



# EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO COM PROBIÓTICOS EM ANASTOMOSES COLÔNICAS DE RATOS: ESTUDO MORFOLÓGICO E TENSIOMÉTRICO

*Effect of supplementation with probiotics on colonic anastomoses in rats: Morphological and tensiometric study*

Tiago Jacometo Coelho de **CASTILHO**<sup>1</sup>\*, Gustavo Henrique Doná Rodrigues de **ALMEIDA**<sup>2</sup>\*, Eleri Vieira de S. L. **MELLO**<sup>2</sup>\*, Antônio Carlos L. **CAMPOS**<sup>1</sup>\*

**RESUMO - Racional:** A utilização de probióticos modifica positivamente a composição e função da flora intestinal melhorando a qualidade da anastomose intestinal. **Objetivo:** Avaliar o impacto da utilização de probióticos na anastomose intestinal de ratos. **Método:** Foram utilizados 36 ratos Wistar (*Rattus norvegicus albinus*, Rodentia Mammalia), machos adultos, com peso corporal variando entre 220 e 320 g. Os animais foram alojados e aclimatados individualmente em caixas recebendo água e ração ad libitum. Após aclimação inicial, o grupo controle recebeu perioperativamente ração ad libitum por 12 dias (sete no pré-operatório e cinco no pós-operatório) associado à fórmula de maltodextrina na dose de 250 mg/dia de forma isocalórica e isovolumétrica. Na semana que precedeu o procedimento cirúrgico (período de sete dias) e no pós-operatório (por cinco dias), os ratos do grupo estudo receberam suplementação via oral de probióticos dose de 250 mg/dia, associado à dieta isocalórica e isovolumétrica. O probiótico utilizado era composto pelas cepas (doses  $1 \times 10^9$  UFC/g)<sup>12</sup> *Lactobacillus paracasei* LPC-37, *Bifidobacterium lactis* HN0019, *Lactobacillus rhamnosus* HN001 e *Lactobacillus acidophilus* NCFM. A administração de probiótico ou placebo foi realizada via oral, com auxílio de espátula com dosímetro. Os dois grupos foram submetidos à duas colostomias, uma em cólon direito e outra em retossigmóide, seguido de reanastomose com oito pontos separados de mononylon 6-0. O sacrifício ocorreu no quinto dia. Os parâmetros avaliados incluíram força tênsil, histologia e densitometria do colágeno. **Resultados:** A taxa de fistula intestinal para os grupos controle e probiótico foram, respectivamente, 22,22% e 11,11% ( $p=0.6581$ ). A suplementação peroperatória com probióticos aumentou a deposição de colágeno dos tipos I e III ( $p<0.0001$ ), melhorou a força máxima de tração e força máxima de ruptura,  $p=0,0250$  e  $p=0,0116$  respectivamente, área de fibrose ( $p<0.0001$ ), e área do infiltrado inflamatório ( $p=0.0115$ ). **Conclusões:** A utilização de probióticos impactou positivamente na qualidade da anastomose intestinal.

**DESCRIPTORIOS:** Probiótico. Cicatrização ferida. Anastomose colônica. Tensiômetro. Densitometria do colágeno. Ratos.

## Mensagem central

A suplementação com probióticos em modelos animais mostrou efeitos benéficos sobre o processo de reparo tecidual da parede intestinal de anastomoses colônicas.

## Perspectivas

A administração de probióticos no período pré e pós-operatório à cirurgia do cólon se mostrou segura e favorável no processo cicatricial em modelos animais e demonstrou potencial para tal suplementação ser aplicada em humanos, principalmente em situações cirúrgicas em que o paciente se apresenta debilitado, podendo favorecer uma maior recuperação e evitar complicações pós-cirúrgicas.

