective: Demonstrate that oral administration of prebiotics and probiotic strains produces a beneficial intestinal and splenic histopathological effect of *Mus musculus*.

Material y methods: The study population was albino mice (*Mus musculus*) to which prebiotics or probiotic strains were administered, then the histopathological samples of the intestine and spleen of each mouse were analyzed, the fixations and staining of the samples were carried out. The statistical analysis was given by the Bonferroni T test; Multiple comparison tests were used in the inflammation variable, the Kruskal-Wallis analysis of variance was used to determine the difference between the groups.

Results: The group that received 5 probiotic strains and 1 prebiotic presented a greater number of peyer's patches and proteins such as albumin and globulins, unlike the other groups ($p < 0.001$); as well as greater height in the crypts and villi of the small and large intestine, as well as a thicker mucosa with a villi / crypt ratio that presented a significant difference ($p < 0.001$).

Conclusion: Probiotic strains modify the activity of the small, large intestine and spleen; *Mus musculus*, increasing its immune activity, producing histomorphometric changes, which in turn, if accompanied by prebiotic substances, the result will be the optimal.

Keywords: Gastrointestinal microbiome, prebiotics, probiotics, *Mus musculus*.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, ha aumentado la expectativa de vida y con ello el interés por mantenernos sanos, al igual que se incrementó la importancia de los factores que afectan la salud es por ello que el tema de la alimentación ocasiona mucha preocupación al igual que su impacto sobre la salud de las personas (1). En años recientes se ha formulado, el concepto de “alimento funcional” el cual se define como “alimentos que presentan ciertos componentes, con beneficios en el cuerpo humano, logrando recuperar la homeostasis y disminuyendo la probabilidad de contraer enfermedades incluso presentando efectos nutricionales sobreañadidos” (2).

Por otro lado, la ingesta de la “dieta mediterránea”, la cual está conformada por frutas, verduras, legumbres, y productos lácteos fermentados, sin dejar de mencionar otros como: pescados, vino tinto y aceite de oliva en base a una alimentación y forma de vida saludable, ha demostrado tener efectos beneficiosos en enfermedades crónicas, en particular sobre ciertas enfermedades cardiovasculares y tipos de cáncer. Por esta razón, la bibliografía especializada considera que las bondades y seguimiento de la dieta mediterránea residen en su conformación nutricia, particularmente porque cuenta con las cepas probióticas y/o prebióticos siendo los principales estos últimos (3,4).

Se consideran probióticos a microorganismos vivos que al ser suministrados en una porción específica producen beneficios en la salud del receptor (5); mientras que, prebiótico se refiere a sustancias seleccionadas y fermentadas que ejercen modificaciones en la microbiota gastrointestinal (6), confiriendo así beneficios a la salud del huésped. Estos nutrientes son absorbidos en el intestino donde residen diversos tipos de bacterias (microbiota) las cuales se mantienen en simbiosis con el hospedero, por lo que van a influir de manera permanente en la fisiología de este. Existen investigaciones elaboradas en diferentes contextos fisiológicos y patológicos que demuestran la importante relación bacteria-hospedero que se da en la mucosa intestinal, generando así un perfeccionamiento del sistema inmune (7). Por ello hoy en día, se ha retomado un alto interés en la microbiota intestinal como un factor determinante en la salud y en la dolencia humana (8,9). Incluso las

sociedades científicas especialistas en el tema han propuesto modelos nuevos que relacionan el sistema inmunitario, los nutrientes y el cáncer (10,11) o los antimutágenos y la dieta (12).

Esto toma mayor importancia ya que la evidencia epidemiológica demuestra que las enfermedades gastrointestinales han presentado un incremento acelerado lo que se evidencia al analizar su presencia y progresividad en los últimos decenios (13).

Tomando en cuenta ello, los bienes llamados alimentos funcionales son de vital importancia en el entorno de nuestra alimentación y el mejoramiento de la salud. Los cuales no solo deben ser considerados importantes para estar saludables, sino también debe incluirse para evitar y mejorar ciertas enfermedades (14).

Los trabajos de investigación, dejan evidenciar la importancia de tener conocimiento acerca del desarrollo y la forma de actuar de los probióticos en seres humanos sanos (15) como por ejemplo, el yogurt que habitualmente consumimos incluye dos bacterias lácticas, *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus bulgaricus*, que favorecen poblando el intestino además de dar protección contra afecciones gastrointestinales. La importancia de estas cepas es vital en la etapa neonatal. Su presencia estimula el desarrollo del sistema inmunológico y la tolerancia oral a los alérgenos, generando una acción sostenida con respecto a las defensas del cuerpo humano además mejora la función enzimática de la digestión (16).

