



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ – *CAMPUS* DE CASCAVEL
CENTRO DE CIÊNCIAS MÉDICAS E FARMACÊUTICAS
MESTRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

BRUNA BRASIL RODRIGUES FURTADO

***Lactobacillus acidophilus* em associação com outras bactérias probióticas tem efeitos benéficos no pós-operatório de pacientes com câncer colorretal em administração de curto prazo: revisão sistemática e metanálise**

Orientadora: Dra. Luciana Oliveira de Fariña

**CASCAVEL- PR
2018**

BRUNA BRASIL RODRIGUES FURTADO

***Lactobacillus acidophilus* em associação com outras bactérias probióticas tem efeitos benéficos no pós-operatório de pacientes com câncer colorretal em administração de curto prazo: revisão sistemática e metanálise**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* na Área de Concentração em Ciências Farmacêuticas. Linha de Pesquisa: Prospecção de Microrganismos e Substâncias Bioativas com Aplicações Biotecnológicas e em Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná.

Orientadora: Dra. Luciana Oliveira de Fariña

**CASCADEL - PR
2018**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Sistema de Bibliotecas - UNIOESTE)

F987L	<p>Furtado, Bruna Brasil Rodrigues. <i>Lactobacillus acidophilus</i> em associação com outras bactérias probióticas tem efeitos benéficos no pós-operatório de pacientes com câncer colorretal em administração de curto prazo: revisão sistemática e metanálise / Bruna Brasil Rodrigues Furtado. --- Cascavel (PR), 2018. 90 f.: il.</p> <p>Orientadora: Dra. Luciana Oliveira de Fariña Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Cascavel, 2018, Centro de Ciências Médicas e Farmacêuticas Programa de Pós-Graduação Mestrado em Ciências Farmacêuticas. Inclui Bibliografia</p> <p>1. Bactérias ácidas lácticas. 2. Câncer de Cólon e reto. 3. Atividade Antioxidante. 4. Saúde Baseada em Evidências. I. Fariña, Luciana Oliveira de. II. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. III. Título</p> <p style="text-align: right;">CDD 615.1</p>
-------	---

Rosângela A. A. Silva – CRB 9ª/1810

Dissertação revisada conforme as normas de redação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas por Jessica Tomimitsu Rodrigues, graduada em Letras, R.G. 10.519.654-7, em 14 de abril de 2018.

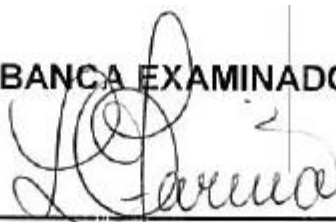
BRUNA BRASIL RODRIGUES FURTADO

***Lactobacillus acidophilus* em associação com outras bactérias probióticas tem efeitos benéficos no pós-operatório de pacientes com câncer colorretal em administração de curto prazo: revisão sistemática e metanálise**

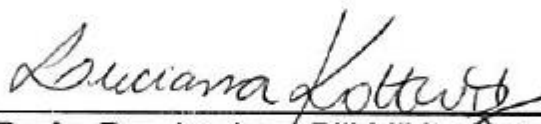
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *stricto sensu* na Área de Concentração em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual do Oeste do Paraná como pré-requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas. Linha de Pesquisa: Prospecção de Microrganismos e Substâncias Bioativas com Aplicações Biotecnológicas e de saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Luciana Oliveira de Fariña

BANCA EXAMINADORA:

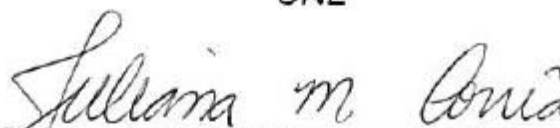


Profa. Dra. Luciana Oliveira de Fariña
Universidade Estadual do Oeste do Paraná
UNIOESTE
Orientadora



Profa. Dra. Luciana Bill Mikito Kottwitz
Universidade Estadual do Oeste do Paraná
UNIOESTE

Prof. Dr. Celso Gabriel Vinderola
Universidade Nacional del Litoral
UNL



Profa. Dra. Juliana Moço Corrêa
Universidade Estadual do Oeste do Paraná
UNIOESTE

**Cascavel - PR
2018**

BRUNA BRASIL RODRIGUES FURTADO

BIOGRAFIA RESUMIDA

Bruna Brasil Rodrigues Furtado, natural da cidade de São Paulo, estado de São Paulo, Brasil, nascida no dia 20 de outubro de 1987, formou-se em Farmácia no Centro Universitário Assis Gurgacz – CEUAG, na cidade de Cascavel em dezembro de 2009. Tem especialização *lato sensu* em Microbiologia Agroindustrial pela Universidade Paranaense – UNIPAR, *campus* Toledo (2011) e Farmacologia aplicada à Prática Clínica pela WPós (2015). Possui experiência em Saúde Pública, tendo atuado como farmacêutica nos municípios de Campo Bonito e Doutor Ulysses, ambas no estado do Paraná. Atuou em farmácia comunitária, tendo trabalhado na Farmácia São Judas em Tupãssi no ano de 2014. Trabalhou na Herbaphytus Laboratório Nutracêutico entre 2014 a 2016. Entre 2016 a 2017 trabalhou na filial 24 horas da Farmácias e Drogarias Nissei. Ingressou no Programa de Pós-graduação *stricto sensu* em nível de mestrado em Ciências Farmacêuticas no ano de 2016. Desenvolve projeto experimental de dissertação junto à linha Prospecção de microrganismos e Substâncias Bioativas com aplicações biotecnológicas e em saúde, orientada pela Dra. Luciana Oliveira de Fariña.

“A grandeza das ações humanas é proporcional à inspiração que as produz. Feliz é aquele que traz dentro de si um Deus, um ideal de beleza a que obedece: ideal de arte, ideal de ciência, ideal de pátria, ideal de virtudes evangélicas. São essas as fontes vivas dos grandes pensamentos e das grandes ações. Todas elas refletem a luz do infinito” Louis Pasteur.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao Ser e a possibilidade de aprender e me desenvolver durante a existência, permitindo uma pequena contribuição à humanidade.

Agradeço a CAPES, pelo apoio durante o projeto e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UNIOESTE.

Agradeço a todo corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, principalmente a minha orientadora, Profa. Dra. Luciana Oliveira de Fariña, por todo o aprendizado, compreensão e ensinamento durante a realização do mestrado e que levarei por toda minha vida.

Agradeço a UNIOESTE por ter em seu quadro de pós-graduações o Programa de Ciências Farmacêuticas, permitindo que dessa forma o Oeste e Sudoeste do Paraná encontrem um programa de *Stricto Sensu* mais próximo para seus profissionais e sua comunidade.

Agradeço as amigadas formadas junto aos colegas de turma.

Agradeço ainda mais a minha família, pelo apoio e compreensão durante o período de realização deste sonho realizado que foi o mestrado.

***Lactobacillus acidophilus* em associação com outras bactérias probióticas tem efeitos benéficos no pós-operatório de pacientes com câncer colorretal em administração de curto prazo: revisão sistemática e metanálise**

Resumo

Introdução: O aumento da longevidade, hábitos alimentares inadequados e predisposição genética são alguns dos fatores relacionados ao aumento de doenças crônicas, como o câncer. O câncer de cólon e reto, também denominado câncer colorretal, é uma neoplasia relacionada às dietas ricas em gorduras e carboidratos refinados, com pobreza de fibras e proteínas. Essa situação aumentou o número de pesquisas que avaliam a atividade anticancerígena de diversos compostos bioativos, com o objetivo de aplicação em alimentos e produtos farmacêuticos. As bactérias probióticas têm demonstrado, em alguns estudos, ação sobre diversas linhagens de células cancerígenas, sendo propostos diferentes mecanismos de ação a partir de sua atividade antioxidante. Destaca-se, entre as bactérias probióticas, o *Lactobacillus acidophilus*, uma bactéria ácido-lática com capacidade probiótica bem definida, de forma cepa-dependente. **Objetivos:** O objetivo do trabalho foi avaliar, com auxílio da metodologia de Medicina Baseada em Evidências, o efeito da administração de cepas de *Lactobacillus acidophilus* em pacientes com câncer colorretal por meio de estudos clínicos administrado individualmente ou em combinação com outras substâncias e cepas probióticas, por meio de alimentos ou de formas farmacêuticas. **Metodologia:** Foi realizada uma revisão sistemática da Literatura nas seguintes bases de dados: Medline, Embase, Elsevier, Cochrane Central Register of Controlled Trials, Scopus, Web of Science e Scielo. As estratégias de busca foram compostas dos termos “colorectal cancer”, “oxidative stress”, “antioxidant activity”, “Lactobacillus acidophilus”, “probiotics” e “randomized controlled trial” associados aos operadores booleanos AND ou OR, sendo ajustados de acordo com a base de dados. Também foi realizada busca manual a partir das referências bibliográficas dos artigos incluídos. Não houve restrições quanto ao tempo, contudo, limitou-se o idioma em artigos publicados em inglês, espanhol e português. Foram incluídos todos os estudos clínicos que utilizaram cepas de *L. acidophilus*, exclusivamente ou em associação com outras cepas probióticas, e fibras em pacientes com câncer colorretal. Artigos que incluíam leveduras, dos quais os parâmetros de avaliação não demonstravam dados clínicos, como artigos que utilizaram questionários para avaliar a qualidade de vida, em que os pacientes apresentavam outras doenças além de câncer colorretal, ou, cujos dados não estavam separados e que tinham bactérias probióticas, isentos de *L. acidophilus*, não foram incluídos no estudo. Também não foram incluídos artigos com idiomas diferentes dos estipulados, nem aqueles onde não estava clara a inclusão de *L. acidophilus* no estudo por omissão de cepas probióticas. O gerenciamento dos dados foi feito por meio dos programas Microsoft Office Excel 2013® e Endnote Web® X8. A avaliação da qualidade e de risco de viés foram realizadas com o programa Review Manager 5.3®. **Resultados e Discussão:** Foram recuperados das bases de dados 1028 artigos, sendo que oito se enquadraram nos requisitos necessários e foram utilizados no estudo. Como limitações destacam-se a impossibilidade de acesso a consulta na base de dados Embase; da mesma forma, considerando-se que cinco dos oito artigos incluídos são provenientes da China (três do mesmo grupo de estudo), dando incerteza sobre a aplicação dos resultados encontrados em dietas ocidentais. A avaliação resultou num total de 616 indivíduos, 297 com câncer colorretal no grupo com probióticos, 286 pacientes com câncer colorretal que estavam no grupo controle e/ou placebo e 33 indivíduos saudáveis. Todos os estudos incluídos apresentavam associação do *L. acidophilus* com outras bactérias

probióticas. Dois artigos associaram as fibras prebióticas (inulina e frutooligossacarídeos). Todos os estudos foram randomizados com sete estudos duplo-cegos e um estudo com grupo controle sem placebo. A administração da mistura probiótica foi por meio de formas farmacêuticas (cápsulas em 04 artigos, sachês em 03 artigos e tabletes em um artigo). Os principais desfechos analisados se referiram a integridade da barreira intestinal, cultura microbiológica, alteração da microbiota, observações clínicas pós-operatórias e encontrou-se apenas um artigo que analisou de forma indireta capacidade antioxidante. Três desfechos (integridade da barreira intestinal, alteração da microbiota e cultura microbiológica) demonstraram que a intervenção de bactérias probióticas foi estatisticamente significativa ($P < 0.05$) em comparação ao placebo. Na análise de observações clínicas pós-operatórias, por meio de de metanálise ficou evidenciado que a administração de probióticos diminuiu a incidência de infecções operatórias em comparação ao grupo placebo, resultado relacionado com a melhora da integridade da barreira intestinal. A atividade antioxidante foi verificada apenas em um artigo, por meio da mensuração das enzimas hepáticas alanina transferase e aspartato transferase, contudo, são necessários mais estudos que comprovem essa capacidade antioxidante em indivíduos humanos com câncer colorretal.

Conclusões: O estudo ressaltou que não há artigos envolvendo *Lactobacillus acidophilus* individualmente em seres humanos com câncer colorretal, o que pode permitir estudos mais direcionados com a utilização de tal bactéria nessa patologia, permitindo conhecer melhor seu comportamento e mecanismos de ação e, desse modo, esclarecer, de fato, as ações que sua utilização têm nessa condição patológica. Considerou-se, também, que poucas análises da capacidade antioxidante são feitas em humanos, configurando-se em uma área interessante para estudo, ainda que seja como paliativo ao estresse oxidativo que pacientes com câncer possuem; dessa forma, estudos com enzimas antioxidantes, como glutatona e superóxido dismutase, podem ser objetos de análise em estudos futuros, da mesma forma que a mensuração de metabólitos relacionados ao estresse oxidativo, biomarcadores e substâncias de proteção da mucosa intestinal são possibilidades bastante amplas de estudos das atividades biológicas dessa bactéria. Ressaltam-se como principais efeitos da administração de cepas de *L. acidophilus* com outras bactérias probióticas, a diminuição da translocação bacteriana, seguida de efeitos relacionados a tal desfecho, como: alteração qualitativa e quantitativa da microbiota intestinal e diminuição das complicações pós-operatórias, resultando em melhor qualidade de vida para o indivíduo que recebeu a intervenção e na diminuição de custos hospitalares por diminuição de estadia e de infecções relacionadas a procedimento cirúrgico.

Palavras chaves

Bactérias ácido lácticas. Câncer de Cólon e reto. Atividade Antioxidante. Saúde Baseada em Evidências.

***Lactobacillus acidophilus* with another probiotic bacteria association have beneficial effects in colorectal cancer patients in short-time administration: systematic review and meta-analysis**

Abstract

Introduction: Increased longevity, poor eating habits and genetic predisposition are some of the factors related to the increase of chronic diseases, such as cancer. Colorectal cancer is a neoplasia related to diets rich in fats and refined carbohydrates, with poor fiber and protein. This situation has increased the number of researches that evaluate the anticancer activity of several bioactive compounds, aiming at foods and pharmaceuticals. Probiotic bacteria have been researched in action studies on several cancer cell lines, being proposed different mechanisms. *Lactobacillus acidophilus*, among the probiotics is lactic acid bacteria, with well-defined probiotic capacity. **Objectives:** This study aimed at evaluating the effect of *Lactobacillus acidophilus* in patients with colorectal cancer by means of clinical studies administered individually or in association with other substances and probiotic bacteria through food or pharmaceuticals. **Methodology:** A systematic review of the literature was carried out in the following databases: Medline, Embase, Elsevier, Cochrane Central Register of Controlled Trials, Scopus, Web of Science and Scielo. The search strategies were composed of the terms "colorectal cancer", oxidative stress, "antioxidant activity", "Lactobacillus acidophilus", "probiotics" and "randomized controlled trial" associated with boolean operators AND or OR, being adjusted according to the base of data. Manual search was also carried out on the bibliographic references of the articles included. There were no restrictions on time, but language was limited to articles published in English, Spanish and Portuguese. We included all clinical studies that used *L. acidophilus* alone or associated with other probiotic bacteria and fibers in colorectal cancer patients. Articles that included yeasts, which the evaluation parameters did not show clinical data or that had patients with diseases other than colorectal cancer and whose data were not separated and that they had probiotic bacteria but did not have *L. acidophilus*, were not included in the study. We also did not include articles with languages other than those stipulated, nor those in which the inclusion of *L. acidophilus* was not clear in the study by lack of probiotic strains. Handling and data management were done through the Microsoft Office Excel 2013[®] and Endnote Web[®] X8 programs for data management. The evaluation of quality and risk of bias were performed through the Review Manager 5.3[®] program. **Results and Discussion:** 1028 articles were retrieved from the databases, eight of which met the necessary requirements and were used in the study. As limitations, it is important to note the impossibility of accessing the query in the Embase database; in the same way, considering that five of the eight articles included come from China (three from the same study group), laying uncertainty about the application of results found in Western diets. The evaluation resulted in a total of 616 individuals, 297 with colorectal cancer in the probiotic group, 286 colorectal cancer patients who were in the control and / or placebo group, and 33 healthy individuals. All the included studies presented the association of the *L. acidophilus* with other probiotic bacteria. Two articles associated with prebiotic fibers (inulin and fructooligosaccharides). All studies were randomized to seven double-blind studies and one study with a control group without placebo. The administration of the probiotic mixture was by pharmaceutical forms (capsules in 04 articles, sachets in 03 articles and tablets in one article). The main outcomes analyzed were the integrity of the intestinal barrier, microbiological culture, microbiota

alteration, postoperative clinical observations and only one article was analyzed indirectly antioxidant capacity. Three outcomes (intestinal barrier integrity, microbiota alteration and microbiological culture) depicted that the intervention of probiotic bacteria was statistically significant ($P < 0.05$) compared to placebo. In the analysis of postoperative clinical observations, through meta-analysis, it was evidenced that the administration of probiotics decreased the incidence of operative infections in comparison to the placebo group, a result related to the improvement of intestinal barrier integrity. The antioxidant activity was verified only in one article, through the measurement of ALT and AST liver enzymes, but further studies are needed to prove this antioxidant capacity in human individuals with colorectal cancer. **Conclusions:** The study highlighted that there are no studies involving *Lactobacillus acidophilus* individually in humans with colorectal cancer, which may allow more direct studies with the use of this bacterium in this pathology, allowing a better understanding of its behavior and mechanisms of action and, in this way, clarifying in fact the actions that their use have in this pathological condition. It has also pinpointed that few analyzes of the antioxidant capacity are made in humans, showing that it is an significant area of study although it is palliative to the oxidative stress that cancer patients possess; Thus, studies with antioxidant enzymes, such as glutathione and superoxide dismutase, may be the object of analysis in future studies, as well as the measurement of metabolites related to oxidative stress, biomarkers and substances that protect the intestinal mucosa, showing that the possibilities of studies of the biological activities of this bacterium are quite broad. The main effects of administration of strains of *L. acidophilus* with other probiotic bacteria are the reduction of bacterial translocation, followed by effects related to this outcome, such as: qualitative and quantitative alteration of the intestinal microbiota and reduction of postoperative complications; which results in a better quality of life for the individual who received the intervention and decrease hospital costs due to shortening stay and infections related to surgical procedure.

Keywords: Lactic acid bacteria. Colorectal cancer. Antioxidant activity. EvidenceBased-Medicine.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	13
LISTA DE FIGURAS	14
1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS	17
2.1 Objetivo Geral	17
2.1 Objetivos Específicos	17
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1 Alimentos Funcionais, Microbiota Intestinal e Probióticos	18
3.2 <i>Lactobacillus acidophilus</i> – Características Gerais e Atividade Funcional	25
3.3 Estresse Oxidativo como Promotor de Processos Tumoriais e Estratégias Preventivas a partir de Probióticos	29
3.4 Câncer Colorretal	32
3.5 Medicina Baseada em Evidências	36
4. METODOLOGIA	39
4.1 Delineamento da pesquisa	39
4.2 Busca Sistemática	39
4.3 Critérios de seleção	40
4.4 Triagem, extração e análise dos dados	40
5. RESULTADOS PARCIAIS E DISCUSSÃO	42
5.1 Resultados da busca na literatura	42
5.2 Análises dos resultados	49
5.2.1 INTEGRIDADE DA BARREIRA INTESTINAL	51
5.2.2 CULTURA MICROBIOLÓGICA	55
5.2.3 ALTERAÇÕES DE MICROBIOTA	59
5.2.4 OBSERVAÇÕES CLÍNICAS PÓS-OPERATÓRIAS	62
5.2.5 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	66
6. CONCLUSÃO	69

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
ANEXO 1.....	78
ANEXO 2.....	80
ANEXO 3.....	83
ANEXO 4.....	85
ANEXO 5.....	87
ANEXO 6.....	88
ANEXO 7.....	89
ANEXO 8.....	90

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Requisitos mínimos para caracterização de microrganismo probióticos ...	20
Tabela 2 Características dos estudos incluídos na revisão sistemática	47
Tabela 3 Características dos pacientes e tratamentos utilizados nos estudos selecionados	48
Tabela 4 Distribuição dos desfechos analisados nos artigos incluídos	51
Tabela 5 Resultados das análises da avaliação de integridade de barreira	53
Tabela 6 Cultura microbiológica em hemoculturas de comparando grupo controle placebo em comparação ao grupo com intervenção de probiótico	56
Tabela 7 Cultura microbiológica do cateter central comparando grupo controle placebo em comparação ao grupo com intervenção de probiótico	58
Tabela 8 Cultura microbiológica do escarro comparando grupo controle placebo em comparação ao grupo com intervenção de probiótico	59
Tabela 9 Resultado das análises de microbiota intestinal em material fecal após 10 dias da cirurgia em artigo de Liu <i>et al</i> , 2011	60
Tabela 10 Alteração de microbiota por filo bacteriano em análise de mucosa em artigo de Gao <i>et al</i> , 2015	61
Tabela 11 Desfechos clínicos dos artigos incluídos	63
Tabela 12 Determinação das enzimas hepáticas ALT e AST após procedimento operatório entre grupo controle (GC) e grupo com probióticos (GP)	66

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Pirâmide de evidência científica	38
Figura 2 Fluxograma da seleção dos estudos da pesquisa	43
Figura 3 Risco de viés para cada artigo incluído	44
Figura 4 Perfil de fingerprint de DNA bacteriano	61
Figura 5 Gráfico de floresta de taxa de infecções pós-operatórias	65

1. INTRODUÇÃO

O câncer de cólon, ou colorretal (CCR), é um dos principais cânceres que acometem a população brasileira, o segundo mais freqüente em mulheres e o terceiro em homens, de acordo com o Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes Silva (INCA, 2018).

