

ARTIGO ORIGINAL

**AVALIAÇÃO DO CONSUMO DE *Lactobacillus casei*
SHIROTA PARA O CONTROLE DE GIARDÍASE EM
CRIANÇAS**

Matheus Diniz Gonçalves Coêlho¹, Laura de Lima Ramos¹, Regiane Barros Pereira¹, Letícia de Oliveira Rocha¹, Fabiana Paula de Souza Lino¹ e Francine Alves da Silva Coêlho²

RESUMO

A giardíase é uma importante doença parasitária de elevada ocorrência mundial e, apesar de comumente ser considerada de bom prognóstico, sabe-se que crianças e pacientes imunocomprometidos podem apresentar perda de peso e depauperamento físico e mental. Há um grande número de drogas com atividade giardicida, mas, no decorrer dos anos, alguns protozoários têm apresentado resistência à maioria dos tratamentos recomendados, o que exige o desenvolvimento de novas estratégias para o controle de *Giardia duodenalis*. No presente trabalho, objetivou-se avaliar a eficácia do uso de *Lactobacillus casei* Shirota para o controle da giardíase em crianças naturalmente infectadas. Para tanto, foram selecionadas 12 crianças com giardíase clínica e laboratorialmente diagnosticada, das quais 6 compuseram o grupo controle, sem tratamento, e as demais consumiram $1,6 \times 10^{10}$ lactobacilos vivos, diariamente, da espécie *Lactobacillus casei* Shirota, mediante ingestão de uma bebida láctea comercialmente disponível. Depois do início do tratamento, foi determinado o número de cistos eliminados por meio de exame coproparasitológico, segundo o método de Faust com modificações, e observação da consistência das amostras fecais coletadas. Transcorridos 21 dias de tratamento, não houve detecção de formas evolutivas de *Giardia duodenalis* nas fezes dos indivíduos que consumiram a bebida láctea e verificou-se melhora na consistência fecal, o que não ocorreu com o grupo controle, demonstrando-se, assim, o potencial de *L. casei* Shirota para o controle de giardíase em crianças.

DESCRITORES: *Giardia duodenalis*; *Lactobacillus casei* Shirota; terapêutica.

ABSTRACT

Evaluation of *Lactobacillus casei* Shirota intake for the control of giardiasis in children

-
1. Laboratório de Parasitologia e Malacologia (LAPAM), Fundação Universitária Vida Cristã (FUNVIC), Faculdade de Pindamonhangaba, Rodovia Radialista Percy Lacerda 1000, Pinhão do Una, CEP 12422-970, Pindamonhangaba, SP, Brasil.
 2. Laboratório de Parasitologia, Universidade de Taubaté (UNITAU), Avenida Tiradentes 500, CEP 12030-816, Taubaté, SP, Brasil.

Endereço para correspondência: Matheus Diniz Gonçalves Coêlho. E-mail: matheusdgc@yahoo.com.br

Recebido para publicação em: 17/4/2015. Revisto em: 4/12/2015. Aceito em: 27/4/2016.

Giardiasis is an important protozoan parasitic disease, one of the most widespread around the world and although commonly considered a good prognosis, it is known that children and immunocompromised patients may have considerable weight loss and suffer physical and intellectual retardation. There is a wide range of drugs with giardicidal activity, but over the years some isolates from this parasite have proved resistant to most treatments recommended, indicating the need for new strategies to control this important parasite. This research aimed to evaluate the efficacy of *Lactobacillus casei* Shirota for the control of giardiasis in naturally infected children. Therefore, 12 children with clinical and laboratory diagnosis of giardiasis were selected, six of them did not receive treatment and made up the control group, the other six children were given $1,6 \times 10^{10}$ live lactobacilli daily of the species *Lactobacillus casei* Shirota, in a commercially available milk drink. Once the treatment began, the number of cysts shed was determined by fecal examination, using the Faust method with modifications and the consistency of the fecal samples noted. As a result, after 21 days of treatment, there was no detection of evolutive forms of *Giardia duodenalis* in the feces of individuals who took the milk drink as well as an improvement in stool consistency, which did not occur with the control group, demonstrating the potential for use of *L. casei* Shirota to control giardiasis in children.