**ABSTRACT - Background:** The use of probiotics positively modifies the composition and function of intestinal flora, improving the quality of intestinal anastomosis. **Aim:** To evaluate the impact of probiotic use on intestinal anastomosis of rats. **Method:** Thirty-six adult male Wistar rats (*Rattus norvegicus albinus*, Rodentia Mammalia) were used, with body weight ranging from 220-320 g. The animals were housed and acclimated individually in boxes receiving water and ration ad libitum. After initial acclimatization, the control group received perioperative ration ad libitum for 12 days (seven preoperatively and five postoperatively) associated with the maltodextrin formula at a dose of 250 mg/day in isocaloric and isovolumetric form. Likewise, the probiotic group received oral supplementation of probiotics dose of 250 mg/day, associated with isocaloric and isovolumetric diet. The probiotic chosen for this study was composed of strains (doses  $1 \times 10^9$  CFU/g)<sup>12</sup> *Lactobacillus paracasei* LPC-37, *Bifidobacterium lactis* HN0019, *Lactobacillus rhamnosus* HN001 and *Lactobacillus acidophilus* NCFM. Probiotics or placebo were administered orally with the aid of a dosimeter spatula. Both groups underwent two colostomies, one in the right colon and the second in rectosigmoid, followed by reanastomosis with eight separate 6-0 mononylon stitches. The sacrifice took place on the fifth day. The parameters evaluated included tensile strength, histology and collagen densitometry. **Results:** The rate of intestinal fistula for the control and probiotic groups were, respectively, 22.22% and 11.11% ( $p=0.6581$ ). Perioperative supplementation with probiotics increased collagen deposition of types I and III ( $p<0.0001$ ), improved maximum traction force and maximum rupture force,  $p=0.0250$  and  $p=0.0116$  respectively, fibrosis area ( $p<0.0001$ ), and area of the inflammatory infiltrate ( $p=0.0115$ ). **Conclusions:** The use of probiotics had a positive impact on the quality of intestinal anastomosis.

**HEADINGS** – Probiotic. Wound healing. Colonic anastomosis. Tensiometers. Collagen densitometry. Rats.



[www.facebook.com/abcdrevista](http://www.facebook.com/abcdrevista)



[www.instagram.com/abcdrevista](http://www.instagram.com/abcdrevista)



[www.twitter.com/abcdrevista](http://www.twitter.com/abcdrevista)

Trabalho realizado no <sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica, Setor Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, Brasil, e <sup>2</sup>Laboratório de Histotécnica Animal, Departamento de Ciências Morfofisiológicas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, Brasil.

Como citar esse artigo: de-Castilho TJC, de-Almeida GHDR, Mello EVSL, Campos ACL. Efeito da suplementação com probióticos em anastomoses colônicas de ratos: estudo morfológico e tensiométrico. ABCD Arq Bras Cir Dig. 2020;33(4):e1550. DOI: /10.1590/0102-672020200004e1550

## Correspondência:

Tiago Jacometo Coelho de Castilho  
E-mail: [ticastilho@yahoo.com.br](mailto:ticastilho@yahoo.com.br)

Financiamento: Coordenação de Aperfeiçoamento de Nível Superior (CAPES) – Programa de Demanda Social - 88882.381919/2019-

Conflito de interesse: não há

Recebido para publicação: 12/07/2020

Aceito para publicação: 03/10/2020

## INTRODUÇÃO

Probióticos, em uma definição ampla, podem ser considerados substâncias dietéticas que promovem alterações na composição e/ou atividade da microbiota gastrointestinal que acabam por conferir benefícios à saúde do hospedeiro. A fim de entender o papel dos probióticos na homeostase e saúde, é importante destacar-se que o trato gastrointestinal humano hospeda mais de 500 espécies de bactérias, totalizando um peso de aproximadamente 1 kg, sendo a proporção de 10 bactérias para cada célula humana. O genoma bacteriano pode estar presente na proporção de 100:1, sendo que mais de 10% da energia diária necessária a um indivíduo pode ser derivada da fermentação bacteriana<sup>4,7,11,18</sup>.