Os hábitos alimentares ocidentais, ricos em gorduras e carboidratos de alto índice glicêmico, com pobreza de fibras e proteínas, configuram-se em um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento dessa doença crônica.

Diversos estudos evidenciam temáticas recorrentes: a necessidade de prevenir a ocorrência dessa doença e a pesquisa de compostos bioativos que possam contribuir em sua minimização. Isto é observado no grande número de estudos sobre alimentos funcionais, nutracêuticos e compostos bioativos com atividade anticancerígena.

Destacam-se, nesses estudos, as substâncias fenólicas oriundas do metabolismo secundário de plantas (flavonoides e taninos, por exemplo), ácidos graxos poli-insaturados (como a família Ômega), fibras solúveis (como a inulina e os frutooligossacarídeos) e os probióticos, bactérias associadas com efeitos benéficos em animais e em seres humanos, por meio da administração frequente e em quantidades adequadas que garantam tais efeitos visando o crescimento dessas bactérias e/ou atividade no hospedeiro.

Os estudos com probióticos apontam para o fato de que tais microrganismos possuem uma diversidade de aplicações na saúde. Têm-se evidenciado a participação de componentes bacterianos (enzimas e exopolissacarídeos, por exemplo) como agentes antioxidantes locais, minimizando a ação de radicais livres que promovem alterações a nível de DNA que levam mutagênese e carcinogênese, demonstrando uma ampla gama possibilidades de estudos sobre esses microrganismos.

As atividades demonstradas na literatura sobre células probióticas e seus extratos em humanos com câncer não estão bem esclarecidos, da mesma forma que é necessária uma maior elucidação do seu potencial antioxidante em seres humanos.

Neste sentido, este estudo foi conduzido por meio da metodologia de revisão sistemática evidenciando o que existe de comprovado sobre a ação de cepas de

Lactobacillus acidophilus como adjuvante no câncer colorretal, administrado individualmente ou em associação com outras bactérias probióticas e fibras prebióticas, trazendo, sob a perspectiva da Medicina Baseada em Evidências, os benefícios e as desvantagens da utilização dessa bactéria probiótica.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O objetivo geral do presente trabalho é verificar os efeitos da administração de cepas probióticas da espécie *Lactobacillus acidophilus* isolada ou associada a outras bactérias probióticas e/ou prebióticos em pacientes portadores de câncer colorretal por meio de uma revisão sistemática de ensaios clínicos randomizados.

2.2 Objetivos específicos

Realizar revisão sistemática apenas com estudos conduzidos em seres humanos, garantindo maior evidência científica da aplicação do probiótico.

Verificar quais os principais efeitos obtidos com a administração oral de *Lactobacillus acidophilus* em pacientes com câncer colorretal, em formulações onde somente ele seja o probiótico ou em associação com os outros probióticos.

Determinar o comportamento do probiótico frente a administração de antibiótico.

Verificar se os estudos clínicos realizados em humanos, por meio de análises do material biológico dos pacientes arrolados no estudo, determinam atividade antioxidante, por meio de redução de espécies reativas de oxigênio nas células ou por medidas indireta no plasma e/ou sangue, como enzimas antioxidantes.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Alimentos Funcionais, Microbiota Intestinal e Probióticos

O conceito de alimentos funcionais é historicamente recente, iniciado no Japão, a partir da década de 80. Desde então, há um número crescente de pesquisas e de produtos lançados no mercado que contém compostos bioativos, que contribuem de forma benéfica na modulação da saúde, por diversos motivos, como: aumento da expectativa de vida em países desenvolvidos, elevado custo de serviços de saúde, avanços da tecnologia de alimentos e ingredientes (GALLINA *et al*, 2011; KOMATSU *et al*, 2008).

Para Moraes e Colla (2006), um alimento pode ser considerado funcional com a demonstração de efeitos benéficos sobre a fisiologia, além dos efeitos nutricionais inerentes a sua composição, realizando sua função básica nutritiva com a adição de um efeito regulador ou protetor, minimizando os riscos de doenças e melhorando a qualidade de vida do consumidor.

A atuação desses alimentos funcionais é realizada por meio de mecanismos não previstos na nutrição convencional, ressaltando-se que esse efeito se restringe a promoção da saúde e não à cura de processos patológicos. Dessa forma, uma definição apropriada para alimentos funcionais é que são “alimentos para os quais pode ser satisfatoriamente demonstrado que eles afetam benéficamente uma ou mais funções do organismo, além de garantirem efeitos nutricionais adequados, conduzindo a uma melhoria do estado geral de saúde e bem-estar e/ou a uma redução do risco de doenças” (KOMATSU *et al*, p. 330, 2008).

A classificação da funcionalidade de um alimento pode estar relacionada como o alimento em si ou conforme os componentes bioativos que contém, como os fitoquímicos, as vitaminas, minerais, ácidos graxos poli-insaturados da família ômega, probióticos, etc. A apresentação como alimentos em formas convencionais e a necessidade de sua boa absorção pelo intestino atrai o interesse da comunidade científica para a fisiologia intestinal, assim como a composição e a atividade do ecossistema microbiano têm atraído atenção para o desenvolvimento de alimentos funcionais com atividade principal sobre esse sítio anatômico, destacando-se as pesquisas com microrganismos probióticos (KOMATSU, 2008).

De acordo com Badaró *et al* (2008), a microbiota intestinal, cuja principal população bacteriana e atividade metabólica se concentram no intestino grosso, ainda é pouco conhecida, alcançando de 10^{11} a 10^{12} unidades formadoras de colônia (UFC)/g no cólon, com um número de gêneros bacterianos que variam de 1183 até mais de 3000, dependendo do indivíduo (ROJO *et al*, 2017).

A microbiota humana possui papel relevante no processo de nutrição e de saúde. Por meio de processos fermentativos, as bactérias do intestino metabolizam diversos substratos (principalmente componentes dietéticos), resultando em produtos finais como ácidos graxos de cadeia curta e gases, além de alguns componentes como vitaminas. Este metabolismo contribui de forma positiva para as necessidades energéticas do hospedeiro, o que faz com que o intestino grosso seja metabolicamente bastante ativo, o que está significativamente relacionado com a microbiota residente e suas atividades (BADARÓ *et al*, p. 6, 2008).

Quando, em equilíbrio, a microbiota intestinal impede a proliferação de microrganismos patogênicos e, conseqüentemente, seus efeitos prejudiciais. Porém, o desequilíbrio, leva, desde quadros agudos, como infecções bacterianas, até ocorrências mais crônicas, como modulação da obesidade até o desenvolvimento de processos cancerígenos no cólon (BADARÓ *et al*, 2008; GOMES *et al*, 2016; HIBBERD *et al*, 2017).

Uma dieta pobre em fibras, sedentarismo, estresse, tabagismo, alcoolismo e a ingestão de antibióticos podem alterar a microbiota intestinal, incluindo alteração do processo fermentativo, diminuindo a produção de ácidos graxos de cadeia curta (que tem efeito protetor sobre os colonócitos) e aumentando a produção de metabólitos indesejáveis como amônia e toxinas (BADARÓ *et al*, 2008).

Compreende-se, assim, o interesse que a microbiota intestinal causa e o direcionamento de pesquisas e o desenvolvimento de alimentos funcionais e de medicamentos para a regularização e, conseqüente modulação intestinal, por meio de estratégias que incluam probióticos, buscando modificar seletivamente a microbiota, melhoria da imunidade da mucosa, produção de substâncias que agem contra patógenos (bacteriocinas, por exemplo) e melhoria da permeabilidade intestinal (BADARÓ *et al*, 2008).

Para a legislação brasileira, probiótico é o microrganismo que apresenta efeitos benéficos para o hospedeiro, promovendo o equilíbrio da microbiota normal. Assim, o potencial probiótico é definido como a capacidade do microrganismo de

atingir de forma viável o seu local de ação e exercer um ou mais dos seus possíveis mecanismos de ação probiótica (BRASIL, 2003).

De acordo com Hill *et al* (2014), probióticos são microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro.

Mais do que conferir efeitos benéficos e a necessidade de viabilidade de tais microrganismos, a Organização de Alimentos e Agricultura (Food and Agriculture Organization – FAO) e a Organização Mundial da Saúde (OMS), criaram diretrizes com exigências mínimas para a caracterização de probióticos (Tabela 1).

Tabela 1 Requisitos mínimos para caracterização de microrganismos probióticos.

Avaliação da cepa	Gênero, espécie e cepa, geralmente utilizando métodos de reconhecimento genético e depósito em coleções de culturas microbianas internacionais.
Testes in vitro	Contribuem no conhecimento das cepas e no seu mecanismo de efeito probiótico. O ideal é que os alvos in vitro sejam similares àqueles encontrados in vivo para uma correta correlação dos resultados. Alguns testes avaliam a capacidade de sobrevivência e a viabilidade das cepas ao trato gastrointestinal (por exemplo, resistência à acidez gástrica e a ácidos biliares) e a capacidade de colonização do mesmo (p.e., aderência a células epiteliais). <ul style="list-style-type: none"> - Resistência à acidez gástrica; - Resistência à ácidos biliares; - Aderência à mucosa e/ou às células epiteliais humanas ou às linhagens celulares; - Atividade antimicrobiana contra potenciais bactérias patogênicas; - Habilidade de reduzir adesão superficial de patógenos; - Atividade hidrolítica sobre sais biliares; - Resistência à espermicidas (aplicável para probióticos de uso vaginal).
Avaliação da Segurança	Como boa parte das bactérias probióticas utilizadas atualmente provém de microbiotas comensais de seres humanos, geralmente são considerados microrganismos seguros. Entretanto, atualmente relata-se quatro tipos de efeitos colaterais relacionados com probióticos (infecções sistêmicas, atividades metabólicas deletérias, excessiva estimulação imunológica de indivíduos suscetíveis e transferência de genes, com potencial transferência de genes de resistência à antibióticos), exigindo comprovação da segurança com testes como: <ul style="list-style-type: none"> - Determinação dos padrões de resistência aos antibióticos; - Avaliação de algumas atividades metabólicas (por exemplo, produção de D-lactato, desconjugação de sais biliares); - Avaliação de efeitos colaterais durante estudos com humanos; - Vigilância epidemiológica de efeitos adversos nos consumidores (pós-venda); - Se a cepa em avaliação pertence a uma estirpe que

	<p>produz toxinas em mamíferos de forma conhecida, deve ser avaliado o potencial de produção de toxinas;</p> <p>- Se a cepa em avaliação pertence a uma estirpe com potencial hemolítico conhecido, a avaliação da atividade hemolítica é necessária.</p> <p>A avaliação de falta de infectividade por uma cepa probiótica em animais imunocomprometidos aumentaria a confiança na segurança do probiótico.</p>
<p>Estudos in vivo usando animais e humanos</p>	<p>Os modelos animais existem para prover comprovação dos efeitos in vitro e determinação do mecanismo de ação. Para comprovação dos efeitos em humanos, estudos randomizados em humanos são encorajados. Tal ocorrência deve-se ao fato de que o tipo de estudo busca significância estatística e biológica para comprovar em quais condições se obtém benefícios de cada microrganismo probiótico, bem como, possibilidade de descritivo de sintomas, sinais, bem-estar ou qualidade de vida, risco de doença avaliado ou maior tempo para a próxima ocorrência.</p>

*Adaptado de FAO/OMS, 2002.

Passados mais de 10 anos da publicação desse documento, - e, apesar de todo o avanço da ciência com relação aos probióticos, considerando-se a quantidade de produtos existentes no mercado, - há poucas pesquisas relacionadas ao uso de determinado alimento com determinada cepa do produto probiótico. No âmbito de medicamentos produzidos com probióticos, verificam-se, também, poucos estudos com os produtos em si e mais alegações das propriedades funcionais relacionadas com as cepas, muitas vezes em formas farmacêuticas que não apresentam coerência com a apresentação do produto disponibilizado. As brechas na lei que existem no Brasil, Estados Unidos e União Europeia agravam mais esse quadro, dificultando a possibilidade de estudos comprobatórios em humanos e a compilação e comparação de tais estudos por meio de revisões sistemáticas e metanálises (VANDENPLAS *et al*, 2015).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) elaborou uma lista onde se encontram 19 substâncias com ação nutricional ou não, incluindo microrganismos probióticos que, quando adicionados em algum produto alimentício, podem ter a rotulação de alegação de propriedade funcional. No caso dos probióticos, essa alegação deve informar qual a espécie do probiótico, a indicação de que o consumo do produto deve estar associado à alimentação equilibrada e à hábitos de vida saudáveis e ter uma quantidade viável de microrganismos mínima de unidades formadoras de colônias (UFC), com comprovada ação benéfica (pela literatura ou testes conduzidos in vivo, quando é cepa/gênero probiótico novo) (ANVISA, 2016; BRASIL, 2002).

Badaró *et al* (2008) e Komatsu *et al* (2008) concordam que, para garantia de efeito contínuo dos probióticos, eles devem ser consumidos diariamente. Alterações favoráveis na microbiota intestinal foram observadas com o consumo de doses de 100 g de alimento contendo 10^8 a 10^9 UFC de microrganismos probióticos (10^7 a 10^6 UFC/g de produto), geralmente em um período mínimo de 15 dias.

Atualmente, pelo histórico de segurança as principais cepas utilizadas como probióticos são os gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. Entretanto, outros gêneros também são considerados probióticos, a saber: *Enterococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Lactococcus* spp., algumas bactérias do gênero *Bacillus* e leveduras, como *Saccharomyces cerevisiae* e *S. Cerevisiae* subsp. *boulardii* (RAFTER, 2002; CARVALHO *et al*, 2012; SIVIERI *et al*, 2013).

Lactobacillus acidophilus é considerada uma bactéria ácido láctica (BAL) que têm na lactose seu principal substrato de fermentação (processo homofermentativo), resultando na produção de ácido láctico, dióxido de carbono e diacetil/acetoína, que contribuem na flavorização, textura e vida de prateleira do produto fermentado, além dos benefícios em termos de nutrição e saúde que os probióticos proporcionam (HARUTOSHI, 2013).

Já bactérias do gênero *Bifidobacterium* spp. tem um processo heterofermentativo, produzindo além do ácido láctico, outros produtos como ácido acético, etanol e dióxido de carbono, não sendo consideradas BAL (FLOROU-PANERI *et al*, 2013).

Esses dois gêneros de cepas probióticas são naturalmente encontrados nos organismos humano e animal, fazendo parte da constituição da microbiota normal, atuando de forma benéfica nos tratos gastrointestinal e geniturinário, com uma diversidade de espécies e estirpes (FLOROU-PANERI *et al*, 2013).

De acordo com Florou-Paneri *et al* (2013), as BAL são filogeneticamente pertencentes ao grupo de bactérias da família *Clostridium*, Gram-positivas, não-esporuladas, bactérias anaeróbias aerotolerantes, não produtoras de catalase e cadeia respiratória, com composição de bases de DNA 53 mol G+C. Morfologicamente, podem ter a forma de cocos ou bacilos e, conforme fermentam glicose em um processo homofermentativo, convertem carboidratos em ácido láctico majoritariamente – como *Lactobacillus* spp. Dessa forma, o metabolismo dos BAL é baseado na degradação de carboidratos e produção de ácido láctico e energia.

A utilização das BAL atualmente é bastante ampla, não se restringindo a produção de alimentos funcionais, mas também como componente ativo de formulações farmacêuticas como cápsulas e sachês, aplicados em processos químicos e também sendo fonte de vitaminas, carboidratos como exopolissacarídeos, enzimas e alguns agentes antimicrobianos (FLOROU-PANERI *et al*, 2013).

O gênero *Lactobacillus* conta com microrganismos Gram-positivos, não esporulados, microaerófilos, geralmente catalase-negativos. Inclui 56 espécies reconhecidas, das quais 5 contêm subespécies. Dezoito delas estão presentes no trato gastrointestinal humano, sendo consideradas de interesse probiótico, destacando-se: *L. acidophilus*, *L. helveticus*, *L. casei* subsp. *paracasei* e subsp. *tolerans*, *L. fermentum*, *L. reuteri*, *L. johnsonii*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus* e *L. salivarius*. De modo geral, são bactérias que colaboram na digestão de lactose em indivíduos com intolerância a esse dissacarídeo, redução da constipação e diarreia infantil, resistência a infecções por *Salmonella*, prevenção da “diarreia do viajante” e aliviar a síndrome do intestino irritável (BADARÓ *et al*, 2008; KOMATSU *et al*, 2008).

O gênero *Bifidobacterium* possui bactérias Gram-positivas, microaerófilas, não formadores de esporos, desprovidos de flagelo, catalase-negativos e anaeróbios. Inclui 30 espécies, das quais se se destacam: *B. bifidum*, *B. breve*, *B. longum*, *B. lactis*, *B. animalis*, *B. thermophilum*, *B. infantis* e *B. adolescentis*. Bifidobactérias são encontradas no trato gastrointestinal humano nos primeiros dias de vida, colonizando rapidamente e mantendo-se relativamente estáveis até a idade avançada, quando ocorre um declínio. Contudo, dieta, antibióticos e estresse são apontados como capazes de influenciar a população de bifidobactérias (BADARÓ *et al*, 2008).

Komatsu *et al* (2008) afirmam que as bifidobactérias estimulam o sistema imunológico, produzem vitamina B, inibem a multiplicação de patógenos, reduzem a concentração de amônia e de colesterol no sangue e ajudam a restabelecer a microbiota normal após o tratamento com antibióticos

Na saúde humana, no uso em alimentos ou em formas farmacêuticas, a ação das BAL, e das bifidobactérias, é bem estabelecida, não apenas para a modulação da saúde do trato gastrointestinal, mas também apresentam outras vantagens na melhora da resposta imune humoral, biotransformação de isoflavonas para sintomas de pós-menopausa, bioconversão de biopeptídeos ativos no controle

da hipertensão arterial, redução do colesterol sérico, melhoras dos sintomas de asma, melhoria do quadro de dermatite atópica e também utilização transtornos de saúde mental como a depressão, por liberação de aminas neuroativas em seu metabolismo, etc. (LIONG, 2008; VANDENPLAS *et al*, 2015; HUANG *et al*, 2016).

A quantidade de benefícios descritos na literatura e quase ausência de relatos consistentes sobre possíveis desvantagens dos probióticos até o momento, dependendo do país, apresentam uma grande amplitude de produtos contendo esses microrganismos, que vão além de alimentos e medicamentos, chegando a produtos para assepsia, colchões, travesseiros e cosméticos. Entretanto, a baixa quantidade de estudos randomizados com produtos e cepas, exige uma atitude mais conservadora diante aos probióticos e sua aplicação em situações mais delicadas, como determinados processos cancerígenos e em determinados pacientes (como crianças, idosos e indivíduos com imunocomprometimento) (VANDENPLAS *et al* (2015).

Liong (2008) corrobora com a atitude de cautela quanto ao uso de probióticos e seus diversos apelos funcionais em diversas patologias, incluindo o câncer colorretal, pois há muitos dados inconsistentes, que sem tratamento estatístico adequado, não fornecem respostas suficientes para aplicação clínica. Os resultados contraditórios obtidos derivam de complicações no processo de carcinogênese, desenho experimental, complicações na obtenção de amostras adequadas, variações nas estirpes de probióticos e variações nos estágios do tumor dos sujeitos do estudo. Além disso, a atividade dos probióticos é dose-dependente.

No caso do câncer colorretal, os testes *in vitro* e *in vivo* em roedores têm, consistentemente, demonstrado que a associação de bactérias probióticas, ou, ainda, associado a prebióticos (fibras solúveis que podem ser fermentadas pelos probióticos), reduzem a quantificação de marcadores relacionados ao câncer (como dano ao DNA, focos de criptas aberrantes no colón e redução quantitativa e qualitativa de tumores) (RAFTER, 2002).

Contudo, não há evidência definitiva que aponte para que os probióticos reduzam o risco de câncer colorretal em humanos, pois, há dados inconsistentes, em que estudos epidemiológicos que demonstram que o consumo elevado de produtos fermentados lácteos com *Lactobacillus* ou *Bifidobacterium* estão relacionados com baixo risco de desenvolvimento de câncer, ao mesmo tempo que alguns estudos genéticos populacionais relacionaram alto risco de desenvolvimento

de câncer com microbiota intestinal com alta quantificação de certas espécies de *Bifidobacterium* (RAFTER, 2002; MOORE, MOORE, 1995)

A revisão da bibliografia controversa configura a necessidade de estudos que sumarizem e elucidem os verdadeiros efeitos dessas bactérias.

3.2 *Lactobacillus acidophilus* – Características Gerais e Atividade Funcional

Para Kim *et al* (2010), *Lactobacillus acidophilus* é uma das principais BAL, entendidas como um grupo diverso de microrganismos de importância econômica que pode ser utilizado tanto em agricultura quanto em alimentos e medicamentos por processos fermentativos.

As bactérias do gênero *Lactobacillus* têm sido evidenciadas pelo seu potencial de controle de radicais livres, apresentando-se como objeto de estudo de diversos artigos que avaliam a capacidade antioxidante de seus componentes celulares. Há uma tendência a destacar essa capacidade antioxidante como relacionada às enzimas antioxidantes e também aos exopolissacarídeos (EPS), extraídos por metodologias de rompimento celular. Os EPS têm sido relacionados aos diversos efeitos benéficos à saúde, incluindo atividade antitumoral, entre outras doenças crônicas, reforçando seu efeito antioxidante, uma vez que estes distúrbios estão relacionados com o desequilíbrio entre radicais livres e sistemas antioxidantes (GHANY *et al*, 2015; ZHANG *et al*, 2011).

Huratoshi (2013) assevera que EPS apresenta propriedades imunomodulatórias, atividade antiviral e atividade anti-hipertensiva, além de aditivo tecnológico para melhoria da textura de alimentos, complementando, pois, o aumento de sua produção por BAL está relacionada com a presença de carboidratos prebióticos.

