

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

MARIA CLARA BARREIROS DA COSTA RIBEIRO

O BENEFÍCIO DO USO DE PROBIÓTICOS EM GIARDÍASE

BRASÍLIA

2022

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

MARIA CLARA BARREIROS DA COSTA RIBEIRO

O BENEFÍCIO DO USO DE PROBIÓTICOS EM GIARDÍASE

Dissertação apresentada como requisito para a obtenção do Título de Mestrado em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

Orientador: Prof. Dr. Riccardo Pratesi

Coorientadora: Prof. Dra. Rosa Harumi Uenishi

BRASÍLIA

2022

MARIA CLARA BARREIROS DA COSTA RIBEIRO

O BENEFÍCIO DO USO DE PROBIÓTICOS EM GIARDÍASE

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

A candidata foi considerada aprovada em 10 de outubro de 2022.

Banca Examinadora

1- Professora Dra. Eliete Neves da Silva Guerra (*Presidente*)

Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília

2- Professora Dra. Cristiane Jeyce Gomes Lima (*Examinador Externo*)

Secretaria de Saúde do Distrito Federal

3- Professor Dr. Luiz Claudio Gonçalves de Castro (*Examinador interno*)

Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília

4- Professora Dra. Renata Puppim Zandonadi (*Suplente*)

Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer ao meu orientador Prof. Dr. Riccardo Pratesi e a Prof. Dra. Mariana Hecht que estiveram comigo nos primeiros passos para realização dessa dissertação e a Prof. Dra. Rosa Harumi Uenishi que foi a principal responsável por me guiar e aprender sobre revisões sistemáticas e como aplicá-las estando presente em todo o processo do trabalho.

Agradeço a Bárbara Candida Rodrigues, Andressa Ribeiro, Nayra Suellen e todos os alunos que fazem parte do grupo de revisão sistemática do Laboratório Interdisciplinar de Biociências a todo apoio e ajuda que deram na realização dessa revisão.

DEDICATÓRIA

Para minha família que sempre esteve presente em todos os momentos da minha vida, especialmente minha Mãe, Maria Christina Godoy Barreiros e meu avô, José Guimarães Barreiros, a quem tenho profundo carinho e amor. Eles são exemplos de pessoas trabalhadoras, altruístas e honestas para mim.

Aos meus professores do Laboratório Interdisciplinar de Biociências que me ensinaram tanto na trajetória desse mestrado. São pesquisadores incríveis e exemplos muito importantes na área de pesquisa.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Riccardo Pratesi, a quem agradeço muito toda a ajuda nessa trajetória.

A minha coorientadora Prof. Dra. Rosa Harumi Uenishi que esteve presente desde o meu estágio até a realização dessa dissertação me ajudando em todos os momentos

Ao meu amor Mayra Borges Dias que me ajudou a me manter firme e a manter o foco nos momentos mais difíceis e, também, esteve sempre perto para comemorar todas as vitórias.

A alegria não chega apenas no encontro do achado, mas faz parte do processo da busca. E ensinar e aprender não podem dar-se fora da procura, fora da boniteza e da alegria. (Paulo Freire)

RESUMO

CONTEXTO: Probióticos são microrganismos vivos de diversas espécies que podem conferir um benefício ao serem ingeridos em determinada quantidade. Ao longo dos anos, os estudos envolvendo probióticos se desenvolveram de forma a expandir seu uso em áreas como distúrbios gastrointestinais e alergias. Por outro lado, ainda são necessários estudos em outras áreas da aplicação para que os probióticos possam ser utilizados como uma alternativa de intervenção. Como exemplo disso, há uma importante questão a respeito da giardíase, causada por protozoários do gênero *Giardia*. Essa doença aflige populações do mundo todo e, por vezes, alternativas que não aflijam os pacientes se fazem necessárias. Os estudos com probióticos possuem potencial para uma alternativa de tratamento de pacientes com doenças parasitárias, uma vez que seu uso promove o equilíbrio da microbiota intestinal, competindo com os parasitas e melhorando o quadro clínico dos pacientes. Contudo, os trabalhos que analisam esse potencial com probióticos são realizados ou *in vivo* em organismos murinos.

OBJETIVO: Avaliar, através de uma revisão sistemática, a eficácia e segurança do uso de probióticos em modelos murinos infectados por giárdia. Identificar se os probióticos que possuem evidências de destaque na remissão da giardíase em modelos murinos e identificar parâmetros de segurança e eficácia dos diferentes probióticos em modelos murinos: número de cistos, trofozoítos, resposta imunológica, impacto na histologia da mucosa intestinal.

MÉTODO: Na presente revisão sistemática foram definidos critérios de elegibilidade para inclusão de estudos na revisão. Foram incluídos trabalhos que tratassem infecção por *Giardia*; estudos de intervenção com probióticos e estudos *in vivo* com murinos. Foram excluídos trabalhos que tratassem de outras doenças; que não fazem uso de probióticos; que possuem cointervenção em um mesmo grupo em sua metodologia; estudos de revisão e trabalhos que não foram encontrados completos. A revisão sistemática foi registrada no PROSPERO – *Internacional Perspective Register of Systematic Review*. Foi realizada uma busca definitiva nas bases de dados no dia 17/02/2020 através de

uma estratégia de busca feita com palavras-chave encontradas utilizando os descritores MESH, DeCs e Emtree, sendo essa estratégia aplicada nas bases de dados Embase; Lilacs; Livivo; Pubmed; Scopus; Web of Science e Literatura Cinzenta (Google Scholar; OpenGrey). Foram, então, utilizados os softwares EndNote web, Rayyan QcRI para auxiliar no gerenciamento, remoção dos duplicados e na seleção dos estudos. Para análise do risco de viés de cada estudo, foi utilizado o checklist da SYCLE e gerada a imagem pelo RevMan 4.5.1.

Todo processo de seleção foi realizado por dois revisores (1R e 2R) de forma independente e um terceiro revisor (3R) para desempatar quando houvesse uma discordância entre os primeiros revisores. Foram, então, coletados os dados de cada artigo incluído nas etapas de seleção pelos revisores 1 e 2 (1R e 2R) e esses dados foram organizados em uma tabela para análise dos resultados encontrados e do risco de viés desses trabalhos.

RESULTADO: Ao todo 536 trabalhos foram encontrados nas bases de dados retirando duplicados, sendo 44 selecionados na Seleção de Fase 1 e 16 estudos foram incluídos na Seleção de Fase 2, Ao final foram incluídos 19. Analisando os trabalhos foi observada uma redução na quantidade de cistos, trofozoítos e duração de infecção, resposta imunológica, impacto na histologia da mucosa intestinal

CONCLUSÃO: O uso de probióticos como tratamento em murinos infectados com *Giardia* reduz nos pontos de observação, reduz a quantidade de trofozoítos e cistos desse parasita, reduz o tempo de infecção, potencializa a resposta imune e influencia na regeneração da mucosa intestinal.

Os probióticos que possuem destaque nesse estudo para remissão da Giardíase são *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamosus* e o probiótico *Saccharomyces boulardii* que possui um teste com seres humanos.

PALAVRAS-CHAVE: Probióticos, giardíase, *Giardia lamblia*, *Giardia intestinales*, in vivo, murinos.

ABSTRACT

CONTEXT: Probiotics are live microorganisms of different species that can confer a benefit when ingested in a certain amount. Over the years, studies involving probiotics have developed to expand their use in areas such as gastrointestinal disorders and allergies. On the other hand, studies are still needed in other application areas so that probiotics can be used as an intervention alternative. As an example of this, there is an important question regarding giardiasis, caused by protozoa of the genus *Giardia*. This disease afflicts populations around the world and, sometimes, alternatives that do not afflict patients are necessary. Studies with probiotics have the potential for an alternative treatment for patients with parasitic diseases, since their use promotes the balance of the intestinal microbiota, competing with the parasites and improving the clinical condition of patients. However, studies that analyze this potential with probiotics are carried out or in vivo in murine organisms.

OBJECTIVE: To evaluate, through a systematic review, the efficacy and safety of the use of probiotics in giardia-infected murine models. Identify the probiotics that have outstanding evidence in the remission of giardiasis in murine models and identify safety and efficacy parameters of different probiotics in murine models: number of cysts, trophozoites, immune response, impact on intestinal mucosa histology.

METHOD: In this systematic review, eligibility criteria were defined for inclusion of studies in the review. Studies dealing with *Giardia* infection were included; intervention studies with probiotics and in vivo studies with mice. Studies dealing with other diseases were excluded; those who do not use probiotics; that have co-intervention in the same group in their methodology; review studies and works that were not found complete. The systematic review was registered in PROSPERO – International Prospective Register of Systematic Review. A definitive search was carried out in the databases on 02/17/2020 through a search strategy made with keywords found using the MESH, DeCs and EMTREE descriptors, this strategy being applied in the embase databases; Lilacs; I live; Pubmed; Scopus; Web of Science and Gray Literature (Google Scholar; OpenGrey). EndNote web and Rayyan QCRI software were then used to assist

in the management, removal of duplicates and in the selection of studies. To analyze the risk of bias of each study, the SYCLE checklist was used, and the image was generated by RevMan 4.5.1.

The entire selection process was carried out by two reviewers (1R and 2R) independently and a third reviewer (3R) to break a tie when there was a disagreement between the first reviewers. Data from each article included in the selection stages by reviewers 1 and 2 (1R and 2R) were then collected and these data were organized into a table for analysis of the results found and the risk of bias in these works.

RESULT: A total of 536 studies were found in the databases, removing duplicates, 44 were selected in Phase 1 Selection and 16 studies were included in Phase 2 Selection. At the end, 19 were included. Analyzing the works, a reduction in the amount of cysts, trophozoites and duration of infection, immune response, impact on intestinal mucosal histology.

CONCLUSION: The use of probiotics as a treatment in mice infected with *Giardia* reduces the points of observation, reduces the amount of trophozoites and cysts of this parasite, reduces the time of infection, potentiates the immune response and influences the regeneration of the intestinal mucosa.

The probiotics that are highlighted in this study for the remission of Giardiasis are *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamosus* and the probiotic *Saccharomyces boulardii* that has a test with humans.

KEYWORDS: Probiotics, giardiasis, *Giardia lamblia*, *Giardia intestinales*, in vivo, mice.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Ciclo da *Giardia*.....página 18

Figura 2 – Fluxograma de trabalhos encontrados incluídos após a busca definitiva e etapas de seleção.....página 28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Identificação dos trabalhos analisados.....	página 30
Tabela 2 – Identificação dos probióticos e animais utilizados.....	página 31
Tabela 3 – Número de animais utilizados nos grupos tratados e não tratados com técnica e parâmetro analisado.....	página 32
Tabela 4 –Contagem de cistos dos grupos controles nas primeiras três semanas pós-infecção.....	página 33
Tabela 5 –Contagem de trofozoítos dos grupos controles nas primeiras três semanas pós-infecção.....	página 34
Tabela 6 – Contagem de cistos dos tratados nas primeiras três semanas pós-infecção.....	página 35
Tabela 7 – Contagem de trofozoítos dos tratados nas primeiras três semanas pós-infecção.....	página 37
Tabela 8 – Análise histopatológica dos grupos tratados e controles.....	página 39
Tabela 9 – Análise da resposta imunológica nos grupos tratados e controles.....	página 41
Tabela 10 – Estresse oxidativo e outros resultados.....	página 43
Tabela 1 complementar – Tabela da estratégia de busca.....	página 60
Tabela 2 complementar – Trabalhos excluídos e razões para exclusão (n=28) Após Seleção Fase 2.....	página 74

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

SCFAs – *short-chain fatty acids*.....página 15

PI – Pós- infecção.....páginas 30 a 43

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1 GIARDÍASE	17
2.2 PROBIÓTICOS	20
3 OBJETIVO	23
3.1 PRINCIPAL	23
3.2 SECUNDÁRIOS	23
4 MÉTODOS	24
4.1 Protocolo de Registro	24
4.2 Critérios de Elegibilidade	24
4.2.1 Critérios de Inclusão.....	24
4.2.2 Critérios de Exclusão.....	25
4.3 Fontes de informação	25
4.4 Estratégia de busca	25
4.5 Processo de Seleção	25
4.6 Processo de Coleta de dados	26
4.7 Risco de Viés em Cada Estudo	26
5 RESULTADOS	28
6 DISCUSSÃO	55
7 CONCLUSÕES	58
APÊNDICE I	64
APÊNDICE II	70
ANEXO I.....	74

INTRODUÇÃO

A presente revisão sistemática foi escrita com o objetivo de contribuir com o conhecimento sobre o uso de probióticos em Giardíase. Diversos estudos abordam os benefícios do uso de probióticos em doenças parasitárias intestinais. Levando essa quantidade de estudos em consideração, julgou-se importante realizar uma revisão a respeito de forma a contribuir com dados sobre a eficácia e segurança de probióticos e vislumbrar possíveis passos a serem seguidos por profissionais da saúde (AL-MEGRIN et al., 2021; GOMAA, 2020).

Probióticos são microrganismos vivos que trazem diversos benefícios à saúde humana. Para se compreender a ação dos probióticos também é necessário compreender a microbiota intestinal de seres vivos. Nesse sentido, microbiota intestinal é a população de microrganismos, como bactérias fungos e vírus, que estão presentes no trato gastrointestinal. Dentre suas diversas funções, a microbiota protege o indivíduo contra a proliferação de organismos estranhos, como bactérias, protozoários e outros organismos não comensais (GOMAA, 2020; KECHAGIA et al., 2013).

A microbiota também possui o papel de degradação de carboidratos derivados de plantas que não são digeridos pelo hospedeiro. A microbiota ainda é responsável por degradar e produzir ácidos orgânicos e ácidos graxos de cadeia curta (*short-chain fatty acids* - SCFAs). Além da proteção contra patógenos, a microbiota atua na manutenção da homeostase e desenvolvimento intestinal (KIM et al., 2019).

Quando se estuda microbiota, entende-se que existem no intestino de seres vivos microrganismos que trazem benefícios à saúde e outros que possuem o efeito contrário. Nesse sentido quando a microbiota se encontra em estado de desequilíbrio por algum fator, como no caso de um parasita ou outro organismo estranho, a ingestão de probióticos pode ajudar na manutenção do equilíbrio da microbiota e assim evitando diferentes distúrbios que podem ser causados ao organismo (LEUNG; GRAHAM; KNOWLES, 2018).

A doenças parasitárias são classificadas também no Brasil como doenças negligenciadas devido à situação na qual atualmente afeta principalmente regiões onde a qualidade de vida, saúde e saneamento são muito baixas, afetando principalmente populações de regiões carentes. Muitas dessas doenças não possuem cura, como por exemplo a doença de chagas causada pelo protozoário *Trypanossoma cruzi* ou em alguns casos como a giardíase, o tratamento é feito através de remédios contra protozoários, como o metronidazol. Contudo, nem todas as pessoas respondem bem aos medicamentos disponíveis e algumas podem desenvolver reações adversas. Nesse sentido o uso dos probióticos como alternativa ao acompanhamento ao tratamento pode ser uma solução a partir do equilíbrio da microbiota do próprio paciente (GARCÍA-RUBIO et al., 2006; MALDOTTI; DALZUCHIO, 2021).

Mundialmente a giardíase é uma das lideranças em doenças que causam diarreia através da contaminação de alimentos e água e estima-se que haja cerca de 200 milhões de pessoas infectadas anualmente. É uma doença parasitária causada pelo parasita *Giardia duodenalis* (syn. *G. intestinalis*, *G. lamblia*) que pode causar danos graves ao intestino podendo ainda ser pós-infecciosa afetando seres humanos e outros mamíferos (BURET et al., 2020).

A giardíase é classificada como doença negligenciada e está relacionada a baixa renda e falta de estrutura e saneamento. No Brasil, é uma grande preocupação no âmbito de doenças tropicais e é uma situação crítica nas regiões Centro-Oeste, Norte e Nordeste, onde a infraestrutura é semelhante à de países de baixa renda o que, infelizmente dificulta o combate a transmissão da doença (COELHO et al., 2017a).

Ante ao exposto, o presente estudo possui como justificativa, compreender se o uso de probióticos pode ser uma alternativa de intervenção em giardíase com resultados positivos e, dessa forma, avaliar se a partir desse momento novos estudos já podem ter foco com teste dessas intervenções em seres humanos de forma a nos aproximarmos cada vez mais do uso de probióticos como forma complementar para tratamento ou até uma alternativa no futuro.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 GIARDÍASE

Doenças parasitárias intestinais são causadas por protozoários ou vermes. São infecções que estão mais presentes em países subdesenvolvidos e em desenvolvimento, afetando mais pessoas em situações desfavorecidas. Há um destaque para as infecções causadas por: *Ascaris lumbricoides*, *Ancylostoma duodenale*, *Enterobius vermicularis*, *Necator americanus* e *Strongyloides stercoralis* e *Trichuris trichiura*. Ao se tratar das infecções causadas por protozoários é importante destacar os gêneros *Cryptosporidium*, *Entamoeba* e *Giardia* (QUINTELA; DE MORAES, 2016).

Infelizmente, essas infecções entraram na categoria de doenças negligenciadas devido à falta de ações para educação sanitária, cuidados com higiene pessoal e de alimentos, que são as principais formas de contaminação desses agentes. Em sua grande maioria o tratamento se dá pelo controle das parasitoses como tratamento quimioterápico (farmacológico) no caso de protozoários. Em se tratando de helmintos já existem intervenções que ajudam a curar infecções, como por exemplo Albendazol, mebendazol e praziquantel (ELISABETH CAMPOS DE ANDRADE et al., 2010; YADAV; SINGH, 2011).

Em relação a tratamentos, o uso indiscriminado de intervenções pode gerar organismos mais resistentes ou apenas o controle dos parasitas não assegura a qualidade de vida dos pacientes afetados. Nesse sentido, a possibilidade do uso de probióticos como uma alternativa para o controle da carga parasitária e, dessa forma, dos efeitos das respectivas infecções deve ser cada vez mais estudado e estimulado.

A giardíase é uma doença intestinal causada pelo protozoário *Giardia duodenales*. Esse parasita é transmitido por via fecal e oral por ingestão de cistos infectantes transmitidos pela água e por alimentos. É uma doença de alta prevalência em países subdesenvolvidos e em desenvolvimento, fazendo parte do grupo de doenças negligenciadas causando diarreia, náusea, dores epigástricas e perda de peso em adultos e crianças (HOOSHAR, et al., 2019). É uma doença que acomete, seres humanos e animais.

A giardíase foi descrita pela primeira vez em 1917 por Antonie Leeuwenhoel. Foi incluída pela organização mundial da saúde como doença negligenciada em 2006 e possui uma taxa de morbidade relevante em crianças. O ciclo de vida do protozoário possui duas formas: trofozoítos e cistos. Os cistos de *Giardia* são sua forma infectante, os quais são ingeridos em água ou comida contaminadas por fezes (infecção). A partir disso ocorre a excistação, na qual são liberados dois trofozoítos que infectam o duodeno e o intestino e se multiplicam. Por fim, ao passarem do intestino delgado para o cólon, os trofozoítos retornam a forma de cistos através do processo de encistamento e são liberados nas fezes (Figura 1)(DASHTI; ZAREBAVANI, 2021; GARDNER; HILL, 2001).