Em sentido estrito, são bactérias vivas ou leveduras específicas que atendem a critérios: não patogênicidade, capacidade de antagonizar bactérias patogênicas, resistência à acidez gástrica ou lise pela bile, adesão ao epitélio, serem fonte de modulação da imunidade do hospedeiro e possuírem capacidade de permanecer estáveis durante seu processamento e armazenamento<sup>3,6</sup>.

Acreditava-se que os benefícios dos probióticos advinham principalmente da promoção do balanço da microbiota intestinal, havendo, entretanto, evidências crescentes eles exercem também funções imunomoduladoras de grande importância<sup>3,30</sup>.

Inicialmente, sem a presença de nenhum tipo de bactéria em nosso trato gastrointestinal - e portanto, sem antígenos para o desenvolvimento de tolerância e imunidade -, nosso sistema de defesa começa a se desenvolver no tecido linfóide associado ao trato gastrointestinal (GALT), cuja exposição precoce aos antígenos microbianos promove sua colonização ao ponto de aos quatro anos de idade já possuímos configuração estável do microbioma<sup>3</sup>.

Neste processo, temos a conversão intraluminal de componentes de nossa dieta pelo já então colonizado trato gastrointestinal. A dieta modula a microbiota, sendo as alterações verificadas por modelos experimentais em ratos. Exemplo disso é o fato de que dieta rica em gorduras aumenta a proporção de *Clostridium ramosum* e redução na proporção de bacterióides<sup>9,27</sup>. Os níveis de serotonina, neurotransmissor derivado do triptofano, foram modulados pela colonização do *Bifidobacterium infantis*, que aumentou sua biodisponibilidade sérica e córtex frontal de ratos<sup>2,5</sup>. Outras ações importantes descritas são que os probióticos e seus metabólitos reduzem a secreção da molécula imunomoduladora autoinducer-2 pela *E.coli* patogênica, a qual, em última instância, funciona como mediadora da adesão bacteriana às células intestinais, não permitindo desta forma a enteroinvasão<sup>13</sup>.

Os efeitos benéficos e aplicações clínicas dos probióticos são os mais diversos e se dão pelos mais diferentes mecanismos, dentre os quais podemos destacar: redução do pH intraluminal, secreção de bactericinas e defensinas. Este conjunto de ações dos probióticos promove atividade antagônica com enteropatógenos e uropatógenos<sup>10</sup>. A função de barreira da mucosa intestinal é reforçada através da fosforilação da actinina e da ocludina nas junções estreitas e também por meio da inibição da apoptose induzida pelas citocinas<sup>28</sup>. Os probióticos também induzem a secreção da Heat Shock Protein-70 (HSP-70) que são proteínas presentes no citossol, as quais atuam como guias moleculares na prevenção da agregação proteica e no auxílio no processamento de antígenos e em sua apresentação<sup>15,25</sup>. Modelos animais demonstraram a proteção exercida nas colites espontâneas e induzidas quimicamente através da "downregulation" de citocinas pró-inflamatórias, relacionadas às cepas específicas. Outros mecanismos identificados foram a redução de linfócitos CD4+ da lâmina própria e de linfócitos intraepiteliais, inibição do fator de necrose alfa (TNF- $\alpha$ ), produção da proteína quimioatrativa de monócitos do tipo 1 (MCP-1), além do aumento da produção de interleucina-10 (IL-10)<sup>3,17</sup>.

Apesar dos probióticos exercerem funções que vão de imunomodulação até a biodisponibilidade de neurotransmissores para o sistema nervoso central, seus efeitos sobre o reparo tecidual nas anastomoses colônicas ainda é desconhecido.

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da suplementação peroperatória de probiótico no processo de cicatrização de anastomoses colônicas de ratos.

## MÉTODOS

Foram utilizados 36 ratos Wistar (*Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia Mammalia*), machos adultos, com peso corporal variando entre 220-320 g, provenientes do Biotério da Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, Brasil. Os animais foram alojados e aclimatados individualmente em caixas, recebendo água e ração ad libitum.