Hussein *et al* (2015) verificaram que os EPS produzidos por bactérias do trato gastrointestinal ou presentes em produtos lácteos como *L. delbrueckii*, também apresentam alta atividade prebiótica (ou seja, são fermentáveis por bactérias probióticas) para *L. reuteri*, *L. rhamnosus*, *L. acidophilus* e *Bifidobacterium bifidum*, sugerindo um maior benefício para a saúde, proporcionada por bactérias ácido-láticas e por bactérias de inóculos fermentadores, justificando a associação entre diferentes bactérias em produtos alimentícios e farmacêuticos.

De acordo com Dallal *et al* (2015), as bactérias do gênero *Lactobacillus*

como *L. acidophilus*, *L. casei* e *L. delbrueckii* estão entre os mais importantes constituintes da microbiota intestinal normal e têm como vantagem a sua usual utilização em produtos lácteos. Dessa forma, contribuem para aumentar de forma efetiva o sistema imunológico do consumidor regular destes produtos. Além disso, o efeito imunomodulatório das espécies de *Lactobacillus* não se limita ao trato gastrointestinal, antes, atuam, também, em todo o sistema imune, incluindo trato respiratório e pele (WEST *et al*, 2014).

Estudo feito por Kim *et al* (2010), utilizou EPS de *L. acidophilus* 606 sobre células de CCR da linhagem HT-29. Por análise de eletroforese, demonstrou-se que o EPS inibiu a proliferação das células, alterou a morfologia celular e ativou a expressão de Beclina-1, uma proteína do retículo endoplasmático que está relacionada com a morte programada e autofagia celular, mas que geralmente é expressa em níveis baixos em células cancerígenas, comprometendo a morte celular programada dessas células, possibilitando a propagação do tumor. Em estudo feito no Irã, verificou-se a atividade de extratos bacterianos e sobrenadantes de *L. acidophilus* e *L. casei* sobre células de adenocarcinoma colorretal CaCo-2. Neste estudo avaliaram-se os efeitos dos probióticos sobre a proliferação celular, necrose, apoptose, migração e invasão (DALLAL *et al*, 2015).

Os resultados demonstraram que os extratos bacterianos e os sobrenadantes das duas estirpes de *Lactobacillus* diminuíram a proliferação celular e aumentaram a apoptose celular, contudo, não tiveram efeito significativo sobre a necrose. O extrato lisado de *L. acidophilus* teve atividade significativamente superior ao do *L. casei* sobre a inibição da proliferação celular; porém, quanto ao sobrenadante, o de *L. casei* teve maior atividade sobre a proliferação celular do que o sobrenadante de *L. acidophilus* (DALLAL *et al*, 2015).

Além disso, ambos os extratos e sobrenadantes diminuíram a migração e a invasão celulares. No caso da migração, ambas as frações (extratos e sobrenadantes) das duas bactérias utilizadas, tiveram resultados positivos para inibir a migração das células cancerígenas (cujo mecanismo sugerido pelos autores é devido a substâncias secretadas por esses microrganismos), mas entre si, não houve diferença significativa (DALLAL *et al*, 2015).

Entretanto, no caso da invasão, todas as frações tiveram resultados positivos para inibir, mas o extrato lisado e o sobrenadante do *L. acidophilus* foram significativamente superiores aos resultados encontrados nas frações de *L. casei*. A

capacidade de invasão celular é um relevante componente da malignidade de um tumor *in vivo*, tendo em vista que as células cancerosas invadem o tecido vizinho e degradam, gradativamente, a matriz extracelular; controlar esse mecanismo de patogenicidade é importante no controle da doença (DALLAL *et al*, 2015).

Foi verificada também a capacidade de estimular a apoptose de uma linhagem celular. Baldwin *et al* (2010) utilizaram células de câncer colorretal da linhagem CRL-2134 foram incubadas com 5-florouracila, um medicamento utilizado no tratamento da metástase de câncer colorretal e, então, expuseram essas células tratadas a concentrações crescentes de um mix bacteriano contendo *L. acidophilus* e *L. casei*, em diversas condições (vivas, expostas à radiação gama e a micro-ondas).

A pesquisa demonstrou que o mix probiótico agiu de forma dose-dependente, sendo que na concentração de 10^8 UFC/mL de bactérias vivas a eficácia apoptótica da 5-florouracila aumentou 40%, enquanto que as bactérias que foram expostas as micro-ondas reduziram a eficácia apoptótica do medicamento. A conclusão dos autores é que essas bactérias probióticas melhoraram a capacidade de indução de apoptose por 5-florouracila e poderiam ser utilizadas como adjuvantes na quimioterapia anticancerígena (BALDWIN *et al*, 2010).

A atividade anticancerígena do EPS de *L. acidophilus* foi demonstrada em condições de hipóxia nas linhagens HCT15 e CaCo2, em que as células tratadas com EPS produziram menores quantidades de espécies radicais de oxigênio (EROs) na hipóxia do que aquelas que não foram tratadas com EPS. No mesmo estudo, foi demonstrado que o EPS afeta a integridade da barreira das células cancerígenas e uma concentração tóxica de EPS (5 mg/ml) para o RNAm, afetando a expressão de genes essenciais para a angiogênese e sobrevivência do câncer. A atividade antioxidante foi corroborada por aumentar a expressão da hemeoxigenase-1 (HO-1), uma enzima que está envolvida em processos de proteção celular contra estresse, o que junto com a redução de EROs cria um ambiente que não é adequado para a sobrevivência da célula cancerígena (DEEPAK *et al*, 2016)

O interesse que a bactéria *Lactobacillus acidophilus* desperta na comunidade científica, de modo geral, é bastante notável e significativo no que tange a grande produção de pesquisa envolvendo animais, com o foco direcionado a doenças crônicas, como o câncer colorretal. São relevantes por darem subsídios para estudos clínicos em seres humanos, apesar de terem diferenças fisiológicas e

anatômicas substanciais, mas permitem compreender um pouco do comportamento e da atividade funcional dos probióticos.

Ghany *et al* (2015) verificaram atividade antitumoral *in vivo* de EPS de *L. acidophilus* em células de carcinoma ascético de Ehrlich (EAC) e atividade antioxidante supressora dos níveis séricos de malondialdeído e óxido nítrico em modelo animal com ratos albinos.

Patten *et al* (2014) acrescenta que o EPS de probióticos como *L. acidophilus* podem ter um papel significativo na homeostase intestinal, por meio da interação com células epiteliais intestinais, melhorando a resposta imune local, sugerindo um potencial efeito benéfico de garantir a homeostase intestinal e uma resposta mais rápida contra bactérias patogênicas.

Estudo de Chen *et al* (2012) implantou células CT-26 de adenocarcinoma de cólon em grupos de ratos com diversos tratamentos, incluindo pré-inoculação de *L. acidophilus* NCFM. Esse estudo conseguiu determinar que a administração de *L. acidophilus* NCFM regulou proteínas de apoptose nas células cancerígenas, melhorando o perfil apoptótico no grupo que recebeu o tratamento com probiótico em comparação ao grupo controle e ao grupo que recebeu *E. coli*. Além disso, o estudo demonstrou que o tratamento com probiótico suprimiu o crescimento do tumor, sendo que este teve o tumor com menor volume em relação aos demais grupos.

Uma pesquisa realizada em ratos machos F344 com o carcinógeno azoximetano buscou verificar se dietas contendo *L. acidophilus* NCFMTM liofilizado preveniam a formação de lesões pré-neoplásicas no cólon (criptas aberrantes). Foram usadas dietas com concentrações de 0, 2 e 4% do probiótico liofilizado. Os resultados demonstraram um efeito preventivo significativo quantitativo e qualitativo em comparação ao grupo que não recebeu a dieta com o liofilizado de *L. acidophilus*. Ademais, demonstraram que a extensão dos efeitos é dose-dependente (RAO *et al*, 1999).

Trabalho feito com 100 ratos machos Sprague-Drawley, com tumores intestinais por 1,2-dimetilhidrazina, submetidos a dietas de alto teor de gordura adicionada de quatro tratamentos probióticos: *Lactobacillus acidophilus* Delvo Pro LA-1, *L. acidophilus* Delvo Pro LA-1 + *Bifidobacterium animalis* CSCC1941, *Lactobacillus rhamnosus* GG e *Streptococcus thermophilus* DD145, onde cada animal recebeu o tratamento bacteriano equivalente a 1% do peso (10^{10} UFC/g)

(MCINTOSH *et al*, 1999).

O grupo que foi tratado exclusivamente com *L. acidophilus* teve uma incidência de tumores 25% menor que o controle, seguido por *L. acidophilus* + *B. animalis* e *L. rhamnosus* (ambos com incidência de tumor 20% menor que o controle) e *S. thermophilus* (incidência de tumor 10% menor que o controle). O grupo tratado com *L. acidophilus* também teve carga e massa tumoral significativamente menores que o controle, o que não foi observado nos demais tratamentos para esses índices de carcinogênese. A conclusão da pesquisa é que a estirpe analisada de *L. acidophilus* possui efeito protetor quando administrada na dieta enquanto bactéria liofilizada (MCINTOSH *et al*, 1999).

Em estudo sobre adiposidade abdominal e estado antioxidante em mulheres com sobrepeso ou obesidade durante oito semanas, uma mistura de seis bactérias probióticas, incluindo *Lactobacillus acidophilus*, verificou uma redução significativa da circunferência abdominal, melhora do perfil de ácidos graxos poli-insaturados no plasma e o aumento da atividade glutathiona peroxidase no grupo que recebeu intervenção dietética adicionada de probióticos em comparação ao grupo que só recebeu intervenção dietética (GOMES *et al*, 2016).

3.3 Estresse Oxidativo como Promotor De Processos Tumerais e Estratégias Preventivas a partir de Probióticos

Novas perspectivas tecnológicas e funcionais têm sido analisadas com a crescente comprovação da capacidade antioxidante de BAL. A capacidade antioxidante destas bactérias pode reforçar os sistemas celulares de defesa antioxidantes, como a enzima superóxido dismutase (SOD); aumentar a promoção e produção de glutathiona sequestrante (GSH); promoção da produção de exopolissacarídeos (EPS), biomoléculas produzidas por alguns microrganismos para se protegerem de condições externas (pH, temperatura, falta de nutrientes, compostos tóxicos e atividade biológica de microrganismos patogênicos). Demonstrou-se, também, que essas bactérias possuem capacidade quelante de metais de transição, não permitindo reações oxidativas. Todas essas evidências sugerem que os probióticos podem ter um papel terapêutico potencial sobre EROs, caracterizadas em distúrbios gastrointestinais (AFIFY *et al*, 2012; DUARTE *et al*, 2016).

As EROs são substâncias produzidas fisiologicamente no metabolismo celular aeróbico, resultante do processo de fosforilação oxidativa mitocondrial para a formação de ATP, necessário para suprir as necessidades energéticas das células. Durante esse processo, o O_2 é reduzido à H_2O , onde aproximadamente 95% de todo oxigênio consumido resulta na formação de água. O restante do oxigênio leva a formação de EROs, como os radicais hidroxilo ($OH\bullet$), superóxido ($O_2\bullet^-$), hidropéroxido ($HO_2\bullet$), alquila ($RO\bullet$), radical peróxido ($ROO\bullet$), hidropéroxido orgânico ($ROOH\bullet$), oxigênio singlete (O_2), carbonila excitada (RO_2), óxido nítrico ($NO\bullet$) e o dióxido de nitrogênio ($NO_2\bullet$). O H_2O_2 e o $O_2\bullet^-$ são convertidos no radical hidroxilo ($OH\bullet$), considerado o mais reativo para os sistemas biológicos, pois a combinação desse radical com metais ou diretamente com o DNA causa quebra ou modificações nas bases nitrogenadas alterando a expressão gênica, mutações e morte celular por apoptose (TELLES *et al*, 2015; COTINGUIBA *et al*, 2013).

Quando não derivadas do metabolismo aeróbico, as EROs exercem um significativo papel na fisiologia celular, atuando como mecanismo inflamatório de defesa contra patógenos, sob controle de moléculas sinalizadoras específicas. Células fagocitárias produzem superóxido, um tipo de ERO, para eliminar microrganismos. Entretanto, podem ser produzidos, também, por estímulos exógenos, como o tabagismo, o consumo de álcool, exposição constante a poluição, radiação natural e radioterapia, o consumo de alguns medicamentos, aumentando a produção e atividade das ERO (TELLES *et al*, 2015; COTINGUIBA *et al*, 2013).

Apesar dessa atuação, as ERO e outras espécies de radicais livres, por possuírem um elétron desemparelhado, são altamente reativas e interagem com componentes celulares os danificando, aumentando a permeabilidade membranas celulares (quando causam a lipoperoxidação lipídica), alterando funções estrutura (quando oxida proteínas), peroxidando lipídeos, oxidando proteínas podendo culminar na morte celular. O excesso dessas espécies reativas sobre sistemas biológicos leva a uma situação de estresse oxidativo (COTINGUIBA *et al*, 2013; ZHANG *et al*, 2011).

Para evitar o surgimento de um quadro de estresse oxidativo, os sistemas biológicos possuem sistemas antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos. Os sistemas enzimáticos antioxidantes são a linha antioxidante primária do organismo e são representados, principalmente, pelas enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e peroxidases (como a glutathiona peroxidase – GPx). Os sistemas

não enzimáticos incluem substâncias como tocoferol (vitamina E), carotenóides (precursores de vitamina A), ácido ascórbico (vitamina C), selênio e substâncias polifenólicas (como os flavonoides). Entretanto, a efetividade destes sistemas pode ser comprometida pela saturação destes ou a sua concentração, gerando um desequilíbrio, levando ao surgimento do estresse oxidativo (TELLES *et al*, 2015; COTINGUIBA *et al*, 2013).

O estresse oxidativo em um organismo, acompanhado do declínio do metabolismo energético, está relacionado com o processo de envelhecimento global, que é caracterizado por um declínio progressivo das funções bioquímicas e fisiológicas. Contudo, em distúrbios, e por hábitos prejudiciais, o estresse oxidativo pode ser aumentado, interrompendo o delicado balanço existente com os sistemas antioxidantes, causando o envelhecimento precoce e aumentando o risco de doenças crônicas, como diabetes, doença de Alzheimer e diversos tipos de câncer (ZHANG *et al*, 2011).

A alimentação é uma relevante fonte de absorção de substâncias antioxidantes, como vitaminas, carotenoides e polifenóis. O desenvolvimento de alimentos funcionais e a ampliação do conhecimento das substâncias responsáveis pela funcionalidade têm permitido a pesquisa e desenvolvimento de produtos com maior capacidade antioxidante, incluindo-se aqui a utilização de microrganismos probióticos (COTINGUIBA *et al*, 2013; GHANY *et al*, 2015).

De acordo com Dasari *et al* (2016), bactérias dos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* são grupos distintos probióticos que tem suas ações funcionais reconhecidas por, a princípio, promover a recuperação de uma microbiota não-patogênica. O potencial anti-inflamatório, porém, desses dois gêneros têm gerado interesse de várias pesquisas, principalmente para elucidar os mecanismos de inibir a iniciação e a progressão da carcinogênese. Os mecanismos propostos por esse autor para *Lactobacillus* são: efeitos imunomodulatórios, apoptose, prevenção do dano ao DNA, mecanismos epigenéticos e atividade antioxidante.

Para Reis *et al* (2017), as atividades biológicas contra células cancerígenas para bactérias do gênero *Lactobacillus* estão relacionados aos seguintes mecanismos:

- Modificação da microbiota, com enriquecimento e diversidade de microrganismos, diminuindo a quantidade de bactérias patogênicas por competição de nutrientes, fatores de crescimento e receptores de

adesão, além de produção de substâncias antibacterianas como bacteriocinas, peróxido de hidrogênio e ácido láctico, gerando um estado denominado de eubiose.

- Diminuição da proliferação celular: por aumento da expressão de genes que induzem a apoptose (como Bax e Bak); supressão de genes que anti-apoptóticos (como Bcl-2); aumento da apoptose celular por ativação de caspase-3 ou capase-9; diminuição de citocinas pró-inflamatórias; produção de AGCC.
- Diminuição da incidência de tumor: por diminuição da atividade de ciclooxigenase-2 (COX-2); redução do dano ao DNA; diminuição da inflamação por estimular linfócitos T CD8; diminuição da peroxidação lipídica no fígado; aumento dos níveis de enzimas antioxidantes (GST, SOD e GPX).
- Diminuição de focos criptas aberrantes: por aumento da capacidade antioxidante total do plasma; diminuição do DNA de leucócitos; diminuição de pH fecal; diminuição da população de bactérias aeróbicas e *Escherichia coli*; diminuição de atividade enzimática de β -glicuronidase e β -glicosidase (enzimas cuja atividade excessiva pode levar a distúrbios gastrointestinais).

3.4 Câncer Colorretal

Define-se câncer a doença multicausal crônica, caracterizada pelo crescimento descontrolado de células que tiveram modificações em seu conteúdo genético. Representa, atualmente, a segunda principal causa de morte no Brasil (considerando-se todos os tipos de câncer), atrás apenas das doenças cardiovasculares (OLIVEIRA & FORTES, 2013).

O câncer de cólon e reto, também denominado como câncer colorretal (CCR), é a terceira neoplasia maligna mais prevalente no mundo, tanto em incidência, mortalidade e patogênese. Em países desenvolvidos, a incidência é alta (por exemplo, nos Estados Unidos é a segunda principal causa de morte por câncer) e também tem emergido como uma das principais causas de câncer em países em desenvolvimento, como o Brasil (KAEWKORN *et al*, 2012; TURNER *et al*, 2013; SOARES *et al*, 2013).

Um quarto da população mundial pode ser afetado anualmente por diversas formas de CCR. Em nações com alta taxa de industrialização, o risco de desenvolver é de aproximadamente 5%; o risco de desenvolver um adenoma ou um tumor de cólon não-cancerígeno (que pode evoluir para câncer de cólon) é de 20%. Em países em desenvolvimento como o Brasil, a neoplasia apresenta elevada taxa de incidência e mortalidade, independente do gênero, associada com maior nível socioeconômico (RIBEIRO & NARDOCCI, 2013; SEARS & GARRET, 2014).

A estimativa do INCA para 2018 é de 36.360, sendo que desses casos esperados 17.380 sejam em homens e 18.980 sejam em mulheres. Em 2013, a mortalidade por câncer colorretal foi de 15.415, sendo 7.387 homens e 8.024 em mulheres.

Para Dallal *et al* (2015), a nível mundial o CCR é o segundo mais comum em mulheres e o terceiro em homens. Contudo, é o segundo tipo de câncer que mais letal porque geralmente é diagnosticado em estágios avançados, particularmente estágios metastáticos.

As formas de CCR envolvem tumores malignos com localização no intestino grosso, na região retal e anal, sendo tratável e curável quando não apresenta metástases para outros órgãos. Quando diagnosticado em estágios iniciais, o CCR pode ser tratado com ressecção cirúrgica, quimioterapia e radioterapia; tratamentos que reduzem drasticamente a qualidade de vida do paciente. Dessa forma, a estratégia de prevenção é significativa para lidar com esse tipo de câncer (OLIVEIRA & FORTES, 2013; DALLAL *et al*, 2015).

Para isso, é importante conhecer os fatores relacionados ao desenvolvimento da patologia, permitindo dessa forma a utilização e desenvolvimento de métodos profiláticos.

Entre os fatores envolvidos no desenvolvimento do CCR, encontram-se: fatores genéticos, estilo de vida, meio-ambiente e dieta. Entretanto, os estudos epidemiológicos vêm demonstrando que a dieta influencia de forma drástica o risco de câncer de cólon. A dieta ocidental, com alto índice de obesidade, consumo de álcool, tabagismo, dieta com elevado teor de gorduras, produtos processados, carne vermelha e baixa ingestão de frutas, vegetais e fibras dietéticas aumenta o risco de câncer de cólon, relacionando que esses últimos alimentos quando consumidos em altas quantidades permitem um efeito protetor sobre a mucosa colorretal (KAEWKORN *et al*, 2012; SOARES *et al*, 2013).

Considerando-se que a dieta é um dos mais relevantes fatores de risco para o desenvolvimento do o câncer de cólon, estima-se que 90% dos casos da doença poderiam ser prevenidos por intervenções nos hábitos alimentares ou com suplementos dietéticos que protejam contra o CCR. A dieta, inclusive, tem a capacidade de modular a microbiota intestinal, promovendo sua proteção ou aumentando o risco de carcinogênese (SOARES *et al*, 2013; OU *et al*, 2013).

De acordo com Liu *et al* (2016), muitos estudos têm demonstrado que o microbioma pode agir potencializando o desenvolvimento do CCR, por meio de bactérias patogênicas e seus metabólitos que atuam de forma mutagênica do DNA; ou prevenindo, através de bactérias probióticas que secretam substâncias que inibem a adesão de bactérias patogênicas e reforçando a proteção de barreira das células intestinais, impedindo a translocação de microrganismos patogênicos para o interior dessas células ou para a corrente sanguínea

Para Sears & Garret (2014), o intestino grosso humano é um sítio comum para adenocarcinomas e uma das áreas de maior densidade microbiana conhecidas no planeta. Essa alta densidade microbiana tem sido alvo de recentes estudos que buscam compreender e caracterizar a microbiota de pacientes com câncer de cólon e verificar se, de fato, o microbioma está associado com a carcinogênese colorretal.

Essa hipótese foi verificada por Ou *et al* (2013), que avaliou a diferença do microbioma entre a população negra dos Estados Unidos e a população de uma comunidade rural da África do Sul.