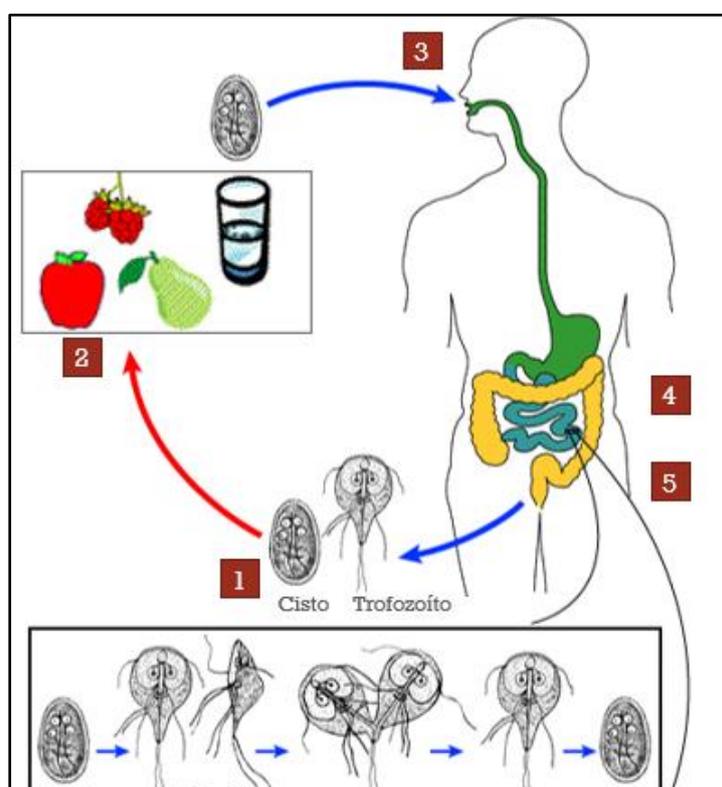


Figura 1: Adaptado Cycle évolutif - <https://www.cdc.gov/dpdx/giardiasis/index.html>

A patogênese da doença ainda é incerta pois há uma grande variedade de manifestações clínicas como doença grave ou portadores assintomáticos. Das teorias a respeito da patogênese, o mais provável é que o protozoário cause danos à mucosa intestinal por meio de aderência, a liberação pelo parasita de substâncias citopáticas e estímulo de resposta imune do hospedeiro com liberação de citocinas e inflamação da mucosa (GARDNER; HILL, 2001).

No Brasil, houve uma melhora recente na infraestrutura sanitária do país. Contudo, ainda há uma diferença na qual as regiões sul e sudoeste apresentam melhores condições na infraestrutura sanitária em comparação com as regiões norte e nordeste. Esse quadro contribui para uma alta prevalência da doença nessas regiões permanecendo uma doença negligenciada no país. A doença atinge principalmente crianças possuindo frequência acima de 60% (COELHO et al., 2017b; FANTINATTI et al., 2020)

Foi observado por Riba et al (2020) que a infecção por *G. duodenalis* causou a disbiose da microbiota e prejudicou a homeostase biliar em um modelo *in vivo* utilizando camundongos o que levou para uma desregulação metabólica e deficiência de crescimento. A disbiose da microbiota é um desequilíbrio da estrutura e função e pode ser causada por infecções bacterianas, mudanças em dieta e antibióticos. Ainda em um estudo realizado por Buret et al. (2015) foi sugerido que alguns efeitos após a infecção por *G. duodenalis* podem ocorrer devido a disbiose da microbiota induzida pelo parasita na fase aguda da doença (DASHTI; ZAREBAVANI, 2021; KIM et al., 2019).

Para detecção, vários métodos podem ser utilizados como a contagem de cistos ou trofozoítos nas fezes. Também uma forma mais sensível é por detecção de antígenos fecais ou anticorpos. O método mais tradicional, contudo, é por detecção de trofozoítos ou cistos nas fezes (GARDNER; HILL, 2001)

Para o tratamento contra *Giardia* são utilizados agentes da classe nitroimidazóis que são eficazes para o combate a diferentes infecções de protozoários. Os agentes que compõe essa classe são metronidazol, tinidazol, ornidazol e secnidazol e são a base da terapia para a giardíase. Contudo o metronidazol possui alguns efeitos adversos comuns como gosto metálico, dor de cabeça, vertigem, náusea, os quais ocorrem em 5 a 15% dos pacientes que o utilizam por vários dias. Pancreatite, toxicidade do sistema nervoso central em altas doses e neutropenia transitória e reversível foram atribuídas ao metronidazol. No caso do tinidazol não são tão comuns os efeitos adversos, mas é descrita a ocorrência de gosto amargo, vertigem e distúrbios gastrointestinais, (DASHTI; ZAREBAVANI, 2021; GARDNER; HILL, 2001).

Para tratamento os agentes indicados são doses únicas de tinidazol ou ornidazol, ou 5 a 7 dias de metronidazol. Ainda há uma grande variedade de tratamentos como 5-nitroimidazols, secnidazol, *furan* e o *thiazole*. Essas alternativas, dependendo das doses, podem gerar reações adversas. Além disso esses medicamentos podem causar um crescimento nos níveis de resistência do parasita aos medicamentos disponíveis e falha de (ARGÜELLO-GARCÍA et al., 2020; DASHTI; ZAREBAVANI, 2021; GARDNER; HILL, 2001).

O metronidazol, 5-nitroimidazols, tinidazol, secnidazol e ornidazol produzem estresse oxidativo afetando o DNA do parasita rompendo a fita dupla do trofozoíto causado a perda de suas funções e morte do parasita além de inibir o processo de respiração do trofozoíto (ARGÜELLO-GARCÍA et al., 2020).

Apesar dos tratamentos disponíveis com nitroimidazólicos, a giardíase pode deixar sequelas de giardíase refratária (LALLE; HANEVIK, 2018). Nesse sentido, o tratamento com probióticos pode ser uma alternativa eficaz ao controlar a microbiota intestinal, tratar a doença e impedir sequelas. Apesar desses medicamentos terem sido muito utilizados ao longo dos anos, a eficácia dos mesmos tem sido comprometida pela resistência do parasita a esses medicamentos. Essa resistência pode ter sido facilitada devido a quantidade de casos de reinfecções (ARGÜELLO-GARCÍA et al., 2020).

A resistência do parasita *G. duodenales* provavelmente está associada a maior quantidade de oxigênio presente no intestino delgado em comparação com o intestino grosso e com vias de eliminação de oxigênio prejudicadas do parasita silimares ao *Trichonomas vaginalis*, o que causaria um aumento na concentração de oxigênio intracelular e desativação do 5-nitromidazoles (ARGÜELLO-GARCÍA et al., 2020).

2.2 PROBIÓTICOS

Ao longo dos anos a definição do que são probióticos foi mudando conforme foram sendo aplicados em diversas áreas da saúde. Atualmente probióticos possuem como definição: microrganismos que podem conferir um benefício à saúde, não limitados somente à nutrição, ao serem ingeridos em determinada quantidade. Nesse sentido, são diversas as espécies que podem ser utilizadas como probióticos (KECHAGIA et al., 2013; WIEËRS et al., 2020;

WORLD HEALTH ORGANIZATION. DEPARTMENT OF CONTROL OF NEGLECTED TROPICAL DISEASES, 2017).

A história do uso dos probióticos começa em 1899 quando Henry Tessler descobriu bifidobactérias no intestino de bebês que possuíam menos casos de diarreia em idade de amamentação. Em 1907, o pesquisador Eli Mechnikoff propôs a utilização dos probióticos na área da saúde. Após muitos anos, em 1917, bactéria *Escherichia coli* foi isolada para tratamento de pacientes com shigelose (ISLAM, 2016).

Entre as espécies de probióticos utilizadas, as que mais possuem destaque são as cepas dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. Ainda sobre os probióticos utilizados, é importante se levar em consideração as propriedades por cepas. Em relação à saúde humana existem estudos que apontam uma melhora na saúde dos pacientes como quadro intestinal, melhoramento na resposta imune, redução de colesterol, entre outras áreas (KECHAGIA et al., 2013).

Os primeiros probióticos utilizados na área da saúde tinham apenas uma espécie de microrganismo. As formas seguintes passaram a possuir uma quantidade muito maior desses microrganismos (entre 10^8 e 10^{10}) e então passou-se a utilizar mais de uma espécie de microrganismo (GUPTA et al., 2018)

Há também um destaque para estudos que apontam melhora no quadro de pacientes com doenças parasitárias ao utilizarem cepas de probióticos. Muitos desses estudos possuem metodologias para verificar efeitos *in vivo* ou *in vitro* dessas cepas e são testados em uma variedade de doenças causadas por parasitas (FONSECA et al., 2019a; RIBEIRO et al., 2018a). O probióticos podem ser encontrados na forma de capsulas de misturas de 50 milhões de bactérias de cinco espécies diferentes disponíveis para seres humanos (BESIRBELLIOGLU et al., 2006).

Os probióticos podem melhorar a saúde a partir de mecanismos de aumento da função imunológica pelo reforço da função de barreira da mucosa intestinal, redução da transferência da mucosa de organismos luminais e aumento de metabólitos, e aumento da produção de anticorpos na mucosa. Também há o fortalecimento da integridade do epitélio e antagonismo direto de microrganismos patogênicos (CONLON; BIRD, 2015; VENTURA et al., 2018).

Os usos de probióticos para os quais há substancial documentação são para efeitos em distúrbios intestinais, diarreia associada a antibióticos, diarreia infecciosa e alergias. Contudo, a quantidade de documentação para outras condições mostra uma necessidade de mais estudos na área. Conforme esse tipo de intervenção se torna popular, essa necessidade se dá para compreender limites de doses que podem ser administradas e os efeitos que os probióticos podem causar (KECHAGIA et al., 2013).

3 OBJETIVO

3.1 PRINCIPAL

Realizar uma revisão sistemática sobre eficácia e segurança do uso de probióticos em modelos murinos infectados por giárdia.

3.2 SECUNDÁRIOS

- Identificar os probióticos que possuem evidências de destaque na remissão da giardiase em modelos murinos.
- Identificar parâmetros de segurança e eficácia dos diferentes probióticos em modelos murinos: número de cistos, trofozoítos, resposta imunológica, impacto na histologia da mucosa intestinal

4 MÉTODOS

4.1 Protocolo de Registro

Este estudo é uma revisão sistemática que visa analisar o uso dos probióticos utilizados como intervenção em diferentes estudos *in vivo* com murinos infectados com *Giardia lamblia* ou *Giardia intestinales*, de forma a avaliar como podem ser uma futura intervenção para tratamento da giardíase em humanos. O estudo foi elaborado seguindo orientações do PRISMA-P (Moher et al. 2015) e atualizado pelo PRISMA 2020 (Page et al., 2021), SWiM (CAMPBELL, et al. 2020) e, na sequência, foi protocolado na plataforma PROSPERO sob o número CRD42022360923 (Anexo I).

Todas as etapas da revisão sistemática tiveram o envolvimento de três revisores, expertos no assunto e coordenador do grupo de revisão sistemática. Os revisores são 1R (MC), 2R (BC) e 3R (MH). Cada revisor trabalhou de forma independente e, ao final de cada etapa, realizaram uma reunião de consenso. Na eventual discordância, o revisor 3R sanava as discordâncias.

4.2 Critérios de Elegibilidade

Para a realização desta revisão fez-se uso do acrônimo PICOS (População, Intervenção, Comparação e Resultados e Estudos) de forma a elucidar a pergunta de pesquisa: “O uso de probióticos é capaz de trazer resultados positivos para giardíase com redução de cistos e trofozoítos em estudos *in vivo* em modelos murinos?”

Nesse sentido, a montagem do acrônimo se deu da seguinte forma: P) Murinos com giardíase; I) Probióticos; C) Murinos não tratados; O) Murinos com giardíase tratados com probióticos apresentam resolução antecipada da infecção, redução na carga parasitária e normalização da resposta imunológica e menos danos na arquitetura da mucosa intestinal; S) Estudos *in vivo*.

4.2.1 Critérios de Inclusão

Foi definido que seriam incluídos os trabalhos que tratassem de giardíase; E estudos de intervenção com probióticos e estudos *in vivo* com murinos.

4.2.2 Critérios de Exclusão

Foram excluídos trabalhos seguindo a seguinte ordem de importância: 1) Estudos sem o uso de probióticos; 2) Estudos com co-intervenção em um mesmo grupo; 3) Estudos em animais que não são murinos; 4) Estudos de revisão e 5) Trabalhos que não foram encontrados completos.

4.3 Fontes de informação

Os trabalhos apresentados nesta revisão foram encontrados nas bases de dados por dois revisores [Revisor 1 (MCCR) e Revisor 2 (MCP)] nas seguintes bases de dados: Embase; Lilacs; Livivo; Pubmed; Scopus; Web of Science e Literatura Cinzenta (Google Scholar; OpenGrey). Após a etapa da busca, os estudos foram armazenados no software *online* denominado Endnote Web.

4.4 Estratégia de busca

Foi realizada uma montagem da estratégia de busca utilizando os descritores Mesh, DeCS e Emtree sem distinção de tempo e local de publicação e língua dos artigos. Durante a etapa de execução, no dia 17/02/2021 essa estratégia foi utilizada para encontrar os trabalhos presentes nessa revisão nas fontes de informação.

4.5 Processo de Seleção

Após a etapa da busca utilizando-se a estratégia aqui descrita, os estudos foram armazenados no *software online Endnote Web* e passaram por um processo de remoção dos duplicados de forma automática e seleção de artigos definidos como Seleção de Fase 1 e Seleção de Fase 2 pelos. Na Seleção de Fase 1, foi realizada a leitura de títulos e *abstracts* de cada trabalho com o auxílio do *software* Rayyan QCRI. Na seleção de Fase 2, foi realizada a leitura dos trabalhos na íntegra (ver Apêndice II). A seleção das duas fases foi realizada conforme os critérios de elegibilidade.

4.6 Processo de Coleta de dados

Para a coleta de dados foi organizada uma tabela (Tabela 1) no programa Excel (Microsoft Office 365) com informações a serem coletadas a respeito do probiótico utilizado em cada estudo encontrado; sobre os murinos utilizados na abordagem *in vivo*; sobre os grupos controles de cada experimento; sobre a doença parasitária abordada em cada estudo; duração de infecção, contagem de cistos e contagem de trofozoítos. Na eventual falta de dados, foi realizada até três tentativas de contato com os autores para sanar dúvidas por e-mail quinzenalmente.

4.7 Risco de Viés em Cada Estudo

Foram analisados cada trabalho encontrado com relação a seu risco de viés. Cada trabalho recebeu a classificação “baixo risco de viés”, “alto risco de viés” ou “não está claro” a partir da análise de: viés de seleção para geração de sequência; viés de seleção para ocultação de alocação; viés de seleção para características base; viés de desempenho para habitação aleatória; viés de desempenho para cegamento; viés de detecção para avaliação de resultado aleatório; viés de detecção para cegamento do avaliador dos resultados; viés de atrito para dados de resultados incompletos; viés de relatório para relatórios de resultados seletivos e outras fontes de viés em relação a outros possíveis vieses pensados pelos revisores. O risco de viés foi avaliado seguindo a ferramenta Syrcle e plotado no *Review Manager* 5.4.1.

Em seguida, foi realizada a análise do risco de viés e coleta de dados dos trabalhos selecionados a partir da elaboração da tabela 1 para a organização dos dados extraídos. A partir desse ponto, seria possível ou não ser realizada uma metanálise juntamente com a síntese da revisão que responderia à pergunta de pesquisa. No caso do presente trabalho não foi realizada uma metanálise porque os estudos analisados não possuíam dados contínuos como medida de efeito que resultem no tamanho de efeito. Ao final da etapa de execução, ocorreu a discussão dos resultados encontrados e a conclusão acerca dos achados da pesquisa.

5 RESULTADOS

Ao todo foram encontrados 758 estudos na busca definitiva realizada a partir da estratégia de busca (Apêndice 1). Após a remoção dos duplicados com o *software* Endnote web (<https://access.clarivate.com/login?app=endnote>) e a plataforma Rayyan QCRI (OUZZANI et al., 2016), foram armazenados no Rayyan 536 trabalhos. Do número original, foram incluídos 44 estudos, de acordo com os critérios de inclusão e exclusão definidos e utilizados durante a etapa de Seleção de Fase 1. Na Seleção de Fase 2, foram incluídos 16 trabalhos e ao final, juntamente com as sugestões do expert e busca ativa, chegou-se a 19 estudos que compuseram esta revisão sistemática (Figura 2).

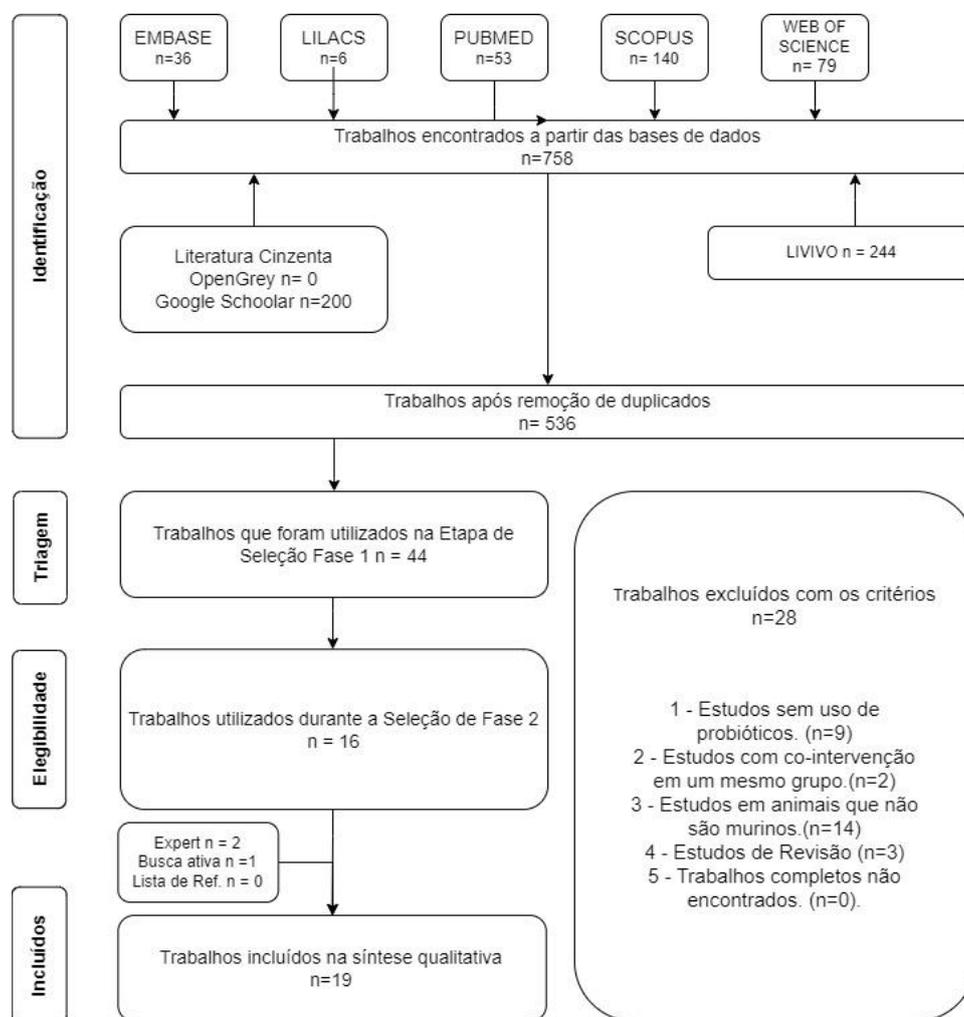


Figura 2: Fluxograma de trabalhos encontrados incluídos após a busca definitiva e etapas de seleção. Os critérios de exclusão foram utilizados durante a etapa de Seleção de Fase 2 por ordem de importância.