KEY WORDS: *Giardia duodenalis*; *Lactobacillus casei* Shirota; therapeutics.

INTRODUÇÃO

As enteroparasitoses persistem em uma condição endêmica nos países em desenvolvimento e podem ter manifestações diversas, desde serem assintomáticas até apresentarem sintomas como diarreia, perda proteica intestinal, desnutrição, anemia e dores abdominais. Tal problema afeta principalmente as populações de baixa renda que vivem em condições precárias, sendo as crianças as mais afetadas em razão dos maus hábitos higiênicos e alimentares (Ferreira et al., 2006).

Como principal alvo das infecções parasitárias, é entre as crianças que as repercussões das parasitoses tornam-se mais significativas, podendo desencadear desde um comprometimento do desenvolvimento físico e intelectual até complicações mais graves como distúrbios respiratórios, hepatomegalia, ascite, coma e morte (Pedraza et al., 2014).

Sabe-se que a giardíase assume um papel de relevância significativa, visto que afeta 280 milhões de humanos todos os anos. Quando se analisam as parasitoses intestinais em crianças, *Giardia duodenalis* é o protozoário mais frequentemente diagnosticado em inquéritos coproparasitológicos nesta faixa etária (Martínez-Gordillo et al., 2014; Zaiden et al., 2008). Uma vez estabelecida a infecção, podem ocorrer episódios diarreicos crônicos ou agudos, associados a dores abdominais e náuseas, flatulência e perda de peso, deficiências de crescimento e cognitivas e manifestações gastrointestinais crônicas, como a síndrome do cólon irritável, mesmo depois de cessada a infecção (Halliez e Buret, 2013).

De acordo com Watkins e Eckmann (2014) e Escobedo et al. (2016), os fármacos disponíveis para o tratamento da giardíase incluem derivados de nitroimidazóis (metronidazol, tinidazol), nitrofuranos (Furazolidona),

nitrotriazóis (nitazoxanida), acridinas (quinacrina), benzimidazóis (albendazol, mebendazol, tinidazol e ornidazol), quinolonas (cloroquina) e aminoglicosídeos (paramomicina).

Os efeitos colaterais destes fármacos raramente apresentam gravidade, os mais comuns entre eles são: cefaleia, náuseas, boca seca, gosto metálico, vômitos, diarreia e desconforto abdominal (Guo et al., 2015). A percepção dos efeitos adversos durante o uso do medicamento pode provocar a não adesão do paciente ao tratamento (De Carli, 2001). Portanto, segundo Wright et al. (2003), os registros clínicos e laboratoriais de resistência a esses fármacos reforçam a necessidade de identificação de novos agentes contra a giardíase e de alternativas que preservem a viabilidade dos fármacos existentes.

Como medidas não medicamentosas, destacam-se a educação para a prevenção, o saneamento básico e a adoção de outros procedimentos que melhorem a condição de saúde e o *status* imunológico (Brum et al., 2013), sobretudo de crianças.

Um procedimento para melhorar a condição de saúde e a imunidade é o consumo de probióticos, já que esses microrganismos são comprovadamente capazes de exercer este efeito e de prevenir ou eliminar agentes patogênicos se forem consumidos regularmente (Coppola & Turnes, 2004).

Schrezenmeir e De Vrese (2001) consideram que o termo probiótico deveria ser usado para designar preparações ou produtos que contenham microrganismos viáveis, definidos e em quantidade adequada, que alterem a microbiota própria das mucosas por colonização produzindo efeitos benéficos à saúde do hospedeiro.