Através de análise ribossomal, foi verificado um microbioma substancialmente diferente entre as duas comunidades, com predominância do gênero *Bacteroides* na população negra americana e do gênero *Provetella* na população nativa africana. Genes que codificam ácidos biliares, que são substâncias que por diversos mecanismos promovem a carcinogênese foram encontrados em maior quantidade nas fezes de afrodescendentes americanos, enquanto que ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), que aumentam a proteção da mucosa intestinal, impedindo o desenvolvimento de câncer de cólon, foram encontrados em elevada quantidade em nativos africanos (OU *et al*, 2013).

Bactérias do gênero *Bacteroides* (principalmente, *Bacteroides fragilis*) são microrganismos comensais, anaeróbicos, que tem 02 subtipos: *B. fragilis* não-toxigênica (NTBF) e *B. fragilis* enterotoxigênica (ETBF). A virulência da ETBF está

relacionada com a secreção de uma metaloprotease zinco-dependente tóxica, também denominada de toxina *B. fragilis* (BFT), que promove diarreia, colite ulcerativa, doença inflamatória intestinal e câncer de cólon (SEARS *et al*, 2014).

O trabalho de Boleij *et al* (2015) verificou que a concentração de BFT foi estatisticamente significativa em biópsias de mucosas retiradas de pacientes com câncer colorretal. Outro achado significativo foi a constatação que BFT aumenta em estágios avançados da doença em comparação aos estágios mais precoces (100% *versus* 72,7%, respectivamente).

Bactérias do gênero *Prevotella* estão associadas à degradação de polissacarídeos como amido e celulose, aumentando a liberação de AGCC em nível de mucosa intestinal. Uma dieta normal, com carboidratos cujos resíduos são fibras que estimulam a fermentação sacarolítica e AGCC contribuem para a saúde da mucosa intestinal (OU *et al*, 2013).

Estes carboidratos fermentáveis também são conhecidos como fibras dietéticas ou prebióticos (*pre*: antes, *bios*: vida, anterior a vida), por estimularem a fixação e proliferação de bactérias benéficas nesse sítio anatômico. São consideradas como prebióticos inulina, pectina e oligossacarídeos. Seu consumo eleva as concentrações intestinais de IgA e mucinas, ambas envolvidas na manutenção da barreira intestinal, além de aumento da produção de AGCC (OKAZAKI *et al*, 2011).

Os AGCC resultantes da fermentação de tais fibras são o acetato, o propionato e o butirato. Butirato é a fonte energética preferencial dos colonócitos e os três AGCC possuem propriedades antiinflamatória e anti-proliferativa (OU *et al*, 2013; REIS *et al*, 2017).

Outros tipos de fibras, como farelo de trigo e aveia, não são fermentáveis, mas estão relacionadas com a redução de sais biliares secundários nas fezes. Essas substâncias podem ser metabólitos de bactérias intestinais ou ácidos biliares primários que se relacionam com o aumento da citotoxicidade e o dano ao DNA e, conseqüentemente, tem potencial de promover o câncer de cólon. As dietas ricas em gorduras causam o aumento desses sais biliares secundários e diminuem a produção cecal de ácidos orgânicos, aumentando com isso o risco de colite ulcerativa e câncer de cólon (OKAZAKI *et al*, 2011; REIS *et al*, 2017).

Tais dados corroboram com a afirmação de Mendonça *et al* (2014) que a produção excessiva de radicais livres (pela dieta, pela microbiota, pela ingestão de

álcool, etc.) podem levar à carcinogênese, pois estes radicais livres (espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio – EROs e ERNs) está associada a danos na fita, ou alterações nas bases nitrogenadas, e, ainda, alterações na desoxirribose, potencializando a ocorrência de danos como mutações e apoptose.

Pacientes portadores de neoplasias possuem elevadas concentrações de marcadores de oxidação, assim como reduzidas concentrações de substâncias antioxidantes. O controle do estresse oxidativo, por meio desses marcadores, em pacientes oncológicos é relevante para verificação do estágio da doença, que é influenciado tanto pela terapia (radioterapia, quimioterapia) quanto pela capacidade antioxidante total do organismo do indivíduo (sabe-se que conforme a progressão da doença, menores são as concentrações dos antioxidantes enzimáticos). Estas informações acrescentam significância à aplicação de substâncias antioxidantes para prevenção e auxílio no tratamento de câncer colorretal (MENDONÇA *et al*, 2014).

3.5 Medicina Baseada em evidências

O desenvolvimento humano, nas áreas econômicas, política, social, cultural e científica, tem como característica um processo gradativo, lento e de profunda conscientização dos aspectos que devem ser aprimorados para o bem da coletividade. Na pesquisa científica em saúde, esse processo, atualmente, não é mais baseado em apenas teorias fisiopatológicas, ante, agrega-se a um processo baseado em evidências científicas de alta qualidade (EL DIB, 2007).

Na área da saúde, o conceito de Medicina Baseada em Evidências (MBE) utiliza provas científicas existentes e disponíveis no momento, com suficiente validação, para a aplicação de seus resultados na prática clínica. Dessa forma, é definido como o elo entre boa pesquisa científica e a prática clínica (EL DIB, 2007).

O processo inicia-se pela formulação de uma questão clínica de interesse. A pergunta deve ser corretamente formulada, pois diminui as possibilidades de erros sistemáticos (vieses) durante a elaboração da pesquisa, planejamento, análise estatística e a conclusão de um projeto de pesquisa. Essa pesquisa pode gerar revisão de qualidade superior a uma revisão bibliográfica tradicional, sendo denominada revisão sistemática (RS). Em um nível mais avançado, quando se agrega análise estatística a essa RS, têm-se um trabalho com maior nível da

evidência científica, gerando uma revisão sistemática quantitativa, também conhecida como metanálise (EL DIB, 2007; BRASIL, 2012).

Uma revisão sistemática é uma revisão de uma pergunta formulada de forma clara, que utiliza métodos sistemáticos e explícitos para identificar, selecionar e avaliar criticamente pesquisas relevantes, e coletar e analisar dados desses estudos que são incluídos na revisão. Métodos estatísticos (metanálise) podem ou não ser usados para analisar e resumir os resultados dos estudos incluídos. Metanálise se refere ao uso de técnicas estatísticas em uma revisão sistemática para integrar os resultados dos estudos incluídos. (MOHER *et al*, p. 335, 2015)

Ademais, quanto ao processo de condução desses trabalhos, a RS irá utilizar estudos primários para responder à questão formulada, por meio de um processo de revisão abrangente da literatura, imparcial e reproduzível, que permite a localização, avaliação e sintetização do conjunto de evidências científicas para obtenção de uma visão geral e confiável da estimativa de efeito de uma determinada intervenção (BRASIL, 2012).

Já a metanálise irá combinar o resultado de no mínimo dois estudos independentes, gerando uma única estimativa de efeito da intervenção estudada. Por meio dessa metodologia, a estimativa tem precisão sobre o real efeito da intervenção, o que muitas vezes não é possível de identificar em estudos individuais, com metodologia inadequada e tamanho de amostra insuficiente. Ambas as metodologias são úteis em sumarizar os resultados de ensaios clínicos randomizados para a tomada de decisão clínica na adoção de novos protocolos de tratamento (BRASIL, 2012).

Entretanto, alguns cuidados são necessários, conforme aponta as Diretrizes metodológicas para elaboração de revisões sistemáticas e metanálises de ensaios clínicos randomizados do Ministério da Saúde:

Uma RS não necessariamente (sic) precisa apresentar uma metanálise. Ao contrário, em alguns casos não é apropriado que seja realizada, podendo até mesmo gerar conclusões errôneas. Um exemplo desta situação é quando apenas dois estudos reportaram dados de um desfecho com estimativas de efeitos opostas, ou seja, um estudo aponta benefício da intervenção e o outro aponta benefício do controle. Nesse caso, não se deve combinar esses achados. Quando vários estudos reportam dados de desfechos que divergem em algum grau de magnitude, deve-se avaliar o grau de similaridade dos efeitos nos estudos, utilizando ferramentas estatísticas, como teste para inconsistência e heterogeneidade (...). (BRASIL, p. 13, 2012).

No que se refere ao nível de evidência científica, atribui-se aos ensaios

clínicos randomizados, RS e metanálise, o nível mais elevado conforme os critérios de classificação da MBE. O nível de evidência científica é representado na pirâmide de evidência (Figura 1), com uma classificação conforme o nível da evidência encontrada. Na pirâmide, a ordem de relevância, conforme os critérios da MBE, são ascendentes, enquanto a quantidade de literatura é descendente. Dessa forma, conforme a quantidade de informação disponível decresce, a relevância da informação para a prática clínica aumenta (SAVI, SILVA, 2009).



Figura 1 Pirâmide da evidência científica (Fonte: Savi e Silva, 2009).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Delineamento da pesquisa

A pesquisa constitui-se de uma revisão sistemática que foi realizada com base nas recomendações do Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis (PRISMA), cuja descrição de check list está apresentada no Anexo I.

Dessa forma, o delineamento foi realizado conforme a estratégia PICOS, em que a população considerada (P) foi pacientes com câncer colorretal acompanhados por grupo de estudos autorizados pelo comitê de ética em pesquisa humana na administração de medicamentos e/ou alimentos, a intervenção (I) foi a administração desses alimentos ou aos medicamentos que contém *Lactobacillus acidophilus* de forma isolada ou combinada com outras cepas probióticas e outras substâncias alimentares (fibras, por exemplo), o controle sendo placebo (C) e/ou não utilização de probióticos e o desfecho (O, do inglês outcome) definido como melhora da função de barreira intestinal (mensurada por meio de proteínas), alteração da microbiota não-patogênica, aumento do nível de AGCC presentes nas fezes, melhora do quadro clínico (por meio de parâmetros bioquímicos e clínicos, como febre, duração da estadia hospitalar, etc.), indução da apoptose, efeito anti-proliferativo e redução de marcadores tumorais e/ou substâncias relacionadas com o estresse oxidativo resultante do metabolismo de células cancerígenas, entre outros mecanismos referenciados na revisão bibliográfica. Finalmente, os estudos incluídos nessa revisão foram aqueles realizados in vivo ou a partir de material biológico de pacientes com CCR e que consumiram probióticos.

A escolha do gênero *Lactobacillus acidophilus* e cepas correspondentes se deve ao fato de ser uma bactéria de alta recorrência em estudo pelo grupo de pesquisa que desenvolveu o presente trabalho, o Grupo de Pesquisa em Ciência e Tecnologia de Alimentos da UNIOESTE – Campus Cascavel.

4.2 Busca sistemática

Para realização da pesquisa, a busca sistemática dos artigos foi realizada nas bases de dados: Medline, Embase, Science Direct, Cochrane Central Register of Controlled Trials, Scopus, Web of Science e Scielo. A busca foi realizada de abril de

2017 a janeiro de 2018, selecionando artigos escritos em português, espanhol e inglês, não havendo restrições quanto ao ano de publicação. As estratégias de busca (Anexo 2) foram compostas dos termos “colorectalcancer”, “oxidative stress”, “antioxidant activity”, “Lactobacillus acidophilus”, “probiotics” e “randomized controlled trial”, associados aos operadores booleanos AND ou OR, sendo ajustados de acordo com a base de dados.

Também foi realizada busca manual nas referências bibliográficas dos artigos incluídos, por meio do título ou do nome da revista que publicou o artigo, através de sites de busca (Google Acadêmico), sites das revistas ou ainda entrando em contato com os autores por meio de plataformas como Research Gate e e-mail.

4.3 Critérios de seleção

Os estudos clínicos que foram recuperados tiveram seus títulos e resumos avaliados em critérios de elegibilidade, sendo:

- Estudos realizados com produtos alimentícios que contenham a bactéria probiótica *Lactobacillus acidophilus* de forma exclusiva ou não, podendo o produto estar associado a outras bactérias.
- Estudos realizados com medicamentos contendo *Lactobacillus acidophilus* que independente da forma farmacêutica (solução, cápsula, sachê, etc.) sejam absorvidos pela mucosa intestinal.

Não foram incluídos na pesquisa estudos associados a leveduras, estudos de coorte, revisões bibliográficas, revisões sistemáticas, metanálises, capítulos de livros, dissertações, teses, resumos e resumos expandidos. Também não serão incluídos estudos clínicos que contenham bactérias probióticas, mas que não tenham incluído o *Lactobacillus acidophilus* entre a associação. Também não foram incluídos estudos que além de pacientes com CCR apresentavam outras patologias relacionadas ao trato gastrointestinal não-neoplásicas.

4.4 Triagem, extração e análise dos dados

A seleção inicial dos estudos foi feita com base nos títulos e resumos, sendo realizada por dois revisores independentes (B.B.R.F. e L.O.F.), em que as

discrepâncias foram analisadas em reuniões de consenso quando necessário, sendo que um terceiro revisor (J.M.C.) foi requisitado, quando necessário.

Posteriormente, os artigos selecionados na triagem inicial foram avaliados em seu conteúdo integral, e, desta forma, excluídos ou mantidos de forma permanente na revisão, conforme o julgamento do avaliador principal (B.B.R.F.). Os artigos excluídos e o embasamento para sua exclusão estão apresentados nos Anexos 4, 5 e 6.

A extração dos dados a partir dos estudos selecionados foi realizada pelo revisor principal, com utilização de ferramentas do software Microsoft Office Excel 2013[®] e, adicionalmente, foi utilizado o programa Endnote Web[®] X8 para gerenciamento dos dados.

Os dados extraídos deverão mostrar características gerais do estudo, como a matriz em que o probiótico está (forma farmacêutica ou alimento), se era exclusivo ou em associação com outras bactérias, a concentração utilizada, população do estudo, tempo de estudo, qual(is) foram o(s) desfecho(s) avaliado(s) para o efeito do probiótico, a(s) metodologia(s) para obtenção do(s) resultado(s) entre outros itens. Quando necessário, foi realizado contato com os autores dos estudos, seja para esclarecimentos gerais, quanto para o compartilhamento de resultados não apresentados nos artigos.

A avaliação da qualidade foi feita conforme a ferramenta da Colaboração Cochrane para avaliação do risco de viés de ensaios clínicos randomizados, utilizando-se os parâmetros definidos no Anexo II, através do software Review Manager 5.3 (Colaboração Cochrane, 2014, Centro Cochrane Nórdico, Copenhagen, Dinamarca) (CARVALHO *et al*, 2013).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Resultados da busca na literatura

Durante o período da pesquisa foram encontrados 1028 potenciais estudos nas bases de dados: Medline (n = 87), Embase (n = 0), Science Direct (n = 673), Cochrane (n = 6), Scopus (n = 101), Web of Science (n = 135) e Scielo (n = 4) e 17 artigos oriundos da busca manual. Destes, 777 artigos foram excluídos pela ferramenta do EndNote, devido à duplicação. Dessa forma, 251 artigos tiveram títulos e resumos avaliados conforme os critérios de inclusão e exclusão estabelecidos para a pesquisa. Nesta etapa foram excluídos 226 artigos, e selecionou-se 25 artigos que foram lidos na íntegra resultando na inclusão de 08 artigos na revisão sistemática, e, com 06 desses artigos, realizou-se metanálise (Figura 2).

Foram incluídos 08 artigos, que abrangeram o intervalo temporal de 2011 a 2017, sendo realizados na Suécia (01 artigo), Malásia (01 artigo), Brasil (01 artigo) e na China (05 artigos).

A busca foi limitada haja vista a impossibilidade de ter acesso a base de dados Embase, restringindo a amplitude da busca, o que pode ter contribuído em ter uma expressividade de artigos chineses.

Após a leitura, foram excluídos 17 artigos, sendo que 01 foi por ser escrito em língua chinesa (o trabalho restringiu o idioma em português, espanhol e inglês), 03 artigos por apresentarem desfechos diferentes (qualidade de vida) dos propostos pelo presente trabalho e 13 artigos foram excluídos por não cumprirem o desenho do estudo (estudos com uso exclusivo de *Bifidobacterium*, com associações de probióticos e sem o *L. acidophilus*, estudos com leveduras, estudos não-randomizados e estudos em que os indivíduos não eram portadores de CCR ou havia associação com outros grupos de pacientes).

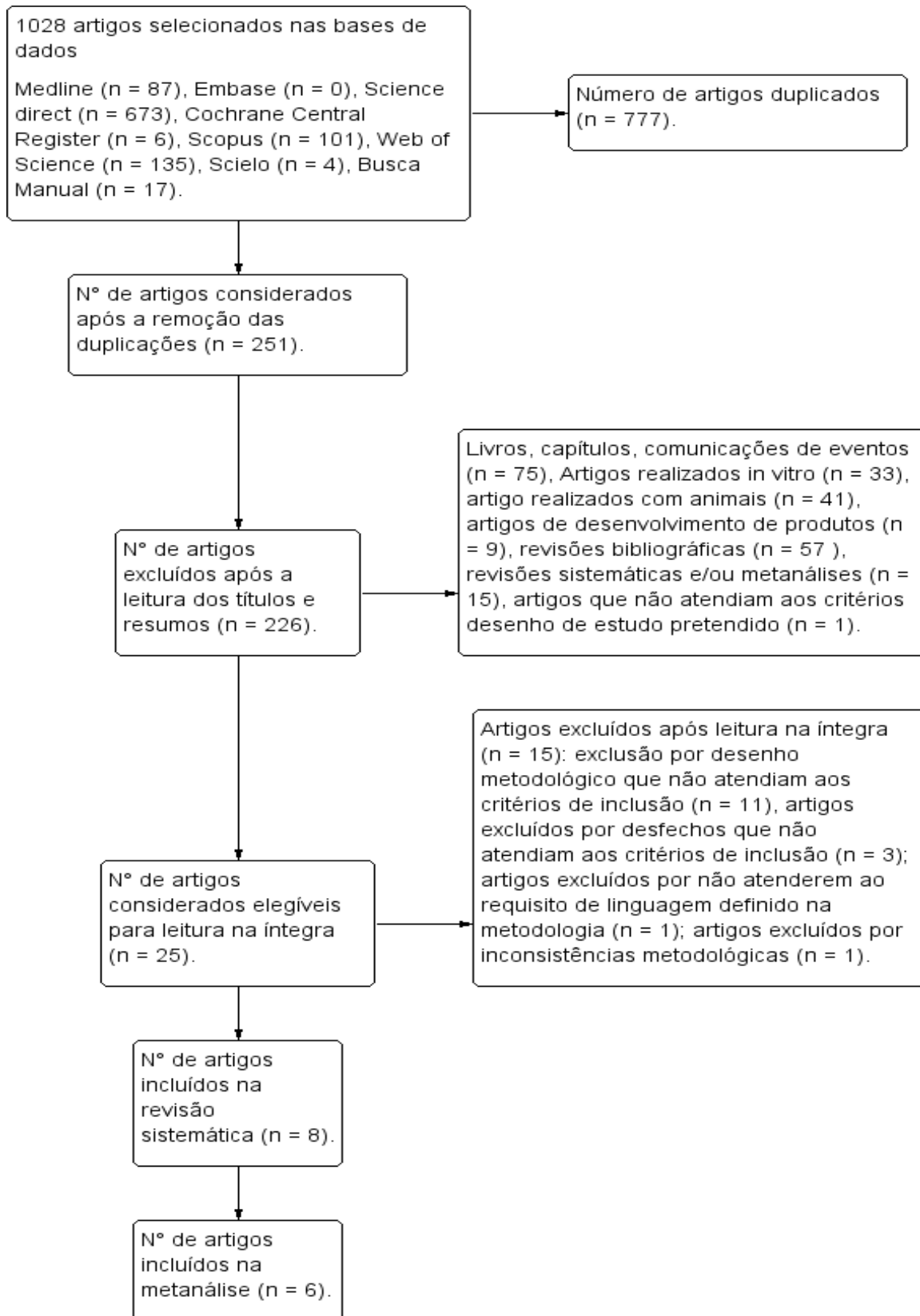





Figura 2 Fluxograma da seleção dos estudos da pesquisa (Fonte: Adaptado de PRISMA).

A qualidade metodológica dos artigos selecionados foi considerada adequada numa visão geral, considerando-se que o risco de viés foi baixo (Figura 3). Isso ocorreu porque seis dos oito estudos foram corretamente randomizados por computador (FLESCH *et al*, 2017; TAN *et al*, 2016; LIU *et al*, 2015, GAO *et al*, 2015, LIU *et al*, 2013 e LIU *et al*, 2011) e um artigo (YANG *et al*, 2016) foi randomizado por meio da tabela de números randômicos. Um artigo (HIBBERD *et al*, 2017) teve a randomização considerada de risco de viés, pois os autores não explicaram como foi feita a randomização dos pacientes.