De forma geral, os trabalhos incluídos foram estudos com camundongos onde se tinha a formação de grupos infectados com *Giardia* que foram tratados com a intervenção (probiótico analisado no estudo) e os respectivos grupos controles.

Foram encontrados estudos com diferentes tipos de probióticos dos gêneros *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Saccharomices* e com destaque para *Lactobacillus* e a partir de grãos de Kefir. Nesses estudos, foram analisados efeitos dos respectivos probióticos em giardíase.

Todos os trabalhos encontrados foram com modelos *in vivo* nos quais foram utilizados: camundongos albinos; camundongos NIH; camundongos C57BL16 camundongos BALAB/c; em alguns trabalhos foram utilizadas fêmeas e em outros machos ou até dos dois sexos. Em um dos trabalhos foram utilizados gerbilos (esquilos da Mongólia, *Meriones unguiculatus*).

Para a avaliação dos efeitos dos probióticos para a proteção contra *Giardia duodenales*, foram observados nos trabalhos estudados as seguintes análises: contagem de trofozoítos, contagem de cistos de giárdia excretados nas fezes dos camundongos e duração da infecção (Tabela 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, e 10).

Tabela 1: Identificação dos trabalhos analisados.

ID	Autor	País	Ano	Título
MC13	Benyacoub	Argentina	2005	<i>Enterococcus faecium</i> SF68 Enhances the Immune Response to <i>Giardia intestinalis</i> in Mice
MC15	Humen et al.	Argentina	2005	<i>Lactobacillus johnsonii</i> La1 antagonizes <i>Giardia intestinalis</i> in vivo
MC22	Shukla et al.	India	2008	Effect of <i>Lactobacillus casei</i> as a probiotic on modulation of giardiasis
MC27	Shukla et al.	India	2010	Protective potential of <i>L. acidophilus</i> in murine giardiasis
MC30	Shukla & Sidhu	India	2011	<i>Lactobacillus casei</i> as a probiotic in malnourished <i>Giardia lamblia</i> -infected mice: a biochemical and histopathological study
MC32	Goyal et al.	India	2011	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG as an Effective Probiotic for Murine Giardiasis
MC37	Shukla et al.	India	2012	Restoration of anthropometric, biochemical and histopathological alterations by <i>Lactobacillus casei</i> supplementation in <i>Giardia intestinalis</i> infected renourished BALB/c mice
MC45	Franco et al.	Argentina	2013	Administration of kefir-fermented milk protects mice against <i>Giardia intestinalis</i> infection
MC46	Goyal et al.	India	2013	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG antagonizes <i>Giardia intestinalis</i> induced oxidative stress and intestinal disaccharidases: an experimental study
MC47	Goyal & Shukla	India	2013	Probiotic <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG modulates the mucosal immune response in <i>Giardia intestinalis</i> -infected BALB/c mice
MC49	Shukla et al.	India	2013	Comparative therapeutic effect of probiotic <i>Lactobacillus casei</i> alone and in conjunction with antiprotozoal drugs in murine giardiasis
MC51	Amer et al.	Egito	2014	Therapeutic enhancement of newly derived bacteriocins against <i>Giardia lamblia</i>
MC70	Allain et al.	França	2018	Bile Salt Hydrolase Activities: A Novel Target to Screen Anti- <i>Giardia</i> Lactobacilli?
MC71	Allain et al.	França	2018	Bile-Salt-Hydrolases from the probiotic strain <i>Lactobacillus johnsonii</i> La1 mediate anti-giardial activity in vitro and in vivo
MC77	Ribeiro et al.	Brasil	2018	Effect of probiotic <i>Saccharomyces boulardii</i> in experimental giardiasis
MC81	Fonseca et al.	Brasil	2019	Probiotic effect of <i>Bifidobacterium longum</i> 5(1A) and <i>Weissella paramesenteroides</i> WpK4 on gerbils infected with <i>Giardia lamblia</i>
MC82	AL-Khaliq	Iraque	2019	Effect of <i>Bifidobacterium</i> Probiotic in the Treatment of Giardiasis Infection in Mice
MC93	Shukla et al.	India	2020	Comparative Analysis of Antigiardial Potential of Heat Inactivated and Probiotic Protein of Probiotic <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG in Murine Giardiasis
MC100	Ribeiro et al.	Brasil	2020	<i>Saccharomyces boulardii</i> as therapeutic alternative in experimental giardiasis

Tabela 2: Identificação dos probióticos e animais utilizados.

ID	Probiótico	Concentração de probiótico	Animal (sexo) (idade) (peso)
MC13	<i>Enterococcus faecium</i> SF68	20µL(contendo 5X10 ⁸ -1x10 ⁹ ufc)	Camundongos C57BL/6 (fêmeas) (6 sem.)
MC15	<i>Lactobacillus johnsonii</i>	1x 10 ⁸ ufc/animal	<i>Meriones unguiculatus</i> - gerbil
MC22	<i>Lactobacillus casei</i>	1X10 ⁹ <i>lactobacilli</i> /0,1mL	Camundongos BALB/c (5-6 sem.) (18-20g)
MC27	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1X10 ⁹ <i>lactobacilli</i> /0,1mL	Camundongos BAB/c (5-6 sem.) (18-20g)
MC30	<i>Lactobacillus casei</i>	1x10 ⁹ ufc/0,1mL	Camundongos BAB/c (5-6 sem.) (18-20g) desnutrido
MC32	<i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	1X10 ⁹ <i>lactobacilli</i> /0,1mL	Camundongos BALB/c (5-6 sem.) (18-20g)
MC37	<i>Lactobacillus casei</i>	1x10 ⁹ ufc/0,1mL	Camundongos BALB/c (5-6 sem.) (18-20g)
MC45	Kefir grains AGK1	1:100	Camundongos C75BL/6 (fêmeas) (4-5 sem.)
MC46	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	1X10 ⁹ <i>lactobacilli</i> /0,1mL	Camundongos BALB/c (machos e fêmeas) (5-6 sem.) (18-20g)
MC47	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	1x10 ⁹ <i>lactobacilli</i> /0,1mL	Camundongos BALB/c (machos e fêmeas) (5-6 sem.) (18-20g)
MC49	<i>Lactobacillus casei</i>	1x10 ⁹ <i>lactobacilli</i> /0,1mL	Camundongos BALB/c (5-6 sem.) (18-20g)
MC51	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i>	50µg <i>bacteriocin</i> /0,1mL	Camundongos Swiss (machos e fêmeas) (4-6 sem.) (20-25g)
MC70	<i>Lactobacillus gasseri</i> , <i>Lactobacillus johnsonii</i> , <i>lactobacillus curvatus</i>	20µL(5X10 ⁸ ufc)	Camundongos Non-imbred OF1 (5 dias) Neonatal
MC71	Subproduto do <i>Lactobacillus Johnsoni</i>	50µg (50µl, em NaHCO ₃ 16,4%)	Camundongos OF1 neonatal
MC77	<i>Saccharomyces bouladii</i>	8,0 log ₁₀ ufc/mL	<i>Meriones unguiculatus</i> (gerbil) (machos) (4-6 sem.)
MC81	<i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Weisella paramesenteroides</i> Wpk4	1x10 ⁸ bacteria/mL ⁻¹	<i>Meriones unguiculatus</i> (gerbil) (fêmeas e machos) (4-6 sem.)
MC82	<i>Bifidobacterium</i>	1x10 ⁷ células/mL	Camundongos BALB/c (machos) (5-6 sem.) (20-50g) Imunossuprimido
MC93	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	1x10 ⁹ ufc/0,1mL	Camundongos LACA (5-6 sem.) (18-20g)
MC100	<i>Saccharomyces bouladii</i> (Floratil)	8,0 log ₁₀ ufc/mL	<i>Meriones unguiculatus</i> (gerbil) (machos) (4-6 sem.)

ufc= unidade formadora da colônia

Tabela 3: Número de animais utilizados nos grupos tratados e não tratados com técnica e parâmetro analisado.

ID	Grupo sem probiótico (n)	Grupo tratado com probiótico (n)	Parâmetro analisado	Técnica
MC13	19	18	Contagem de trofozoítos e RTI	Hemocitometro
MC15	32	29	Contagem de trofozoítos e RTI	Hemocitometro
MC22	12	Probiótico- <i>Giardia</i> (n=12); <i>Giardia</i> +Probiótico (n=12)	Contagem de trofozoítos, cistos e RTI	Hemocitometro
MC27	24	Probiótico- <i>Giardia</i> (n=24); <i>Giardia</i> +Probiótico (n=24)	Contagem de cistos e RTI	Hemocitometro
MC30	24	Desnutrido-probiótico- <i>Giardia</i> (n=24)	Contagem de trofozoítos, cistos e RTI	Hemocitometro
MC32	6	6	Contagem de trofozoítos, cistos e RTI	Hemocitometro
MC37	24	24	Contagem de trofozoítos, cistos e RTI	Hemocitometro
MC45	15	15	Contagem de trofozoíto e RTI	Hemocitometro
MC46	24	Probiótico- <i>Giardia</i> (n=24); <i>Giardia</i> +Probiótico (n=24)	Contagem de cistos e redução do RTI	Hemocitometro
MC47	18	18	IgA and T Cell	Microscopia
MC49	24	Provavelmente 24	Cistos; trofozoítos; histopatologia; RTI	Hemocitometro
MC51	30	<i>L. acidophilus</i> (n=30); <i>L. plantarum</i> (n=30)	Contagem de cistos e RTI	Hemocitometro
MC70	8	<i>L. gasseri</i> (n=12), <i>L. johnsonii</i> (n=12), <i>L. curvatus</i> (n=12)	Contagem de trofozoítos, cistos e RTI	Hemocitometro
MC71	7 a 12	7 a 12	Contagem de trofozoítos	Hemocitometro
MC77	7	7	Contagem de trofozoítos, Histopatologia	Hemocitometro
MC81	10	10 em <i>Weisella paramesenteroides</i> . 10 em <i>B. longum</i>	Contagem de trofozoítos	Microscopia
MC82	8	8	Contagem de cistos e RTI	Hemocitometro
MC93	12	12	Contagem de trofozoítos, cistos e RTI	Hemocitometro
MC100	8	8	contagem de trofozoítos	Imunohistoquímica

Legenda: RTI = Redução do tempo de infecção.

Tabela 4: Contagem de cistos dos grupos controles nas primeiras três semanas pós-infecção.

ID	Controles 1ª semana (cistos)	Controles 2ª semana (cistos)	Controles 3ª semana (cistos)
MC13	Não foi avaliado	Não foi avaliado	Não foi avaliado
MC15	Não foi avaliado	Não foi avaliado	Não foi avaliado
MC22	~275 x 10 ³ cistos/ml pico de excreção (P < 0.01). Maior (P < 0.05)	~25 x 10 ³ cistos/ml Reduziu (P < 0.001)	Livres de Giardia ~27 dias PI
MC27	~250 /10ml Maior. Aumentou (p < 0.05)	~150 / 10 ml Reduziu (P < 0.001)	Livres de Giardia ~21 dias PI
MC30	~300x10 ⁴ /mL;desnutrido~650x10 ⁴ /mL Maior. pico (p<0.001)	~100x10 ⁴ /mL;Desnutrido~300x10 ⁴ reduziu P < 0.001	Livres Giardia 29 PI; Desnutrido Livres de Giardia 48 PI
MC32	364,4x10 ⁴ ±10,63/ml maior. Aumentou. P < 0.05	~100x10 ⁴ /ml maior. Aumentou atingindo o pico. P < 0.05	Livres de Giardia 25 dias PI (p<0,05)
MC37	~325 x10 ⁴ /ml Maior. Aumentou. P < 0,001)	~100 x 10 ⁴ /ml Maior. Aumentou pico. (p < 0,001)	~25x10 ⁴ /ml maior. Livres de parasitas. (p < 0,001)
MC45	Não foi avaliado	Não foi avaliado	Não foi avaliado
MC46	~300 x 10 ⁴ cistos /ml Maior. Aumentou. P < 0.05)	~100x10 ⁴ /ml Maior. pico. P < 0.05.	~10x10 ⁴ /ml maior. Livres de parasitas. P < 0.05
MC47	Não foi avaliado	Não foi avaliado	Não foi avaliado
MC49	~30 x 10 ⁵ /mL	~15 x 10 ⁵ /mL	~5 x 10 ⁵ /mL; Livres de giardia até 21 dias PI.
MC51	Não foi avaliado	Não foi avaliado	Não foi avaliado
MC70	Não foi avaliado	Não foi avaliado	~105/ml p < 0.01
MC71	Não foi avaliado	Não foi avaliado	Não foi avaliado
MC77	Não foi avaliado	Não foi avaliado	Não foi avaliado
MC81	Não foi avaliado	Não foi avaliado	Não foi avaliado
MC82	~16/ml Maior. Aumentou	~18/ml Maior. Chegou ao pico e reduziu	~14/ml
MC93	~100 log10/ml Maior. Aumentou. P < 0.05)	~120 log10/ml Maior. Pico. P < 0.05.	~10 log10/ml maior. Livres de parasitas. P < 0.05
MC100	Não foi avaliado	Não foi avaliado	Não foi avaliado

Tabela 5: Contagem de trofozoítos dos grupos controles nas primeiras três semanas pós-infecção.

ID	Controles 1ª semana (trofozoítos)	Controles 2ª semana (trofozoítos)	Controles 3ª semana (trofozoítos)
MC13	~10000 trofozoítos (P < 0.01)	Não foi avaliado	Livre de <i>Giardia</i> 21 dias PI
MC15	4.63 ± 1.14 (log intensity) pico (n=10)(P = 0.01)	5.07±0.93 (log intensity) reduziu infectados (n=6) P= 0.02.	4.81±1.68 (log intensity) reduziu infectados (n=3) (P = 0.09)
MC22	~600000/ml Maior (P < 0.01)	~1200000 trofozoítos / ml Maior. Aumentou. (P < 0.01)	Livres de <i>Giardia</i>
MC27	Não foi avaliado	Não foi avaliado	Não foi avaliado
MC30	~40000/mL; Desnutrido- <i>Giardia</i> ~80000 /mL (p < 0.001)	~70000/mL; Desnutrido- <i>Giardia</i> ~ 100000 /mL. P < 0.001	~60000 / mL; Desnutrido-I: ~100000 /mL. P < 0.001
MC32	~2 x 10 ⁶ /ml Maior. (p < 0.05).	~8 x 10 ⁶ /ml Maior. Aumentou. (P < 0.05)	Aproximadamente 0
MC37	~40000/ ml Maior. (p < 0,001).	~80000/ml Maior. Aumentou. (p < 0,001)	~60000/ml Maior. Diminuiu. (p < 0,001)
MC45	2,8 x 10 ⁴ cm ⁻¹ Maior (p < 0,05)	Não foi avaliado	Não foi avaliado
MC46	Não foi avaliado	Não foi avaliado	Não foi avaliado
MC47	Não foi avaliado	Não foi avaliado	Não foi avaliado
MC49	~4 x 10 ⁵ /mL	~7 x 10 ⁵ /mL	~3 x 10 ⁵ /mL
MC51	61,50±6,31x 10 ⁴ /mL Maior (p < 0.05)	Não foi avaliado	Não foi avaliado
MC70	Não foi avaliado	Não foi avaliado	~106/ml p < 0.001
MC71	2x10 ⁶	Não foi avaliado	Não foi avaliado
MC77	8,17±4,22 x 10 ⁵ /mL	Não foi avaliado	Não foi avaliado
MC81	~20000 micrometros ao quadrado	Não foi avaliado	Não foi avaliado
MC82	Não foi avaliado	Não foi avaliado	Não foi avaliado
MC93	Não foi avaliado	67,5±1,24 dia 17 Maior (p < 0.05)	Não foi avaliado
MC100	Não foi avaliado	3000 micrometros quadrados	Não foi avaliado

Tabela 6: Contagem de cistos dos tratados nas primeiras três semanas pós-infecção.

ID	Tratamento pré-infecção	Tratado 1ª semana (cistos)	Tratado 2ª semana (cistos)	Tratado 3ª semana (cistos)
MC13	7 dias antes	Não foi avaliado	Não foi avaliado	Não foi avaliado
MC15	7 dias antes	Não foi avaliado	Não foi avaliado	Não foi avaliado
MC22	7 dias antes	Probiótico-antes~15x10 ³ mL; Probiótico-depois~25x10 ³ pico (P < 0.001).(P < 0.05)Menor	Probióticoantes livre de <i>Giardia</i> 15 dias PI; Probiótico-depois livre de <i>Giardia</i> 20 dias PI	Não foi avaliado
MC27	7 dias antes	Probiótico-antes ~180/ 10 mL ; Probiótico-depois ~200/10mL. Menor (p < 0.05)	Probiótico-antes~75/10 mL; Probiótico-depois ~100/10 ml. Reduziu (P < 0.001)	Probiótico-antes livres de <i>Giardia</i> ~21 dias PI ; Probiótico-depois livres de <i>Giardia</i> ~21 dias PI
MC30	7 dias antes	~250x10 ⁴ mL. Menor. Pico (P<0.001)	~100 x 10 ⁴ /ml. Reduziu (P<0.01)	Desnutridos livre de <i>Giardia</i> 25 dias PI (p < 0.001)
MC32	7 dias antes	~125 x 10 ⁴ /ml (<i>L. acidophilus</i>); ~25 x 10 ⁴ /ml (<i>L. plantarum</i>); ~25 x 10 ⁴ /ml (<i>L. casei</i>); ~15 x 10 ⁴ /ml (<i>L.rhamnosus</i> GG). Menor. Reduziu até ficarem livres de parasitas. P < 0.05	~150 x 10 ⁴ /ml (<i>L. acidophilus</i>); livre de parasitas (<i>L. plantarum</i>); ~10 x 10 ⁴ /ml (<i>L. casei</i>); livre de parasitas (<i>L. GG</i>). Menor. Aumentou. P < 0.05	<i>L. casei</i> livres de <i>Giardia</i> 17 dias PI; <i>L. acidophilus</i> livres de <i>Giardia</i> 17 dias PI; <i>L.plantarum</i> livres de <i>Giardia</i> 13 dias PI; <i>L. rhamnosus</i> GG livres de <i>Giardia</i> 13 dias PI
MC37	7 dias antes	~200 x 10 ⁴ /ml. Menor. Aumentou. P < 0.001)	~50x10 ⁴ /ml. Menor. Pico. P < 0.001.	Livre de <i>giardia</i> 23 dias PI. Menor. livres de parasitas. (P < 0.001)
MC45	não houve	Não foi avaliado	Não foi avaliado	Não foi avaliado
MC46	7 dias antes	Probiótico- <i>Giardia</i> ~10x10 ⁴ /mL (p<0,005); <i>Giardia</i> -Probiótico ~25x10 ⁴ /mL (p<0,05); Aumentou. P < 0.05)	livres de <i>Giardia</i> 13 dias PI	Não foi avaliado
MC47	não houve	Não foi avaliado	Não foi avaliado	Não foi avaliado
MC49	não houve	~6 x 10 ⁵ /mL	~2 x 10 ⁵ /mL	Livres de giárdia 17 dias PI
MC51	não houve	Não foi avaliado	Não foi avaliado	Não foi avaliado
MC70	5 dias antes	Não foi avaliado	<i>L. curvatus</i> and <i>johnsoni</i> (10 ⁶ /ml); Menor (<i>gasseri</i> 10 ⁴ /ml) p < 0.01	<i>L. curvatus</i> ~8X10 ⁵ não teve diferença estatisticamente significante; <i>L. johnsonii</i>

				~5x10 ⁵ não teve diferença estatisticamente significante; <i>L.gasseri</i> ~2x10 ⁴ (p<0,01)
MC71	não houve	Não foi avaliado	Não foi avaliado	Não foi avaliado
MC77	não houve	Não foi avaliado	Não foi avaliado	Não foi avaliado
MC81	não houve	Não foi avaliado	Não foi avaliado	Não foi avaliado
MC82	não houve	~8/ml Menor. Aumentou	~4/ml reduziu	Menor. livre de <i>Giardia</i> 15 dias PI
MC93	7 dias antes	~20 log ₁₀ /mL. Pico. (p < 0.05)	Livres de <i>Giardia</i> ~14 dias PI; P < 0.05.	Não foi avaliado
MC100	não houve	Não foi avaliado	Não foi avaliado	Não foi avaliado

Tabela 7: Contagem de trofozoítos dos tratados nas primeiras três semanas pós-infecção.