O modo de ação dos probióticos não foi ainda completamente esclarecido, embora tenham sido sugeridos vários processos que podem atuar independentemente ou associados, dentre os quais a modulação da resposta imune (Coêlho et al., 2013), a exclusão competitiva, em que o probiótico competiria com os patógenos por sítios de fixação e nutrientes impedindo sua ação transitoriamente (Cross, 2002), e a produção de bacteriocinas (Amer et al., 2014).

Esse equilíbrio se deve à competição por sítios de ligação na mucosa e por nutrientes, à produção de compostos antimicrobianos ou à redução do pH intestinal com a produção de ácido láctico e outros ácidos orgânicos de cadeia curta, fator que também pode proporcionar uma redução na incidência de patógenos. Independentemente do conceito utilizado, o que se sabe atualmente é que os probióticos trazem benefícios à saúde do hospedeiro, não deixam resíduos nos produtos de origem animal e não favorecem resistência às drogas, sendo considerados potenciais substitutos dos antimicrobianos (Moal et al., 2014; Shokryazdan et al., 2014).

A microbiota intestinal exerce influência considerável sobre uma série de reações bioquímicas do hospedeiro. Em equilíbrio, impede que microorganismos potencialmente patogênicos nela presentes exerçam seus

efeitos maléficis. Por outro lado, o desequilíbrio desta microbiota pode redundar na proliferação de patógenos, com consequente infecção bacteriana, o que resultaria em diarreia, inflamação da mucosa e desordem de permeabilidade (Shokryazdan et al., 2014).

Algumas espécies de lactobacilos, dentre as quais cepas de *Lactobacillus acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. johnsonii*, *L. rhamnosus* e *L. casei*, têm sido estudadas por diversos pesquisadores quanto à sua capacidade de inibir organismos patogênicos, incluindo o protozoário *Giardia duodenalis*, tanto em protocolos *in vitro* (Pérez et al., 2001) quanto em experimentos *in vivo* em gerbils (Shukla et al., 2013) e em camundongos (Goyal et al., 2011; Shukla et al., 2008).

Dentre os microrganismos mais estudados como probióticos, destaca-se a cepa *L. casei* Shirota (“ingrediente ativo” do Yakult®), inicialmente isolada do trato intestinal de crianças por Minoru Shirota (Itsaranuwat et al., 2003; Yakult, 1999). *L. casei* Shirota é um bacilo gram-positivo, desprovido de flagelos ou cílios, cuja parede celular tem de 20 a 30 nm e é composta de peptidoglicano (mureína), ácido teicoico e proteínas (Buriti & Saad, 2007).

A dose mínima diária de culturas probióticas considerada terapêutica corresponde ao consumo de 100 g de produto contendo 6 a 7 log ufc/g. Logo, para que um alimento que contém probióticos seja considerado funcional, a quantidade mínima viável de microrganismos deve estar na faixa de 10^8 a 10^9 UFC na recomendação diária do produto pronto para o consumo (Buriti & Saad, 2007; Talwalkar & Kailasaphathy, 2004). Outros pesquisadores, dentre os quais Sarowska et al. (2013), afirmam que, embora a dose terapêutica não tenha sido bem estabelecida, os resultados de estudos clínicos sugerem que a dose terapêutica mínima deve estar entre 10^6 e 10^9 UFC.

O objetivo do presente estudo foi conhecer o efeito do uso de probióticos *L. casei* Shirota no tratamento de giardíase em crianças.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da FUNVIC - Faculdade de Pindamonhangaba, no ano de 2012, tendo sido aprovado sob o nº de protocolo 177/2012.