Diversos estudios realizados in Vitro han evidenciado el impacto de los probióticos en patologías como intolerancia a la lactosa, infecciones del tracto uterino, diarreas, hipercolesterolemia, vaginitis, alergia alimentaria y desórdenes inmunológicos (17). Por lo cual se debe considerar la evaluación del sistema inmune; los folículos, linfocitos intraepiteliales, Ig A, placas de Peyer y linfocitos de lámina propia. Así como los nódulos linfáticos mesentéricos: células plasmáticas, centros germinales y los granulocitos de médula ósea (18,19).

Aunque se cuenta con una gran cantidad de investigaciones que ponen de manifiesto la importancia de los prebióticos y cepas probióticas sobre la disminución o mejoramiento de diversas

enfermedades continúa sin ser completamente aplicado en la práctica clínica. Comúnmente se usa en la presencia de patologías intestinales como la diarrea pero también tiene uso en patologías funcionales y hasta en alteraciones extraintestinales como alergias o en la afectación por *H. pylori*. Por lo que se aconseja que cada cepa probiótica sea estudiada de manera individual para así establecer su efectividad además que sea segura para el consumo.

Es por ello que el presente trabajo pretende aportar conocimientos acerca de los efectos a beneficiosos a nivel microbiológico e histopatológico intestinal y esplénico del *Mus musculus* de la administración oral de prebióticos y cepas probióticas.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Se llevó a cabo un trabajo experimental en el laboratorio de microbiología de la Escuela de Medicina de la Universidad Nacional de Trujillo. Los ratones se adquirieron en el bioterio del Instituto Nacional de Salud - Perú, pertenecientes a

la especie *Mus musculus* Balb/c/CNPB; además, se usaron hembras adultas de 32 días de edad exacta, con un peso medio de 20 g, fueron alojados en jaulas de policarbonato (jaula tipo III, Techniplast, Italia) con una temperatura adecuada entre 22 a 24° C, con libre acceso de comida y agua y con fotoperiodos de 12 horas.

La muestra estuvo conformada por 56 ratones hembras, las cuales se distribuyeron por aleatorización simple en siete grupos conformado de ocho ratones cada uno (cinco grupos experimentales y dos controles), a los que se asignó un código de identificación (Tabla 1). Para el periodo de adaptación de la muestra se tomó en cuenta 14 días en el laboratorio con el mismo régimen alimenticio, en este lapso no se suministró prebióticos o cepas probióticas, ni se le realizó algún tipo de procedimiento. El 15° día se consideró como el primer día donde se efectuó la toma de pesos de los ratones y demás observaciones necesarias que fueron especificadas la ficha de investigación de cada ratón.

Tabla 1. Los siete grupos según clasificación y alimentación de los ratones.

Grupo	Tipo	Alimentación habitual	Alimentación adicional con 1 ml c/8 horas
I Grupo	Control	Arroz	Ninguna
II Grupo	Control	Arroz	Ninguna
III Grupo	Caso	Arroz	Yogurt con 2 cepas Probióticas (<i>Lactobacillus bulgaricus</i> y <i>Streptococcus thermophilus</i>).
IV Grupo	Caso	Arroz	Yogurt con 2 cepas Probióticas (<i>Lactobacillus bulgaricus</i> y <i>Streptococcus thermophilus</i>). + prebióticos (FOS-fructooligosacáridos)
V Grupo	Caso	Arroz	Fármaco (Vacuna Gel NB NF) con 2 cepas Probióticas (<i>Lactobacillus bulgaricus</i> y <i>acidophilus</i>) en concentración no menor a $\geq x10^7$ UFC/100 ml.
VI Grupo	Caso	Arroz	Yogurt con 5 cepas Probióticas (<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Lactobacillus bulgaricus</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> y <i>Lactobacillus casei</i> inmunitas).
VII Grupo	Caso	Arroz	Yogurt con 5 cepas Probióticas (<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Lactobacillus bulgaricus</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> y <i>Lactobacillus casei</i> inmunitas) + prebióticos (FOS-fructooligosacáridos)

El alimento asignado para cada ratón constó de 1 ml de yogur cada 8 horas, el que contenía o 10^8

unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo de prebióticos o 1.18×10^8 UFC de probióticos. En el

caso del fármaco (Vacuna Gel NB NF) por cada 1 ml recibió 10^7 UFC de probióticos

A los grupos III, IV, V, VI, VII; se les alimentó por un lapso de 60 días, luego de los cuales se les sacrificó usando la técnica de decorticación; en seguida a los ratones se les realizó autopsia; extrayendo el intestino delgado, intestino grueso y bazo para ser analizados. En proceso de simple ciego se obtuvieron vistas micro y macroscópicas del intestino delgado, intestino grueso y bazo de los ratones parte del experimento. Similar procedimiento se realizó con el grupo I y II, luego de los primeros 14 días de adaptación en el primer grupo y luego de 74 días de alimentación en el segundo, teniendo así dos controles al inicio y al final del experimento. A todos los ratones se les tomó muestra sanguínea punzando la zona mandibular. Las biopsias se mantuvieron en formol y fueron transportadas en pomos titulados con el código respectivo de cada ratón, al laboratorio de anatomía patológica del Hospital Regional Docente de Trujillo donde se realizaron las fijaciones y coloración de las muestras. Luego, se procedió al análisis anatomopatológico en forma de simple ciego (17,20).