A

	Random sequence generation (selection bias)	Allocation concealment (selection bias)	Blinding of participants and personnel (performance bias)	Blinding of outcome assessment (detection bias)	Incomplete outcome data (attrition bias)	Selective reporting (reporting bias)	Other bias
Flesch et al, 2017	+	?	+	+	-	-	+
Gao et al, 2015	+	+	+	+	+	+	+
Hibberd et al, 2017	?	?	-	-	?	+	-
Liu et al, 2011	+	+	+	+	+	+	+
Liu et al, 2013	+	+	+	+	+	+	+
Liu et al, 2015	+	+	+	+	+	+	+
Tan et al, 2016	+	?	+	+	+	-	+
Yang et al, 2016	+	?	+	+	+	+	+

Legenda

-  = Baixo risco de viés
-  = Alto risco de viés
-  = Risco incerto de viés

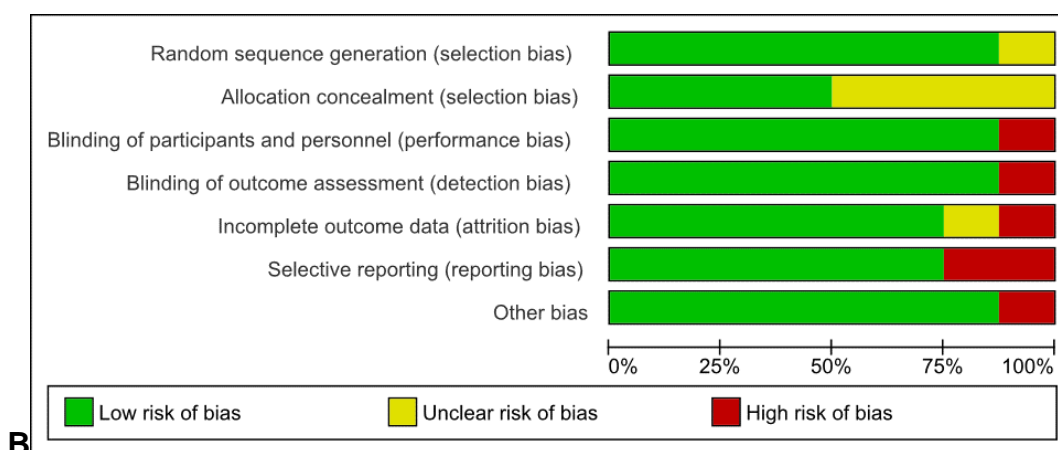


Figura 3 (A) Risco de viés para cada artigo incluído: baixo risco de viés (+), alto risco de viés (-), risco de viés incerto (?) e **(B)** comparação do percentual do risco de viés de cada artigo incluído (Fonte: Adaptado de PRISMA).

Seis estudos (FLESCH *et al*, 2017, TAN *et al*, 2016; YANG *et al*, 2016; LIU *et al*, 2015; LIU *et al*, 2013 e LIU *et al*, 2011) dividiram os sujeitos em dois grupos (probióticos e placebo). A administração utilizada foi por meio de de cápsulas e pós. Dois estudos (HIBBERD *et al*, 2017; GAO *et al*, 2015) dividiram os sujeitos em dois grupos (probiótico e placebo e/ou controle sem probiótico) e adicionaram um terceiro grupo de sujeitos saudáveis para comparação de amostras.

A alocação do tratamento foi considerada adequada para cinco estudos, pois, as preparações contendo probióticos e as preparações placebo possuíam aparência, aroma e sabor similares em quatro estudos (LIU *et al*, 2015, GAO *et al*, 2015, LIU *et al*, 2013 e LIU *et al*, 2011) e em outro estudo estavam em envelopes similares, com sabores e aromas similares também (FLESCH *et al*, 2017; TAN *et al*, 2016; YANG *et al*, 2016), mas não mencionaram se estavam numerados sequencialmente, um quesito relevante para garantir risco de viés baixo (conforme critérios de qualidade da ferramenta Cochrane – ANEXO 3). Um artigo não descreveu como foi feita a alocação dos tratamentos e nem se teve placebo, sendo considerado risco de viés incerto (HIBBERD *et al*, 2017).

Apesar do risco de viés incerto, o estudo de Hibberd *et al* (2017) não teve como objetivo avaliar qualquer parâmetro clínico, apenas a alteração da microbiota por meio de metodologia de biologia molecular.

Solicitou-se ao autor responsável pelo trabalho de Flesch *et al* (2017), a possibilidade de envio de demais dados clínicos que possam ter sido coletados durante a pesquisa (ANEXO 7), pois, para um estudo tão elaborado com objetivo

verificar a incidência de infecções pós-operatórias, considerou-se inusitado não ter dados sobre septicemia/bacteremia e infecção do trato urinário, por exemplo.

Destacou-se o alto risco de viés no quesito “Outros tipos de viés” no trabalho de Hibberd *et al* (2017), pelo fato de um dos autores trabalhar na empresa que fabricou a cápsula contendo probióticos que foi analisada (ProBion Clinica, WasaMedicals AB, Halmstad, Suécia).

Dos 08 estudos incluídos, 07 foram duplamente cegados, ou seja, nem os pacientes e nem os pesquisadores sabiam quem estava recebendo o placebo e quem estava recebendo a intervenção em estudo, ficando essa função realizada por uma terceira pessoa que só fazia a administração (geralmente, algum enfermeiro do local onde o estudo era feito ou o farmacêutico responsável pela manipulação das amostras).

O estudo realizado por Hibberd *et al* (2017) não esclareceu o cegamento aos pacientes e nem como foi a conduta realizada para os pacientes com CCR que não usaram probióticos, se receberam placebo ou não.

Com um total de 616 participantes nos oito estudos, 297 pacientes estiveram no grupo experimental utilizando probióticos 286 pacientes estiveram no grupo experimental de controle sem utilizar probióticos e 33 indivíduos saudáveis foram incluídos para fornecerem amostras de tecidos saudáveis para as pesquisas.

As características dos estudos incluídos estão nas tabelas 2 e 3.

Tabela 2 Características dos estudos incluídos na revisão sistemática

Autor	País	Tipo de estudo	Objetivo	Desenho do estudo	
				T	C
Flesch <i>et al</i> , 2017	Brasil	Randomizado, duplo-cego e controle placebo	Avaliação do efeito da administração pré-operatória de simbióticos na incidência de infecção pós-operatória em pacientes submetidos à colectomia de pacientes com CCR.	PIL + ATB + PRO + Colectomia	PIL + ATB + Placebo + Colectomia
Hibberd <i>et al</i> , 2017	Suécia	Randomizado, sem cegamento, com controle sem placebo com CCR e controle com indivíduos saudáveis.	Capacidade da administração de probióticos no pré-operatório possui de alterar a composição microbiana em indivíduos com CCR.	PIL + ATB + PRO + Colectomia	Colectomia e Colonoscopia para indivíduos saudáveis
Yang <i>et al</i> , 2016	China	Randomizado, duplo-cego e controle placebo.	Eficácia da administração de probióticos pré-operatórios na função intestinal e efeitos anti-infecciosos.	PIL + ATB + PRO + Colectomia	PIL + ATB + Placebo + Colectomia
Tanet <i>et al</i> , 2016	Malásia	Randomizado, duplo-cego e controle placebo.	Eficácia da administração de probióticos pré-operatórios na função intestinal.	PIL + ATB + PRO + Colectomia	PIL + ATB + Placebo + Colectomia
Gao <i>et al</i> , 2015	China	Randomizado, duplo-cego, controle placebo e controle com indivíduos saudáveis.	Capacidade da administração de probióticos no pré-operatório possui de alterar a composição microbiana em indivíduos com CCR.	PIL + ATB + PRO + Colectomia	PIL + ATB + Placebo + Colectomia e colonoscopia para os indivíduos saudáveis
Liu <i>et al</i> , 2015	China	Randomizado, duplo-cego, controle placebo e duplo-centro.	Eficácia da administração de probióticos pré e pós-operatória em complicações infecciosas em pacientes com metástase hepática colorretal.	PIL + ATB + PRO + Colectomia	PIL + ATB + Placebo + Colectomia
Liu <i>et al</i> , 2013	China	Randomizado, duplo-cego, controle placebo e duplo-centro.	Eficácia da administração de probióticos pré e pós-operatória em complicações infecciosas e na função intestinal.	PIL + ATB + PRO + Colectomia	PIL + ATB + Placebo + Colectomia
Liu <i>et al</i> , 2011	China	Randomizado, duplo-cego e controle placebo.	Eficácia da administração de probióticos na função intestinal e nos desfechos cirúrgicos.	PIL + ATB + PRO + Colectomia	PIL + ATB + Placebo + Colectomia
Legendas CCR: Câncer colorretal PIL: Procedimento intestinal de limpeza ATB: Antibioticoterapia PRO: Probióticos T: Tratamento C: Controle					

Tabela 3 Características dos pacientes e tratamentos utilizados nos estudos selecionados

Autor	Participante T/C	Idade (Média ± DP)		Intervenção		Tempo de intervenção (dias)
		T	C	T	C	
Flesch <i>et al</i> , 2017	49/42	64,5°	61,1°	SIMBIOFLORA®: sachês contendo <i>Lactobacillus acidophilus</i> NCFM (10 ⁹), <i>Lactobacillus rhamnosus</i> HN001 (10 ⁹), <i>Lactobacillus paracasei</i> LPC-37 (10 ⁹), <i>Bifidobacterium lactis</i> HN019 (10 ⁹) e frutooligosacarídeos (FOS) 6g.	Sachê contendo maltodextrina.	Dois sachês duas vezes ao dia cinco dias antes do procedimento cirúrgico e 14 dias após a cirurgia.
Hibberd <i>et al</i> , 2017	8/7/21*	63 (55 – 73)	77 (68 – 75)	Tabletes contendo 1.4x10 ¹⁰ UFCs <i>Bifidobacterium lactis</i> BI-04 e 7x10 ⁹ UFCs <i>Lactobacillus acidophilus</i> NCFM e 0,63 g de inulina.	?	31 ± 28 dias.
Yang <i>et al</i> , 2016	30/30	63.90 ± 12.25	62.17 ± 11.06	Sachê contendo <i>Lactobacillus plantarum</i> CFMCC ≥10 ¹¹ UFC/g, <i>Lactobacillus acidophilus</i> 11 ≥7.0 x 10 ¹⁰ UFC/g e <i>Bifidobacterium longum</i> 88 5.0x10 ¹⁰ UFC/g.	Sachê contendo maltodextrina e sucrose.	12 dias.
Tanet <i>et al</i> , 2016	20/20	64.3 ± 14.5	68,4 ± 11.9	HEXBIO®: sachê com 3g contendo pó granular, flavorizado com sabor laranja 3x10 ¹⁰ UFC de <i>Lactobacillus acidophilus</i> (BCMC™ 12130), <i>Lactobacillus casei</i> (BCMC™ 12313), <i>Lactobacillus lactis</i> (BCMC™ 12451), <i>Bifidobacterium bifidum</i> (BCMC™ 02290) <i>Bifidobacterium longum</i> (BCMC™ 02120) e <i>Bifidobacterium infantis</i> (BCMC™ 02129).	Sachê contendo 3g de pó granular de sabor e aparência similar. Embalagem semelhante.	7 dias antes da cirurgia, duas vezes ao dia.
Gao <i>et al</i> , 2015	11/11/11**	65 ± 5.96	71 ± 5.4/68 ± 7 .3**	<i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> e <i>Enterococcus faecalis</i> (1:1:1) encapsulados com no mínimo 1.0x10 ⁷ UFC/g de células viáveis.	Maltodextrina encapsulada.	5 dias antes da cirurgia, três vezes ao dia.
Liu <i>et al</i> , 2015	59/58	65.62 ± 18.18	60.16 ± 11.02	<i>Lactobacillus plantarum</i> CFMCC ≥10 ¹¹ UFC/g, <i>Lactobacillus acidophilus</i> 11 ≥7.0 x 10 ¹⁰ UFC/g e <i>Bifidobacterium longum</i> 88 5.0x10 ¹⁰ UFC/g em cápsulas.	Maltodextrina encapsulada.	16 dias (6 dias antes da cirurgia e 10 dias após o procedimento), cápsulas equivalentes a 2 g por dia (2.6 x 10 ¹⁴ UFC diário).
Liu <i>et al</i> , 2013	70/68	66.06 ± 11.02	62.28 ± 12.41	<i>Lactobacillus plantarum</i> CFMCC ≥10 ¹¹ UFC/g, <i>Lactobacillus acidophilus</i> 11 ≥7.0 x 10 ¹⁰ UFC/g e <i>Bifidobacterium longum</i> 88 5.0x10 ¹⁰ UFC/g em cápsulas.	Maltodextrina encapsulada.	16 dias (6 dias antes da cirurgia e 10 dias após o procedimento), cápsulas equivalentes a 2 g por dia (2.6 x 10 ¹⁴ UFC diário).
Liu <i>et al</i> , 2011	50/50	65.3 ± 11.0	65.7 ± 9.9	<i>Lactobacillus plantarum</i> CFMCC ≥10 ¹¹ UFC/g, <i>Lactobacillus acidophilus</i> 11 ≥7.0 x 10 ¹⁰ UFC/g e <i>Bifidobacterium longum</i> 88 5.0x10 ¹⁰ UFC/g em cápsulas.	Maltodextrina encapsulada e sachê de 10 g de maltodextrina.	16 dias (6 dias antes da cirurgia e 10 dias após o procedimento), cápsulas equivalentes a 2 g por dia (2.6 x 10 ¹⁴ UFC diário).
DP: Desvio padrão F: Feminino M: Masculino T: Tratamento (intervenção com probióticos) C: Controle *Grupo de indivíduos saudáveis ** Grupo de indivíduos saudáveis						

5.2 Análises dos resultados

Todos os estudos incluídos utilizaram *Lactobacillus acidophilus* associados a outras bactérias probióticas. *Bifidobacterium longum* foi a principal espécie de bactéria probiótica usada em associação com *L. acidophilus*, estando presente em seis trabalhos. Outras espécies de bactérias probióticas utilizadas foram: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus lactis*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium lactis* e *Enterococcus faecalis*.

Um trabalho utilizou o prebiótico inulina em associação com *L. acidophilus* (HIBBERD *et al*, 2017) e outro trabalho (FLESCH *et al*, 2017) usou frutooligossacarídeos (FOS) como prebiótico.

Todos os trabalhos utilizaram procedimento cirúrgico eletivo, com pacientes que tinham um tempo mínimo de espera e sem imunossupressão, permitindo assim intervenção pré-operatória com probióticos e em alguns trabalhos, também após. A antibioticoterapia, como prática rotineira hospitalar, também foi realizada e os antimicrobianos utilizados em cada estudo estão apresentados no anexo 8.

Os autores justificam a utilização de associações probióticas devido à um mecanismo que auxilia na redução da prevalência de bactérias *Enterobacteriaceae* como Liu *et al* (2011), que utilizou *Lactobacillus plantarum* CFMCC $\geq 10^{11}$ UFC/g, *Lactobacillus acidophilus* 11 $\geq 7.0 \times 10^{10}$ UFC/g e *Bifidobacterium longum* 88 5.0×10^{10} UFC/g, da mesma forma que Liu *et al*, 2013 e Liu *et al*, 2015.

De acordo com Rayes *et al* (2002), *L. plantarum* é uma espécie probiótica que possui uma capacidade alta de aderência e colonização da mucosa intestinal; dessa forma, contribui para a redução e a eliminação de possíveis microrganismos patogênicos.

Hibberd *et al* (2017) justifica a associação usada de *L. acidophilus* NCFM e *Bifidobacterium animalis* ssp *lactis* BI-04 pelo longo histórico de ambas como probióticos seguros e de uso comercial, com diversos benefícios documentados.

Gao *et al* (2015) esclarece que a associação de *Bifidobacterium longum*, *L. acidophilus* e *Enterococcus faecalis* pela capacidade de alterar qualitativamente e/ou quantitativamente a microbiota intestinal e normalizar a disbiose; acrescenta, ainda, que *L. acidophilus* e *B. longum* demonstraram, em testes com animais, capacidade de reduzir dano ao DNA por 12-dimetilhidrazina, um potente genotóxico.

Ribeiro *et al* (2009) aponta, ainda, que as formulações contendo esses dois probióticos se deve ao fato de que o gênero *Lactobacillus* coloniza mais o intestino delgado e o íleo terminal e o gênero *Bifidobacterium* coloniza mais o intestino grosso.

Komatsu *et al* (2008) esclarece que as culturas probióticas, quando adicionadas em um mesmo meio/produto, colaboram mutuamente para o crescimento mútuo, desde que seja verificado a compatibilidade entre as culturas. Dessa forma, foi constatado que *B. lactis* multiplica-se mais em co-cultura com *L. acidophilus*. O mesmo efeito foi identificado em co-cultura de *B. bifidum* e *L. acidophilus*. Isso é um dado relevante para quem desenvolve produtos alimentícios, pois, bifidobactérias produzem além de lactato, acetato, o que pode causar um sensorial que lembra vinagre, limitando a aceitação por parte do consumidor. No caso de probióticos apresentados como formas farmacêuticas, tal característica melhoraria a taxa de crescimento e reduziria o tempo de fermentação (GOMES, MALCATA, 1999).

Para Flesch *et al* (2017), a associação entre diversas bactérias probióticas é positiva e desejável por aumentar a resposta imune do hospedeiro, pela ativação de macrófagos que aumenta os níveis de citocinas e da atividade de células natural killer (NK), assim como competem por exclusão com microrganismos patogênicos por receptores de mucosa, além de inibir o crescimento dos mesmos, por meio da produção de AGCC.

A utilização de *Enterococcus faecium* ocorre, porém é menos comum, possivelmente por existirem relatos de plasmídios de resistência ao antimicrobiano vancomicina em algumas cepas de *Enterococcus*. A resistência a antimicrobianos é uma característica que não permite que uma bactéria seja considerada probiótica, já que este é um mecanismo de patogenicidade, pois, mesmo que a bactéria não seja patogênica, ao ter o plasmídio, pode transmitir para um gênero patogênico dificultando o tratamento de infecções (SAAD 2006).

A associação de probióticos como inulina e FOS é justificada por ser uma fibra solúvel que serve de substrato para fermentação de bactérias anaeróbicas, como *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, levando a produção de ácido láctico, AGCC e outros metabólitos com atividades biológicas extensivamente documentadas que têm demonstrado contribuição na modulação da microbiota intestinal, prevenção da adesão e colonização de bactérias patogênicas, estimulação de efeitos anti-inflamatórios e regulação da alteração de metabolismo lipídico e de carboidratos. A

produção desses ácidos diminui o pH intestinal e estimulam a proliferação de células epiteliais do cólon (SAAD, 2006; NAZZARO *et al*, 2012).

Os artigos pesquisados avaliaram um total de 21 de desfechos que se dividiu de forma didática em cinco grupos: a) desfechos por integridade da barreira intestinal (03 artigos); b) desfechos por análises de cultura microbiológica (sangue, cateter e escarro – 03 artigos); c) desfechos por alteração de microbiota (análises de cultura fecal, identificação e sequenciamento de DNA e RNA bacteriano por PCR e outras técnicas – 03 artigos); d) desfechos por observações clínicas pós-intervenção – 06 artigos); e) atividade antioxidante (por mensuração de enzimas relacionadas com atividade antioxidante e/ou dano celular – 01 artigo). Nem todos os desfechos foram passíveis de análise e avaliação, haja vista que alguns estavam em apenas um artigo e outros foram realizados com metodologias diferentes. A distribuição do formato dos desfechos conforme os artigos incluídos estão na tabela 4.

Tabela 4 Distribuição dos desfechos analisados nos artigos incluídos

	Integridade da barreira	Cultura Microbiológica	Alteração da Microbiota	Observações clínicas pós-intervenção	Atividade antioxidante
Flesch <i>et al</i> , 2017				X	
Hibberd <i>et al</i> , 2017			X		
Yang <i>et al</i> , 2016				X	
Tan <i>et al</i> , 2016				X	
Liu <i>et al</i> , 2015	X	X		X	X
Gao <i>et al</i> , 2015			X		
Liu <i>et al</i> , 2013	X	X		X	
Liu <i>et al</i> , 2011	X	X	X	X	

5.2.1 INTEGRIDADE DA BARREIRA INTESTINAL

O objetivo primário da mucosa intestinal é realizar a digestão e a absorção dos nutrientes. Contudo, funciona, também, como barreira mecânica, impedindo que microrganismos e seus metabólitos sejam absorvidos, permanecendo na luz intestinal. Para isso, a integridade da barreira intestinal deve ser adequada (TORRES *et al*, 1999).

Translocação bacteriana (TB) é definida como “a passagem de células viáveis pela mucosa intestinal para linfonodos mesentéricos e outros tecidos e órgãos” (MEDEIROS *et al*, p. 56, 2013).

Torres *et al* (1999) complementam que os principais órgãos atingidos pela TB são: fígado, baço, pulmão e/ou sangue. Em distúrbios gastrointestinais que causam obstrução intestinal (como o CCR), a motilidade, a absorção e a secreção estão alteradas, dificultando o carreamento contínuo de bactérias, predispondo que haja colonização bacteriana em outros sítios.

De acordo com Rayes *et al* (2002), as infecções pós-operatórias, em pacientes que são submetidos a cirurgias abdominais, ocorrem mesmo com a profilaxia pré-cirúrgica com antibióticos, utilização de antibióticos potentes e aplicação de nutrição parenteral total em aproximadamente 30% dos pacientes após a cirurgia abdominal (como a colectomia), aumentando significativamente a estadia hospitalar, crescendo, também, os custos de tratamento e prolongando a exposição do paciente a bactérias do ambiente hospitalar. Nesses casos, as infecções são, geralmente, associadas a bactérias da microbiota intestinal normal, como *Escherichia coli* e outras bactérias enterocócicas, sugerindo translocação dessas bactérias a partir do intestino.

Algumas situações que promovem a translocação intestinal, além da obstrução intestinal, são: aumento da permeabilidade gastrointestinal, nutrição parenteral total, jejum prolongado, respostas inflamatórias exageradas. O CCR agrega as quatro condições (o jejum prolongado e a nutrição parenteral total ocorrem na cirurgia, para melhorar a cicatrização local), favorecendo a ocorrência da translocação bacteriana. Dessa forma, esse é um dos principais efeitos indesejáveis que buscam conter e configurando-se, assim, sua relevância em ser avaliado (AGUILAR-NASCIMENTO; GÖELZER, 2002; SCHANLER, 2015; LIU *et al*, 2011).