Após aclimatação inicial, o grupo controle recebeu alimentação com ração ad libitum por 14 dias associado à fórmula de maltodextrina (n=18) na dose de 250 mg/dia de forma isocalórica e isovolumétrica. O grupo estudo com probiótico (n=18) recebeu alimentação com ração ad libitum por duas semanas. Na semana que precedeu o procedimento cirúrgico (período de sete dias) e no pós-operatório (período de cinco dias), os ratos do grupo em estudo receberam suplementação via oral de probióticos dose de 250 mg/dia, associado à dieta isocalórica e isovolumétrica.

O probiótico optado para este estudo foi composto pelas cepas *Lactobacillus paracasei* LPC-37, *Bifidobacterium lactis* HN0019, *Lactobacillus rhamnosus* HN001 e *Lactobacillus acidophilus* NCFM (doses  $1 \times 10^9$  UFC/g)<sup>12</sup>.

A administração de probiótico ou placebo foi realizada via oral com auxílio de espátula com dosímetro contendo a dose apropriada do probiótico ou da maltodextrina administrada por via direta (oral). Os dois grupos foram submetidos a duas colostomias, uma no cólon direito e a outra em retossigmoide, seguido de reanastomose com oito pontos separados de mononylon 6-0. O sacrifício ocorreu no quinto dia. Os parâmetros avaliados incluem força tênsil, histologia e densitometria do colágeno.

### Análise estatística

A análise estatística foi realizada através do teste T-Student e Mann-Whitney com intervalo de confiança (IC) de 95%.

## RESULTADOS

Houve fistula intestinal na anastomose retossigmoide em quatro animais (22,22%) do grupo controle e dois (11,11%) do grupo probiótico. Os animais que apresentaram fistula morreram.

### Teste tensiométrico

Para avaliação da força tênsil, utilizou-se máquina de ensaio mecânico computadorizada da marca EMIC modelo DL 1000 (EMIC, São José dos Pinhais - PR). O valor da força máxima de tração (FMT) do grupo controle foi de  $1,2 \pm 0,2$  N e no grupo probiótico foi de  $1,5 \pm 0,3$  N,  $p=0,0250$  IC 95,27%. A força máxima de ruptura (FMR) dos grupos controle e probiótico foram, respectivamente,  $1,1 \pm 0,2$  N e  $1,4 \pm 0,3$  N,  $p=0,0116$  IC 95,27%. Assim, pôde-se verificar o impacto positivo na utilização do probiótico na resistência tênsil da anastomose (Figura 1).

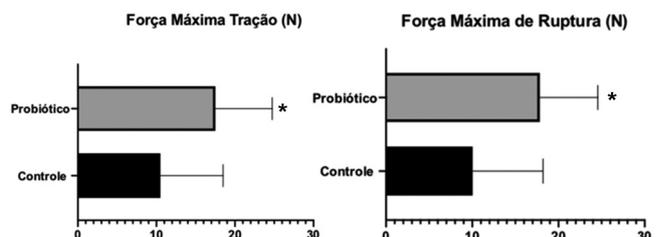


FIGURA 1 – Comparação entre força máxima de tração (FMT) e força máxima de ruptura (FMR) entre os grupos controle e probiótico. Dados apresentados pela média  $\pm$  erro padrão. Teste Mann-Whitney \* $p < 0,05$  comparado com o grupo controle

**Avaliação histológica e densitometria do colágeno**

O material foi fixado em formalina 10% e processado para avaliação histopatológica, sendo os parâmetros analisados: área de processo inflamatório, infiltrado inflamatório, fibrose congestão vascular, tecido de granulação e edema, utilizando-se a coloração de H&E. Os cortes foram padronizados em seis micrômetros de espessura. A análise da densitometria do colágeno foi obtida através da coloração Picosirius Red 3FBA (PSR 3FBA) com leitura automatizada pelo sistema GraphPad Prism 5.

Na análise do H&E, não houve diferença entre os grupos em relação aos índices de edema, congestão vascular e tecido de granulação ( $p > 0,05$ ), contudo notou-se diferença significativa ( $p < 0,05$ ) para índices de fibrose e infiltrado inflamatório, assim como para área de processo inflamatório (Figura 2 e 3).