El material que se usó para la extracción sanguínea comprendió: agujas comunes (BD Microlance, Becton Dickinson, EE.UU.) de 21G a 23G, dependiendo de las dimensiones del ratón además de tubos Eppendorf para recoger la muestra sanguínea. De la misma forma, se dispuso lancetas usadas particularmente para este tipo de trabajo (Goldenrod animal lancet, 4 mm, 5 mm y 5,5 mm, Medipoint, EE.UU.)(21).

La obtención se realizó sujetando al ratón de la piel del cuello generando la tracción necesaria como para disminuir transitoriamente el retorno venoso yugular, facilitando así el sangrado, aunque se tomó cuidado de que el ratón respire sin dificultad(22).

Asimismo, el experimento se efectuó bajo los principios elementales que se aplican en las investigaciones biomédicas con animales que fueron creados en el año 1985 por el Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas de la Organización Mundial de la Salud(19).

Procedimiento y análisis estadístico de datos:

Las diferencias entre los grupos han sido evaluadas usando el análisis de varianza. La prueba T de Bonferroni fue usada para las pruebas de comparaciones múltiples. Segmentos individuales de intestino han sido categorizados para inflamación (la inflamación basada en la infiltración polimorfonuclear de la pared intestinal: 0=ninguna, 1+=infiltración confinada a la mucosa, 2+=infiltración de mucosa más mínima submucosa, 3+= PMN agregado en submucosa, y 4+=infiltración propia de la muscular(23).

La Vascularización fue estimada de acuerdo al grado de llenado de los vasos sanguíneos y de la fuga de los eritrocitos de los vasos: 0 = Normal, 1+ = dilatación de los vasos con estasis de los eritrocitos, 2+ = diapédesis eritrocitaria, 3+ = hemorragia intersticial, y 4+ = hemorragia extensiva. Goblet cell (0 = células mucosas presentes a lo largo de toda la longitud de la vellosidad, 1+ = células mucosas presentes en el 75% de la longitud; 2+ = células mucosas presentes en el 50% de la longitud; 3+= células mucosas presentes en el 25% de longitud; y 4+ = células mucosas no presentes.) según el score subjetivo descrito por Guzmán- Stein et al.

Las diferencias en inflamación, Vascularización han sido evaluadas por el análisis de varianza de Kruskal-Wallis, Cuando el valor de P obtenido de las pruebas estadísticas Kruskal-Wallis sea significativo, la prueba de comparación múltiple fue usada para determinar la diferencia entre los grupos. Para el análisis de la parte estadística se usó el programa SPSS v26.0.

Los datos serán expresados en promedios \pm SD para el número de especímenes presentados en paréntesis. Valores de p de comparaciones entre 2 grupos de cada fase determinada por la Prueba T student o la Prueba de Mann-Whitney. Se consideró $p < 0.05$ estadísticamente significativo.

RESULTADOS:

Promedio de Placas de Peyer según grupo de investigación: Se observa diferencia altamente significativa ($p < 0.001$) entre el caso 5 con 11 placas de peyer y los otros grupos, muy significativa ($p < 0.01$) entre el caso 4 con 9.38 placas de peyer y los casos 1 (8.38 placas de peyer) y 3 (8.13 placas de peyer); y significativa ($p < 0.05$) entre el caso 2 (8.88 placas de peyer) y los controles (control 1 y 2 con 7.50 y 7.63 placas de peyer respectivamente).