ID	Tratamento pré infecção	Tratado 1ª semana (trofozoítos)	Tratado 2ª semana (trofozoítos)	Tratado 3ª semana (trofozoítos)
MC13	7 dias antes	~1000 trofozoítos (P < 0.01)	Não foi avaliado	Livre de <i>Giardia</i> 21 dias PI
MC15	7 dias antes	3.81 ± 0.88 houve pico (n=3) (P = 0.01)	reduziu infectados (n= 0) (livres de parasitas) P= 0.02.	Não foi avaliado
MC22	7 dias antes	Probiótico- <i>Giardia</i> ~150x10 ³ /mL; <i>Giardia</i> -Probiótico~200 X 10 ³ /mL menor (P < 0.01)	Probiótico- <i>Giardia</i> ~300x10 ³ /mL; <i>Giardia</i> -Probiótico~400x10 ³ /mL menor. Aumentou. (P < 0.01).	Não foi avaliado
MC27	7 dias antes	Não foi avaliado	Não foi avaliado	Não foi avaliado
MC30	7 dias antes	~30000 / ml Menor. (p < 0.001)	~80000/ml menor. aumentou.(P<0.01).	~40000 / ml menor. Reduziu. P < 0.001
MC32	7 dias antes	~ 10 ⁶ /ml Menor. (p < 0.05)	2 x 10 ⁶ /ml menor. Aumentou. (p < 0.05)	Aproximadamente 0
MC37	7 dias antes	~20000/ml Menor. (p < 0.001)	~70000/ml menor. Aumentou. (p < 0.001)	~40000/ml Menor. Reduziu. (p < 0.001)
MC45	Não	4.0 x 10 ³ cm-1 Menor (p < 0.05)	Não foi avaliado	Não foi avaliado
MC46	7 dias antes	Não foi avaliado	Não foi avaliado	Não foi avaliado
MC47	Não houve	Não foi avaliado	Não foi avaliado	Não foi avaliado
MC49	Não	~1,3 x 10 ⁵ /mL	~2 x 10 ⁵ /mL	~1 x 10 ⁵ /mL
MC51	Não	<i>L. acidophilus</i> =11,30±2,45 (p<0,001); <i>L. plantarum</i> =42,20±4,66 (p<0,001)	Não foi avaliado	Não foi avaliado
MC70	5 dias antes	Não foi avaliado	(<i>curvatus</i> and <i>johnsonii</i> 10 ⁶ /ml(<i>gasseri</i>)10 ⁵ /ml p < 0.001	<i>L. curvatus</i> ~3X10 ⁷ não teve diferença estatisticamente significativa; <i>L. johnsonii</i> ~9x10 ⁶ (p<0,01) com redução de 43%; <i>L.gasseri</i> CNCMI 4884 ~1x10 ⁶ (p<0,01) redução de 93%

MC71	não houve	0,5BSH47 = $\sim 10^6$; 5BSH47 = $\sim 10^6$; 50BSH47 = $\sim 0,5 \times 10^6$ Redução de $\sim 68,8\%$ da carga parasitária.	Não foi avaliado	Não foi avaliado
MC77	Não	$2,21 \pm 1,85 \times 10^5$ /mL Reduziu 73%	Não foi avaliado	Não foi avaliado
MC81	não houve	~ 60000 micrometros ao quadrado (<i>B. longum</i> 70% de redução <i>W. paramesenteroides</i> 71%)	Não foi avaliado	Não foi avaliado
MC82	Não	Não foi avaliado	Não foi avaliado	Não foi avaliado
MC93	7 dias antes	Não foi avaliado	$14,5 \pm 1,05$ dia 17 com redução Menor ($p < 0.05$)	Continuou infectado até 23 dias PI
MC100	não houve	Não foi avaliado	Redução de 88.30%; ~ 500 micrometros quadrados	Não foi avaliado

Tabela 8: Análise histopatológica dos grupos tratados e controles.

ID	Porção intestinal (Coloração e Técnica)	Controle Histopatologia	Tratado Histopatologia
MC13	não avaliado	não avaliado	não avaliado
MC15	Delgado (H&E)(MO)	Atrofia vilositária e aumento de células inflamatórias	Sem danos morfológicos na mucosa intestinal
MC22	Delgado (H&E)(MO e ME)	Atrofia vilositária, aumento de LIE, aumento de células inflamatórias no dia 3. A destruição tecidual evoluiu concomitante com a progressão da infecção até o dia 7	Menos danos a mucosa e menos células inflamatórias. Tratados com probióticos antes da infecção ainda possuíam menos danos ainda. A altura das vilosidades aumentou e a arquitetura das vilosidades e criptas se manteve.
MC27	Delgado (H&E)(MO)	Vários graus de atrofia vilositária, aumento de LIE e células inflamatórias no dia 7. Culminou com evolução a ileíte severa nos dias 14 a 21	Os grupos probiótico- <i>giardia</i> e <i>giardia</i> -probiótico apresentaram menor dano tecidual que grupo controle (infectado com <i>giardia</i>). O grupo probiótico- <i>giardia</i> apresentou menos danos teciduais que grupo <i>giardia</i> -probiótico ou controle
MC30	Delgado (H&E)(MO)	Vários graus de atrofia vilositária, aumento de LIE e células inflamatórias no dia 7. Culminou com evolução a ileíte severa nos dias 14 a 22	Os desnutridos e tratados com probióticos apresentaram poucos LIE e células calciformes nas pontas das microvilosidades no 7º dia PI. Mas evoluiu a ileíte severa entre os dia 11 e 17PI. Com o progresso da infecção os danos diminuíram bem como a infiltração e possuíam números normais de células calciformes.
MC32	não avaliado	não avaliado	não avaliado
MC37	Delgado (H&E)(MO)	Microvilosidades danificadas com aumento de LIE indicando ileite no dia 7 PI. O progresso da infecção aumentou a severidade da ileite e reduziu o número de células calciformes	O grupo renutrido apresentou arquitetura das vilosidades íntegras com leve infiltrado inflamatório e quantidade normal de células calciformes, a evolução da infecção resultou em poucos danos nas vilosidades e aumento no nº de LIE e células calciformes
MC45	Delgado	não avaliado	não avaliado
MC46	Delgado (H&E)(MO)	Atrofia vilositária, aumento de LIE e células inflamatórias	o grupo tratado com probiótico (administrado simultaneamente com a infecção ou 7 dias prévio à infecção) apresentou a morfometria quase normal

MC47	não avaliado	não avaliado	não avaliado
MC49	Delgado (H&E)(MO)	Vários graus de atrofia vilositária com infiltrado inflamatório (ileiti leve) e redução do número de células caliciformes	Restauração da arquitetura da mucosa intestinal, normalização da relação criptas e vilosidades com leve inflamação na Lâmina própria.
MC51	Delgado (H&E)(MO)	Avaliado em dias diversos. No 9º dia PI apresentou achatamento das vilosidades com moderado a severo infiltrado inflamatório na lamina própria. No 13º dia PI a lesão intestinal com atrofia vilositária total e intenso infiltrado inflamatório	O grupo tratados com <i>L. acidophilus</i> e o grupo tratado com <i>L. plantarum</i> apresentaram no 11º dia PI infiltrado inflamatório moderado na lamina própria e achatamento de vilosidades focal
MC70	não avaliado	não avaliado	não avaliado
MC71	não avaliado	não avaliado	não avaliado
MC77	Delgado (H&E)(MO)	Altura das vilosidades intestinais ($71,91 \pm 14,43 \mu\text{m}$); profundidade das criptas ($27,29 \pm 6,15 \mu\text{m}$); produção de muco ($73,48 \pm 16,38 \mu\text{m}^2$); % de células caliciformes ($9,84 \pm 0,52\%$); % de LIE ($5,34 \pm 0,96\%$)	Altura das vilosidades intestinais ($92,80 \pm 2,76 \mu\text{m}$ aumentou $p < 0,05$); profundidade das criptas ($36,21 \pm 2,70 \mu\text{m}$ aumentou $p < 0,05$); produção de muco ($103,15 \pm 6,55 \mu\text{m}^2$ Aumentou $p < 0,05$); % de células caliciformes $14,43 \pm 1,63\%$ menor); % de LIE ($7,05 \pm 1,15\%$ $p > 0,001$)
MC81	Delgado (H&E)(MO)	Profundidade das criptas 70um Altura das vilosidades 400um Relação Vilosidades/Criptas $\sim 0,17$	Profundidade das criptas W. paramesenteroides 80um Profundidade das criptas B. longum 80um Altura das vilosidades W. paramesenteroides 500um Altura das vilosidades B. longum 400um Relação Vilosidades/Criptas W. paramesenteroides $\sim 0,17$ Relação Vilosidades/Criptas B. longum $\sim 0,23$
MC82	Delgado (H&E)(MO)	Atrofia vilositária	Arquitetura das vilosidades mantida
MC93	Delgado (H&E)(MO)	Apresentou atrofia vilositária severa, lâmina própria irregular e aumento de LIE	As vilosidades intestinais com pouca atrofia vilositária, lâmina própria bem formada, infiltração LIE moderada
MC100	Delgado (H&E)(MO)	Escore 4: Pontos erosivos, hiperplasia de criptas, aumento de LIE e infiltrado inflamatório na lâmina própria. Sem alteração na produção de muco.	Escore ≤ 2 , com aspecto similar ao intestino de animais não infectados.

Legenda: LIE = Linfócitos intraepiteliais

Tabela 9: Análise da resposta imunológica nos grupos tratados e controles.

ID	Contagem de anticorpos	Contagem de antígenos	Células T
MC13	Sangue (ELISA). O anti-giardia IgG específico não foi influenciado pelo probiótico, mas anti-giardia IgA específico foi aumentado no grupo tratado ($p < 0,05$). No 28º dia de tratamento não havia alteração no anti-giardia IgA específico.	Fezes (ELISA) avaliou a proteína GSA65. Apresentou diferença entre os grupos após final da 2ª semana ($p < 0,05$)	Aumento de célula TCD4 em placas de Peyer de animais tratados com probióticos (técnica-citometria de fluxo)
MC15	Não avaliado	O número de animais no grupo controles positivos para GSA65 cresceu progressivamente do dia 7 ao dia 21 PI. No grupo tratado o único positivo para GSA65 no dia 14 PI, não era mais positivo no dia 21PI	
MC22	Não avaliado	Não avaliado	Não avaliado
MC27	Sangue (ELISA). O anti-giardia IgG específico foi aumentado no grupo controle ($p < 0,01$) nos dia 7 e 14, mas diminuiu no dia 21PI. O anticorpo anti-giardia IgG foram menores nos grupos probiótico-giardia e giardia-probiótico ($p < 0,01$), mas o nível de anticorpos permaneceu alto no 21º dia mesmo tendo reduzida a infecção	Não avaliado	Não avaliado
MC30	Não avaliado	Não avaliado	Não avaliado
MC32	Não avaliado	Não avaliado	Não avaliado
MC37	Não avaliado	Não avaliado	Não avaliado
MC45	Microscopia de Imunofluorescencia: Aumento de células IgA positivas ($p < 0.0001$) na lâmina própria de camundongos tratados com kefir em comparação aos controles.	Não avaliado	Extração de células dos órgãos (baço, MLN-linfonodomesenterico e PP-placadepeyer) por hemocitometro, desse modo os Anticorpos específicos (CD4, CD8, MHCclassII) foram dosados subsequentemente por citometria de fluxo: apresentou

			diferença de TCD4 entre os grupos nos dias 7 e 14 PI (p<0,05) nas células encontradas em PP.
MC46	Não avaliado	Não avaliado	Não avaliado
MC47	Aumento dos níveis de IgA secretora específica de Giardia (P<0,001) nas fases de declínio de infecção nos grupos tratados em relação aos controles.	Não avaliado	Dosagem de linfócitos (TCD4, TCD8, linfócitos T) (por citometria de fluxo). As células TCD4 aumentado (p<0,05) em todas as fases, mas TCD8 é reduzido (p<0,05) em todas as fases dos grupos com probióticos em relação aos controles
MC49	Não avaliado	Não avaliado	Não avaliado
MC51	Não avaliado	Não avaliado	Não avaliado
MC70	Não avaliado	Não avaliado	Não avaliado
MC71	Não avaliado	Não avaliado	Não avaliado
MC77	Não avaliado	Não avaliado	Não avaliado
MC81	Não avaliado	Não avaliado	Não avaliado
MC82	Não avaliado	Não avaliado	Não avaliado
MC93	Aumento significativo dos níveis de anticorpos IgA e óxido nítrico no soro e fluido intestinal nos grupos tratados com probióticos	Não avaliado	Não avaliado
MC100	Não avaliado	Não avaliado	Não avaliado

Tabela 10: Estresse oxidativo e outros resultados

ID	Outros resultados	Estress Oxidativo
MC13	não foram avaliados	Não Avaliado
MC15	não foram avaliados	Não Avaliado
MC22	Não avaliado	Não avaliado
MC27	Não avaliado	Não avaliado
MC30	Parametro bioquímico de Proteína sérica, albumina e globulinaPSAG (sangue). Os grupos tratados com probiótico apresentou maior quantidade de PSAG comparado ao grupo giardia-desnutrido (P<0,001). Hemoglobina e contagem de leucócito total - H&TLC: constatou que os grupos que receberam probióticos apresentaram melhor taxa de H&TLC que o controle (p<0,001)	Não Avaliado
MC32	Não avaliado	Não Avaliado
MC37	Parametro bioquímico de Proteína sérica, albumina e globulina PSAG (sangue). O grupo renutrindo-probiótico-giardia apresentou maior quantidade de PSAG comparado ao grupo renutrindo-giardia (p<0,001). Níveis de hemoglobina e Leucócitos (Hb e TLC) foram significativamente maiores nos grupos tratados (p < 0.001) em comparação com os controles	Não Avaliado
MC45	não foram avaliados	Não Avaliado
MC46	não foram avaliados	A administração oral do probiotico levou a um aumento significativo de SOD e GSH (p < 0,05) em comparação com os camundongos infectados ao longo da infecção.
MC47	Células pró-inflamatórias (TNF α e IFN γ) citocinas pró-inflamatórias INF γ apresentou declínio (p<0,001) nos grupos com probióticos, mas o TNF α não apresentou diferença significativas. As citocinas anti-inflamatórias (IL-4, IL-6, IL-10) (por ELISA) apresentou aumento nas citocinas anti-inflamatória IL-6 e IL-10 (p<0,001) nos grupos tratados com probióticos, mas IL-4 não apresentou diferença.	Não Avaliado
MC49	Não avaliado	Não Avaliado

MC51	Não avaliado	Não Avaliado
MC70	Não avaliado	Não Avaliado
MC71	Não avaliado	Não Avaliado
MC77	Não avaliado	Não Avaliado
MC81	Não avaliado	Não Avaliado
MC82	Não avaliado	Não Avaliado
MC93	Não avaliado	Aumento significativo dos níveis de anticorpos IgA e óxido nítrico no soro e fluido intestinal nos grupos tratados com probióticos
MC100	Não avaliado	não houve stress oxidativo no grupo tratado com <i>S. boulardi</i> . Porém não houve diferença estatística ao comparar com o grupo infectado e tratado

Contagem de Cistos

No trabalho de Shukla; Devi; Sehgal (2008) **(MC 22)** no qual foi utilizado o probiótico *Lactobacillus casei* MTCC 1423, o maior número de excreção de cistos ocorreu no dia 7 após inoculação para todos os grupos de camundongos ($P < 0,01$), após um crescimento gradual. A respeito da colonização, somente os camundongos alimentados com probióticos obtiveram aumento significativo dos níveis de *Lactobacilli* em fezes e no intestino. A colonização no intestino impede a colonização por trofozoítos de *Giardia* que então são liberados mais cedo nas fezes.

Ainda a respeito do trabalho denominado nessa revisão como **MC 22**, a cepa *L. casei* contribuiu para uma maior eliminação de cistos ao ser comparada com a cepa A isolada. Isso se deu pela avaliação da baixa contagem de cistos nas fezes dos camundongos tratados *L. casei* em comparação com a contagem do camundongos tratados com essa cepa.

Os pesquisadores Shukla, et al. (2010) **(MC 27)** observaram que em seu trabalho, o grupo II (animais infectados com *Giardia*) mostraram altos níveis de cistos nas fezes ($P < 0,05$) e tiveram um crescimento rápido na contagem do dia 0 ao dia 9 pós inoculação. Após isso a infecção se resolveu até o dia 21 pós infecção. Nesse trabalho, o uso de *Lactobacillus acidophilus* MTCC447 reduziu a excreção de cistos ($P < 0,05$) nas fezes do grupo IV (infectados com *Giardia* e tratados com probióticos antes e depois da infecção) e do grupo V (infectados com *Giardia* e tratados com probióticos após infecção) comparados com os camundongos do grupo II. O padrão de excreção de cistos desses grupos contudo foi similar.

Shukla e Sidhu (2011) **(MC 30)** utilizaram *Lactobacillus casei* MTCC1423 e observaram que o grupo III (camundongos infectados com *Giardia*) começou a excretar cistos de forma devagar e possuiu seus maiores níveis no dia 7 após infecção. Após o dia 7, esses números começaram a diminuir e a infecção teve sua conclusão no dia 29 após. Apesar disso, o grupo IV (camundongos desnutridos e infectados com *Giardia*) mostrou uma maior e significativa contagem de cistos ($p < 0,001$), teve um pico de contagem de cistos excretados do dia 11 após infecção e os camundongos se tornaram livre de parasitas até o dia 48 pós infecção ($p < 0,001$). O grupo VI (camundongos desnutridos, tratados

com probióticos e infectados com *Giardia*) mostrou uma contagem de cistos menor ($p < 0,001$) e um ciclo de *Giardia* mais curto em comparação com os grupos III e IV. Os grupos III e IV tiveram um pico de excreção no dia 7 pós infecção, se tornaram livres de parasitas até o dia 25 pós infecção.