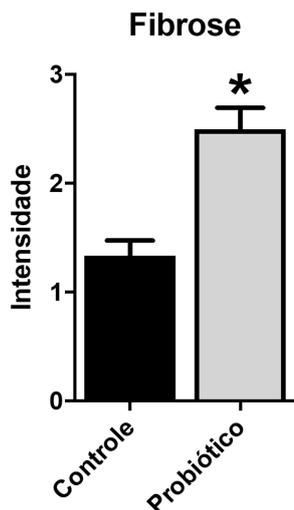


FIGURA 2 – Comparação entre os índices histopatológicos (IH) de fibrose entre os grupos controle e probiótico. Dados apresentados pela média ± erro padrão. Teste T student. \* $p < 0,05$  comparado com o grupo controle

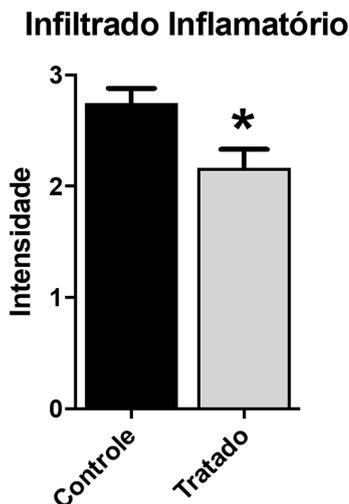


FIGURA 3 – Comparação entre os índices histológicos (IH) de infiltrado inflamatório entre os grupos controle e probiótico. Dados apresentados pela média ± erro padrão. Teste T student. \* $p < 0,05$  comparado com o grupo controle.

Na avaliação do PSR, a presença de colágeno dos tipos I e III foi significativamente maior ( $p < 0,0001$ ) no grupo probiótico (Figuras 4 e 5).

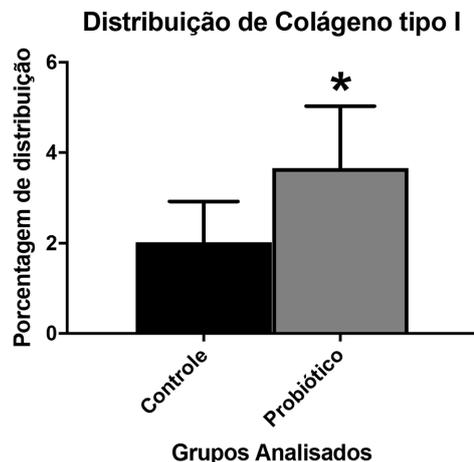


FIGURA 4 – Distribuição de colágeno tipo I (COL I) entre grupos controle e probiótico. Dados apresentados pela média ± erro padrão. Teste T student. \* $p < 0,05$  comparado com o grupo controle.

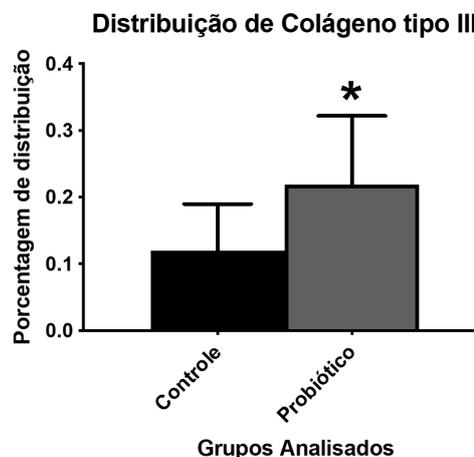


FIGURA 5 – Distribuição de colágeno tipo III (COL III) entre grupos controle e probiótico. Dados apresentados pela média ± erro padrão. Teste T student. \* $p < 0,05$  comparado com o grupo controle.