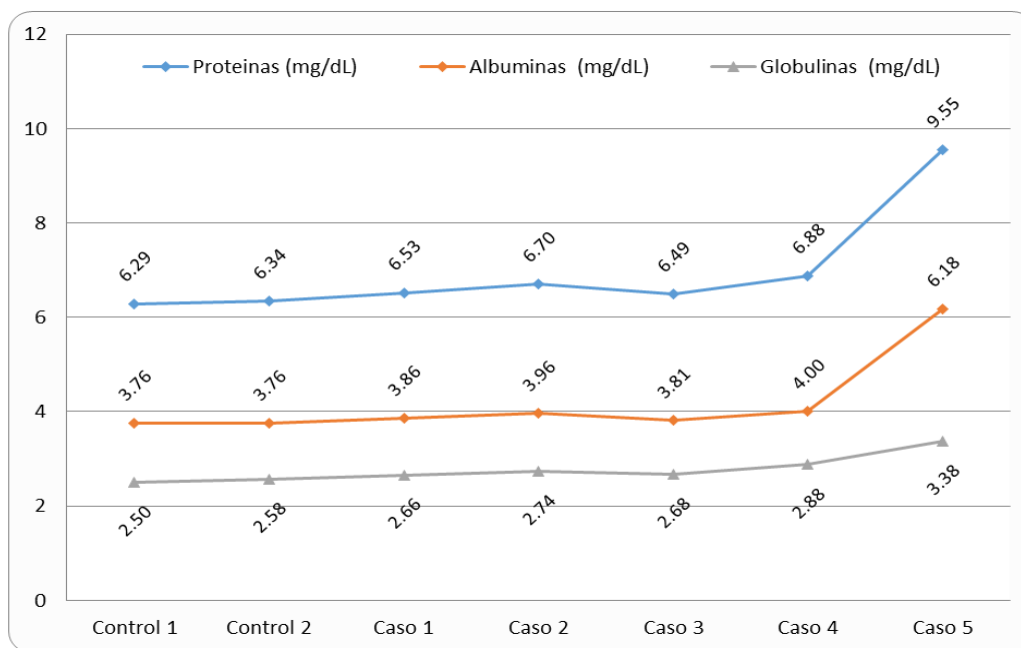


Figura 1: Promedio de Proteínas y Fraccionadas según grupo de investigación: En relación a las proteínas se encuentra diferencia altamente significativa ($p < 0.001$) entre el caso 5 y los otros grupos, muy significativa ($p < 0.01$) entre el caso 4 y los casos 1 y 3; y significativa ($p < 0.05$) entre el caso 2 y caso 3; y el caso 1 y los controles. En relación a la Albumina se encuentra diferencia altamente significativa ($p < 0.001$) entre el caso 5 y los otros grupos, muy significativa ($p < 0.01$) entre el caso 4 y los casos 1 y 3; y significativa ($p < 0.05$) entre el caso 2 y caso 3. En las Globulinas se encuentra diferencia altamente significativa ($p < 0.001$) entre el caso 5 y los otros grupos, muy significativa ($p < 0.01$) entre el caso 4 y los casos 1 y 3; y significativa ($p < 0.05$) entre el caso 2 y el control 1.

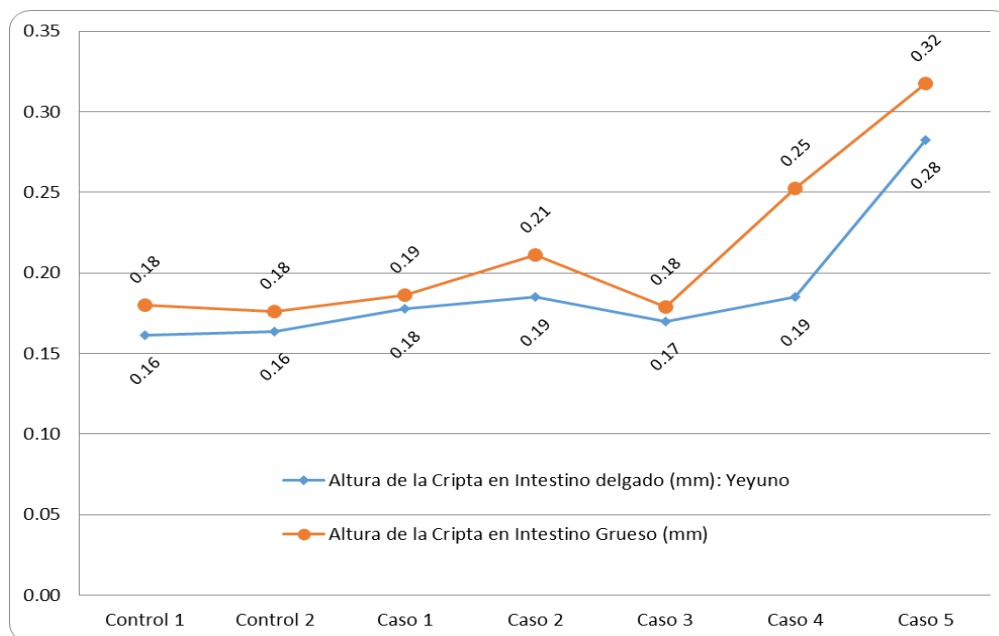


Figura 2 A: Promedio de altura de las criptas en el intestino, según grupo de investigación. En relación al intestino delgado se encontró diferencia altamente significativa ($p < 0.001$) entre el caso 5 y los otros grupos, muy significativa ($p < 0.01$) entre el caso 4,2 y los controles. En el intestino grueso se encontró diferencia altamente significativa ($p < 0.001$) entre el caso 5 y los otros grupos, muy significativa ($p < 0.01$) entre el caso 4 y los otros grupos, y significativa entre el caso 2 y los controles y el caso 3.