No trabalho de Shukla, Goyal e Tiwari (2011) **MC 32**, o grupo I (camundongos infectados com *Giardia*) eliminou cistos gradualmente a partir do dia 1 e teve seu pico de contagem de cistos no dia 7 pós inoculação ($P < 0,05$). Depois, contagem de cistos passou a diminuir e os camundongos ficaram livres de parasitas até o dia 25 pós infecção. A alimentação via oral com *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum*, *L. casei* ou *L. GG* reduziu significativamente a excreção de cistos nos camundongos pertencentes a esses grupos (II, III, IV e V) desde o início ($P < 0,05$) e os camundongos ficaram livres de parasitas até o dia 17 pós infecção (grupos II e III) e 13 pós infecção (grupos IV e V). Nenhum dos camundongos dos grupos tratados com probióticos mostraram sintomas clínicos como diarreia, perda de peso e morte

Os pesquisadores Shukla, Sidhu e Verma (2012), trabalho **MC 37**, observaram que camundongos nutridos e infectados com *Giardia* eliminaram mais cistos ($p < 0,001$), obtiveram pico de excreção no dia 11 pós infecção, se tornaram livres de parasitas até o dia 42 pós. Os camundongos renutridos infectados com *Giardia* e tratados com probióticos mostraram baixo números de contagem de cistos ($p < 0,001$) e obtiveram um ciclo de *Giardia* menor em comparação com os controles. Esse camundongos tiveram seus picos no dia 7 pós infecção, se tornaram livres de *Giardia* até o dia 23 pós infecção.

Os pesquisadores Goyal e Shukla (2013), trabalho **MC 46**, observaram que a administração via oral de *Lactobacillus rhamosus GG* antes ou simultaneamente à infecção de *Giardia* levou à diminuição da contagem de cistos ($p < 0,05$) nos grupos IV e V que ficaram livres de *Giardia* até o dia 13 pós infecção em comparação com o grupo III de camundongos infectados com *Giardia* que ficaram livres de parasitas até o dia 25 PI.

No trabalho **MC-49**, dos pesquisadores Shukla et al. (2013), a contagem de cistos atingiu o pico na primeira semana de infecção e depois regrediu progressivamente até os animais ficarem livres de parasitas até o dia 21 PI nos grupos controles com valores de contagem significativamente maiores que os

grupos tratados que seguiram o mesmo padrão, mas ficaram livres de parasitas até o dia 17 PI.

No trabalho de Allain et al. (2018), **MC 70**, a contagem de cistos foi avaliada no cólon e no ceco. Houve redução (-81%, $p < 0,01$) na formação de cistos nos grupos tratados com *Lactobacillus gasseri* em comparação com os grupos controle e tratados com *L. curvatus*. Não houve redução significativa nos grupos tratados com *La1* ou *L. curvatus* em comparação aos controles.

O pesquisadores do trabalho **MC 82**, Al-Khaliq (2019), observaram a administração de *Bifidobacterium* nos camundongos infectados leva a redução de eliminação desse parasita nas fezes desde o início do tratamento até os camundongos se tornarem livres de parasitas até o dia 15 pós inoculação em comparação com metronidazol que mostrou uma redução da eliminação do parasita desde a inoculação tornando os camundongos livres de parasitas no dia 17 PI.

O pesquisadores do trabalho **MC 93**, Shukla, Kamboj e Sharma (2020), mostraram que os camundongos do grupo V (tratados com proteína de probióticos e infectados com *Giardia*) obtiveram uma redução na contagem de cistos até ficarem livres de *Giardia* no dia 9 pós inoculação ($p < 0,05$). Os camundongos do grupo IIIa (tratados com probióticos mortos via oral e infectados com *Giardia*) e grupo IIIb (tratados com com probióticos mortos infectados com *Giardia*) se tornaram livres de parasitas até os dias 15 e 13, respectivamente em comparação com o grupo II (camundongos infectados com *Giardia*) que se tornaram livres de parasitas até o dia 23 pós inoculação.

Contagem de Trofozoítos

Benyacoub et al. (2005), (**MC 13**), observaram em seu trabalho que a partir da contagem de trofozoítos recuperados do intestino 7 dias após infecção, o grupo de 18 camundongos tratados com *Enterococcus faecium SF68* era menor que o número de trofozoítos dos camundongos pertencentes ao grupo controle (Grupo tratado com probiótico = ~1.000 trofozoítos; Grupo controle = 10.000 trofozoítos). Ao final do experimento, ambos os grupos eram livres de parasitas ($P < 0,01$).

Os pesquisadores do trabalho de Humen et al. (2005), **(MC 15)**, mostram um pico de infecção por giárdia 7 dias após a infecção. Nesse momento, 83% do grupo placebo possuía trofozoítos no intestino delgado e no grupo tratado com La1, 27,27%. O grupo tratado teve sua infecção resolvida até o dia 14 do experimento enquanto, nesse período, 42, 85% do grupo placebo ainda estava infectado. Até o dia 21 do experimento o grupo placebo possuía 3 gerbilos infectados (21,42%). Apesar disso, a taxa de infecção foi influenciada pelo probiótico, mas a intensidade não.

No trabalho **MC 22**, os pesquisadores Shukla, Devi e Sehgal (2008) observaram que a administração do probiótico *Lactobacillus casei* diminuiu de forma drástica a quantidade de trofozoítos de giárdia no intestino delgado contribuindo para finalizar a infecção em 14 dias. O número de trofozoítos foi menor nos grupos de camundongos alimentados com probióticos (grupo IVa e Va) em comparação ao camundongos infectados com *Giardia* do grupo II nos dias 3 e 7 após infecção ($P < 0,001$). O número de trofozoítos cresceu em todos os grupos a partir da infecção de *Giardia*. O do número de trofozoítos foi significativamente maior no grupo II ($P < 0,01$).

Shukla e Sidhu (2011), **MC 30**, inocularam os camundongos com trofozoítos de *Giardia*, estabelecendo a infecção e confirmando essa infecção pela contagem de trofozoítos no jejuno. Os camundongos do grupo VI (infectados com *Giardia*, malnutridos e tratados com antibióticos) teve menos trofozoítos contados em comparação com os contra-controles (grupos III e IV) em todos os pontos de observação.

Os pesquisadores Shukla, Goyal e Tiwari (2011), **MC 32**, observaram que as contagens de trofozoítos foram reduzidas no intestino de camundongos tratados com probiótico (grupo V) em comparação de camundongos apenas infectados (grupo 1).

No trabalho **MC 37**, Shukla, Sidhu e Verma (2012) também observaram camundongos infectados, tratados com probióticos e renutridos possuindo menos trofozoítos em comparação com os controles em cada ponto de observação.

No trabalho de Franco et al. (2013), **MC 45**, foi observado que a administração de kefir reduziu a intensidade a infecção por *Giardia* no dia 7 após infecção ($P < 0,05$). Não houve diferenças na contagem de trofozoítos entre os

grupos infectados com *Giardia* e infectados com *Giardia* e tratados com kefir em um período menor de dois dias após infecção.

No trabalho **MC 49**, dos pesquisadores Shukla et al. (2013) houve um aumento até o pico na contagem de trofozoítos nas fezes durante a segunda semana de infecção no grupo controle com maiores valores na contagem em comparação com o grupo tratado com probióticos.

Os pesquisadores Amer, Mossallam e Mahrous (2014), **MC 51**, observaram alimentação e comportamento clínico de camundongos não infectados que receberam cepas de bacteriocinas e não tiveram mudanças no consumo de água, alimentação, ganho de peso ou comportamento em comparação com os controles. Em comparação com o grupo controle não tratado de camundongos infectados, o trabalho mostrou que *L. acidophilus* induz a redução do crescimento de trofozoítos de *Giardia lamblia*. A eficácia dependeu da duração do tratamento. A maior percentagem de redução ocorreu 48 horas após 5 doses (81,63%). Os pesquisadores também observaram que o isolado de *Lactobacillus plantarum* falhou na indução dessa redução (31.38%). Os subgrupos tratados com MNZ tiveram menores percentagens de redução em todos o estudo.

No trabalho **MC 71**, dos pesquisadores (ALLAIN et al., 2018a) a contagem de trofozoítos nas fezes do grupo controle foi significativamente maior que a quantidade de trofozoítos nos grupos tratados mesmo com diferentes dosagens de probióticos na primeira semana pós infecção.

Allain et al. (2018), **MC 70**, observaram que a carga parasitária em camundongos tratados com PBS/glycerol foi vinte vezes maior que a dose inicial de infecção. Os camundongos tratados com *Lactobacillus curvatus* CNRZ1335 não foram protegidos contra a *Giardia duodenalis* por apresentarem um perfil similar de colonização e proliferação. Por outro lado, os camundongos tratados com *Lactobacillus gasseri* CNCM I-4884 mostraram 18 vezes a redução de trofozoítos no intestino delgado (~93%; $p < 0,001$). Os camundongos alimentados com o probiótico LA1 obtiveram uma redução de 2 vezes na carga de trofozoítos em comparação com os controles (~43%). *L. gasseri* CNCM I-4884 foi mais eficiente que La1 na proteção contra *Giardia duodenalis*.

No trabalho **MC 77**, dos pesquisadores (RIBEIRO et al., 2018b), a contagem de trofozoítos na primeira semana de infecção foi significativamente maior no grupo controle em comparação ao grupo tratado que teve 73% de

redução na contagem de trofozoítos. No trabalho **MC 81**, dos pesquisadores (FONSECA et al., 2019b) o resultado foi parecido com 70% e 71% de redução da carga parasitária nos grupos tratados com *B. longum* e *W. paramesenteroides* respectivamente.

No Shukla, Kamboj e Sharma (2020), **MC 93**, foi observado que a contagem de trofozoítos decresceu de forma significativa no grupo V (infectados com *Giardia* e tratados com probióticos ($P < 0,05$) em comparação com o grupo IIIa (tratado com probióticos mortos e infectados com *Giardia* e os camundongos infectados (grupo II).

No trabalho **MC 100**, dos pesquisadores Ribeiro et al (2021), o resultado foi parecido com os trabalhos **MC 77 e 81**, com redução de 88,30% da carga parasitária nos grupos que foram tratados com probióticos em comparação com os animais do grupo controle.

Análise Histopatológica

Os trabalhos **MC 15, 22, 27, 30, 37, 46, 49, 51, 77, 81, 82, 93 e 100** possuíam resultados parecidos, nos quais os grupos de animais tratados com probióticos não apresentaram danos a mucosa intestinal, ou apresentaram menos danos, menos células inflamatórias, menor atrofia vilositária, menor infiltração linfocitária e arquitetura das microvilosidades mantida em comparação com os animais do grupo controle que possuíam de forma geral o processo de atrofia das microvilosidades, danos na mucosa, aumento de células inflamatórias, ileíte e infiltração linfocitárias mais graves e acelerados ao longo da infecção.

Análise da Resposta Imunológica

No trabalho **MC 13**, foi observado um aumento significativo do nível do anticorpo anti-*Giardia* específico IgA no grupo tratado ($P < 0,05$) e no dia 28 PI já não havia mais alteração desse anticorpo. Através da técnica de ELISA, houve diferença com relação a proteína GSA65 entre grupos após o final da 2ª semana de infecção tendo aumento de animais positivos para essa proteína do grupo controle. Também houve aumento de células TCD4⁺ em placas de peyer de

animais tratados com probióticos. No trabalho **MC 15**, os controles positivos para a proteína GSA65 também cresceu do dia 7 ao dia 21 PI em comparação com apenas um animal positivo no grupo tratado no dia 14 PI e não sendo mais positivo no dia 21 PI. No trabalho **MC 27**, houve aumento significativo do anticorpo anti-*giardia* IgG específico no grupo controle nos dias 7 e 14 PI ($p < 0,01$) em relação aos animais tratados com probióticos. Porém isso diminuiu no dia 21 PI.

No trabalho **MC 45**, houve um aumento significativo de células IgA positivas na lâmina própria de camundongos tratados com kefir em comparação com os controles. Houve também aumento de células TCD4⁺ em células de placas de peyer de camundongos tratados com probióticos nos dias 7 e 14 PI ($p < 0,05$).

No trabalho **MC 47**, houve aumento de níveis de IgA secretora específica de *Giardia* ($p < 0,001$) durante o declínio da infecção nos grupos tratados. Houve também aumento de células TCD4⁺ e diminuição de células TCD8⁺ em todas as fases dos grupos tratados com probióticos em relação aos controles ($p < 0,05$). No trabalho **MC 100**, também houve aumento significativo dos níveis de anticorpos IgA nos grupos tratados.

Outros Resultados Encontrados

O trabalho **MC 30**, mostrou que os grupos tratados com probióticos apresentaram maiores quantidade de proteína sérica, albumina e globulina (PSAG) no sangue ($p < 0,001$) e, também maior contagem de hemoglobina e leucócitos totais ($p < 0,001$). O mesmo padrão foi observado no trabalho **MC 37**. No trabalho **MC 46**, houve aumento do estresse oxidativo (aumento de SOD e GSH, $p < 0,05$) no grupo tratado com probiótico assim como no trabalho **MC 93**. Contudo, no trabalho **MC 100**, não houve diferença no nível de estresse oxidativo entre os grupos. No trabalho **MC 47**, houve declínio de células pró-inflamatórias nos grupos tratados com probióticos

Risco de Viés

No geral, todos os estudos incluídos eram muito semelhantes entre si, mas não esclareciam acerca da alocação dos animais. Apenas dois estudos (MC49

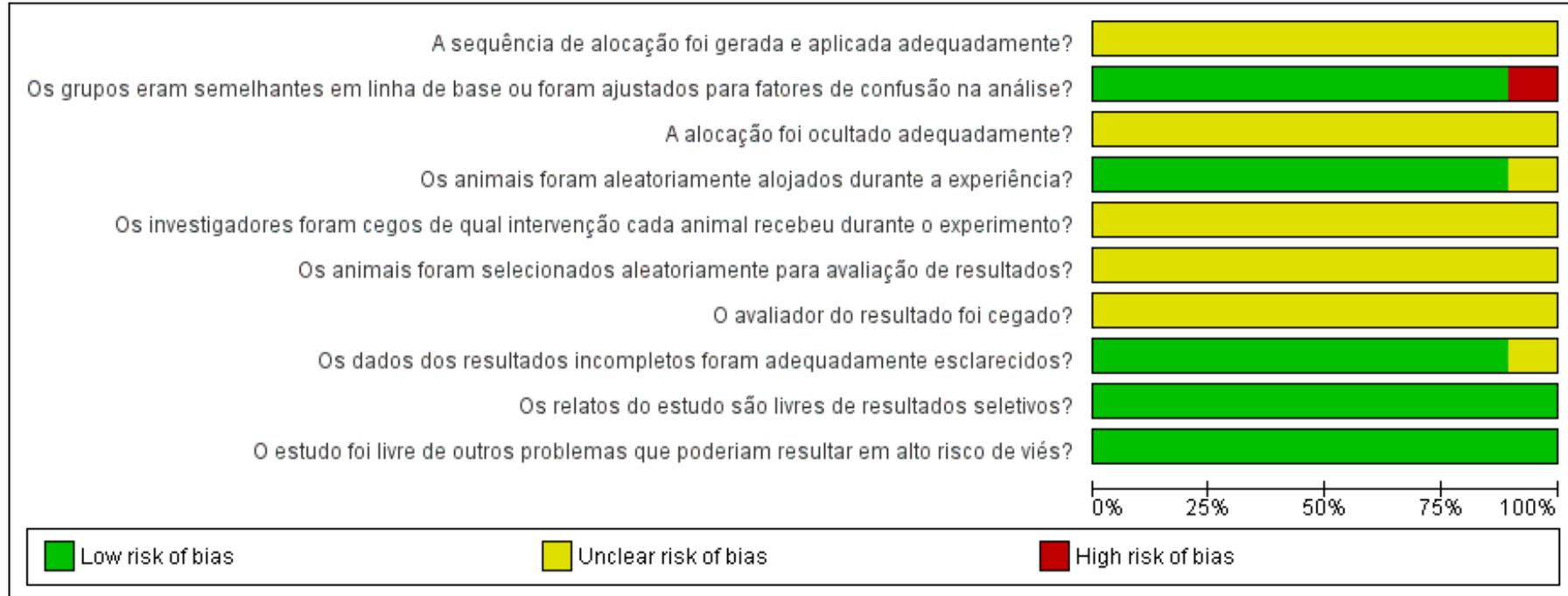
e MC70) apresentaram alto risco de viés devido a falta de dados precisos referentes ao domínio que responde à pergunta sobre os grupos semelhantes em linha de base. O risco de viés foi resumido nas Figuras 2 e 3.

Figura 2. Risco de viés de cada estudo

MC100 (Ribeiro et al., 2020)	?	+	?	+	?	?	?	?	+	+	+	+
MC13 (Benyacoub et al., 2005)	?	+	?	+	?	?	?	?	?	?	?	+
MC15 (Humen et al., 2005)	?	+	?	+	?	?	?	?	?	?	?	+
MC22 (Shukla et al., 2008)	?	+	?	+	?	?	?	?	?	?	?	+
MC27 (Shukla et al., 2010)	?	+	?	+	?	?	?	?	?	?	?	+
MC30 (Shukla & Sidhu 2011)	?	+	?	+	?	?	?	?	?	?	?	+
MC32 (Goyal et al., 2011)	?	+	?	+	?	?	?	?	?	?	?	+
MC37 (Shukla et al., 2012)	?	+	?	+	?	?	?	?	?	?	?	+
MC45 (Franco et al., 2013)	?	+	?	+	?	?	?	?	?	?	?	+
MC46 (Goyal et al., 2013)	?	+	?	+	?	?	?	?	?	?	?	+
MC47 (Goyal & Shukla 2013)	?	+	?	+	?	?	?	?	?	?	?	+
MC49 (Shukla et al., 2013)	?	-	?	?	?	?	?	?	?	?	?	+
MC51 (Arner et al., 2014)	?	+	?	+	?	?	?	?	?	?	?	+
MC70 (Allain et al., 2018)	?	-	?	?	?	?	?	?	?	?	?	+
MC71 (Allain et al., 2018)	?	+	?	+	?	?	?	?	?	?	?	+
MC77 (Ribeiro et al., 2018)	?	+	?	+	?	?	?	?	?	?	?	+
MC81 (Fonseca et al., 2019)	?	+	?	+	?	?	?	?	?	?	?	+
MC82 (Al-Khalilq et al., 2019)	?	+	?	+	?	?	?	?	?	?	?	+
MC93 (Shukla et al., 2020)	?	+	?	+	?	?	?	?	?	?	?	+
	A sequência de alocação foi gerada e aplicada adequadamente?											
	Os grupos eram semelhantes em linha de base ou foram ajustados para fatores de confusão na análise?											
	A alocação foi ocultado adequadamente?											
	Os animais foram aleatoriamente alojados durante a experiência?											
	Os investigadores foram cegos de qual intervenção cada animal recebeu durante o experimento?											
	Os animais foram selecionados aleatoriamente para avaliação de resultados?											
	O avaliador do resultado foi cegado?											
	Os dados dos resultados incompletos foram adequadamente esclarecidos?											
	Os relatos do estudo são livres de resultados seletivos?											
	O estudo foi livre de outros problemas que poderiam resultar em alto risco de viés?											