## DISCUSSÃO

A mucosa intestinal constitui-se em um complexo e dinâmico sistema que funciona como semipermeável, permitindo a passagem de nutrientes e macromoléculas necessárias para o crescimento e desenvolvimento enquanto protege a corrente sanguínea de microrganismos potencialmente invasores<sup>19</sup>. Estas funções básicas ocorrem em um ambiente habitado por bilhões de microrganismos comensais dos três grupos de seres vivos: *Bacteria* (Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria e Actinobacteria), que constituem cerca de 96% da microbiota intestinal, *Archea* e *Eukarya*, assim como partículas virais<sup>1,7,20</sup>.

A ressecção de um segmento gastrointestinal é procedimento habitual para cirurgias pelos mais variados motivos: gastroplastias, neoplasias, doença diverticular, doenças inflamatórias, obstrução etc. Considerando as anastomoses intestinais, todas suas camadas (de mucosa a serosa) serão seccionadas e o tecido reaproximado com grampeadores e suturas. Assim, teremos "corpos estranhos" na linha de cicatrização que agem como antígenos para o nosso sistema de defesa.

Apesar de todo progresso em relação aos meios e materiais para se realizar uma operação (p. ex. laparoscopia, robótica), da destreza do cirurgião para realizar o procedimento com técnica adequada, as taxas de fístulas anastomóticas permanecem as mesmas há mais de 60 anos<sup>23</sup>. Neste sentido, buscamos verificar

os possíveis fatores contribuintes para essas taxas estáveis de complicações. Tanto a espécie quanto o fenótipo bacteriano parecem estar envolvidos de maneira primordial para a complicação.

Os resultados obtidos no presente estudo sugerem a presença de um processo cicatricial mais “organizado” e com intensidade adequada dado à maior resistência em testes de tração e deposição de colágeno obtidos. Neste mesmo sentido há que se considerar que o processo foi mais efetivo levando-se em conta que o grupo probiótico teve área de infiltrado inflamatório menor que o grupo controle. Dentre os processos envolvidos está o da expressão dos receptores Toll-like (TRLs) expressos pela microbiota comensal responsáveis pela indução de quimiocina com atividade quimiotática e modulação da função de células dendríticas e linfócitos T para promover e modular a cicatrização de feridas<sup>31</sup>.

Em estudo conduzido por Olivas et al.<sup>16</sup>, foi verificado que quando subtipos com características de enteropatogenicidade de *Pseudomonas aeruginosa* estavam presentes no local da anastomose, a fistula estava presente. Ao avaliarem os mecanismos pelos quais cepas de *Escherichia*, *Enterococcus* e outros grupos de bactéria contribuem para formação de fistulas, foram encontrados aumentos na formação de poros por meio da H&E, aumento na expressão da proteína de adesão AIDA-1<sup>22</sup>, citotoxicidade direta e por meio da liberação de fator de necrose tumoral<sup>18,24</sup>, elevada motilidade e principalmente o aumento na atividade proteolítica da gelatinase, causando a degradação da matriz de colágeno no local da anastomose<sup>26</sup>. Tem-se observado que as anastomoses intestinais de animais tratados com antibióticos considerados “germ-free”, ao serem submetidas a testes tensiométrico, possuem força de explosão ou “burst strength” menor do que animais não tratados com antibióticos<sup>12,14,29</sup>, sugerindo que o desequilíbrio na microbiota habitual reduz a qualidade da anastomose. Por outro lado, em outros modelos animais que fizeram uso empírico de antibióticos, estes se mostraram úteis na prevenção de fistulas quando bactérias patogênicas ou doenças subjacentes ou de base estavam presentes<sup>21</sup>.

## CONCLUSÕES

A suplementação peroperatória com probióticos associou-se positivamente ao aumento da deposição de colágeno dos tipos I e III, aumento da força tênsil e área de fibrose, mesmo havendo inicialmente aumento do infiltrado inflamatório.