Inicialmente o projeto foi apresentado à Secretaria de Saúde do Município de Potim-SP, e, mediante sua aprovação, foi apresentado aos pais de crianças que estudam nas creches do município. Aqueles que consentiram na participação de seus filhos assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Os critérios de inclusão da criança no estudo foram: estar devidamente matriculada em uma das três creches, ter idade de 2 a 6 anos e não ter utilizado nenhum antiparasitário trinta dias antes da coleta e durante o período de sua realização. Outros critérios de inclusão também considerados foram: não

apresentar sinais de outra doença infecciosa, não estar desnutrida e não apresentar imunodeficiência por qualquer causa prévia.

Foram realizadas reuniões com as mães e/ou responsáveis, diretoras e monitoras das creches com a finalidade de prestar informações sobre as parasitoses intestinais e oferecer orientações sobre a coleta e o recolhimento das amostras de fezes.

Para coleta e processamento das amostras fecais, os funcionários responsáveis pelas crianças e/ou seus respectivos pais foram orientados a coletar uma amostra fecal e transferi-la para um coletor universal fornecido pelos pesquisadores. As amostras fecais foram encaminhadas ao Laboratório de Parasitologia da FUNVIC – Faculdade de Pindamonhangaba, onde foram processadas pelo método de Faust, que consiste na flutuação de cistos por centrifugação (Anécimo et al., 2012). Em um tubo de centrifuga, foram diluídos 2g de fezes em 12 mL de água destilada. A suspensão de fezes obtida foi filtrada em gaze com quatro dobras e centrifugada por um minuto a 2.500 rpm. O sedimento obtido foi ressuspensão em água e submetido a nova centrifugação (2.500rpm/1 minuto), sendo este processo repetido até o sobrenadante ficar límpido para que fosse eliminado o excesso de detritos. Depois desta etapa, o último sedimento foi submetido a ressuspensão em sulfato de zinco e o sobrenadante recuperado com auxílio de uma pipeta automática, com a qual foram retirados 80 µL do sobrenadante para montagem da lâmina.

Constatado o resultado positivo, foi realizada a contagem dos cistos, observando-se dez campos em cada lâmina, nos aumentos de 100x e 400x, verificando-se, em seguida, a média de cistos por campo.

Feita a avaliação coproparasitológica, foram selecionadas 12 crianças parasitadas e, com o intuito de verificar a eficácia do probióticos, para 6 delas foi introduzido na rotina alimentar o consumo de uma bebida láctea comercialmente disponível, contendo *L. casei* Shirota, fornecida diariamente, durante um período de 21 dias consecutivos, em dose única diária.

Paralelamente, outro grupo de seis crianças parasitadas por *G. duodenalis* foi acompanhado durante este mesmo período de tempo sem que houvesse administração de qualquer tipo de antiparasitário ou probiótico. Depois de 21 dias, elas foram tratadas por médicos que atendem nos municípios com medicamentos já comumente usados para o controle da giardíase.

O acompanhamento da eficácia do tratamento se deu mediante pesquisa de cistos de *G. duodenalis* por meio de exames coproparasitológicos realizados semanalmente. O exame foi realizado conforme metodologia já explicitada, primando-se pela pesquisa de cistos de protozoários, uma vez que, durante o experimento, todas as amostras apresentaram consistência semissólida a sólida, com predominância de cistos em detrimento de trofozoítos (Brito & Bastos, 2006).

O pequeno número de crianças avaliadas, não representativo da população, pode ser considerado um viés para a interpretação dos resultados, porém, para minimizar esta limitação, os resultados obtidos foram avaliados conforme as

características da distribuição amostral. Foram utilizados testes paramétricos (ANOVA e teste t de Student) e não paramétricos (Mann-Whitney e Kruskal-Wallis) de acordo com a normalidade dos resultados, ao nível de significância de 5%, utilizando-se como método de apoio o *software* BIO ESTAT 5.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Sabe-se que é transitória a imunidade natural conferida contra *Giardia* depois de estabelecida a infecção. De acordo com Olson et al. (2001), a incapacidade do hospedeiro de formar uma resposta imunológica efetiva pode estar relacionada com a natureza intraluminal, porém não invasiva, deste protozoário. Isso faz com que as infecções crônicas sejam comuns em humanos e animais, o que dificulta o delineamento de estratégias de prevenção com proteção definitiva do hospedeiro, como é o caso da vacinação.