Legenda: verde (baixo risco), amarelo (não está claro), vermelho (alto risco)

Figura 3. Resumo geral do risco de viés



Legenda: verde (baixo risco), amarelo (não está claro), vermelho (alto risco)

6 DISCUSSÃO

No presente trabalho, fica claro que em todos os quatorze estudos analisados é reforçado o efeito protetor do probióticos na infecção por *Giardia duodenales*, recebendo destaque principalmente o gênero *Lactobacillus* que possui bons resultados em onze dos quatorze trabalhos selecionados. Isso está em concordância com o que é visto em outros trabalhos com diferentes parasitas, nos quais a maior parte dos probióticos analisados pertence ao mesmo gênero (VITETTA et al., 2016).

Em relação à contagem de cistos, no presente trabalho pode se observar que os autores (AL-KHALIQ, 2019; ALLAIN et al., 2018b; GOYAL; RISHI; SHUKLA, 2013; GOYAL; SHUKLA, 2013; SHUKLA et al., 2010; SHUKLA; DEVI; SEHGAL, 2008; SHUKLA; GOYAL; TIWARI, 2011; SHUKLA; KAMBOJ; SHARMA, 2020; SHUKLA; KAUR; SHARMA, 2013; SHUKLA; SIDHU, 2011; SHUKLA; SIDHU; VERMA, 2012) obtiveram bons resultados ao utilizarem tratamento com probióticos, podendo-se observar uma redução no tempo de resolução da infecção e diminuição no número de cistos de *giardia* na contagem. Isso pode ocorrer pelo fato da colonização do probiótico no intestino impedir a aderência de trofozoítos (AL-MEGRIN et al., 2021; VITETTA et al., 2016).

Dessa mesma forma se deu a relação à contagem de trofozoítos nos trabalhos dos pesquisadores (ALLAIN et al., 2018a, 2018b; AMER; MOSSALLAM; MAHROUS, 2014; BENYACOUB et al., 2005; FONSECA et al., 2019b; FRANCO et al., 2013; HUMEN et al., 2005; RIBEIRO et al., 2018b, 2021; SHUKLA; DEVI; SEHGAL, 2008; SHUKLA; GOYAL; TIWARI, 2011; SHUKLA; KAMBOJ; SHARMA, 2020; SHUKLA; KAUR; SHARMA, 2013; SHUKLA; SIDHU, 2011; SHUKLA; SIDHU; VERMA, 2012). Vale o destaque do trabalho realizado com gerbilos pelos autores (HUMEN et al., 2005) que não teve a intensidade da infecção afetada pelo tratamento com probióticos, mas a taxa de infecção foi significativamente afetada observando que a infecção do grupo tratado foi resolvida sete dias antes ou mais do que o grupo placebo.

A respeito da resposta imune os trabalhos de BENYACOUB et al., 2005; FRANCO et al., 2013; GOYAL; RISHI; SHUKLA, 2013; HUMEN et al., 2005;

SHUKLA et al., 2010; SHUKLA; DEVI; SEHGAL, 2008; SHUKLA; KAMBOJ; SHARMA, 2020; SHUKLA; SIDHU, 2011; SHUKLA; SIDHU; VERMA, 2012 mostram picos de níveis de antígenos nos grupos controles em comparação com menores quantidades de antígenos encontrados nas fezes dos camundongos assim como um aumento dos níveis de anticorpos para grupos tratados com probióticos em relação aos controles bem como maiores níveis de proteínas totais, globulinas, hemoglobinas e contagem total de leucócitos. Os trabalhos também indicam uma tendência do probiótico de reativar resposta adaptativa do hospedeiro. Houve ainda restauração de células IgA positivas graças à ação de probiótico, aumento de expressão de fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e aumento de Intérferon (IFN- γ). Tudo isso ocorre em concordância, visto que o tratamento com probióticos pode alterar as proteínas de superfície dos trofozoítos induzindo uma resposta imune. Uma melhor colonização de *L. casei* com efeito na resposta imune limitando a infecção por *Giardia* além de aumentar a produção e secreção de IgA, induzir expressão de células TGF β , IL-10, IL-06 (AL-MEGRIN et al., 2021; VITETTA et al., 2016)

A respeito das análises de histopatologia, os trabalhos de (AL-KHALIQ, 2019; AMER; MOSSALLAM; MAHROUS, 2014; FONSECA et al., 2019a; GOYAL; SHUKLA, 2013; RIBEIRO et al., 2018b, 2021; SHUKLA et al., 2010; SHUKLA; DEVI; SEHGAL, 2008; SHUKLA; KAMBOJ; SHARMA, 2020; SHUKLA; KAUR; SHARMA, 2013; SHUKLA; SIDHU, 2011; SHUKLA; SIDHU; VERMA, 2012) encontrados nesta revisão mostram que o uso de probióticos reduz os danos nas vilosidades criptas e os animais que utilizam o tratamento desses probióticos apresentam menos sinais de edema e inflamação sendo o tratamento ainda capaz de restaurar a morfologia intestinal. De acordo com o ciclo normal de restauração da mucosa, já foi demonstrado o uso de *S. boulardii* como um tratamento adjunto de metronidazol para restauração da arquitetura da mucosa intestinal (BESIRBELLIOGLU et al., 2006; RIBEIRO et al., 2018b, 2021; VITETTA et al., 2016).

Os trabalhos de SHUKLA; SIDHU, 2011; SHUKLA; SIDHU; VERMA, 2012 ainda mostram resultados de massa corporal e massa dos órgãos. Nesses dois trabalhos os camundongos tratados com probióticos conseguiram obter crescimento de massa corporal diferentemente dos camundongos apenas infectados com *Giardia*. Isso porque a colonização de *Lactobacillus casei*, e

como consequência a queda de cistos e trofozoítos de *Giardia*, faz com que a infecção se resolva mais cedo e diminui lesões, e reações inflamatórias

Vale ressaltar os resultados a respeito de fosfatase alcalina e dissacaridases do trabalho de GOYAL; SHUKLA, 2013 no qual a suplementação oral do probiótico *Lactobacillus rhamosus* GG nos grupos IV e V (infectados com *Giardia*) resultou numa maior atividade de fosfatase alcalina, sucrase e lactase em comparação com o grupo de infectados.

Também há o resultado de peroxidação lipídica de GOYAL; SHUKLA, 2013, a peroxidação lipídica medida em termos MDA foi maior no grupo III (infectados) durante a infecção em comparação com o grupo I (controle). Em contraste, os grupos IV e V (tratados com probióticos e infectados) tiveram uma diminuição dos níveis de peroxidação lipídica em comparação com os camundongos infectados.

Ainda no trabalho de GOYAL; SHUKLA, 2013, a queda nos níveis de antioxidantes SOD e GSH no grupo de infectados em comparação com os controles (grupo I) ($p < 0,05$). A administração oral do probiótico para os grupos IV e V (infectados com *Giardia*) levou a um aumento no nível desses antioxidantes em comparação com os camundongos infectados ($p < 0,05$).

A partir da presente revisão sistemática, apenas um trabalho foi encontrado com testes realizados em seres humanos a respeito do tratamento com *Giardia*. Ainda não é possível a realização de testes em seres humanos pelo número pequeno de trabalhos a respeito, mas esse não foi o objetivo e nem esteve entre os critérios de busca dos artigos. Nesse sentido, são necessários ainda mais trabalhos que relacionem e verifiquem os efeitos do tratamento de probióticos em camundongos para progredir para os testes de fase em seres humanos, visto que somente quatorze trabalhos relatam esses efeitos.

A pesquisa para a utilização de probióticos como uma alternativa se mostra promissora de forma a complementar o tratamento de *Giardia* reduzindo efeitos colaterais do tratamento já utilizado ou até servindo como alternativa de tratamento em um futuro a partir da regulação da microbiota por colonização, e indução da resposta imune visto que alternativas de tratamento sempre devem ser estimuladas para reduzir efeitos colaterais adversos e para atender populações que não reagem bem ao tratamento convencional

(BESIRBELLIOGLU et al., 2006; LALLE; HANEVIK, 2018; RIBEIRO et al., 2018b, 2021).

Levando em consideração um trabalho de 2006 no qual foi realizado testes em seres humanos em uma co-intervenção com metronidazol, *S. boulardi* foi sugerido como um tratamento adjunto para giardíase. Isso pode ser futuramente sugerido com mais testes para os outros gêneros de probióticos avaliados na presente revisão (BESIRBELLIOGLU et al., 2006).

Dessa forma, o presente trabalho sugere mais testes utilizando probióticos, com destaque para *Lactobacillus casei*, que foi o probiótico mais avaliado e *Sacharomyces boulardii*, que possui um trabalho com seres humanos, possuindo já um bom histórico em combate a doenças parasitárias, mas que precisa ainda ser testado mais vezes.

Alguns trabalhos faltaram com apresentação de dados completos de variável contínua de interesse. Por se tratar de uma revisão sistemática com estudos *in vivo*, não é possível fazer uma correlação direta com seres humanos. O presente estudo também não possui uma avaliação estatística o que dificulta a análise.

7 CONCLUSÕES

A análise da presente revisão mostra que o uso de probióticos como tratamento em murinos infectados com *Giardia* reduz nos pontos de observação a cada semana após infecção, a quantidade de trofozoítos e cistos desse parasita, reduz o tempo de infecção, potencializa a resposta imune e influencia na regeneração da mucosa intestinal e, dessa forma, possui bom potencial para intervenção com resultados positivos.

Os probióticos que possuem destaque nesse estudo para remissão da Giardíase são *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamosus* e o probiótico *Saccharomyces boulardii* que já possui um teste com seres humanos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL-KHALIQ, I. M. A. Effect of Bifidobacterium probiotic in the treatment of giardiasis infection in mice. **Baghdad Science Journal**, v. 16, n. 4, p. 849–853, 2019.
- ALLAIN, T. et al. Bile-Salt-Hydrolases from the probiotic strain *Lactobacillus johnsonii* La1 mediate anti-giardial activity in vitro and in vivo. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. JAN, 31 jan. 2018a.
- ALLAIN, T. et al. Bile salt hydrolase activities: A novel target to screen anti-Giardia lactobacilli? **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. FEB, 8 fev. 2018b.
- AL-MEGRIN, W. A. et al. Preventive role of probiotic bacteria against gastrointestinal diseases in mice caused by *Giardia lamblia*. **Bioscience Reports**, v. 41, n. 2, 1 fev. 2021.
- AMER, E. I.; MOSSALLAM, S. F.; MAHROUS, H. Therapeutic enhancement of newly derived bacteriocins against *Giardia lamblia*. **Experimental Parasitology**, v. 146, p. 52–63, 1 nov. 2014.
- ARGÜELLO-GARCÍA, R. et al. Drug resistance in *Giardia*: Mechanisms and alternative treatments for Giardiasis. Em: **Advances in Parasitology**. [s.l.] Academic Press, 2020. v. 107p. 201–282.
- BENYACOUB, J. et al. **Nutritional Immunology Enterococcus faecium SF68 Enhances the Immune Response to Giardia intestinalis in Mice 1J. Nutr.** [Disponível em: <<https://academic.oup.com/jn/article/135/5/1171/4663979>>].
- BESIRBELLIOGLU, B. et al. *Saccharomyces boulardii* and infection due to *Giardia lamblia*. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, v. 38, n. 6–7, p. 479–481, jul. 2006.
- BURET, A. G. et al. **Giardia duodenalis: New Research Developments in Pathophysiology, Pathogenesis, and Virulence Factors. Current Tropical Medicine Reports** Springer Verlag, , 6 set. 2015.
- BURET, A. G. et al. Update on *Giardia*: Highlights from the seventh International *Giardia* and *Cryptosporidium* Conference. **Parasite**, v. 27, 2020.
- COELHO, C. H. et al. Giardiasis as a neglected disease in Brazil: Systematic review of 20 years of publications. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 10, 24 out. 2017a.
- COELHO, C. H. et al. Giardiasis as a neglected disease in Brazil: Systematic review of 20 years of publications. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 10, 24 out. 2017b.

- CONLON, M. A.; BIRD, A. R. **The impact of diet and lifestyle on gut microbiota and human health.** *Nutrients* MDPI AG, 24 dez. 2015.
- DASHTI, N.; ZAREBAVANI, M. **Probiotics in the management of Giardia duodenalis: an update on potential mechanisms and outcomes.** *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* Springer Science and Business Media Deutschland GmbH, 1 set. 2021.
- ELISABETH CAMPOS DE ANDRADE et al. Intestinal parasitic diseases a review of social, epidemiologic, clinical and therapeutic aspects. v. 2, p. 2031–240, 2010.
- FANTINATTI, M. et al. Epidemiology of giardia duodenalis assemblages in brazil: There is still a long way to go. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 115, n. 11, p. 1–12, 1 nov. 2020.
- FONSECA, J. F. et al. Probiotic effect of Bifidobacterium longum 51A and Weissella paramesenteroides WpK4 on gerbils infected with Giardia lamblia. *Journal of Applied Microbiology*, v. 127, n. 4, p. 1184–1191, 1 out. 2019a.
- FONSECA, J. F. et al. Probiotic effect of Bifidobacterium longum 51A and Weissella paramesenteroides WpK4 on gerbils infected with Giardia lamblia. *Journal of Applied Microbiology*, v. 127, n. 4, p. 1184–1191, 1 out. 2019b.
- FRANCO, M. C. et al. Administration of kefir-fermented milk protects mice against Giardia intestinalis infection. *Journal of Medical Microbiology*, v. 62, n. PART 12, p. 1815–1822, dez. 2013.
- GARCÍA-RUBIO, I. et al. Hypersensitivity reactions to metronidazole. *Allergologia et Immunopathologia*, v. 34, n. 2, p. 70–72, 2006.
- GARDNER, T. B.; HILL, D. R. **Treatment of giardiasis.** *Clinical Microbiology Reviews*, 2001.
- GOMAA, E. Z. **Human gut microbiota/microbiome in health and diseases: a review.** *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology* Springer Science and Business Media Deutschland GmbH, 1 dez. 2020.
- GOYAL, N.; RISHI, P.; SHUKLA, G. Lactobacillus rhamnosus GG antagonizes Giardia intestinalis induced oxidative stress and intestinal disaccharidases: An experimental study. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 29, n. 6, p. 1049–1057, jun. 2013.
- GOYAL, N.; SHUKLA, G. Probiotic lactobacillus rhamnosus GG modulates the mucosal immune response in giardia intestinalis-infected BALB/c Mice. *Digestive Diseases and Sciences*, v. 58, n. 5, p. 1218–1225, maio 2013.

- GUPTA, R. et al. **Lactic Acid Bacteria: Probiotic Characteristic, Selection Criteria, and its Role in Human Health (A Review)**. [s.l.] JETIR, 2018. Disponível em: <www.jetir.org>.
- HUMEN, M. A. et al. Lactobacillus johnsonii La1 antagonizes Giardia intestinalis in vivo. **Infection and Immunity**, v. 73, n. 2, p. 1265–1269, fev. 2005.
- ISLAM, S. U. Clinical Uses of Probiotics. **Medicine**, v. 95, n. 5, p. e2658, 1 fev. 2016.
- KECHAGIA, M. et al. Health Benefits of Probiotics: A Review. **ISRN Nutrition**, v. 2013, p. 1–7, 2 jan. 2013.
- KIM, S. K. et al. Role of probiotics in human gut microbiome-associated diseases. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 29, n. 9, p. 1335–1340, 2019.
- LALLE, M.; HANEVIK, K. **Treatment-refractory giardiasis: Challenges and solutions**. **Infection and Drug Resistance** Dove Medical Press Ltd., , 2018.
- LEUNG, J. M.; GRAHAM, A. L.; KNOWLES, S. C. L. **Parasite-microbiota interactions with the vertebrate gut: Synthesis through an ecological lens**. **Frontiers in Microbiology** Frontiers Media S.A., 14 maio 2018.
- MALDOTTI, J.; DALZOCHIO, T. Parasitos Intestinais em Crianças no Brasil: Revisão Sistemática. **Revista Cereus**, v. 13, n. 1, 2021.
- OUZZANI, M. et al. Rayyan-a web and mobile app for systematic reviews. **Systematic Reviews**, v. 5, n. 1, 5 dez. 2016.
- QUINTELA, H.; DE MORAES, S. **Parasitoses Intestinais em Crianças - um Projeto de Intervenção para o Bairro do Cruzeiro no Município de São Sebastião-Alagoas**. 2016.
- RIBA, A. et al. **Disturbed gut microbiota and bile homeostasis in Giardia-infected mice contributes to metabolic dysregulation and growth impairment** **Sci. Transl. Med.** 2020 Disponível em: <<http://stm.sciencemag.org/>>.
- RIBEIRO, M. R. S. et al. Effect of probiotic Saccharomyces boulardii in experimental giardiasis. **Beneficial Microbes**, v. 9, n. 5, p. 789–797, 2018a.
- RIBEIRO, M. R. S. et al. Effect of probiotic Saccharomyces boulardii in experimental giardiasis. **Beneficial Microbes**, v. 9, n. 5, p. 789–797, 2018b.
- RIBEIRO, M. R. S. et al. Saccharomyces boulardii as therapeutic alternative in experimental giardiasis. **Journal of Applied Microbiology**, v. 131, n. 1, p. 460–469, 1 jul. 2021.

- SHUKLA, G. et al. Protective potential of *L. acidophilus* in murine giardiasis. **Central European Journal of Medicine**, v. 5, n. 4, p. 456–463, ago. 2010.
- SHUKLA, G.; DEVI, P.; SEHGAL, R. Effect of *Lactobacillus casei* as a probiotic on modulation of giardiasis. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 53, n. 10, p. 2671–2679, out. 2008.
- SHUKLA, G.; GOYAL, N.; TIWARI, R. P. *Lactobacillus rhamnosus* GG as an effective probiotic for murine giardiasis. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, v. 2011, 2011.
- SHUKLA, G.; KAMBOJ, S.; SHARMA, B. Comparative Analysis of Antigiardial Potential of Heat Inactivated and Probiotic Protein of Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG in Murine Giardiasis. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, v. 12, n. 1, p. 271–279, 1 mar. 2020.
- SHUKLA, G.; KAUR, H.; SHARMA, L. Comparative therapeutic effect of probiotic *Lactobacillus casei* alone and in conjunction with antiprotozoal drugs in murine giardiasis. **Parasitology Research**, v. 112, n. 6, p. 2143–2149, jun. 2013.
- SHUKLA, G.; SIDHU, R. K. *Lactobacillus casei* as a probiotic in malnourished giardia lamblia-infected mice: A biochemical and histopathological study. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 57, n. 2, p. 127–135, fev. 2011.
- SHUKLA, G.; SIDHU, R. K.; VERMA, A. Restoration of anthropometric, biochemical and histopathological alterations by *Lactobacillus casei* supplementation in *Giardia intestinalis* infected renourished BALB/c mice. **Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology**, v. 102, n. 1, p. 61–72, jun. 2012.
- VENTURA, L. L. A. et al. **Effect of probiotics on giardiasis. Where are we?** **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences** Faculdade de Ciências Farmaceuticas (Biblioteca), 2018.
- VITETTA, L. et al. **Modulating the gut micro-environment in the treatment of intestinal parasites.** **Journal of Clinical Medicine** MDPI, 1 nov. 2016.
- WIEËRS, G. et al. **How Probiotics Affect the Microbiota.** **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology** Frontiers Media S.A., 15 jan. 2020.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. DEPARTMENT OF CONTROL OF NEGLECTED TROPICAL DISEASES. **Integrating neglected tropical diseases into global health and development : fourth WHO report on neglected tropical diseases.** 2017, v. 1
- YADAV, P.; SINGH, R. **A Review on Anthelmintic Drugs and their Future Scope.** 2011.