## REFERÊNCIAS

- Bäckhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, Peterson DA, Gordon JI. Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science*. 2005 Mar 25;307(5717):1915-20.
- Best J, Nijhout HF, Reed M. Serotonin synthesis, release and reuptake in terminals: a mathematical model. *Theor Biol Med Model*. 2010 Aug 19;7:34. doi: 10.1186/1742-4682-7-34.
- Borchers AT, Selmi C, Meyers FJ, Keen CL, Gershwin ME. Probiotics and immunity. *J Gastroenterol*. 2009;44(1):26-46. doi: 10.1007/s00535-008-2296-0.
- Wagner NRF, Zapparoli MR, Cruz MRR, Schieferdecker MEM, Campos ACL. Mudanças na microbiota intestinal e uso de probióticos no pós-operatório de bypass gástrico em Y-de-Roux e gastrectomia vertical sleeve: uma revisão integrativa. *ABCD Arq Bras Cir Dig*. 2018;31(4):e1400. DOI: /10.1590/0102-672020180001e1400
- Ciorba MA. Gastroenterologist's guide to probiotics. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2012 Sep;10(9):960-8. doi: 10.1016/j.cgh.2012.03.024
- Desbonnet L, Garrett L, Clarke G, Bienenstock J, Dinan TG. The probiotic *Bifidobacterium infantis*: An assessment of potential antidepressant properties in the rat. *J Psychiatr Res*. 2008 Dec;43(2):164-74. doi: 10.1016/j.jpsychires.2008.03.009.
- Didari T, Mozaffari S, Nikfar S, Abdollahi M. Effectiveness of probiotics in irritable bowel syndrome: Updated systematic review with meta-analysis. *World J Gastroenterol*. 2015 Mar 14;21(10):3072-84. doi: 10.3748/wjg.v21.i10.3072.
- Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargeant M, Gill SR, Nelson KE, Relman DA. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*. 2005 Jun 10;308(5728):1635-8.
- Fabrizi A, Travaglione S, Fiorentini C. *Escherichia coli* cytotoxic necrotizing factor 1 (CNF1): toxin biology, in vivo applications and therapeutic potential. *Toxins (Basel)*. 2010 Feb;2(2):283-96. doi: 10.3390/toxins2020283.
- Fleissner CK, Huebel N, Abd El-Bary MM, Loh G, Klaus S, Blaut M. Absence of intestinal microbiota does not protect mice from diet-induced obesity. *Br J Nutr*. 2010 Sep;104(6):919-29. doi: 10.1017/S0007114510001303.
- Hütt P, Shchepetova J, Löivukene K, Kullisaar T, Mikelsaar M. Antagonistic activity of probiotic lactobacilli and bifidobacteria against entero- and uropathogens. *J Appl Microbiol*. 2006 Jun;100(6):1324-32.
- Kau AL, Ahern PP, Griffin NW, Goodman AL, Gordon JI. Human nutrition, the gut microbiome and the immune system. *Nature*. 2011 Jun 15;474(7351):327-36. doi: 10.1038/nature10213.
- LeVein HH, Wapnick S, Falk G, Olivas O, Bhat D, Gaudre M, Patel M. Effects of prophylactic antibiotics on colonic healing. *Am J Surg*. 1976 Jan;131(1):47-53.
- Mack DR, Michail S, Wei S, McDougall L, Hollingsworth MA. Probiotics inhibit enteropathogenic *E. coli* adherence in vitro by inducing intestinal mucin gene expression. *Am J Physiol*. 1999 Apr;276(4):G941-50. doi: 10.1152/ajpgi.1999.276.4.G941.
- Mastboom WJ, Hendriks T, de Boer HH. Collagen changes around intestinal anastomoses in germ-free rats. *Br J Surg*. 1989 Aug;76(8):797-801.
- Multhoff G. Heat shock protein 70 (Hsp70): membrane location, export and immunological relevance. *Methods*. 2007 Nov;43(3):229-37.