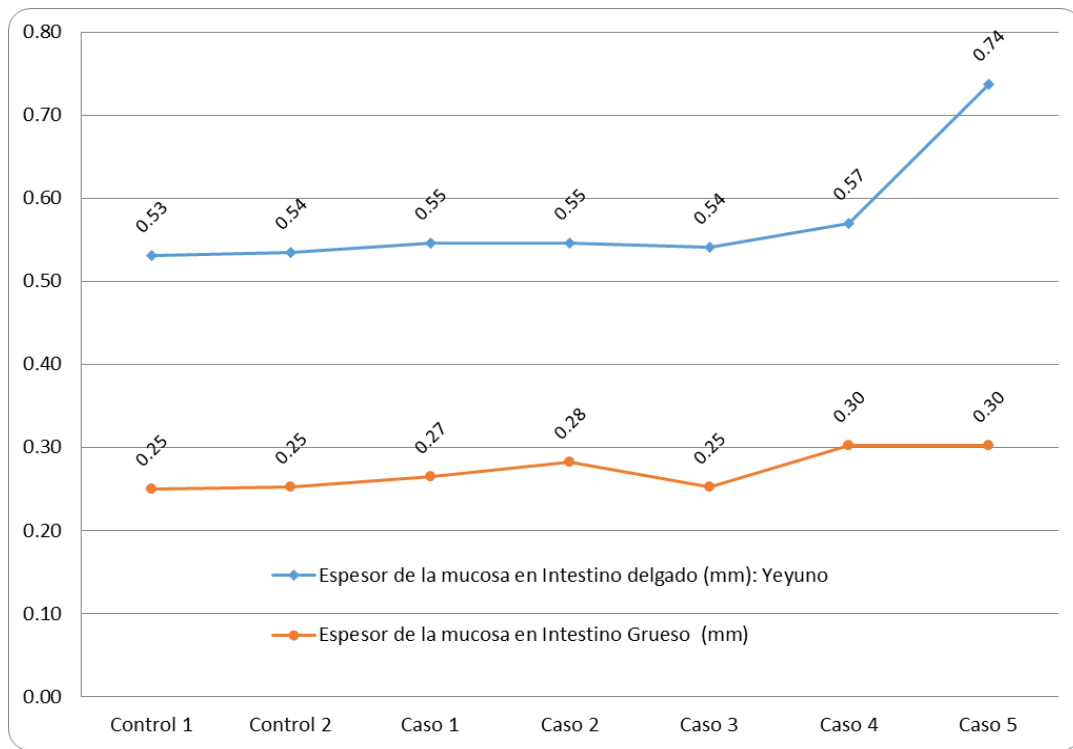


Figura 2 B: Promedio de espesor de la mucosa en intestino delgado y grueso según grupo de investigación: En relación al intestino delgado se encontró diferencia altamente significativa ($p < 0.001$) entre el caso 5 y los otros grupos, muy significativa ($p < 0.01$) entre el caso 4 y los controles y el caso 3. En el intestino grueso se encontró diferencia altamente significativa ($p < 0.001$) entre el caso 5,4 y los otros grupos, muy significativa ($p < 0.01$) entre el caso 2 y los controles y el caso 3.