APÊNDICE I

Tabela 1 suplementar – Tabela da estratégia de busca:

Base de dados	Estratégia de busca aplicada em 17/02/2021	n
PubMed	<p>P – "Congenic Mice" OR "Inbred Strains Mice" OR "Collaborative Cross Mice" OR "129 Strain Mice" OR "Hairless Mice" OR "Inbred A Mice" OR "Mice" OR "Inbred AKR" OR "BALB C" OR "Inbred C3H" OR "Inbred C57BL" OR "Inbred CBA" OR "Inbred CFTR" OR "Inbred DBA" OR "Inbred ICR" OR "Inbred MRL lpr" OR "Inbred NOD" OR "Inbred NZB" OR "Inbred SENCAR" OR "Mutant Strains Mice" OR "129 Strain Mice" OR "Biozzi" OR "Hairless Mice" OR "Inbred mdx Mice" OR "Jimpy Mice" OR "Knockout Mice" OR "Neurologic Mutants Mice" OR "Nude Mice" OR "Obese Mice" OR "Quaking Mice" OR "SCID Mice" OR "Transgenic Mice" OR "Mus" OR "Mouse" OR "Mus domesticus" OR "Mus musculus domesticus" OR "Mus musculus" OR "House Mice" OR "Swiss Mice" OR "Swiss Mouse" OR "Swiss Mice" OR "Laboratory Mice" OR "Laboratory Mouse" OR "Psammomys" OR "Meriones" OR "Merione" OR "Jird" OR "Jirds" OR "Sand Rats" OR "Sand Rat" OR "Gerbils" OR "Gerbil" OR "Gerbillinae"</p> <p>I – "Probiotics"[Mesh:NoExp] OR "Lactobacillus"[Mesh] OR "Bifidobacterium"[Mesh] OR "probiotic" OR "probiotics" OR "lactobacillus" OR "bifidobacterium" OR "Probiotics" OR "Lactobacillus acidophilus" OR "Lactobacillus brevis" OR "Lactobacillus casei" OR "Lactobacillus crispatus" OR "Lactobacillus delbrueckii" OR "Lactobacillus fermentum" OR "Lactobacillus gasserii" OR "Lactobacillus helveticus" OR "Lactobacillus johnsonii" OR "Lactobacillus leichmannii" OR "Lactobacillus paracasei" OR "Lactobacillus pentosus" OR "Lactobacillus plantarum" OR "Lactobacillus reuteri" OR "Lactobacillus rhamnosus" OR "Lactobacillus sakei" OR "Lactobacillus salivarius" OR "Bifidobacterium adolescentis" OR "Bifidobacterium animalis" OR "Bifidobacterium bifidum" OR "Bifidobacterium breve" OR "Bifidobacterium longum" OR "Bifidobacterium longum subspecies infantis" OR "Bifidobacterium pseudocatenulatum" OR "Actinomycetaceae" OR "Actinomycetales"</p> <p>E - "Parasitic Intestinal Diseases"[Mesh] OR "intestinal parasite" OR "Parasitic Disease" OR "Parasitic Diseases" OR "Parasite Infections" OR "Parasite Infection" OR "Parasitic Infection" OR "Parasitic Infections" OR "Anisakiasis" OR "Balantidiasis" OR "Blastocystis Infections" OR "Cryptosporidiosis" OR "Dientamoebiasis" OR "Amebic Dysentery" OR "Giardiasis"</p>	53
EMBASE	(1) 'Congenic Mice' OR 'Inbred Strains Mice' OR 'Collaborative Cross Mice' OR '129 Strain Mice' OR '129 Strain Mice'	36

	<p>OR Biozzi OR 'Hairless Mice' OR 'Inbred mdx Mice' OR 'Jimpy Mice' OR 'Knockout Mice' OR 'Neurologic Mutants Mice' OR 'Nude Mice' OR 'Obese Mice' OR 'Quaking Mice' OR 'SCID Mice' OR 'Transgenic Mice' OR Mus OR Mouse OR 'Mus domesticus' OR 'Mus musculus domesticus' OR 'Mus musculus' OR 'House Mice' OR 'Swiss Mice' OR 'Swiss Mouse' OR 'Swiss Mice' OR 'Laboratory Mice' OR 'Laboratory Mouse' OR 'Psammomys' OR Meriones OR Merione OR Jird OR Jirds OR 'Sand Rats' OR 'Sand Rat' OR Gerbils OR Gerbil OR Gerbillinae OR Camundongo OR 'Camundongo Caseiro' OR 'Camundongos Caseiros' OR 'Ratones Caseros' OR Ratón OR 'Ratón Casero' OR Camundongo OR 'Camundongo Caseiro' OR 'Hairless Mice' OR 'Inbred A Mice' OR Mice OR 'Inbred AKR' OR 'BALB C' OR 'Inbred C3H' OR 'Inbred C57BL' OR 'Inbred CBA' OR 'Inbred CFTR' OR 'Inbred DBA' OR 'Inbred ICR' OR 'Inbred MRL lpr' OR 'Inbred NOD' OR 'Inbred NZB' OR 'Inbred SENCAR' OR 'Mutant ' OR 'Camundongos Caseiros' OR 'Souris commune' OR 'Souris de laboratoire' OR 'Souris domestique' OR 'Souris grise' OR 'Souris suisse' OR 'experimental mice' OR 'laboratory mice' OR 'laboratory mouse' OR mouse</p> <p>(2) Probiotics OR Lactobacillus OR Bifidobacterium OR probiotic OR probiotics OR lactobacillus OR bifidobacterium OR microbiota OR Probiotics OR 'Lactobacillus acidophilus' OR 'Lactobacillus brevis' OR 'Lactobacillus casei' OR 'Lactobacillus crispatus' OR 'Lactobacillus delbrueckii' OR 'Lactobacillus fermentum' OR 'Lactobacillus gasseri' OR 'Lactobacillus helveticus' OR 'Lactobacillus johnsonii' OR 'Lactobacillus leichmannii' OR 'Lactobacillus paracasei' OR 'Lactobacillus pentosus' OR 'Lactobacillus plantarum' OR 'Lactobacillus reuteri' OR 'Lactobacillus rhamnosus' OR 'Lactobacillus sakei' OR 'Lactobacillus salivarius' OR 'Bifidobacterium adolescentis' OR 'Bifidobacterium animalis' OR 'Bifidobacterium bifidum' OR 'Bifidobacterium breve' OR 'Bifidobacterium longum' OR 'Bifidobacterium longum subspecies infantis' OR 'Bifidobacterium pseudocatenulatum' OR Actinomycetaceae OR Actinomycetales OR Probiótico OR Probiotiques OR 'Lactobacillus plantarum concentrate' OR 'Saccharomyces boulardii concentrate'</p> <p>(3) 'Parasitic Intestinal Diseases' OR 'intestinal parasite' OR 'Parasitic Disease' OR 'Parasitic Diseases' OR 'Parasite Infections' OR 'Parasite Infection' OR 'Parasitic Infection' OR 'Parasitic Infections' OR Anisakiasis OR Balantidiasis OR 'Blastocystis Infections' OR Cryptosporidiosis OR Dientamoebiasis OR 'Amebic Dysentery' OR Giardiasis OR 'Enteropatis Parasitárias' OR 'Parasitosis Intestinales' OR 'Parasitoses intestinales' OR 'Parasitic Intestinal Disease' OR 'Enfermedades Infecciosas Intestinales' OR helminthiasis OR 'protozoal infection'</p> <p>(4) #1 OR #2 OR #3</p>	
--	--	--

	(5) #1 AND #2 AND #3 (5) #5 AND [embase]/lim NOT ([embase]/lim AND [medline]/lim)	
Scopus	TITLE-ABS-KEY ("Congenic Mice" OR "Inbred Strains Mice" OR "Collaborative Cross Mice" OR "129 Strain MiceStrains Mice" OR "129 Strain Mice" OR biozzi OR "Hairless Mice" OR "Inbred mdx Mice" OR "Jimpy Mice" OR "Knockout Mice" OR "Neurologic Mutants Mice" OR "Nude Mice" OR "Obese Mice" OR "Quaking Mice" OR "SCID Mice" OR "Transgenic Mice" OR mus OR mouse OR "Mus domesticus" OR "Mus musculus domesticus" OR "Mus musculus" OR "House Mice" OR "Swiss Mice" OR "Swiss Mouse" OR "Swiss Mice" OR "Laboratory Mice" OR "Laboratory Mouse" OR "Psammomys" OR meriones OR merione OR jird OR jirds OR "Sand Rats" OR "Sand Rat" OR gerbils OR gerbil OR gerbillinae OR camundongo OR "Camundongo Caseiro" OR "Camundongos Caseiros" OR "Ratones Caseros" OR ratón OR "Ratón Casero" OR camundongo OR "Camundongo Caseiro" OR "Hairless Mice" OR "Inbred A Mice" OR mice OR "Inbred AKR" OR "BALB C" OR "Inbred C3H" OR "Inbred C57BL" OR "Inbred CBA" OR "Inbred CFTR" OR "Inbred DBA" OR "Inbred ICR" OR "Inbred MRL lpr" OR "Inbred NOD" OR "Inbred NZB" OR "Inbred SENCAR" OR "Mutant " OR "Camundongos Caseiros" OR "Souris commune" OR "Souris de laboratoire" OR "Souris domestique" OR "Souris grise" OR "Souris suisse" OR "experimental mice" OR "laboratory mice" OR "laboratory mouse" OR mouse) AND TITLE-ABS-KEY (probiotics OR lactobacillus OR bifidobacterium OR probiotic OR probiotics OR lactobacillus OR bifidobacterium OR microbiota OR probiotics OR "Lactobacillus acidophilus" OR "Lactobacillus brevis" OR "Lactobacillus casei" OR "Lactobacillus crispatus" OR "Lactobacillus delbrueckii" OR "Lactobacillus fermentum" OR "Lactobacillus gasseri" OR "Lactobacillus helveticus" OR "Lactobacillus johnsonii" OR "Lactobacillus leichmannii" OR "Lactobacillus paracasei" OR "Lactobacillus pentosus" OR "Lactobacillus plantarum" OR "Lactobacillus reuteri" OR "Lactobacillus rhamnosus" OR "Lactobacillus sakei" OR "Lactobacillus salivarius" OR "Bifidobacterium adolescentis" OR "Bifidobacterium animalis" OR "Bifidobacterium bifidum" OR "Bifidobacterium breve" OR "Bifidobacterium longum" OR "Bifidobacterium longum subspecies infantis" OR "Bifidobacterium pseudocatenulatum" OR actinomycetaceae OR actinomycetales OR probiótico OR probiotiques OR "Lactobacillus plantarum concentrate" OR "Saccharomyces boulardii concentrate") AND TITLE-ABS-KEY ("Parasitic Intestinal Diseases" OR "intestinal parasite" OR "Parasitic Disease" OR "Parasitic Diseases" OR "Parasite Infections" OR "Parasite Infection" OR "Parasitic Infection" OR "Parasitic Infections" OR anisakiasis OR balantidiasis OR "Blastocystis Infections" OR cryptosporidiosis OR dientamoebiasis OR "Amebic Dysentery" OR giardiasis OR "Enteropatas Parasitárias" OR "Parasitosis Intestinales" OR "Parasitoses intestinales" OR "Parasitic Intestinal Disease" OR	140

	"Enfermedades Infecciosas Intestinales" OR helminthiasis OR "protozoal infection" OR "Maladies parasitaires de l'intestin")	
Web of Science	<p>#1 "Congenic Mice" OR "Inbred Strains Mice" OR "Collaborative Cross Mice" OR "129 Strain Mice Strains Mice" OR "129 Strain Mice" OR Biozzi OR "Hairless Mice" OR "Inbred mdx Mice" OR "Jimpy Mice" OR "Knockout Mice" OR "Neurologic Mutants Mice" OR "Nude Mice" OR "Obese Mice" OR "Quaking Mice" OR "SCID Mice" OR "Transgenic Mice" OR Mus OR Mouse OR "Mus domesticus" OR "Mus musculus domesticus" OR "Mus musculus" OR "House Mice" OR "Swiss Mice" OR "Swiss Mouse" OR "Swiss Mice" OR "Laboratory Mice" OR "Laboratory Mouse" OR "Psammomys" OR Meriones OR Merione OR Jird OR Jirds OR "Sand Rats" OR "Sand Rat" OR Gerbils OR Gerbil OR Gerbillinae OR Camundongo OR "Camundongo Caseiro" OR "Camundongos Caseiros" OR "Ratones Caseros" OR Ratón OR "Ratón Casero" OR Camundongo OR "Camundongo Caseiro" OR "Hairless Mice" OR "Inbred A Mice" OR Mice OR "Inbred AKR" OR "BALB C" OR "Inbred C3H" OR "Inbred C57BL" OR "Inbred CBA" OR "Inbred CFTR" OR "Inbred DBA" OR "Inbred ICR" OR "Inbred MRL lpr" OR "Inbred NOD" OR "Inbred NZB" OR "Inbred SENCAR" OR "Mutant " OR "Camundongos Caseiros" OR "Souris commune" OR "Souris de laboratoire" OR "Souris domestique" OR "Souris grise" OR "Souris suisse" OR "experimental mice" OR "laboratory mice" OR "laboratory mouse" OR mouse</p> <p>#2 Probiotics OR Lactobacillus OR Bifidobacterium OR probiotic OR probiotics OR lactobacillus OR bifidobacterium OR microbiota OR Probiotics OR "Lactobacillus acidophilus" OR "Lactobacillus brevis" OR "Lactobacillus casei" OR "Lactobacillus crispatus" OR "Lactobacillus delbrueckii" OR "Lactobacillus fermentum" OR "Lactobacillus gasseri" OR "Lactobacillus helveticus" OR "Lactobacillus johnsonii" OR "Lactobacillus leichmannii" OR "Lactobacillus paracasei" OR "Lactobacillus pentosus" OR "Lactobacillus plantarum" OR "Lactobacillus reuteri" OR "Lactobacillus rhamnosus" OR "Lactobacillus sakei" OR "Lactobacillus salivarius" OR "Bifidobacterium adolescentis" OR "Bifidobacterium animalis" OR "Bifidobacterium bifidum" OR "Bifidobacterium breve" OR "Bifidobacterium longum" OR "Bifidobacterium longum subspecies infantis" OR "Bifidobacterium pseudocatenulatum" OR Actinomycetaceae OR Actinomycetales OR Probiótico OR Probiotiques OR "Lactobacillus plantarum concentrate" OR "Saccharomyces boulardii concentrate"</p> <p>#3 "Parasitic Intestinal Diseases" OR "intestinal parasite" OR "Parasitic Disease" OR "Parasitic Diseases" OR "Parasite Infections" OR "Parasite Infection" OR "Parasitic Infection" OR "Parasitic Infections" OR Anisakiasis OR Balantidiasis OR Blastocystis Infections OR Cryptosporidiosis OR Dientamoebiasis OR "Amebic Dysentery" OR Giardiasis OR "Enteropatiás Parasitárias" OR "Parasitosis Intestinales" OR "Parasitoses intestinales" OR "Parasitic Intestinal Disease" OR "Enfermedades Infecciosas Intestinales" OR</p>	79

	<p>helminthiasis OR "protozoal infection" OR "Maladies parasitaires de l'intestin"</p> <p>#4 #3 AND #2 AND #1</p>	
LIVIVO	<p>((("Congenic Mice" OR "Inbred Strains Mice" OR "Collaborative Cross Mice" OR "129 Strain MiceStrains Mice" OR "129 Strain Mice" OR Biozzi OR "Hairless Mice" OR "Inbred mdx Mice" OR "Jimpy Mice" OR "Knockout Mice" OR "Neurologic Mutants Mice" OR "Nude Mice" OR "Obese Mice" OR "Quaking Mice" OR "SCID Mice" OR "Transgenic Mice" OR Mus OR Mouse OR "Mus domesticus" OR "Mus musculus domesticus" OR "Mus musculus" OR "House Mice" OR "Swiss Mice" OR "Swiss Mouse" OR "Swiss Mice" OR "Laboratory Mice" OR "Laboratory Mouse" OR "Psammomys" OR Meriones OR Merione OR Jird OR Jirds OR "Sand Rats" OR "Sand Rat" OR Gerbils OR Gerbil OR Gerbillinae OR Camundongo OR "Camundongo Caseiro" OR "Camundongos Caseiros" OR "Ratones Caseros" OR Ratón OR "Ratón Casero" OR Camundongo OR "Camundongo Caseiro" OR "Hairless Mice" OR "Inbred A Mice" OR Mice OR "Inbred AKR" OR "BALB C" OR "Inbred C3H" OR "Inbred C57BL" OR "Inbred CBA" OR "Inbred CFTR" OR "Inbred DBA" OR "Inbred ICR" OR "Inbred MRL lpr" OR "Inbred NOD" OR "Inbred NZB" OR "Inbred SENCAR" OR "Mutant " OR "Camundongos Caseiros" OR "Souris commune" OR "Souris de laboratoire" OR "Souris domestique" OR "Souris grise" OR "Souris suisse" OR "experimental mice" OR "laboratory mice" OR "laboratory mouse" OR mouse) AND (Probiotics OR Lactobacillus OR Bifidobacterium OR probiotic OR probiotics OR lactobacillus OR bifidobacterium OR microbiota OR Probiotics OR "Lactobacillus acidophilus" OR "Lactobacillus brevis" OR "Lactobacillus casei" OR "Lactobacillus crispatus" OR "Lactobacillus delbrueckii" OR "Lactobacillus fermentum" OR "Lactobacillus gasseri" OR "Lactobacillus helveticus" OR "Lactobacillus johnsonii" OR "Lactobacillus leichmannii" OR "Lactobacillus paracasei" OR "Lactobacillus pentosus" OR "Lactobacillus plantarum" OR "Lactobacillus reuteri" OR "Lactobacillus rhamnosus" OR "Lactobacillus sakei" OR "Lactobacillus salivarius" OR "Bifidobacterium adolescentis" OR "Bifidobacterium animalis" OR "Bifidobacterium bifidum" OR "Bifidobacterium breve" OR "Bifidobacterium longum" OR "Bifidobacterium longum subspecies infantis" OR "Bifidobacterium pseudocatenulatum" OR Actinomycetaceae OR Actinomycetales OR Probiótico OR Probiotiques OR "Lactobacillus plantarum concentrate" OR "Saccharomyces boulardii concentrate") AND ("Parasitic Intestinal Diseases" OR "intestinal parasite" OR "Parasitic Disease" OR "Parasitic Diseases" OR "Parasite Infections" OR "Parasite Infection" OR "Parasitic Infection" OR "Parasitic Infections" OR Anisakiasis OR Balantidiasis OR "Blastocystis Infections" OR Cryptosporidiosis OR Dientamoebiasis OR "Amebic Dysentery" OR Giardiasis OR "Enteropatas Parasitárias" OR "Parasitosis Intestinales" OR "Parasitoses intestinales" OR "Parasitic Intestinal Disease" OR "Enfermedades Infecciosas Intestinales" OR helminthiasis OR "protozoal infection" OR "Maladies parasitaires de l'intestin"))))</p>	244

LILACS	("laboratory mice" OR "laboratory mouse" OR mouse OR mice) AND (Probiotics OR Lactobacillus OR Bifidobacterium OR probiotic) AND (Giardiasis OR "Enteropatas Parasitárias" OR "Parasitosis Intestinales" OR "Parasitoses intestinales" OR "Parasitic Intestinal Disease" OR "Enfermedades Infecciosas Intestinales" OR helminthiasis OR "protozoal infection" OR "Parasitic Disease" OR Parasitic OR Parasitics)	6
Google Scholar	("laboratory mice" OR "laboratory mouse" OR mouse OR mice) AND (Probiotics OR Lactobacillus OR Bifidobacterium OR probiotic) AND ("intestinal parasite" OR "Parasitic Disease" OR "Parasitic Diseases")filetype:pdf (("laboratory mice" OR "laboratory mouse" OR mouse OR mice) AND (Probiotics OR Lactobacillus OR Bifidobacterium OR probiotic) AND ("intestinal parasite" OR "Parasitic Disease" OR "Parasitic Diseases"))	200
OpenGrey	mice AND probiotic AND parasite	0
Total		758

APÊNDICE II

Tabela 2 suplementar – Trabalhos excluídos e razões para exclusão (n=28)
Após Seleção Fase 2.