- Olivas AD, Shogan BD, Valuckaite V, Zaborin A, Belogortseva N, Musch M, Meyer F, Trimble WL, An G, Gilbert J, Zaborina O, Alverdy JC. Intestinal tissues induce an SNP mutation in *Pseudomonas aeruginosa* that enhances its virulence: possible role in anastomotic leak. *PLoS One*. 2012;7(8):e44326. doi: 10.1371/journal.pone.0044326.
- Roselli M, Finamore A, Nuccitelli S, Carnevali P, Brigidi P, Nobili F, Rami R, Garaguso I, Mengheri E. Prevention of TNBS-induced colitis by different *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains is associated with an expansion of gamma delta T and regulatory T cells of intestinal intraepithelial lymphocytes. *Inflamm Bowel Dis*. 2009 Oct;15(10):1526-36. doi: 10.1002/ibd.20961.
- Sanders ME. Probiotics: definition, sources, selection, and uses. *Clin Infect Dis*. 2008 Feb 1;46 Suppl 2:S58-61; discussion S144-51. doi: 10.1086/523341.
- Sanderson IR, Walker WA. Uptake and transport of macromolecules by the intestine: possible role in clinical disorders (an update). *Gastroenterology*. 1993 Feb;104(2):622-39.
- Scanlan PD, Marchesi JR. Micro-eukaryotic diversity of the human distal gut microbiota: qualitative assessment using culture-dependent and -independent analysis of faeces. *ISME J*. 2008 Dec;2(12):1183-93. doi: 10.1038/ismej.2008.76.
- Schardey HM, Krämling HJ, Cramer C, Kusenack U, Hadersbeck J, Schildberg FW. [Risk factors and pathogenic microorganisms in patients with insufficient esophagojejunostomy after gastrectomy]. *Zentralbl Chir*. 1998;123(1):46-52.
- Sherlock O, Schembri MA, Reisner A, Klemm P. Novel roles for the AIDA adhesin from diarrheagenic *Escherichia coli*: cell aggregation and biofilm formation. *J Bacteriol*. 2004 Dec;186(23):8058-65.
- Shogan BD, Smith DP, Christley S, Gilbert JA, Zaborina O, Alverdy JC. Intestinal anastomotic injury alters spatially defined microbiome composition and function. *Microbiome*. 2014 Sep 15;2:35. doi: 10.1186/2049-2618-2-35. eCollection 2014
- Smith JL, Bayles DO. The contribution of cytolethal distending toxin to bacterial pathogenesis. *Crit Rev Microbiol*. 2006 Oct-Dec;32(4):227-48.
- Tao Y, Drabik KA, Waypa TS, Musch MW, Alverdy JC, Schneewind O, Chang EB, Petrof EO. Soluble factors from *Lactobacillus GG* activate MAPKs and induce cytoprotective heat shock proteins in intestinal epithelial cells. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2006 Apr;290(4):C1018-30.
- Waters CM, Antiporta MH, Murray BE, Dunny GM. Role of the *Enterococcus faecalis* GelE protease in determination of cellular chain length, supernatant pheromone levels, and degradation of fibrin and misfolded surface proteins. *J Bacteriol*. 2003 Jun;185(12):3613-23.
- Woting A, Pfeiffer N, Loh G, Klaus S, Blaut M. *Clostridium ramosum* promotes high-fat diet-induced obesity in gnotobiotic mouse models. *MBio*. 2014 Sep 30;5(5):e01530-14. doi: 10.1128/mBio.01530-14.
- Álvaro M, Lins-Neto F, Jurema Da M, Leão R, Alves EC, Fontan AJ, et al. Colon mechanical preparation is necessary as routine in medical care? *ABCD Arq Bras Cir Dig*. 2012;25(1): 25-28.
- Lívia de OLIVEIRA A, Monteiro AARESTRUP F. Nutritional status and systemic inflammatory activity of colorectal patients on symbiotic supplementation. *ABCD Arq Bras Cir Dig*. 2012; 25(3): 143-157.
- Tagliari E, Campos LF, Campos AC, Costa-Casagrande TA, Noronha L. Efeito da administração oral de probióticos na cicatrização de feridas cutâneas em ratos. *ABCD Arq Bras Cir Dig*. 2019;32(3):e1457. DOI: /10.1590/0102-672020190001e1457