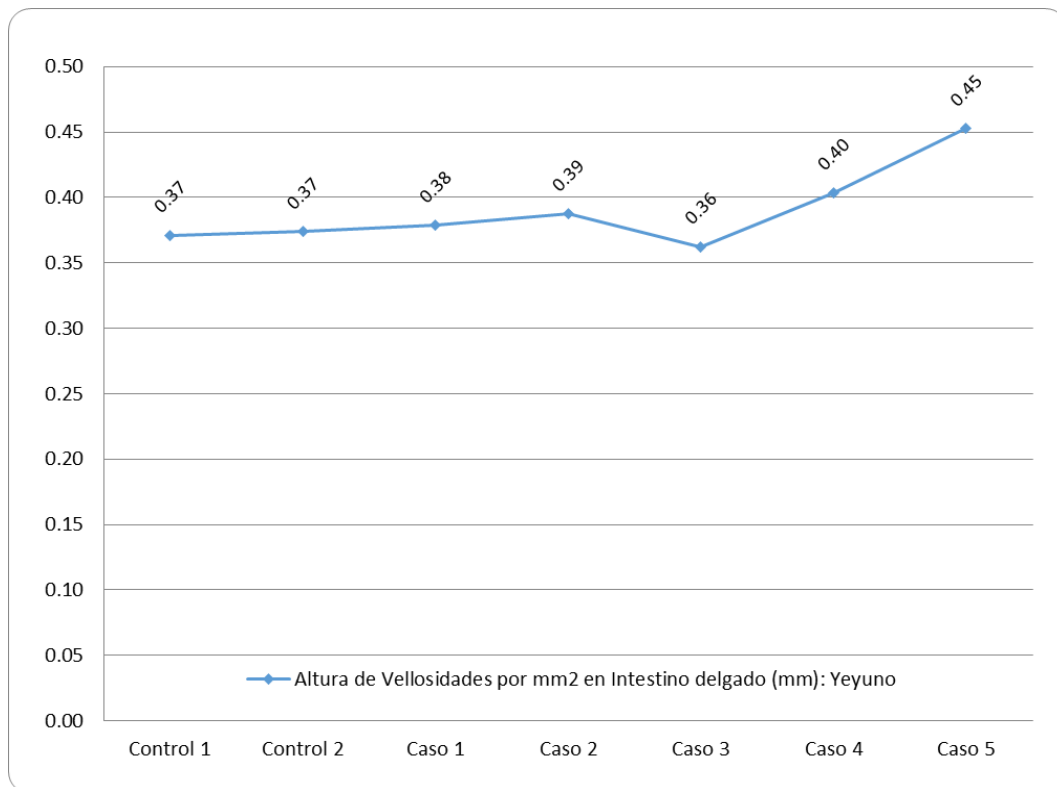


Figura 2 C: Promedio de Altura de Vellosidades por mm2 en intestino delgado, según grupo de investigación: Se encontró diferencia altamente significativa ($p < 0.001$) entre el caso 5 y los otros grupos, muy significativa ($p < 0.01$) entre el caso 4 y los otros grupos, y significativa ($p < 0.05$) entre el caso 2 y el control 1, el caso 3.

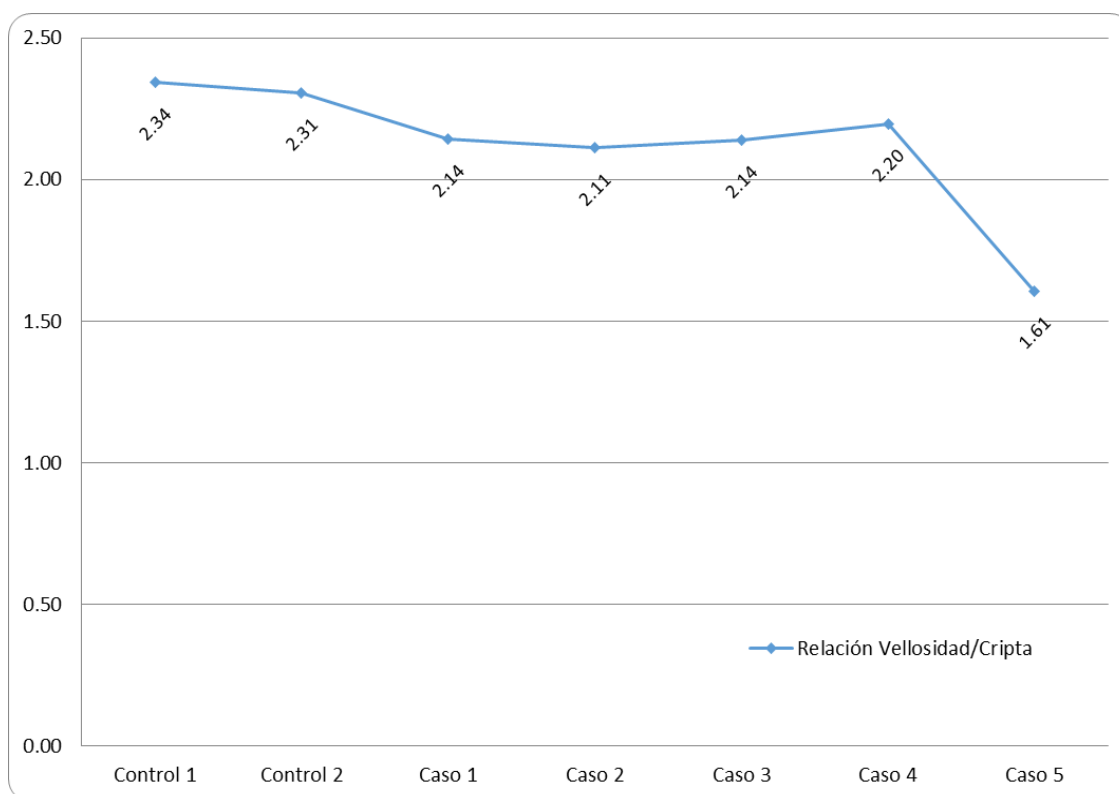


Figura 3: Relación Vellovidad/Cripta en el intestino delgado según grupo de investigación. Se encontró diferencia significativa ($p < 0.05$) entre el caso 5 y los otros grupos.

DISCUSIÓN:

Actualmente existen múltiples artículos publicados que han investigado acerca de la asociación entre los probióticos (levaduras y bacterias acidolácticas) y la generación de patologías crónicas (alergias, cáncer, etc.) demostrando que existe un efecto benéfico para prevenir las mismas(24,25).