Para reduzir a incidência da translocação bacteriana, alguns estudos sugerem nutrição enteral destinada para o cólon, como fibras fermentáveis (como inulina ou pectina) associadas a bactérias ácido-láticas. Essa mistura passa pelo intestino delgado praticamente intocada, mas, chegando a porção do cólon, é transformada pelas bactérias probióticas em substâncias como os ácidos graxos de cadeia curta (acetato, butirato e propionato), estimulando o crescimento dos colonócitos, reduzindo a translocação e estimulando a defesa imune do intestino (RAYES *et al*, 2002).

Dessa forma, a administração de bactérias probióticas para pacientes que são submetidos a colectomia pode ser uma estratégia interessante para minimizar a translocação bacteriana, dar suporte às bactérias comensais do intestino que, por sua vez, possuem um efeito inibitório sobre bactérias patogênicas (RAYES *et al*, 2002).

A avaliação da integridade da mucosa intestinal pode ser feita por métodos que avaliam a translocação bacteriana, e, foi feita em três estudos (LIU *et al*, 2011; LIU *et al*, 2013 e LIU *et al*, 2015). Os pacientes desses três estudos receberam a intervenção com probióticos em duas fases: 6 dias antes da laparotomia cirúrgica e após 48 horas da cirurgia, retomaram por 10 dias o uso do probiótico.

Os artigos utilizaram técnicas como avaliação de TB por análise histopatológica e cultura bacteriana de linfonodos mesentéricos retirados na laparotomia (LIU *et al*, 2011 e LIU *et al*, 2013), permeabilidade intestinal por teste de lactulose/manitol, resistência elétrica transepitelial, presença de endotoxinas no sangue e análise de proteínas e enzimas relacionadas com a integridade da mucosa (LIU *et al*, 2013 e LIU *et al*, 2015), conforme tabela 5.

O artigo de Liu *et al* (2015) não avaliou a cultura de linfonodos mesentéricos, porém, apresentou a contagem das enzimas alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST), no entanto, como são enzimas que estão relacionadas a diversos tipos de injúria e por sua atividade antioxidante, os resultados dessa análise serão apresentados e discutidos no item 5.2.5.

Tabela 5 Resultados das análises da avaliação de integridade da barreira

Artigos	Liu <i>et al</i> (2011)		Liu <i>et al</i> (2013)		Liu <i>et al</i> (2015)	
	GC (n=50)	GP (n=50)	GC (n=68)	GP (n=70)	GC (n=30)	GP (n=30)
Análise						
TB por linfonodo mesentérico	28% (n=14)	18% (n=9)	30% (n=21)	14% (n=10)	-	-
Endotoxinas*	-	-	-	-	3.96 ±1.12	2.80 ±0.88
Permeabilidade	0.22±0.04	0.18 ±0.03	0.216±0.061	0.166±0.039	DI	DI
Resistência transepitelial (Ω/cm^2)	13.7±4.2	18.4±5.1	12.66±5.86	19.21±6.02	-	-
Proteínas (ng/mg de proteína) [†]	-	-	0.32±0.30	0.36±0.0.28	0.30±0.62	0.36±0.38
Proteínas (ng/mg de proteína) [‡]	-	-	1.08±0.28	0.39±0.26	1.36±0.50	0.46±0.36

GC: grupo controle (placebo)

GP: grupo com probiótico

*A análise de endotoxinas como marcador de TB foi feita apenas no estudo de Liu *et al* (2015).

[†] Os resultados se referem a análises pré-operatórias da proteína zonulina.

[‡] Os resultados se referem a análises pós-operatórias da proteína zonulina (10 dias após a operação).

DI: dados incompletos

Na análise por cultura de linfonodos mesentéricos, o estudo de Liu *et al* (2011) verificou que TB ocorreu em 28% dos pacientes do grupo placebo e em 18% dos pacientes do grupo de probióticos ($P < 0.05$); no estudo de Liu *et al* (2013) demonstrou que TB ocorreu em 30% dos pacientes do grupo placebo em comparação com 14% dos pacientes do grupo com probióticos ($P < 0.01$). Ressalta-se, ainda, que ambas as análises verificaram o efeito pré-operatório da administração de probióticos.

O estudo de Liu *et al* (2015) optou pela avaliação de endotoxinas como marcador de TB tendo em vista a avaliação de pacientes com CCR e metástase no fígado, por ser esta uma substância mais relevadora de TB para o fígado. As análises para determinar endotoxinas foram feitas a partir de plasma 10 dias após a cirurgia e apresentou resultados significativos ($P < 0.001$).

Estes resultados demonstram que a administração de probióticos antes de laparotomia cirúrgica contribuiu de forma significativa para diminuir a TB em pacientes com CCR, mesmo com todos os agravantes que a doença impõe ao organismo.

A capacidade de inibir TB já havia sido descrita em estudos *in vitro* e com modelos experimentais.

Paturi *et al* (2008) verificaram em pesquisa com ratos que os probióticos *L. casei* e *L. acidophilus* modularam o sistema imune e diminuíram a TB para fígado, baço e sangue em relação ao grupo controle na análise de cultura dos linfonodos mesentéricos.

O ensaio feito por Zhang *et al* (2012) com sessenta pacientes com CCR e *B. longum* administrado antes da operação demonstrou redução significativa das endotoxinas em comparação ao grupo controle.

A permeabilidade e a resistência transepitelial (tabela 5) dos grupos de probióticos foram aumentadas nos estudos de Liu *et al* (2011) e Liu *et al* (2013), com significância estatística. Para Liu *et al* (2011), estes resultados comprovam a preservação que os probióticos fazem da integridade da mucosa em pacientes com CCR, fato já observado em estudos anteriores com pacientes com colite, sepse e colite aguda. Saad (2016) complementa ao afirmar que os probióticos contribuem no desenvolvimento e na estabilização da função de barreira e, com isso, contribuem na modulação de reações alérgicas e de efeitos de diarreia.

Zonulina é uma proteína que participa das junções celulares de células do trato digestivo e está relacionada com a permeabilidade intestinal. Uma concentração elevada dessa proteína no soro reflete uma permeabilidade intestinal aumentada (LIU *et al*, 2013; LIU *et al*, 2015).

Os resultados apresentados apontaram para a significativa contribuição dos probióticos na redução sérica dessa proteína. Tal fato está intimamente relacionado à permeabilidade intestinal. No trabalho de Liu *et al* (2015) apesar do resultado de permeabilidade não ter sido publicado integralmente, os autores o utilizaram para fazer um subgrupo de pesquisa para avaliar parâmetros clínicos em pacientes com alta concentração de zonulina sérica e pacientes com baixa concentração de

zonulina sérica. Os participantes selecionados para esse subgrupo foram aqueles em que foi comprovada permeabilidade intestinal normal (LIU *et al*, 2015).

A análise desses parâmetros é necessária, pois, o aumento da permeabilidade intestinal pode predispor a TB, e, conseqüentemente, pode aumentar a taxa de complicações infecciosas pós-operatórias (LIU *et al*, 2013).

A compreensão dos processos de TB em pacientes com câncer colorretal, principalmente aqueles que são submetidos a cirurgias mostra-se crucial para minimizar o risco de sepse de origem intestinal e outras situações infecciosas. Diversos estudos com outros probióticos apontam para os efeitos benéficos da modulação pré-operatória da microbiota intestinal (KINROSS *et al*, 2009).

Os estudos analisados preconizam que a administração dos probióticos em associação ao *Lactobacillus acidophilus* possuem capacidade de inibir a TB e diminuir a permeabilidade intestinal, influenciando nos demais parâmetros analisados.

5.2.2 CULTURA MICROBIOLÓGICA

Dos artigos analisados que avaliaram cultura microbiológica, objetivou-se verificar o impacto que a translocação bacteriana do intestino para fluidos biológicos por aumento da permeabilidade intestinal e também pela própria manipulação mecânica do intestino por meio do procedimento cirúrgico (LIU *et al*, 2011).

Realizou-se cultura microbiológica de amostras obtidas dos pacientes em estudo em 3 dos 8 artigos incluídos (LIU *et al*, 2015; LIU *et al*, 2013 e LIU *et al*, 2011), abrangendo um total de 298 indivíduos (148 alocados em grupo controle e 150 no grupo com intervenção de probióticos).

Foram realizadas cultura microbiana a partir do sangue (hemocultura), do cateter central e do escarro. Investigou-se a presença de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*. As bactérias investigadas apontaram para preocupação com translocação bacteriana do intestino ao sangue em pacientes críticos (pela análise das *Enterobacteriaceae E. coli* e *K. pneumoniae*) e, por estarem, de forma geral, relacionadas, de forma significativa, com infecções hospitalares de difícil tratamento, os estudos também buscaram verificar a extensão da ação dos probióticos em inibir a colonização dos fluidos biológicos por tais bactérias (LIU *et al*, 2011; PEREIRA *et al*, 2012).

No estudo de Liu *et al* (2015), não foi utilizada a população total (n = 134, 68 no grupo controle e 66 no grupo probióticos), mas 30 indivíduos de cada grupo (totalizando 60 indivíduos) foram analisados de acordo com esse critério, baseados na análise de permeabilidade intestinal 72 horas após a cirurgia; os autores definiram, desse modo, para garantir uma amostra homogênea de indivíduos que não tinham disfunção bacteriana, pois, eram diversos pacientes com graus distintos de tumor e em localizações diferenciadas e pacientes com disfunção na permeabilidade intestinal (independente do grupo), poderiam conferir um resultado não coerente com a realidade, pois estariam mais propensos a terem infecção em outras amostras, preferindo-se homogeneizar a amostra neste estudo.

Os resultados da hemocultura para cada artigo, conforme investigação bacteriana estão apresentados na tabela 6.

Tabela 6 Cultura microbiológica em hemoculturas de comparando grupo controle placebo em comparação ao grupo com intervenção de probiótico

Artigos	Liu <i>et al</i> (2011)		Liu <i>et al</i> (2013)		Liu <i>et al</i> (2015)	
	GC (n=50)	GP (n=50)	GC (n=68)	GP (n=70)	GC (n=30)	GP (n=30)
Bactéria						
<i>Escherichia coli</i>	3	3	7	3	6	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	0	2	0	2	1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	0	2	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0	2	0	1	0

GC = Grupo controle placebo

GP = Grupo probiótico

A presença de *E. coli* em amostras de sangue indica que a bactéria se translocou do trato intestinal para o sangue por meio da barreira hepática, determinando a principal razão para septicemia pós-operatória em pacientes sem disfunção da barreira intestinal (LIU *et al*, 2015).

No estudo de Liu *et al* (2011), quando a bactéria avaliada é *E. coli*, essa ação não é tão evidente, pois, o grupo de probióticos teve o mesmo número de indivíduos com cultura positiva para essa bactéria que no grupo controle. Entretanto, não houve positividade para crescimento de outros grupos bacterianos.

Para Liu *et al* (2013) e Liu *et al* (2015), a redução da presença de *E. coli* em seus grupos com probiótico se deve ao fato dos probióticos terem melhorado a barreira intestinal por meio da normalização da permeabilidade intestinal, diminuindo a translocação bacteriana.

Em um estudo realizado com três bactérias probióticas do gênero *Bifidobacterium*, Zhang *et al* (2012) determinaram diminuição de infecções pós-operatórias, diminuição de endotoxinas séricas, melhora na imunidade sistêmica e na redução da contagem de *E. coli*. Atribuem este resultado ao potencial de restrição de translocação bacteriana do intestino promovido pela administração de probióticos.

Em trabalho realizado por Wang *et al* (2017) *in vitro* com células de câncer colorretal da linhagem CaCo-2 avaliou-se o potencial de *L. plantarum* e *L. acidophilus* contra a translocação de *E. coli* não-patogênica induzida por fator de necrose tumoral (TNF- α). Nesse estudo foi verificado que a cepa de *L. plantarum* utilizada preveniu a translocação bacteriana induzida por TNF- α e a diminuição da produção de interleucina 8 (IL-8) pelas células CaCo-2, apontando para o potencial protetor aos enterócitos em uma infecção aguda, o que *L. acidophilus* não apresentou.

Em trabalho realizado para avaliar o efeito de *L. acidophilus* ATCC 700396 na infecção por *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), Ouwehand *et al* (2014) coletaram dados sobre hábitos intestinais, frequência e gravidade das queixas, consistência das fezes antes e após a intervenção em indivíduos saudáveis. Os resultados consideram que a administração de *L. acidophilus* foi ineficaz na redução de sintomas de infecção por ETEC.

Bifidobacterium, *L. plantarum* e *L. acidophilus* foram as bactérias utilizadas nos três artigos que realizaram cultura microbiológica em fluidos orgânicos. Essa variação de resultados pode apontar para uma explicação da grande maioria dos estudos realizados com probióticos serem feitos em associação de diversas cepas. Isso é corroborado pelo trabalho realizado por Kumar *et al* (2016) que verificou em camundongos, e em análises *in vitro*, que a associação de *L. plantarum* e *L. acidophilus* possui um efeito antimicrobiano estatisticamente superior do que quando os dois probióticos são administrados isoladamente como tratamento a *E. coli* enteroagregativa multirresistente. Mathipa e Thantsa (2014), também, afirmam que o efeito sinérgico de cepas probióticas diversas é superior na inibição de *E. coli* e *S. aureus* do que quando elas são aplicadas individualmente.

O conhecimento dos mecanismos de ação de cada bactéria probiótico contribuem na elaboração dessas formulações utilizadas em estudos clínicos. Dessa forma, reitera-se a relevância dos estudos *in vitro*, como o de Kumar *et al* (2015) em que o mecanismo de inibição de translocação de cepas de *L. acidophilus* em curto prazo (3 horas) está relacionado ao aumento da absorção de butirato pelos

enterócitos e possui, também, a capacidade de minimizar o efeito de inibir a absorção de butirato causado por *E. coli* enteropatogênica (EPEC).

Entretanto, apesar da importância de estudos *in vitro* e em animais, esses resultados não excluem a necessidade de compreensão da atuação de cada probiótico em seres humanos.

Epidemiologicamente, os cocos Gram-positivos são os principais agentes encontrados em hemoculturas e, esse resultado, pode estar associado a contaminação na hora da coleta. Entretanto, tal afirmação seria possível avaliando a presença de outros cocos Gram-positivos, como estafilococos coagulase-negativa (SCN) e *Enterococcus* spp., exigindo-se maiores estudos a respeito da contaminação desse grupo bacteriano em pacientes com CCR (FERNANDES *et al*, 2011).

Os resultados da cultura do cateter central para cada artigo, conforme investigação bacteriana, estão apresentados na tabela 7.

Tabela 7 Cultura microbiológica do cateter central comparando grupo controle placebo em comparação ao grupo com intervenção de probiótico.

Artigos	Liu <i>et al</i> (2011)		Liu <i>et al</i> (2013)		Liu <i>et al</i> (2015)	
	GC (n=50)	GP (n=50)	GC (n=68)	GP (n=70)	GC (n=30)	GP (n=30)
<i>Escherichia coli</i>	3	0	3	1	1	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	1	3	1	1	1
<i>Klebsiellapneumoniae</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0	2	0	0	1

GC = Grupo controle placebo
GP = Grupo probiótico

A presença de *E. coli* em cateter central pode ser resultado da translocação bacteriana mencionada por Liu *et al* (2015). A presença de *S. aureus* pode sugerir técnica asséptica local inadequada e/ou procedimento contaminado, tendo em vista que é um patógeno relacionado à microbiota de diversos sítios anatômicos, incluindo pele da mão, portanto, a possibilidade de contaminação externa ao paciente. A possibilidade de contaminação por parte de material não pode ser descartada, pois, considerando-se que a gaze utilizada para fixar cateteres, apesar de ser estéril, a fita utilizada para a fixação não é, podendo haver contaminação e translocação da bactéria (MACHADO *et al*, 2005).

Outro fator a ser considerado é o tempo de permanência do cateter no corpo do paciente antes da cultura microbiológica. Os três artigos incluídos relatam que a

análise foi feita 72 horas após a cirurgia. No caso do cateter central, que necessita de procedimento cirúrgico para sua inserção, muitas vezes, apresenta o material pesquisado já no corpo do paciente antes da cirurgia, não ficando evidente quanto tempo esse material havia estado em contato com a circulação do paciente. Assim, assume-se o descrito por Tardivo *et al* (2008), que no caso de até 10 dias de inserção (cateter de curta duração), a contaminação ocorre a partir da microbiota cutânea se movendo capilarmente pela superfície externa; acima de três semanas (cateter de longa duração), a contaminação microbiana do cateter ocorre por meio do canhão, por translocação endoluminal.

Tanto para hemocultura quanto para cultura do cateter, é necessário considerar que a presença de bacilos Gram-negativo não fermentadores, como *P. aeruginosa*, são patógenos oportunistas de alta incidência no ambiente hospitalar, sugerindo uma possível contaminação (BRZEZINSKI *et al*, 2017).

Os resultados da cultura do escarro para cada artigo, conforme investigação bacteriana, estão apresentados na tabela 8.

Tabela 8 Cultura microbiológica do escarro comparando grupo controle placebo em comparação ao grupo com intervenção de probiótico.

Artigos	Liu <i>et al</i> (2011)		Liu <i>et al</i> (2013)		Liu <i>et al</i> (2015)	
	GC (n=50)	GP (n=50)	GC (n=68)	GP (n=70)	GC (n=30)	GP (n=30)
Bactéria						
<i>Escherichia coli</i>	3	1	3	1	2	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	1	1	2	2	1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	0	0	1	1	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	1	0	1	0	0

GC = Grupo controle placebo
GP = Grupo probiótico

Em escarro, destacam-se as presenças de *E. coli* e *S. aureus*. A presença de *E. coli* foi superior no grupo controle em comparação ao grupo de probióticos. Esses resultados sugerem que a colonização pós-operatória, de diversos sítios e fluidos biológicos, pode ser por translocação bacteriana e a administração de probióticos pode minimizar tal efeito.

5.2.3 ALTERAÇÕES DE MICROBIOTA

O parâmetro de alterações da microbiota foi avaliado por três artigos (Liu *et al*, 2011; Gao *et al*, 2015 e Hibberdet *et al*, 2017). A justificativa de investigação deste

parâmetro, possivelmente, deve-se a inúmeros estudos que afirmam que a ingestão regular de probióticos pode interferir na microbiota intestinal, por diversos mecanismos (como redução de pH e competição de receptores nos colonócitos), diminuindo a população de bactérias patogênicas e o aumento de bifidobactérias (SAAD, 2006).

Além disso, essa modulação é um relevante alvo de pesquisas, pois, há bactérias envolvidas na produção de carcinógenos e de promotores (como a degradação de ácidos biliares, por diminuição das enzimas β -glicuronidase e nitroreductase) (DENIPOTE *et al*, 2010).

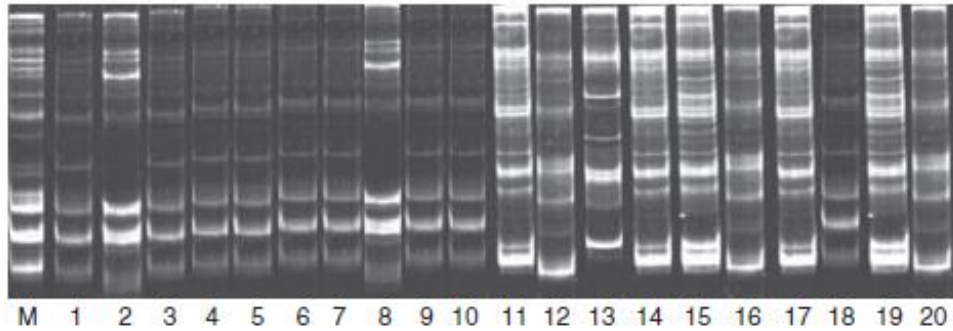
As análises verificaram alteração da microbiota, verificando quais foram os filós/gêneros/espécies microbianos modificados com a intervenção dos probióticos por contagem em placa (01 artigo) ou por método de PCR (02 artigos). Adicionalmente, verificaram a riqueza e diversidade da microbiota fecal (03 artigos). Os resultados encontrados estão expressos na tabela 9.

Tabela 9 Resultado das análises de microbiota intestinal em material fecal após 10 dias da cirurgia em artigo de Liu *et al*, 2011.

	Grupo Controle	Grupo probiótico
<i>Bifidobacterium</i>	8.8 \pm 2.4 UFC/g	10.8 \pm 0.4 UFC/g
<i>Lactobacillus</i>	6.0 \pm 1.7 UFC/g	7.4 \pm 1.0 UFC/g
<i>Enterobacteriaceae</i>	8.3 \pm 1.0 UFC/g	6.4 \pm 1.2 UFC/g
<i>Candida</i>	4.7 \pm 1.7 UFC/g	3.1 \pm 1.1 UFC/g

Essa tabela mostra que a administração de probióticos possui um efeito benéfico na alteração da microbiota dos indivíduos que receberam a intervenção em comparação ao grupo controle, pois, mesmo após 10 dias da cirurgia, com a utilização de antimicrobianos necessários à profilaxia do campo cirúrgico, a quantificação de bactérias probióticas utilizadas (gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*) conseguiu colonizar o TGI dos pacientes, ao mesmo tempo que gêneros como *Enterobacteriaceae* e *Candida*, que estão relacionados a microorganismos patogênicos e disbiose, tiveram contagens reduzidas no grupo que recebeu a intervenção com probióticos (LIU *et al*, 2011).

Para avaliar a riqueza e diversidade da microbiota, esse autor (Liu *et al*, 2011) apresentou o perfil de DNA bacteriano por gel de PCR-DGGE. Essa foi a única análise em que o autor comparou os dois grupos com CCR com um grupo de indivíduos saudáveis (figura 4).



Fonte: Liu *et al*, 2011, p. 58.