Neste sentido, em 2002 o laboratório Fort Dodge Animal Health desenvolveu uma vacina contra *Giardia* para cães, capaz de induzir uma forte imunidade humoral e celular, mediante a opsonização dos trofozoítos que, estando recobertos por IgA e IgG, não seriam capazes de aderir à mucosa intestinal (Daniels & Belosevic, 1994). Contudo, de acordo com Bowman et al. (2010), pesquisas sobre o efeito desta vacina em cães previamente infectados demonstraram sua incapacidade de eliminar o parasito, trazendo à tona a necessidade urgente de estratégias que induzam uma proteção mais duradoura.

No presente trabalho, foi observada a efetividade de *L. casei* Shirota para o controle da giardíase em seres humanos, traduzida por uma redução significativa ($p=0,0016$) na média de cistos recuperados de amostras fecais de seis crianças parasitadas por *G. duodenalis*, já que cinco delas (83,33%) deixaram de eliminar cistos nas fezes após 21 dias de tratamento (Tabela) e uma apresentou redução (-87,85%) no número de cistos eliminados (Tabela), embora não tenha sido negativada a detecção do parasito nas fezes.

As informações obtidas de bancos de dados científicos investigados no presente trabalho indicam que este é o primeiro relato de eficácia de *L. casei* Shirota no controle da giardíase, ou seja, pelo uso desta espécie de *Lactobacillus* em humanos. As evidências estão na melhora na consistência das fezes dos pacientes tratados em relação aos não tratados (dados não mensurados).

Outros pesquisadores já evidenciaram o uso de lactobacilos para o controle de giardíase, porém em modelos experimentais. Shukla et al. (2008) administraram *L. casei* a camundongos BALB/c e demonstraram a capacidade que tem esta espécie de induzir a diminuição das atrofia de vilosidades intestinais e eliminar a infecção em camundongos, particularmente quando inoculados sete dias antes da administração de cistos de *G. duodenalis*.

Tabela. Número de cistos de *Giardia duodenalis* em amostras fecais de pacientes tratados com *Lactobacillus casei* Shirota e em pacientes não tratados. Pindamonhangaba, 2012.

Dia 0		Dia 7		Dia 21	
Tratados	Controle	Tratados	Controle	Tratados	Controle
267	264	107	275	0	395
313	595	78	605	**23	612
1014	1020	580	1052	0	1185
162	267	89	303	0	297
862	232	423	239	0	243
480	580	220	592	0	628
média = 516,3	Média = 498	Média = 249,5	Média = 511	Média = *3,8	Média = 560

* Diferença significativa em relação ao início do tratamento (Dia 0) e em relação ao grupo controle.

** Redução de 87,85%.

Shukla et al. (2013) avaliaram a eficácia da administração de *L. casei* de forma isolada ou em conjunto com drogas antiprotozoário para o tratamento de camundongos BALB/c infectados com trofozoítos de *G. duodenalis*. Os autores observaram que, em associação com albendazol, *L. casei* auxiliou na restauração da morfologia normal da mucosa intestinal, porém, quando administrado de forma isolada, o lactobacilo induziu redução da severidade e duração da giardiase, porém sem obtenção da cura definitiva. Apesar do experimento de Shukla et al. (2013) ter sido realizado com camundongos e não com humanos, os resultados de ambas as pesquisas evidenciam o potencial do uso de *L. casei* para um melhor prognóstico de hospedeiros infectados com *G. duodenalis*.