Aunque el conocimiento acerca de los efectos específicos que tienen sobre la economía de seres humanos sanos y su probable utilidad como agentes terapéuticos y/o de prevención aún es pobre, se vuelve una necesidad indagar sus efectos en seres humanos sanos, para poder dar recomendaciones con una base científica como terapia preventiva, teniendo conocimiento real sobre las dosis exactas con mayor eficacia y menos efectos adversos.

En el presente trabajo se analizó el efecto de la administración oral de productos que contienen cinco cepas Probióticas (bacterias acidolácticas) que se usa habitualmente en la industria alimenticia (*Lactobacillus paracasei* subsp. *casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*) o que solo contienen dos de ellas, y también un caso

asociado a prebióticos (FOS-fructooligosacáridos), en la fisiología y el desarrollo intestinal de animales sanos.

La barrera intestinal es encargada de permitir la entrada y salida de nutrientes y otras sustancias al cuerpo afectarán el estado nutricional del ser humano, por lo que es necesario mantenerla funcionando correctamente para así evitar la génesis de distintas patologías.

Para establecer la concentración necesaria de bacterias y el tiempo a utilizar para el experimento se tomaron en cuenta diversos artículos previamente publicados(26,27).

El crecimiento esperado de las ratas y su desarrollo metabólico parece no verse afectado con el consumo de cepas probióticas lo que podría ayudar a incluirlas con las dosis estudiadas en la dieta como suplemento(26).

No obstante, la Inmuno - Histo - Morfometría intestinal y la motilidad del intestino delgado, es modificada por el consumo de ambas cepas. Aparentemente activan el sistema inmunológico intestinal, debido a que se observa un incremento en

el número de placas de Peyer del yeyuno de las ratas y un incremento en el recuento linfocitario en su colon. Esto concuerda con un probable efecto inmunomodulador de los probióticos referido en diversas investigaciones(24,25).

Existe una buena cantidad de Goblet Cells en intestino grueso, lo cual sería muy beneficioso en la producción de moco, muy necesaria en este órgano.

Hay diferencia significativa entre los especímenes que tuvieron dieta a base de cepas probióticas y los que no recibieron, lo cual redundaría en una mejor respuesta inmunitaria.

La vascularización, inflamación es normal en todos los especímenes, pero la inflamación es más notoria en las muestras que no recibieron cepas probióticas, esto se explica por la falta de producción de moco a cargo de los goblet cells.

Finalmente se observa claramente la acción de soporte inmunológico en el efecto que produce en la pulpa blanca.

Se concluye que las cepas Probióticas modifican la actividad del intestino delgado, grueso y Bazo del *Mus musculus*, aumentando su actividad inmune, produciendo cambios histomorfométricos, que a su vez si van acompañadas de sustancias prebióticas el resultado será el más óptimo. Por lo que se recomienda realizar estudios posteriores que confirmen su efecto en el ser humano.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Gionchetti P, Rizzello F, Helwig U, Venturi A, Lammers KM, Brigidi P, et al. Prophylaxis of pouchitis onset with probiotic therapy: A double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology*. 2003 May 1;124(5):1202–9.
2. Kalliomäki M, Salminen S, Poussa T, Arvilommi H, Isolauri E. Probiotics and prevention of atopic disease: 4-year follow-up of a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 2003 May 31;361(9372):1869–71.
3. Seehofer D, Rayes N, Schiller R, Stockmann M, Müller AR, Schirmeier A, et al. Probiotics partly reverse increased bacterial translocation after simultaneous liver resection and colonic anastomosis in rats. *J Surg Res*. 2004 Apr;117(2):262–71.
4. Lindberg E, Adlerberth I, Wold AE. Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* colonising the intestines of Swedish infants. *Clin Microbiol Infect*. 2004;10(10):890–4.
5. Food and Agriculture Organization. Probiotics in food. 2001.
6. Organización Mundial de Gastroenterología. Guía Práctica de la Organización Mundial de Gastroenterología: Probióticos y prebióticos. In: Guías Mundiales la WGO Probióticos y prebióticos. 2011.