Figura 4 Perfil de *fingerprint* de DNA bacteriano: banda M: mistura de 10 amostras fecais de pacientes saudáveis (sem CCR); bandas 1-10: grupo controle (amostras de cinco pacientes/cinco bandas de mistura de fezes de 50 pacientes do grupo controle); bandas de 11-20: grupo de probióticos (amostras de cinco pacientes/cinco bandas de mistura de fezes de 50 pacientes do grupo probióticos)

A observação visual aponta para a variedade e a intensidade de bactérias do grupo controle (bandas de 1 a 10) sendo menor que o grupo de probióticos (bandas de 11 a 20) e para a mistura do grupo de indivíduos saudáveis (banda M). Entretanto, em comparação ao grupo probióticos, a riqueza e a diversidade microbiana foram menores nos indivíduos saudáveis, mostrando a capacidade modulatória da intervenção com probióticos. Infelizmente, o estudo não abordou diferença de filos/gêneros/espécies na análise do gel de PCR-DGGE.

Gao *et al* (2015) verificou em amostras de mucosa de um grupo de pacientes saudáveis (GPS), grupo de pacientes com placebo (GPC) e grupo de pacientes com probióticos (GPP) alterações a nível de filos e gêneros, conforme tabela 10.

Tabela 10 Alteração de microbiota por filo bacteriano em análise de mucosa em artigo de Gao *et al*, 2015.

	GPS	GPP	GPC
Firmicutes	40,21%	66,44%	60,97%
Bacteroidetes	11,06%	8,49%	10,12%
Flavobacteria	8,32%	2,18%;	1,83%
Proteobacteria	46,05%	19,65%	11,55%
<i>Fusobacteria</i>	0,01%	1,91%	10,08%

GPS: Grupo de Pacientes Saudáveis

GPP: Grupo de Pacientes com intervenção de probiótico

GPC: Grupo de Pacientes Controle-Placebo

Gao *et al* (2015) observa que *Fusobacterium* constitui menos de 0,01% da microbiota de indivíduos saudáveis do que em pacientes com CCR (10.08% vs 0.01%), contudo, a intervenção com probióticos reduziu a contagem dessa bactéria no grupo de pacientes com CCR em que foi administrado probióticos.

Hibberd *et al* (2017) também verificou redução de bactérias do gênero *Fusobacterium* em pacientes suplementados com probióticos (0.03 ± 0.05 vs. 0.81 ± 0.87) e *Peptostreptococcus* (0.04 ± 0.06 vs. 0.42 ± 0.071), duas bactérias associadas ao desenvolvimento de CCR. O estudo também considerou o aumento de bactérias do filo Firmicutes (*Clostridiales* spp; *Faecalibacterium*; *Eubacterium* e *Roseburia*). Essas bactérias aumentam a produção de butirato, um AGCC que fornece energia para os colonócitos e inibe a proliferação de células cancerígenas, reduz a inflamação mediada por IFN- γ e promove a apoptose celular (HIBBERD *et al*, 2017).

Chen *et al* (2012) afirma que *Fusobacterium* é um filotipo de relevância em pacientes com CCR, pois, além de estar associado, geralmente, é encontrado em abundância. Adiciona, ainda, que *Bifidobacterium* é um grupo reduzido em pacientes com CCR, o que pode predispor ao desenvolvimento da patologia, pois, este gênero bacteriano está relacionado com a competição de sítios de adesão com bactérias patogênicas e secreta peptídeos antibacterianos no cólon.

Castellarin *et al* (2012) acrescenta que o mecanismo que associa *Fusobacterium* com CCR é a capacidade de invasão da bactéria, pois, analisou biópsias e verificou uma abundância extremamente alta de RNA relacionado a esse gênero bacteriano. Além disso, observaram associação de *Fusobacterium* com metástase em linfonodo.

Desta forma, compartilha-se da afirmação de Gao *et al* (2015), é necessário manter a saúde da microbiota intestinal, da mesma forma que manter a diversidade bacteriana, pois, são fatores que impedem o aumento de bactérias patogênicas. Os estudos incluídos mostraram que a associação de probióticos teve a capacidade de alterar a microbiota qualitativamente e quantitativamente.

5.2.4 OBSERVAÇÕES CLÍNICAS PÓS-INTERVENÇÃO CIRÚRGICA

Neste parâmetro seis estudos foram incluídos: Liu *et al*, 2011; Liu *et al*, 2013; Liu *et al*, 201, Ta *net al*, 2016, Yang *et al*, 2016 e Flesch *et al*, 2017. Os estudos analisaram diversos desfechos clínicos, contudo, selecionaram-se cinco

desfechos para análise: incidência de septicemia/bacteremia (S/B - %), infecção do trato urinário (ITU - %), pneumonia (%), infecções de incisão cirúrgica (IIC - %), duração da febre pós-operatória (DFPO = > 38,5° C/dia), duração da antibioticoterapia (DATB/dia), por serem desfechos que estão relacionados com a translocação bacteriana.

Considerou-se desfechos envolvendo função intestinal (tempo de defecação, incidência da diarreia, normalização, etc.), não seriam incluídos no presente estudo, pois, são desfechos com comprovações em diversas revisões sistemáticas e metanálises do benefício da administração de *L. acidophilus* em associação com outras bactérias probióticas, não sendo necessário retomar desfechos já extensivamente documentados.

Desfechos analisados em forma de média e desvio, como duração de febre e de antibioticoterapia, estão na tabela 11.

Tabela 11 Desfechos clínicos dos artigos incluídos

		DFPO (> 38,5°C/dia)	DATB (dia)
Liu <i>et al</i> , 2011	GC (n=50)	7.2±2.3	7.0±2.4
	PRO (n=50)	5.9 ± 1.0	5.9±1.6
	<i>P</i>	<0.05	<0.05
Liu <i>et al</i> , 2013	GC (n=68)	6.59±2.66	7.02 ± 2.12
	PRO (n=70)	5.28±1.36	5.96 ± 1.89
	<i>P</i>	0.037	0.001
Liu <i>et al</i> , 2015	GC (n=68)	6.98 ± 2.22	7.56 ± 2.26
	PRO (n=66)	6.02 ± 1.68	6.22 ± 1.96
	<i>P</i>	0.006	<0.001
	PRO (n=30)	-	-
Yang <i>et al</i> , 2016	GC (n=20)	4.80 ± 2.34	7.33 ± 3.86
	PRO (n=20)	4.77±1.79	6.60 ± 2.81
	<i>P</i>	0.951	0.404
	PRO (n=42)	-	-

GC: Grupo Controle

PRO: Grupo com intervenção de probióticos

DFPO: Duração de febre pós-operatória

DATB: Duração da antibioticoterapia

Os trabalhos de Tan *et al* (2016) e Flesch *et al* (2017) não avaliaram os parâmetros apresentados na tabela 11, porém, realizaram análises com os demais parâmetros clínicos.

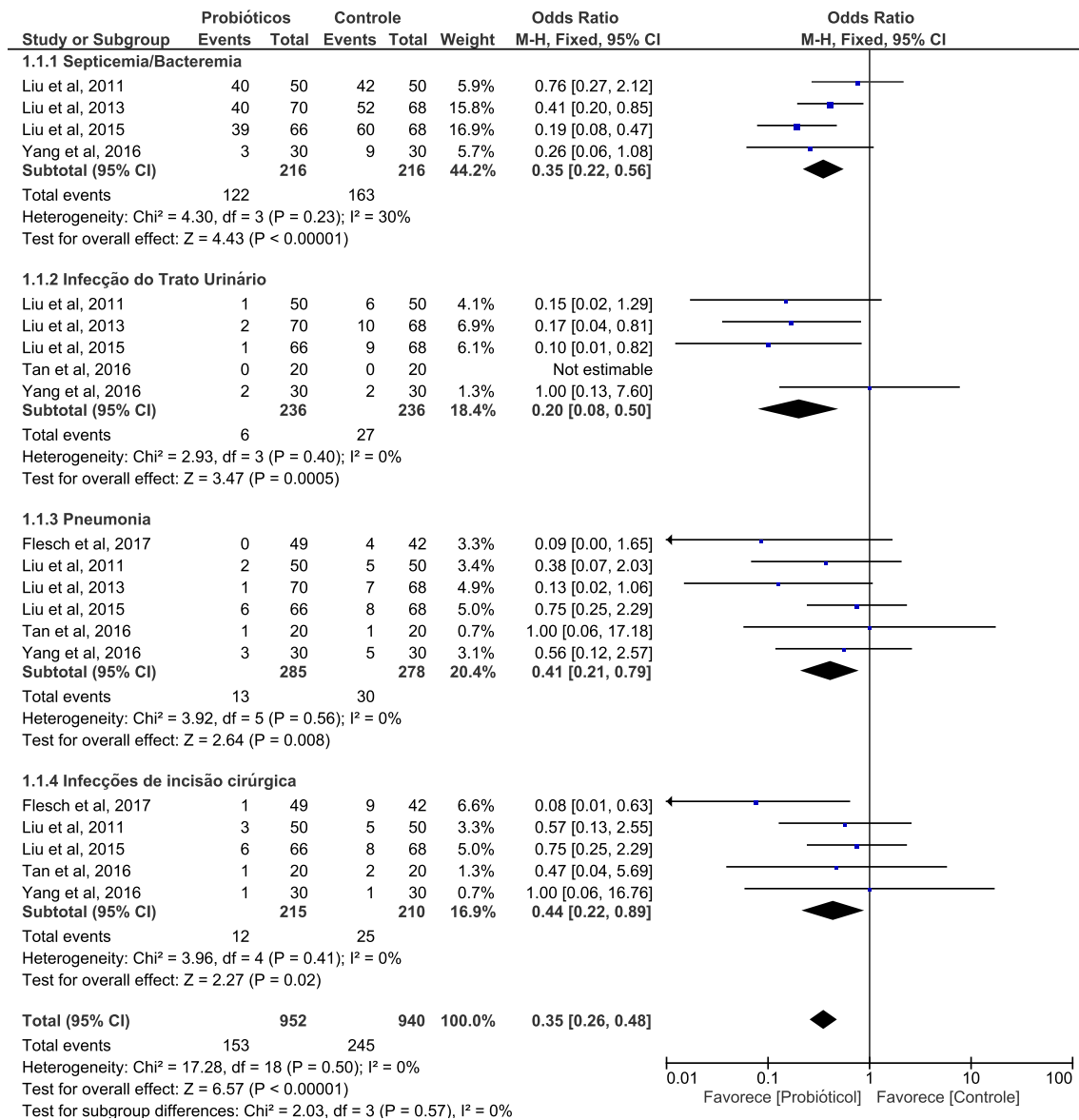
A região abdominal tem uma complexidade quantitativa e qualitativa de bactérias com potencial patogênico grande em procedimentos cirúrgicos, seja por translocação bacteriana intraluminal para os linfonodos, seja por colonização das áreas adjacentes, consistindo em um fator relevante para incidência de infecções pós-operatórias (ANDERSON *et al*, 2004).

De acordo com Liu *et al* (2013), a duração da febre pós-operatória e a duração cumulativa da antibioticoterapia são indicadores relacionados com longa permanência hospitalar, alto custo e significativa angústia para o paciente. Além disso, são complicações que podem levar ao aumento de taxas de recorrência e de mortalidade significativa.

O trabalho realizado por Yang *et al* (2016) não encontrou diferença significativa entre o grupo controle e o grupo probiótico para esses parâmetros. Para os autores, duas limitações estejam, possivelmente, relacionadas com isso: a necessidade de uma melhor preparação intestinal e um tipo relativamente curto de administração dos probióticos (5 dias antes da operação e 7 dias após a operação).

Liu *et al* (2015) e Liu *et al* (2013) correlacionam o melhor resultado dos dois parâmetros, juntamente com a duração da estadia hospitalar e incidência de sepse nos pacientes que receberam a intervenção com probióticos, em função da proteína zonulina, pois, quanto menor quantidade sérica tem dessa proteína, menor a permeabilidade intestinal, e, conseqüentemente, menor a probabilidade de translocação bacteriana que estará causando estes eventos.

Foi possível fazer a metanálise dos seguintes desfechos: septicemia/bacteremia, infecção do trato urinário, pneumonia e infecção da incisão cirúrgica, haja vista que são desfechos relatados em porcentagens e/ou em quantidade de indivíduos que apresentaram tal evento/desfecho, permitindo a aplicação dessa abordagem estatística. Os dados e a análise estão apresentados no gráfico de floresta (figura 5).



M-H: Mantel Hazel

Figura 5 Gráfico de floresta de taxa de infecções pós-operatórias em pacientes que receberam *L. acidophilus* associado com outros probióticos versus grupo controle.

A metanálise é uma estratégia de pesquisa que permite verificar a significância estatística dos dados, mesmo quando há discordâncias entre resultados de diversos estudos. O gráfico de floresta obtido mostra (por meio da presença do símbolo do diamante no lado que favorece a intervenção com os probióticos) que, apesar de haver resultados que não apoiam em 100% a intervenção de *L. acidophilus* com outras bactérias probióticas, e, em alguns casos, fibras prebióticas também, até o momento, os estudos tem apontado que a intervenção com probióticos tem sido mais positiva do que com o controle placebo na minimização de infecções pós-operatória.

É um resultado significativo e animador, pois, confirma que uma administração diária, ainda que em um curto período de tempo (menos de 15 dias muitas vezes, conforme preconização da OMS), já é mensurável os efeitos funcionais das bactérias probióticas a nível intestinal.

5.2.5 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os artigos incluídos na pesquisa utilizaram material de pacientes com CCR, porém, em nenhum dos seis artigos foi avaliado qualquer metodologia que considerasse uma atividade antioxidante sobre os materiais biológicos analisados (biópsia de mucosa, fezes, sangue, plasma, soro, etc.).

Entretanto, trabalho de Liu *et al* (2015) em pacientes com CCR que tiveram metástase no fígado, as enzimas hepáticas antioxidantes ALT e AST foram mensuradas. Essas enzimas estão envolvidas no dano hepático causada por substâncias como álcool, endotoxinas bacterianas e células metastáticas (Tabela 12).

Tabela 12 Determinação das enzimas hepáticas ALT e AST após procedimento operatório entre grupo controle (GC) e grupo com probióticos (GP) (Liu *et al*, 2015).

	GC	GP
ALT (U/L)	56.20 ± 18.16	36.28 ± 18.92
AST (U/l)	45.62 ± 22.68	36.18 ± 21.52

Trabalho realizado com modelo animal com células cancerígenas de carcinoma ascético de Ehrlich mostrou que *L. acidophilus* e fração de EPS de *L. acidophilus* reduziram de forma significativa AST e ALT, quando comparados com ratos tratados com *L. casei*. O estudo, ainda, evidenciou o quanto a bactéria *Escherichia coli* elevou a concentração sérica dessas enzimas. Outros resultados significantes do estudo foram a redução do volume do tumor após a intervenção com probióticos, principalmente nos grupos tratados com *L. acidophilus* e EPS de *L. acidophilus*. O estudo postulou, ainda, que *E. coli* causou propagação do tumor em relação ao grupo controle, que só tinha células de EAC (GHANY *et al*, 2015).

Destaca-se o fato de que, apesar de tanto a administração de *L. acidophilus* quanto dos EPS extraídos desse probiótico terem apresentado resultados

antioxidantes e protetores em comparação a *L. casei*, o grupo tratado com EPS apresentou resultados de menor dano hepático e de redução do volume do tumor em comparação com o grupo tratado com a célula intacta de *L. acidophilus*, considerando um relevante papel que essa fração bacteriana tem sobre células cancerígenas (GHANY *et al*, 2015).

Estudo realizado com pacientes portadores de doenças crônicas hepáticas avaliou-se, por meio de parâmetros bioquímicos, os benefícios da administração de uma preparação comercial farmacêutica VSL#3, contendo oito espécies de bactérias com alegações probióticas (incluindo *L. acidophilus*) por 120 dias, com duas cápsulas ao dia. Os resultados apresentados asseveram que no grupo que recebeu a intervenção com probióticos apresentou redução dos níveis plasmático de estresse oxidativo/nitroso e melhora dos níveis plasmáticos de ALT e AST, que indicam dano hepático (LOGUERCIO *et al*, 2005).

Estudo conduzido com o mesmo VSL#3 em indivíduos idosos saudáveis para avaliar a ação de probióticos sobre os parâmetros inflamatórios, nutricionais e de microbiota intestinal, verificou-se que a adição das cápsulas aumentou significativamente a concentração de glutathione-S-transferase (GST), sem afetar outros parâmetros de estresse oxidativo (VALENTINI *et al*, 2015).

Esses resultados evidenciam a atividade antioxidante dos probióticos, ainda que de *L. acidophilus* esteja bem demonstrada apenas em modelo animal. Além disso, os resultados ressaltam o sutil equilíbrio que existe entre fígado e intestino, ressaltando a importância da sanidade do intestino, pois, problemas em nível de microbiota e doenças podem afetar via sistema porta a própria integridade celular do fígado, seja por invasão de células de câncer por elevada permeabilidade intestinal e/ou agressividade da célula cancerígena, translocação bacteriana e endotoxinas bacterianas que podem atuar como substâncias hepatotóxicas (LOGUERCIO *et al*, 2005).

Estudos com frações bacterianas como EPS e conteúdo intracelular em humanos seriam interessantes para conhecer melhor a interação destes componentes microbianos com as células cancerígenas. EPS é um dos metabólitos de bactérias ácido lácticas como *L. acidophilus* que tem recentemente causado grande interesse por seus benefícios à saúde, entre eles: atividade antitumoral, neutralização da toxina da cólera e inibição da formação de biofilme. Dessa forma, o elevado nível de interesse na compreensão dos mecanismos específicos da atuação do EPS potencializa o uso desse como adjunto medicinal ou alimentar (KIM *et al*, 2010).

Esse resultado, a princípio, é bastante significativo para minimização do dano oxidativo a nível hepático causado pelo câncer colorretal. Entretanto, são necessários mais estudos analisando essa abordagem antioxidante hepática, além de estudos com foco em enzimas antioxidantes presentes no soro e na avaliação de outros metabólitos envolvidos com o dano oxidativo para, então, afirmar-se que a utilização de probióticos em combinação com *L. acidophilus* possui atividade antioxidante em indivíduos com câncer colorretal.

6. CONCLUSÃO

Os resultados encontrados demonstram que a administração de *L. acidophilus*, em associação com outros probióticos, possui efeitos relacionados com a melhora da barreira intestinal e a alteração da microbiota, influenciando em fatores como a minimização da translocação bacteriana (com consequente diminuição de infecções decorrentes da translocação bacteriana) e a diminuição de agentes microbianos e metabólitos envolvidos na carcinogênese do câncer colorretal.

Na prática clínica, esses resultados convertem-se em diminuição de complicações pós-operatórias, melhoria do bem-estar do paciente e diminuição dos custos hospitalares. Considerando-se que os estudos envolvidos não levaram mais de 20 dias de intervenção com probióticos, tornam-se relevantes estudos farmacoeconômicos que visem comprovar a viabilidade econômica de adoção de probióticos no pré e pós-operatório de pacientes com câncer colorretal.

Sugere-se, ainda, mais estudos clínicos que demonstrem as vantagens e as desvantagens do uso isolado de *L. acidophilus* para verificar quais são seus efeitos e demonstrar, de fato, se a sinergia com outros probióticos é necessária ou não.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AFIFY, A.E.; ROMEILAH, R.M.; SULTAN, S.I.M. & HUSSEIN, M.M. (2012). Antioxidant activity and biological evaluations of probiotic bacteria strains. *International Journal Academic Research* **4**, 131-139.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. Alimentos com alegações de propriedades funcionais ou de saúde. Disponível em <<http://portal.anvisa.gov.br/alimentos/alegacoes>>. Atualizado em 22/12/2016. Acesso em 01/10/2017.
- AGUILAR-NASCIMENTO, J.E.; GÖELZER, J. (2002). Alimentação precoce após anastomoses intestinais: riscos ou benefícios? *Revista da Associação Médica Brasileira* **48**, 348-352.
- BALDWIN, C.; MILLETTE, H.; OTH, D.; RUIZ, M.T.; LUGUET, F.M.; LACROIX, M. (2010). Probiotics *Lactobacillus acidophilus* and *L. caseimiz* sensitize colorectal tumoral cells to 5-fluorouracil-induced apoptosis. *Nutrition and Cancer* **62**, 371-378.
- BADARÓ, A.C.L.; GUTIERRES, A.P.M.; REZENDE, A.C.V.; STRINGHETA, P.C. (2008). Alimentos probióticos: aplicações como promotores da saúde – Parte 1. *Nutrir Gerais* **2**, 29 p.
- BOLEIJ, A.; HECHENBLEIKNER, E.M.; GOODWIN, A.C.; BADANI, R.; STEIN, E.M.; LAZAREV, M.G.; ELLIS, B.; CARROL, K.C.; ALBESIANO, E.; WICK, E.C.; PLATZ, E.A.; PARDOLL, D.M. & SEARS, C.L. (2015). The *Bacteroides fragilis* toxin gene is prevalent in the colon mucosa of colorectal cancer patients. *Clinical Infectious Diseases* **60**, 208-215.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INSUMOS ESTRATÉGICOS. DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA. Diretrizes metodológicas: elaboração de revisão sistemática e metanálise de ensaios clínicos randomizados. Editora do Ministério da Saúde. Brasília: 2012. 92 p.
- BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC N° 2, de 7 de janeiro de 2002: Aprova o Regulamento Técnico de Substâncias Bioativas e Probióticos Isolados com Alegação de Propriedades Funcionais ou de Saúde. Diário Oficial da União, Brasília, 17 de julho de 2002, republicado.
- BRASIL. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC n° 323, de 10 de novembro de 2003. Aprova o Regulamento Técnico de registro, alteração e revalidação de registro de medicamentos probióticos. Diário Oficial da União, Brasília, 09 de março de 2003.
- BRZEZINSKI, L.S.; VASCO, J.F.M.; SANTOS, A.C.M.; KRELLING, A.; CARDOZO, D.; GONÇALVES, B.; SILVA, G.S.; RODRIGUES, L.S. (2017). Incidência de bacilos Gram-negativos não fermentadores de glicose isolados de pacientes oncológicos. *Cadernos da Escola de Saúde* **17**, 1-9.
- CARVALHO, A.P.V.; SILVA, V.; GRANDE, A.J. (2013). Avaliação do risco de viés de ensaios clínicos randomizados pela ferramenta da colaboração Cochrane. *Diagnóstico e Tratamento* **18**, 38-44.