Conforme já foi mencionado, no presente trabalho em uma das crianças que consumiu a bebida láctea contendo *L. casei* Shirota não foi extinta a eliminação de cistos nas fezes. Pesquisadores afirmam que uma interação de fatores do organismo e do probiótico determina a resposta imune do hospedeiro ao estímulo propiciado pelo probiótico, havendo, portanto, variações entre os indivíduos (van Baarlen et al., 2013). Hardy et al. (2013) afirmam que fatores da microbiota, do probiótico e as células epiteliais não são apenas barreiras químicas ou físicas para as infecções patogênicas, mas representam um sistema de comunicação clara, resultando na modulação direta da resposta imune conduzida pelo hospedeiro.

Em relação à melhora do prognóstico decorrente da negatização da presença de cistos nas fezes, observada nas outras cinco crianças que receberam a bebida láctea, um fator que poderia eventualmente depor contra os resultados obtidos diz respeito ao período de baixa eliminação de cistos que pode ser observado em pacientes parasitados por *G. duodenalis*. Contudo,

ao se observar a contagem de cistos das seis crianças com giardíase que não receberam tratamento, em nenhum dos exames coproparasitológicos houve negatificação de encontro dessas estruturas, sendo observado até mesmo um aumento significativo, em termos estatísticos, na contagem de cistos em todas as coletas realizadas no decorrer do experimento (Tabela).

A eficácia terapêutica de *L. casei* Shirota só foi observada após 21 dias de tratamento, fato este que poderia ser considerado uma possível desvantagem em relação ao uso de medicamentos antiparasitários convencionais. Devem-se ressaltar, porém, diversas outras vantagens que estão implícitas no consumo da bebida láctea, em detrimento do uso de fármacos alopáticos com propriedade antiparasitária, uma vez que, ao contrário destes, os lactobacilos não oferecem risco à saúde, promovem uma regularização no trânsito intestinal e podem induzir um aprimoramento na resposta imune, trazendo como consequência benefícios à saúde do organismo como um todo (Coelho et al., 2013; Hardy et al., 2013).

Oliveira-Sequeira (2008) e colaboradores relatam que os potenciais mecanismos de ação desses microrganismos incluem a exclusão competitiva, a produção de metabólitos com atividade antimicrobiana e a modulação da resposta imune.

Cabe ressaltar ainda que o fato de não serem encontrados cistos de *G. duodenalis* nas amostras fecais dos indivíduos tratados não leva a concluir que houve cura definitiva. Para isso, seria necessário o desenvolvimento de métodos de detecção mais sensíveis, como a pesquisa de coproantígenos ou PCR. Porém, os resultados aqui apresentados somados à melhoria da consistência e do odor das fezes destacam o potencial do consumo diário de *L. casei* Shirota como terapia para o controle da giardíase. Este constitui um importante avanço ante a reconhecida existência de cepas de *G. duodenalis* que apresentam resistência aos tratamentos alopáticos atualmente disponíveis no mercado farmacêutico.

Os resultados do presente trabalho evidenciam a importância de um estudo em larga escala, pois, uma vez comprovada a eficácia terapêutica do consumo de *L. casei* Shirota para o controle da giardíase em um número maior de indivíduos parasitados, podem ser propostas novas abordagens para comunidades nas quais a giardíase é endêmica. Uma delas poderia ser a introdução de bebidas lácteas com *L. casei* Shirota na merenda de crianças acometidas por esta parasitose, visto que as crianças pertencem ao grupo etário mais susceptível de adquiri-la.

Conclui-se que o consumo de *L. casei* Shirota, ingerido diariamente durante 21 dias, consistiu em um procedimento de elevada aplicabilidade para o controle de giardíase na população avaliada. Porém, novos estudos com populações maiores devem ser delineados de modo que permitam a extrapolação dos resultados para a população em geral, haja vista a pequena amostragem abordada no presente trabalho.