7. Suárez J. Microbiota autóctona, probióticos y prebióticos. *Nutr Hosp* [Internet]. 2013;28(1):38–41. Available from: http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v28s1/09_simposio02.pdf
8. Dock DB, Latorraca MQ, Aguilar-Nascimento JE, Gomes-da-Silva MHG. Probiotics enhance recovery from malnutrition and lessen colonic mucosal atrophy after short-term fasting in rats. *Nutrition*. 2004 May;20(5):473–6.
9. Salam AI. *Lactobacillus rhamnosus* - an overview | ScienceDirect Topics [Internet]. Reference Module in Food Science. 2016 [cited 2019 Oct 2]. Available from: <https://www.sciencedirect.com/topics/immunology-and-microbiology/lactobacillus-rhamnosus>
10. Woodcock NP, McNaught CE, Morgan DR, Gregg KL, MacFie J. An investigation into the effect of a probiotic on gut immune function in surgical patients. *Clin Nutr*. 2004 Oct;23(5):1069–73.
11. Guarner F, Malagelada JR. Gut flora in health and disease. Vol. 361, *Lancet*. Elsevier Limited; 2003. p. 512–9.
12. Duran B. The effects of long-term total parenteral nutrition on gut mucosal immunity in children with short bowel syndrome: A systematic review. Vol. 4, *BMC Nursing*. 2005.
13. De Groot MA, Frank DN, Dowell E, Glode MP, Pace NR. *Lactobacillus rhamnosus* GG bacteremia associated with probiotic use in a child with short gut syndrome. *Pediatr Infect Dis J*. 2005 Mar;24(3):278–80.
14. Corrêa NBO, Péret Filho LA, Penna FJ, Lima FMLS, Nicoli JR. A randomized formula controlled trial of *Bifidobacterium lactis* and *Streptococcus thermophilus* for prevention of antibiotic-associated diarrhea in infants. *J Clin Gastroenterol*. 2005 May;39(5):385–9.
15. Pirodda M, Gunn J, Chondros P, Grover S, O'Malley P, Hurley S, et al. Effect of *Lactobacillus* in preventing post-antibiotic vulvovaginal candidiasis: A randomised controlled trial. *Br Med J*. 2004 Sep 4;329(7465):548–51.
16. Vesterlund S, Paltta J, Karp M, Ouwehand AC. Measurement of bacterial adhesion-in vitro evaluation of different methods. *J Microbiol Methods*. 2005 Feb;60(2):225–33.
17. Hamilton-Miller JMT. The role of probiotics in the treatment and prevention of *Helicobacter pylori* infection. Vol. 22, *International Journal of Antimicrobial Agents*. Elsevier; 2003. p. 360–6.
18. Reid G, Jass J, Sebuly MT, McCormick JK. Potential Uses of Probiotics in Clinical Practice. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 2003 Oct 1 [cited 2019 Oct 2];16(4):658–72. Available from: <http://cmr.asm.org/cgi/doi/10.1128/CMR.16.4.658-672.2003>
19. O'Prey J, Brown J, Fleming J, Harrison PR. Effects of dietary flavonoids on major signal transduction pathways in human epithelial cells. *Biochem Pharmacol*. 2003 Dec 1;66(11):2075–88.
20. Kapkac M, Erikoglu M, Ersin S, Tuncyurek P, Esassolak M, Alkanat M, et al. Fiber enriched diets and radiation induced injury of the gut. *Nutr Res*. 2003 Jan 1;23(1):77–83.
21. Henderson AR. Testing experimental data for univariate normality [Internet]. Vol. 366, *Clinica Chimica Acta*. 2006 [cited 2019 Oct 24]. Available from: www.elsevier.com/locate/clinchim
22. Hertzler SR, Clancy SM. Kefir improves lactose digestion and tolerance in adults with lactose maldigestion. *J Am Diet Assoc* [Internet]. 2003 May [cited 2019 Oct 24];103(5):582–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12728216>
23. Donskey CJ, Hujer AM, Das SM, Pultz NJ, Bonomo RA, Rice LB. Use of denaturing gradient gel electrophoresis for

analysis of the stool microbiota of hospitalized patients. *J Microbiol Methods* [Internet]. 2003 Aug [cited 2019 Oct 24];54(2):249–56. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12782380>

24. Keen C, Uriu-Adams J, Ensunsa J, Gershwin M. Trace Elements/Minerals and Immunity. In: Gershwin M, Nestel P, Keen C, editors. *Handbook of Nutrition and Immunity*. 1°. Totowa: Humana Press; 2004.

25. Ramakrishnan U, Webb A, Ologoudou K. Infection, Immunity, and Vitamins. In: Gershwin M, Nestel P, Keen C, editors. *Handbook of Nutrition and Immunity*. 1°. Totowa: Humana Press; 2004.

26. Cadaval A, Escauriaza B, Barrutia U, Rodrigo C, Aranceta J. *Alimentos funcionales Para una alimentación más saludable*. 1°. España: Sociedad Española de Nutrición Comunitaria; 2005.

27. Albers R, Antoine J-M, Bourdet-Sicard R, Calder PC, Gleeson M, Lesourd B, et al. Markers to measure immunomodulation in human nutrition intervention studies. *Br J Nutr* [Internet]. 2005 Sep [cited 2019 Oct 23];94(3):452–81. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16176618>

Citar como: Rodas-Malca VA. Efecto intestinal y esplénico en *Mus musculus* con la administración oral de prebióticos y cepas probióticas. *Rev méd Trujillo* 2021;16(1):13-21

((En cartas recibido aceptado))