Identificação	Ano/Autor	Exclusão/Motivo
MC10	2003/ Foster et al.	Critério (3)
MC19	2008/ Dea-Ayuela et al	Critério (3)
MC31	2011/Geriletu	Critério (1)
MC34	2011/ Martínez-Gómez et al.	Critério (3)
MC35	2011/ Travers et al.	Critério (4)
MC36	2011/ Yam et al.	Critério (1)
MC44	2013/ de Avila et al.	Critério (3)
MC48	2013/ McClemens et al.	Critério (3)
MC50	2014/ Reynolds et al.	Critério (2)
MC60	2016/ de Avila et al.	Critério (3)
MC63	2016/ Shukla et al.	Critério (1)
MC64	2016/ Tang et al.	Critério (1)
MC66	2016/ Mohamed et al.	Critério (3)
MC67	2017/ Andrade-Becerra et al.	Critério (4)
MC69	2017/ Yang et al.	Critério (3)
MC72	2018/ Kim et al	Critério (1)
MC73	2018/ Sun et al	Critério (1)
MC74	2018/ Zhou et al.	Critério (1)
MC75	2018/ Bucková et al	Critério (3)
MC76	2018/ Oliveira & Widmer	Critério (2)
MC78	2018/ Walcher et al.	Critério (3)
MC79	2019/ Kim	Critério (1)
MC80	2019/ Shukla et al.	Critério (2)
MC83	2019/Perrucci et al.	Critério (3)
MC87	2020/Salas-Lais et al.	Critério (4)
MC89	2020/Jasim et al.	Critério (3)
MC91	2020/Lu et al.	Critério (1)
MC97	2021/Mohsin et al.	Critério (3)

Legenda: 1) Estudos sem o uso de probióticos; 2) Estudos com co-intervenção em um mesmo grupo; 3) Estudos em animais que não são murinos; 4) Estudos de revisão e 5) Trabalhos que não foram encontrados completos.

Referências encontradas na tabela 2 suplementar

FOSTER, J. C. et al. Effect of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* on *Cryptosporidium parvum* oocyst viability. Disponível em: <www.elsevier.nl/locate/jnlabr/yfmic>.

DEA-AYUELA, M. A.; RAMA-IÑIGUEZ, S.; BOLÁS-FERNANDEZ, F. Enhanced susceptibility to *Trichuris muris* infection of B10Br mice treated with the probiotic *Lactobacillus casei*. *International Immunopharmacology*, v. 8, n. 1, p. 28–35, jan. 2008.

GERILETU et al. Immunogenicity of orally administrated recombinant *Lactobacillus casei* Zhang expressing *Cryptosporidium parvum* surface adhesion protein P23 in Mice. *Current Microbiology*, v. 62, n. 5, p. 1573–1580, maio 2011.

MARTÍNEZ-GÓMEZ, F.; FUENTES-CASTRO, B. E.; BAUTISTA-GARFIAS, C. R. The intraperitoneal inoculation of *Lactobacillus casei* in mice induces total protection against *Trichinella spiralis* infection at low challenge doses. *Parasitology Research*, v. 109, n. 6, p. 1609–1617, dez. 2011.

TRIVERS, M. A. et al. Probiotics for the control of parasites: An overview. *Journal of Parasitology Research*, 2011.

YAM, K. K. et al. Generation and evaluation of A2-expressing *Lactococcus lactis* live vaccines against *Leishmania donovani* in BALB/c mice. *Journal of Medical Microbiology*, v. 60, n. 9, p. 1248–1260, set. 2011.

DE AVILA, L. F. DA C. et al. Efeito protetor do probiótico *Saccharomyces boulardii* na infecção por *Toxocara canis* não se deve à ação direta sobre as larvas. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, v. 55, n. 5, p. 363–365, set. 2013.

MCCLEMENS, J. et al. *Lactobacillus rhamnosus* ingestion promotes innate host defense in an enteric parasitic infection. *Clinical and Vaccine Immunology*, v. 20, n. 6, p. 877–881, 2013.

REYNOLDS, L. A. et al. Commensal-pathogen interactions in the intestinal tract: lactobacilli promote infection with, and are promoted by, helminth parasites. *Gut Microbes*, v. 5, n. 4, p. 522–532, 2014.

DE AVILA, L. F. D. C. et al. Modulation of IL-12 and IFN γ by probiotic supplementation promotes protection against *Toxocara canis* infection in mice. *Parasite Immunology*, v. 38, n. 5, p. 326–330, 1 maio 2016.

SHUKLA, G. et al. Prophylactic Potential of Synbiotic (*Lactobacillus casei* and Inulin) in Malnourished Murine Giardiasis: an Immunological and Ultrastructural

Study. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, v. 11, n. 1, p. 165–174, 15 mar. 2019.

TANG, Z. et al. The immunological characteristics and probiotic function of recombinant *Bacillus subtilis* spore expressing *Clonorchis sinensis* cysteine protease. *Parasites and Vectors*, v. 9, n. 1, 19 dez. 2016.

MOHAMED, A. H. et al. Effect of *Lactobacillus sporogenes* (probiotic) on certain parasitological and molecular aspects in *Schistosoma mansoni* infected mice. *Journal of Parasitic Diseases*, v. 40, n. 3, p. 823–832, 1 set. 2016.

ANDRADE-BECERRA, J. I. et al. Vaccination against *Trichinella spiralis*: Potential, Limitations and Future Directions. Em: *Natural Remedies in the Fight Against Parasites*. [s.l.] InTech, 2017a.

YANG, G. et al. Construction and immunological evaluation of recombinant *Lactobacillus plantarum* expressing SO7 of *Eimeria tenella* fusion DC-targeting peptide. *Veterinary Parasitology*, v. 236, p. 7–13, 15 mar. 2017.

KIM, J. Y. et al. Chinese liver fluke *Clonorchis sinensis* infection changes the gut microbiome and increases probiotic *Lactobacillus* in mice. *Parasitology Research*, v. 118, n. 2, p. 693–699, 14 fev. 2019.

SUN, H. et al. *Bacillus subtilis* spore with surface display of paramyosin from *Clonorchis sinensis* potentializes a promising oral vaccine candidate. *Parasites and Vectors*, v. 11, n. 1, 7 mar. 2018.

ZHOU, B. Y. et al. Analysis of immune responses in mice orally immunized with recombinant pMG36e-SP-TSOL18/*Lactococcus lactis* and pMG36e-TSOL18/*Lactococcus lactis* vaccines of *Taenia solium*. *Journal of Immunology Research*, v. 2018, 2018.

BUCKOVÁ, B. et al. The anti-parasitic effect of probiotic bacteria via limiting the fecundity of *Trichinella spiralis* female adults. *Helminthologia (Poland)*, v. 55, n. 2, p. 102–111, 2018.

OLIVEIRA, B. C. M.; WIDMER, G. Probiotic Product Enhances Susceptibility of Mice to Cryptosporidiosis. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://doi.org/10>>.

WALCHER, D. L. et al. *Lactobacillus rhamnosus* reduces parasite load on *Toxocara canis* experimental infection in mice, but has no effect on the parasite in vitro. *Parasitology Research*, v. 117, n. 2, p. 597–602, 1 fev. 2018.

KIM, J. Y. et al. Intestinal fluke *Metagonimus yokogawai* infection increases probiotic *Lactobacillus* in mouse cecum. *Experimental Parasitology*, v. 193, p. 45–50, 1 out. 2018.

SHUKLA, G.; BHATIA, R.; SHARMA, A. Prebiotic inulin supplementation modulates the immune response and restores gut morphology in *Giardia duodenalis*-infected malnourished mice. *Parasitology Research*, v. 115, n. 11, p. 4189–4198, 1 nov. 2016.

PERRUCCI, S. et al. In vitro and ex vivo evaluation of the anti-*Giardia duodenalis* activity of the supernatant of Slab51 (SivoMixx). *PLoS ONE*, v. 14, n. 3, 1 mar. 2019.

SALAS-LAIS, A. G. et al. Immunobiotic and paraprobiotic potential effect of *Lactobacillus casei* in a systemic toxoplasmosis murine model. *Microorganisms*, v. 8, n. 1, 1 jan. 2020.

JASIM, M. M. A PHARMACOLOGICAL COMPARISON BETWEEN the PROBIOTIC PREPARED by the LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS BACTERIA and NITAZOXANID in ANIMALS INFECTED WITH CRYPTOSPORIDIOSIS *Cryptosporidium Parvum* View project. [s.d.].

LU, J. et al. Changes of intestinal microflora diversity in diarrhea model of KM mice and effects of *Psidium guajava* L. as the treatment agent for diarrhea. *Journal of Infection and Public Health*, v. 13, n. 1, p. 16–26, 1 jan. 2020.

MOHSIN, M. et al. Immunogenicity and protective efficacy of probiotics with etimp1c against *eimeria tenella* challenge. *Pakistan Veterinary Journal*, v. 41, n. 3, p. 274–278, 2021.

ANEXO I

THE BENEFIT OF USING PROBIOTICS IN GIARDIASIS IN MURINES – A SYSTEMATIC REVIEW

Citation

Maria Clara Barreiros da Costa Ribeiro, Bárbara Candida Rodrigues Portilho, Mariana Machado Hecht, Riccardo Pratesi, Rosa Harumi Uenishi. THE BENEFIT OF USING PROBIOTICS IN GIARDIASIS IN MURINES – A SYSTEMATIC REVIEW. PROSPERO 2022 CRD42022360923 Available from: https://www.crd.york.ac.uk/prospero/display_record.php?ID=CRD42022360923

Review question

Does the use of probiotics have positive results against Giardia in vivo models?

Context and rationale

Several investigations were carried out to understand how different probiotics can be used in the treatment of Giardiasis. The findings that assess the effects of different probiotics show promise for treatment alternatives that can be used in humans. Thus, advantages of reducing antibiotics or other treatments that subject patients to harmful side effects come into perspective. Most of the studies found show positive results in murine models. However, a few works with other mammals and works with birds were found. Most clinical trial studies assess the microbiota, immune response and among other responses of the organisms studied when undergoing intervention (probiotics) and how they responded to their respective parasitic infections.

In this study, we focus Giardia, a intestinal parasitic disease caused by the protozoan Giardia duodenalis and is a leading neglected disease around the world. The current treatment for these types of conditions consists mainly in interventions with strong medicines that can induce side effects with use. There is also patients that present sequels after treating giardiasis. These people may have refractory giardiasis or Irritable bowel syndrome.

Searches

The search was carried out on 21/02/2022 in the databases: PubMed, EMBASE, Scopus, Web of Science, Livivo, LILACS; and in grey literature: Google Scholar. All search sources were accessed with no restrictions on languages or publication date. Additional articles were suggested by experts and was found on paper's references.

Study designs to be included [1 change]

Inclusion criteria:

Randomized clinical trials, Before and after clinical trials and Non randomized clinical trials.

Exclusion criteria:

- Cross-over studies
- quasi-randomized clinical trial

Human disease modelled [1 change]

Refractory giardiasis or Irritable bowel syndrome.

Animals/population [1 change]

Inclusion criteria:

Murines infected with Giardia treated with probiotics.

Exclusion criteria:

- In vivo murine studies without giardia infection.
- In vivo murine studies with Giardia but without any treatment.
- In vivo murine studies with giardia infection but not treated with probiotics.
- In vivo murine studies with giardia infection with probiotics but without a control group.

Intervention(s), exposure(s) [1 change]

Inclusion criteria:

Animals showing some gastrointestinal parasitic infection using probiotics that are administered to animals orally (mixed with the water or food of the animals) or intraperitoneally.

Exclusion criteria:

- When authors don't specify the which probiotic was used.
- When authors without definition of duration and dose of treatment performed
- When authors that do not assess the effectiveness of probiotics in relation to exposure.

Comparator(s)/control

Inclusion criteria:

Control group in animals infected with giardia without treatment with probiotics.

Exclusion criteria:

- Studies in which the control group was not treated with a probiotic.
- Studies in which the control group does not have giardia infection.
- Studies that present interventions other than probiotics or microbiota control.

Other selection criteria or limitations applied [1 change]

There are no time and language restrictions.

Outcome measure(s)

Inclusion criteria:

Verification of the immune response of organisms. Reduced parasite load, intestinal permeability, mucus production,

lymphocyte count, intestinal villi size and crypt depth.

Studies that suggest the analysed probiotic as a possible treatment. Studies that analyse parasite burden on the intestine and muscle tissue.

Exclusion criteria:

- Studies whose outcome was influenced by an intervention other than probiotics.
- Studies that do not provide data on parasite load
- Studies that do not compare data on parasite loads of controls and the different types of probiotics used.
- Studies that do not analyse the immune response.

Study selection and data extraction [1 change]

Procedure for study selection

The definitive search took place on 21/02/2022 in the main databases and after removing the duplicates with the help of a software (Endnote web and Rayyan QCRI) resulted in 536 studies. From that moment on, two phases of study selection were carried out (Phase 1 and Phase 2) by the 1R and 2R reviewers. During Phase 1, with the help of Rayyan software, 1R and 2R independently read the titles and abstracts of the studies found in the definitive search and held a consensus meeting to compare which studies each reviewer included or excluded. In the event of conflicts between the two reviewers, 3R determined whether the study should be included or not. Of these studies, 97 were included. After this step, Phase 2 began, in which the 1R and 2R reviewers performed a complete reading of the articles selected in Phase 1. After another consensus meeting (with disparities resolved by 3R as performed in Phase 1) 50 were included in the Phase 2 Selection based on the inclusion and exclusion criteria. On the data extraction, the reviewers will collect data such as: number of animals on each group of study; dose of probiotic; sex of the animals; parasitic load and immune response.

Prioritise the exclusion criteria

1. Studies without the use of probiotics.
2. Co-intervention studies.
3. Non-in vivo and ex vivo studies performed in non-murine animals.
4. Review studies.
5. Completed works not found.

Methods for data extraction

Data extraction is performed by two reviewers 1R (MCBCR) and 2R (BCP) independently by reading the articles included in the Phase 2 Selection in full. At the end of the data collection stage, a consensus meeting will be held between the 1R and 2R reviewers. If there is disagreement between the reviewers, the 3R reviewer (MH 3) will be activated and will make the tiebreaker when deciding which data collected should be included.

Data to be extracted: study design

Controlled versus Randomized or Non-randomized clinical trials and controlled versus quasi-randomized clinical trials, number of experimental groups, number of animals per groups.

Data to be extracted: animal model

Species of mice used in the studies, sex, age and whether they have a normal rate of intestinal flora

Data to be extracted: intervention of interest

- The probiotics used in the studies.

- The doses of each probiotic studied
- How often they were administered.
- How they were administered.

Data to be extracted: primary outcome(s)

- Continuous data type as Giardia cyst counts per mL, Giardia trophozoites counts per mL and infection period (days).

Data to be extracted: secondary outcome(s)

Descriptive data as villi and crypt architecture, lymphocyte infiltration or destruction of villi

Data to be extracted: other

Bibliographical details, authors, year of publication, language, and journal.

Risk of bias and/or quality assessment

By use of SYRCLE's risk of bias tool.

The PRISMA 2020 checklist (PAGE, MJ; et al. (2021) was used as a guide for the SYRCLE's risk of bias tool. The analysis of the risk of bias was performed by 1R and 2R independently. In case of disagreement in both Phases of Selection of articles, 3R was the reviewer who defined whether the work should be included or not.

Strategy for data synthesis [1 change]

Planned approach

Quantitative synthesis with meta-analysis with three or more minimum studies. If not possible, by narrative synthesis.

Effect measure

The effect measure is calculated by mean difference and standard deviation.

Effect models

The statistic model will be random effects.

Heterogeneity

Inverse variance was used to assess heterogeneity. It will be analyzed I^2 , τ^2 , df and χ^2 .

Other

correction for multiple testing, correction for multiple use of control group

Analysis of subgroups or subsets

Subgroup analyses

Subgroups are formed according to probiotics used.

Sensitivity

Meta-regression

Publication bias

Funnel plot

Contact details for further information

Maria Clara Barreiros da Costa Ribeiro
costaribeiro.bio@gmail.com

Organisational affiliation of the review

Universidade de Brasília
<https://www.unb.br/>

Review team members and their organisational affiliations

Ms Maria Clara Barreiros da Costa Ribeiro. Universidade de Brasília
Bárbara Cândida Rodrigues Portilho. Universidade de Brasília
Mariana Machado Hecht. Universidade de Brasília
Riccardo Pratesi. Universidade de Brasília
Rosa Harumi Uenishi. Universidade de Brasília

Review type

Animal model review

Anticipated or actual start date

21 February 2022

Anticipated completion date [1 change]

10 June 2023

Funding sources/sponsors

There are no sponsors

Conflicts of interest**Language**

English

Country

Brazil

Stage of review

Review Ongoing

Subject index terms status

Subject indexing assigned by CRD

Subject index terms

MeSH headings have not been applied to this record

Date of registration in PROSPERO

01 November 2022

Date of first submission

17 September 2022

Stage of review at time of this submission

Stage	Started	Completed
Preliminary searches	Yes	No
Piloting of the study selection process	Yes	No
Formal screening of search results against eligibility criteria	Yes	No
Data extraction	No	No
Risk of bias (quality) assessment	No	No
Data analysis	No	No

The record owner confirms that the information they have supplied for this submission is accurate and complete and they understand that deliberate provision of inaccurate information or omission of data may be construed as scientific misconduct.

The record owner confirms that they will update the status of the review when it is completed and will add publication details in due course.

Versions

01 November 2022