REFERÊNCIAS

1. Amer EI, Mossalam SF, MAhrous H. Therapeutic enhancement of newly derived bacteriocins against *Giardia lamblia*. *Exp Parasitol* 146: 5-63, 2014.
2. Anécimo RS, Tonani KAA, Fregonesi BM, Mariano AP, Ferrassino MDB, Trevilato TMB, Rodrigues RB, Segura-Muñoz S. Adaptation of Ritchie's method for parasites diagnosing with minimization of chemical products. *Interdisci Perspect Infect Dis* 2012: 1-5, 2012.
3. Bowman DD. *Georgi's Parasitologia veterinária*. Ed. Elsevier, Rio de Janeiro. 2010.
4. Brito T, Bastos A. Diagnóstico laboratorial de *Giardia lamblia*. *Saúde & Ambiente em Revista* 1: 18-25 2006.
5. Brum JWA, Conceição AS, Gonçalves FVC, Maximiniano LHS, Diniz LBMPV, Pereira MN, Silva ES. Parasitoses oportunistas em pacientes com o vírus da imunodeficiência humana. *Rev Bras Clin Med S Paulo* 11: 280-288, 2013.
6. Buriti FCA, Saad SMI. Bactérias do grupo *Lactobacillus casei*: caracterização, viabilidade como probióticos em alimentos e sua importância para a saúde humana. *Arch latinoam Nutr* 57: 373-380, 2007.
7. Coêlho MDG, Silva-Coêlho FAS, Mancilha IM. Probiotic therapy: a promising strategy for the control of canine hookworm. *J Parasitol Res* 2013: 1-6, 2013.
8. Coppola MM, Turnes CG. Probióticos e resposta imune. *Ci Rural* 34: 1297-1303, 2004.
9. Cross ML. Microbes versus microbes: immune signals generated by probiotic lactobacilli and their role in protection against microbial pathogens. *FEMS Immunol Med Microbiol* 34: 245-253, 2002.
10. Daniels CW, Belosevic M. Serum antibody responses by male and female C57BL/6 mice infected with *Giardia*. *Clin Exp Immunol* 97: 424-429, 1994.
11. De Carli GA. *Parasitologia Clínica. Seleção de Métodos e Técnicas de Laboratório para o Diagnóstico das Parasitoses Humanas*. Ed Atheneu, São Paulo. 2001.
12. Escobedo AA, Ballesteros J, González-Fraile E, Almirall P. A meta-analysis of the efficacy of albendazole compared with tinidazole as treatments for *Giardia* infections in children. *Acta Trop* 153: 120-127, 2016.
13. Ferreira H, Lala ERP, Monteiro MC, Raimondo ML. Estudo epidemiológico localizado da frequência e fatores de risco para enteroparasitoses e sua correlação com o estado nutricional de crianças em idade pré-escolar. Parasitoses intestinais e desenvolvimento infantil. *Publ UEPG Ci Biol Saúde* 12: 33-40, 2006.
14. Goyal N, Tiwar R, Shukla G. *Lactobacillus rhamnosus* GG as an Effective Probiotic for Murine Giardiasis. *Interdiscip Perspect Infect Dis* 2011: 1-4, 2011.
15. Guo F, Ortega-Pierres G, Argüello-García R, Zhang H, Zhu G. *Giardia* fatty acyl-CoA synthetases as potential drug targets. *Front Microbiol* 6: 1-9, 2015.
16. Halliez MC, Buret AG. Extra-intestinal and long term consequences of *Giardia duodenalis* infection. *World J Gastroenterol* 19: 8974-8985, 2013.
17. Hardy H, Harris J, Lyon E, Beal J, Foey AD. Probiotics, prebiotics and immunomodulation of gut mucosal defenses: homeostasis and immunopathology. *Nutrients* 5: 1869-1912, 2013.
18. Itsaranuwat P, Al-Haddad KSH, Robinson RK. The potential therapeutic benefits of consuming 'health-promoting' fermented dairy products: a brief update. *Int Dairy J Technol* 56: 203-210, 2003.
19. Martínez-Gordillo MN, González-Maciel A, Reynoso-Robles R, Montijo-Barrios E, Ponce-Macotela M. Intraepithelial *Giardia intestinalis*: a case report and literature review. *Medicine* 93: e277, 2014.

20. Moal VLL, Servin AL. Anti-infective activities of *Lactobacillus* strains in the human intestinal microbiota: from probiotics to gastrointestinal anti-infectious biotherapeutic agents. *Clin Microbiol Rev* 27: 167-199, 2014.
21. Oliveira-Sequeira TCG, Ribeiro CM, Gomes MIFV. Potencial bioterapêutico dos probióticos nas parasitoses intestinais. *Ci Rural* 38: 2670-2679, 2008.
22. Olson ME, Hannigan CJ, Gaviller PF, Fulton La. The use of a *Giardia* vaccine as an immunotherapeutic agent in dogs. *Can Vet J* 42: 865-868, 2001.
23. Pedraza DF, Queiroz D, Sales M. Doenças infecciosas em crianças pré-escolares brasileiras assistidas em creches. *Ci Saude Coletiva* 19: 511-528, 2014.
24. Pérez PF, Minnaard J, Rouvet M, Knabenhans C, Brassart D, Antoni GL, Schiffrin EJ. Inhibition of *Giardia intestinalis* by Extracellular Factors from *Lactobacilli*: an In Vitro Study. *Appl Environ Microbiol* 67: 5037-5042, 2001.
25. Sarowska J, Choroszy-Król I, Regulaska-Ilow, Frej-Madrzak M, Jama-Kmiecik A. The therapeutic effect of probiotic bacteria on gastrointestinal diseases. *Adv Clin Exp Med* 22: 759-766, 2013.
26. Schrezenmeir J, De Vrese M. Probiotics, prebiotics, and synbiotics - approaching a definition. *Am J Clin Nutr* 73: 361S-364S, 2001.
27. Shokryazdan P, Sieo CC, Kalavathy R, Liang JB, Alitheen NB, Jahromi MF, Ho YW. Probiotic potential of *Lactobacillus* strains with antimicrobial activity against some human pathogenic strains. *Biomed Res Int* 14: 1-16, 2014.
28. Shukla G, Devi P, Sehgal R. Effect of *Lactobacillus casei* as a Probiotic on Modulation of Giardiasis. *Dig Dis Sci* 53: 2671-2679, 2008.
29. Shukla G, Kaur H, Sharma L. Comparative therapeutic effect of probiotic *Lactobacillus casei* alone and in conjunction with antiprotozoal drugs in murine giardiasis. *Parasitol Res* 112: 2143-2149, 2013.
30. Talwalkar A, Kailasapathy K. Comparison of selective and differential media for the accurate enumeration of strains of *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus casei* complex from commercial yoghurts. *Int Dairy J* 14: 143-149, 2004.
31. van Baarlen P, Wells JM, Kleerebezen M. Regulation of intestinal homeostasis and immunity with probiotic lactobacilli. *Trends Immunol* 34: 208-215, 2013.
32. Watkins RR, Eckmann L. Treatment of Giardiasis: Current status and future directions. *Curr Infect Dis Rep* 16: 396, 2014.
33. Wright JM, Dunn LA, Upcroft P, Upcroft JA. Efficacy of anti giardial drugs. *Expert Opin Drug Saf* 2: 529-541, 2003.
34. Yakult Central Institute for Microbiological Research. *Lactobacillus casei strain Shirota: intestinal flora and human health*. (Special edition marking the centenary of birth of Dr. Minoru Shirota). Tokyo: Yakult Honsha, 1999. 290 p.
35. Zaiden MF, Santos BMO, Cano MAT, Nascif Junior IA. Epidemiologia das parasitoses intestinais em crianças de creche de Rio Verde, Goiás. *Medicina* 41: 182-187, 2008.