CARVALHO, E.B.; SOARES, A.G.; SOARES, L.G. (2012). Incorporação dos probióticos na alimentação humana. *Nutrir Gerais* **6**, 19 p.

CASTELLARIN, M.; WARREN, R.L.; FREEMAN, J.D.; DREOLINI, L.; KRZYWINSKI, M.; STRAUSS, J.; BARNES, R.; WATSON, P.; ALLEN-VERCOE, E.; MOORE, R.A.; HOLT, R.A. (2012). *Fusobacterium nucleatum* infection is prevalent in human colorectal carcinoma. *Genoma Research* **22**, 299-306.

CHEN, C.C.; LIN, W.C.; KONG, M.S.; SHI, H.N.; WALKER, W.A.; LIN, C.Y.; HUANG, C.T.; LIN, Y.C.; JUNG, S.M.; LIN, T.Y. (2012). Oral inoculation of probiotics *Lactobacillus acidophilus* NCFM supresses tumor growth both in segmental orthotopic colon cancer and extraintestinal tissue. *British Journal of Nutrition* **107**, 1623-1634.

CHEN, W.; LIU, F.; LING, Z.; TONG, X.; XIANG, C. (2012). Human intestinal lumen and mucosa-associated in patients with colorectal cancer. *Plos ONE* **7**, 9 p.

COTINGUIBA, G.C.; SILVA, J.R.N.; AZEVEDO, R.R.S.; ROCHA, T.J.M.; SANTOS, A.F. (2013). Métodos de avaliação da defesa antioxidante: uma revisão de literatura. *UNOPAR Científica Ciências Biológicas e Saúde* **15**, 231-237.

DALLAL, M.M.S.; MOJARRAD, M.; BAGHBANI, F.; RAOOFIAN, R.; MARDANEH, J.; SALEHIPOUR, Z. (2015). Effects of probiotic *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* on colorectal tumor cells activity (CaCo-2). *Archives of Iranian Medicine* **18**, 167-172.

DASARI, S.; KATHERA, C.; JANARDHAN, KUMAR, A.P.; VISWATAH, B. (2016). Surfacing role of probiotics in cancer prophylaxis and therapy: A systematic review. *Clinical Nutrition* **XXX**, 1-8.

DEEPAK, V.; RAMACHANDRAN, S.; BALAHMAR, R.M.; PANDIAN, S.R.K.; SIVASUBRAMANIAM, S.D.; NELLAIAH, H.; SUNDAR, K. (2016). In vitro evaluation of anticancer properties of exopolysaccharides from *Lactobacillus acidophilus* in colon câncer cell lines. *In Vitro Cellular & Development Biology – Animal* **52**, 163 – 173.

DENIPOTE, F.; TRINDADE, E.B.S.M.; BURINI, R.C. (2010). Probióticos e prebióticos na atenção primária ao câncer de cólon. *Arquivos de Gastroenterologia* **47**, 93-98.

DUARTE, M.C.K.H.; CORTEZ, N.M.S; MACEDO, N.C.; CORTEZ, M.A.S. & FRANCO, R.M. (2016). Ação antagonista de *Lactobacillus acidophilus* frente a estirpes patogênicas inoculadas em leite fermentado. *Journal of Bioenergy and Food Science* **03**, 1-10.

EL DIB, R. P. E. (2007). Como praticar a medicina baseada em evidências. *Jornal Vascular Brasileiro* **6**, 1-4.

FAO/WHO (2002). Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. Working Group Report on Drafting Guidelines for Evaluation of Probiotics in Food. London, Ontario, Canada.

FERNANDES, A.P.; SILVA, C.J.; COSTA, C.; SCHREIBER, A.Z.; MELLO, F.A.; TEIXEIRA-LOYOLA, A.B.A. (2011). Incidência bacteriana em hemoculturas no Hospital das Clínicas Samuel Libânio de Pouso Alegre MG. *Revista Eletrônica Acervo Saúde* **2**, 122 – 133.

FLESCH, A.T.; TONIAL, S.T.; CONTU, P.C.; DAMIN, D.C. (2017). A administração perioperatória de simbióticos em pacientes com câncer colorretal diminui a incidência de infecções pós-operatórias: ensaio clínico randomizado duplo-cego. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgias* **44**, 567 – 573.

FLOROU-PANERI, P.; CHRISTAKI, E. & BONOS, E. (2013). Lactic Acid Bacteria as Source of Functional Ingredients. In: Kongo, M. (Ed.), *Lactic Acid Bacteria – R & D for Food, Health and Livestock Purposes*, pp. 589-614. InTech. DOI: 10.5772/50839. Disponível em: <http://www.intechopen.com/books/lactic-acid-bacteria-r-d-for-food-health-and-livestock-purposes/lactic-acid-bacteria-as-source-of-functional-ingredients>. Acesso em 30 de Junho de 2016.

GAO, Z.; GUO, B.; GAO, R.; ZHU, Q.; WU, W.; QIN, H. (2015). Probiotics modify human intestinal mucosa-associated microbiota in patients with colorectal cancer. *Molecular Medicine Reports* **12**, 6119-6127.

GHANY, K.A.E.; HAMOUDA, R.; ELHAFEZ, E.A.; MAHROUS, H. & SALEM-BEKHIT, M. (2015). A potential role of *Lactobacillus acidophilus* LA1 and its exopolysaccharides on cancer cells in male albino mice. *Biotechnology & Biotechnological Equipments* **29**, 977-983.

GOMES, A.C.; SOUSA, R.G.M.; BOTELHO, P.B.; GOMES, T.L.N.; PRADA, P.A.; MOTA, J.F. (2016). Adiposity and antioxidant status: a double-blind randomized trial. *Obesity* **25**, 30-38.

HARUTOSHI, T. (2013). Exopolysaccharides of Lactic Acid Bacteria for Food and Colon health Applications. In: Kongo, M. (Ed.), *Lactic Acid Bacteria – R & D for Food, Health and Livestock Purposes*, pp. 515-538. InTech. DOI: 10.5772/50839. Disponível em: <http://www.intechopen.com/books/lactic-acid-bacteria-r-d-for-food-health-and-livestock-purposes/exopolysaccharides-of-lactic-acid-bacteria-for-food-and-colon-health-applications>. Acesso em 08 de Maio de 2016.

HIBBERD, A.A.; LYRA, A.; OUWEHAND, A.C.; ROLNY, P.; LINDEGREN, H.; CEDGÅRD, L.; WETTERGREN, Y. Intestinal microbiota is altered in patients with colon cancer and modified by probiotic intervention. *BMJ Open Gastroenterology* **4**, 13 p.

HILL, C.; GUARNER, F.; REID, G.; GIBSON, G.R.; MERENSTEIN, D. J.; POT, B.; MORELLI, L.; CANANI, R.B.; FLINT, H.J.; SALMINEM, S.; CALDER, P.C.; SANDERS, M.E. (2014). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* **11**, 506-514.

HUANG, R.; WANG, K.; HU, J. (2016). Effect of probiotics on depression: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrients* **8**, 483-494.

HUSSEIN, M.M.; GHALY, M.F.; OSMAN, M.Y.; SHALABY, A.S.G. & HELAL, M.I.H. (2015). Production and prebiotic activity of exopolysaccharides derived from some probiotics. *Egyptian Pharmaceutical Journal* **14**, 1-9.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER JOSÉ ALECAR GOMES DA SILVA – INCA. Colorretal. Disponível em: <<http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/colorretal/definicao>>. Acesso em 05 mar. 2018.

KIM, Y.; OH, S.; YUN, H.S.; OH, S.; KIM, S.J. (2010). Cell-bound exopolysaccharide from probiotic bacteria induces autophagic cell death of tumor cells. *Letters in Applied Microbiology* **51**, 123-130.

KINROSS, J.; ROON, A.V.; PENNEY, N.; HOLMES, E.; SILK, D.; NICHOLSON, J.K.; DARZI, A. (2009). The gut microbiota as a target for improved surgical outcome and improve patient care. *Current Pharmaceutical Design* **15**, 1537 – 1545.

KOMATSU, T.R.; BURITI, F.C.A.; SAAD, S.M.I. (2008). Inovação, persistência e criatividade superando barreiras no desenvolvimento de alimentos probióticos. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* **44**, 329-347.

KUMAR, A.; ALREFAI, W.A.; BORTHAKUR, A.; DUDEJA, P.K. (2015). *Lactobacillus acidophilus* counteracts enteropathogenic *E. coli*-induced inhibition of butyrate uptake in intestinal epithelial cells. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* **309**, G602-G607.

KUMAR, M.; DHAKA, P.; VIJAY, D.; VERGIS, J.; MOHAN, V.; KUMAR, A.; KURKURE, N.V.; BARBUDDHE, S.B.; MALIK, S.V.; RAWOOL, D.B. (2016). *International Journal of Antimicrobial Agents* **48**, 265-270.

LIONG, M. (2008). Roles of probiotics and prebiotics in colon cancer prevention: postulated mechanisms and In-vivo evidence. *International Journal of Molecular Science* **9**, 854-863.

LIU, H.; WU, H.; BILEGSAIKHAN, E.; LU, E. X.; SHEN, X.; LIU, T. (2016). Differential expression of intestinal microbiota in colorectal cancer compared with healthy controls: a systematic review and meta-analysis. *International Journal of Clinical Experimental Medicine* **9**, 10923-10930.

LIU, Z.; QIN, H.; YANG, Z.; XIA, Y.; LIU, W.; YANG, J.; ZHANG, H.; YANG, Z.; WANG, Y.; ZHENG, Q. (2011). Randomised clinical trial: the effects of perioperative probiotic treatment on barrier function and post-operative infectious complications in colorectal cancer surgery – a double-blind study. *Alimentary, Pharmacology and Therapeutics* **33**, 50-63.

LIU, Z.; HUANG, M.; ZHANG, X.; WANG, L.; HUANG, N.; PENG, H.; LAN, P.; PENG, J.; YANG, Z.; XIA, Y.; LIU, W.; YANG, J.; QIN, H.; WANG, J. (2013). The effects of perioperative probiotic treatment on serum zonulin concentration and subsequent postoperative infectious complications after colorectal cancer surgery: a double-center and double-blind randomized clinical trial. *The American Journal of Nutrition* **97**, 117-126.

LIU, Z.; LI, C.; HUANG, M.; TONG, C.; ZHANG, X.; WANG, L.; PENG, H.; LAN, P.;

ZHANG, P.; HUANG, N.; PENG, J.; WU, X.; LUO, Y.; QIN, H.; KANG, L.; WANG, J. (2015). *BMC Gastroenterology*, 13 p.

LOGUERCIO, C.; FEDERICO, A.; TUCCILLO, C.; TERRACCIANO, F.; D'AURIA, M.V.; SIMONE, C.; BLANCO, C.D.V. (2005). Beneficial effects of a probiotic VSL#3 on parameters of liver dysfunction in chronic liver diseases. *Journal of Clinical Gastroenterology* **39**, 540-543.

MACHADO, A.F.; PEDREIRA, M.L.G.; CHAUD, M.N. (2005). Estudo prospectivo, randomizado e controlado sobre o tempo de permanência de cateteres venosos periféricos em crianças, segundo três tipos de curativos. *Revista Latino-Americana de Enfermagem* **13**, 291 – 298.

MATHIPA, M.G.; THANTSA, M.S. (2014). *Cocktails* of probiotics pre-adapted to multiple stress factors are most robust under simulated gastrointestinal conditions than their parental counterparts and exhibit enhanced antagonistic capabilities against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Gut Pathogens* **7**, 14 p.

MCINTOSH, G.H.; ROYLE, P.J.; PLAYNE, M.J. (1999). A probiotic strain of *L. acidophilus* reduces DMH-induced large intestinal tumors in male Sprague-Dawley rats. *Nutrition and Cancer* **35**, 153 – 159.

MEDEIROS, A.C.; ARAÚJO-FILHO, I.; TORRES, M.L.; SÁ, C.V.; JACOME, D.T.; REGO, A.C.M. (2013). Pré-condicionamento isquêmico em diferentes tempos e seu efeito na translocação bacteriana induzida por isquemia e reperfusão em ratos. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões* **40**, 055-059.

MENDONÇA, P.S.; CARIOCA, A.A.F.; MAIA, F.M.M. (2014). Interações entre estresse oxidativo, terapia utilizada e estadiamento em pacientes com câncer colorretal. *Revista Brasileira de Cancerologia* **60**, 129-134.

MOHER, D.; LIBERATI, A.; TETZLAFF, J.; ALTMAN, D. G.; The PRISMA Group. (2015). Principais itens para relatar revisões sistemáticas e meta-análises: a recomendação PRISMA. *Epidemiologia e Serviços de Saúde* **24**, 335-342.

MOORE, W.E.C.; MOORE, L.H. (1992). Intestinal floras of populations that have high risk of colon cancer. *Applied and Environmental Microbiology* **61**, 3202 – 3207.

MORAES, F.P.; COLLA, L.M. (2006). Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. *Revista Eletrônica de Farmácia* **3**, 109-122.

NAZZARO, F.; FRATANNI, F.; NICOLAUS, B.; POLI, A.; ORLANDO, P. (2012). The prebiotic source influences the growth, biochemical features and survival under simulate gastrointestinal conditions of the probiotic *Lactobacillus acidophilus*. *Anaerobe* **18**, 280-285.

OLIVEIRA, T.R.; FORTES, R.C. (2013). Hábitos alimentares de pacientes com câncer colorretal. *Journal of The Health Sciences Institute* **31**, 59-64.

OLIVEIRA, R.P.S.; PEREGO, P.; OLIVEIRA, M.N. & CONVERTI, A. (2012). Growth, organic acids profile and sugar metabolism of *Bifidobacterium lactis* in co-culture with *Streptococcus thermophilus*: the inulin effect. *Food Research International* **48**, 21-27.

OU, J.; CARBONERO, F.; ZOETENDAL, E.G.; DELANY, J.P.; NEWTON, K.; GASKINS, H.R. & O'KEEFE, S.J.D. (2013). Diet, microbiota, and microbial metabolites in colon cancer risk in rural Africans and Africans Americans. *The Journal of Clinical Nutrition* **98**, 111-120.

OUWEHAND, A.C.; BRUGGENCATE, S.J.M.; SCHONENVILLE, A.J.; ALHONIEMI, E.; FORSSTEN, S.D.; BOVEE-OUDEHNOVEN, I.M.J. (2014). *Lactobacillus acidophilus* supplementation in human subjects and their resistance to enterotoxigenic *Escherichia coli* infection. *British Journal of Nutrition* **111**, 465-473.

PATTEN, D.A.; LEIVERS, S.; CHADHA, M.J.; MAQSOOD, M.; HUMPHREYS, P.N.; LAWS, A.P.; COLLETT, A. (2014). The structure and immunomodulatory activity on intestinal epithelial cells of the EPSs isolated from *Lactobacillus helveticus* sp. Rosyjski and *Lactobacillus acidophilus* sp. 5e2. *Carbohydrate Research* **384**, 119-127.

PATURI, G.; PHILLIPS, M.; KAILASAPATHY, K. (2008). Effect of probiotics strains *Lactobacillus acidophilus* LAFTI L10 and *Lactobacillus paracasei* LAFTI L26 on systemic immune functions and bacterial translocation. *Journal of Food Protection* **71**, 796-801.

PEREIRA, C.S.B.; GOULART, M.E.; TUPINAMBÁ, G.; MORAES, S.R. (2012). Prevalência microbiana em diversas amostras clínicas obtidas de pacientes do CTI de um hospital militar. *Revista de Saúde* **3**, 49-58.

RAFTER, J.J. (2002). Scientific basis of biomarkers and benefits of functional foods for reduction of disease risk: cancer. *British Journal of Nutrition* **88**, Suppl., S219-S224.

RAO, C.V.; SANDERS, M.E.; INDRANIE, C.; SIMI, B.; REDDY, B.S. (1999). Prevention of colonic preneoplastic lesions by the probiotic *Lactobacillus acidophilus* NCFMTM in F344 rats. *International Journal of Oncology* **14**, 939-983.

RAYES, N.; HANSEN, S.; SEEHOFER, D.; MULLER, A.R.; SERKE, S.; BENGMARK, S.; NEUHAUS, P. (2002). Early enteral supply of fiber and *Lactobacilli* versus conventional nutrition: a controlled trial in patients with major abdominal surgery. *Nutrition* **18**, 609 – 615.

REIS, S. A.; CONCEIÇÃO, L. L.; SIQUEIRA, N. P.; ROSA, D. D.; SILVA, L. L.; PELUZIO, M. C. G. (2017). Review of mechanisms of probiotic actions in the prevention of colorectal cancer. *Nutrition Research* **37**, 1-19.

RIBEIRO, A.A. & NARDOCCI, A.C. (2013). Desigualdades socioeconômicas na incidência e mortalidade por câncer: revisão de estudos ecológicos, 1998-2008. *Saúde e Sociedade* **22**, 878-891.

RIBEIRO, E.P.; SIMÕES, L.G.; JURKIEWICZ, C.H. (2009). Desenvolvimento de queijo minas frescal adicionado de *Lactobacillus acidophilus* produzido a partir de retentados de ultrafiltração. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* **29**, 19-23.

ROJO, D.; MÉNDEZ-GARCÍA, C.; RACZKOWSKA, B.A.; BARGIELA, R.; MOYA, A.; FERRER, M.; BARBAS, C. (2017). Exploring the human microbiome from multiple

perspectives: factors altering its composition and function. *FEMS Microbiology Reviews* **41**,453-478.

SAAD, S.M.I. (2006). Probióticos e prebióticos: o estado da arte. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas* **42**, 1-16.

SAVI, M.G.M.; SILVA, E.L. (2009). O fluxo da informação na prática clínica dos médicos residentes: análise na perspectiva da medicina baseada em evidências. *Ciência da Informação* **3**, 177-191.

SCHANLER, R.J. (2015). In time: human milk is feeding strategy to prevent necrotizing enterocolitis. *Revista Paulista de Pediatria* **33**, 131-133.

SEARS, C.L. & GARRET, W.S. (2014). Microbes, microbiota, and Colon Cancer. *Cel Host & Microbe* **15**, 317-328.

SEARS, C.L.; GEIS, A.L. & HOUSSEAU, F. (2014). *Bacteroides fragilis* subverts mucosal biology: from symbiont to colon carcinogenesis. *The Journal of Clinical Investigation* **124**, 4166-4172.

SILVA, N.; TAKIWAKI, M.H.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A.; NASCIMENTO, M.S. & GOMES, R.A.R (2013). *Microbiological examination methods of food and water: A laboratory manual*. London: CRC Press.

SIVIERI, K.; BEDANI, R.; CAVALLINI, D.C.U.; ROSSI, E.A. (2013). Probiotics and Intestinal Microbiota: Implications in Colon Cancer Prevention. In: Kongo, M. (Ed.), *Lactic Acid Bacteria – R & D for Food, Health and Livestock Purposes*, pp. 217-242. InTech. DOI: 10.5772/50839. Disponível em:<https://www.intechopen.com/books/lactic-acid-bacteria-r-d-for-food-health-and-livestock-purposes/probiotics-and-intestinal-microbiota-implications-in-colon-cancer-prevention>. Acesso em 10 de outubro de 2017.

SOARES, N.C.P.; OLIVEIRA, F.L.; BELLUCI, I.E.F.; MAIA, G.A.; BOROJEVIC, R. & TEODORO, A.T. (2013). Licopeno induz parada de ciclo celular e apoptose em linhagem humana de câncer de cólon. *Revista de Ciências Médicas e Biológicas* **12**, 143-148.

TARDIVO, T.B.; FARHAT NETO, J.; FARHAT JUNIOR, J. (2008). Infecções sanguíneas relacionadas aos cateteres venosos. *Revista Brasileira de Clínica Médica* **6**, 224 – 227.

TELLES, Y.C.F.; MONTEIRO, R.P.; OLIVEIRA, M.S.; RIBEIRO-FILHO, J. (2015). O papel do estresse oxidativo na síndrome metabólica. *Journal of The Health Sciences Institute* **33**, 89-93.

TORRES, O.J.M.; CAMPOS, A.C.L.; MALAFAIA, O.; MELO, T.C.M.; MARQUES, S.G.; DIETZ, U.A. (1999). Translocação bacteriana: efeito da dieta imunoestimuladora em ratos com oclusão intestinal. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões* **26**, 1-6.

VALENTINI, L; PINTO, A.; BOURDEL-MARCHASSON, I.; OSTAN, R.; BRIGIDI, P.; TURRONI, S.; HRELIA, S.; HRELIA, P.; BERESWILL, S.; FISCHER, A.; LEONCINI, E.; MALAGUTI, M.; BLANC-BISSON, C.; DURRIEU, J.; SPAZZAFUMO, L;

BUCCOLINI, F.; PRYEN, F.; DONINI, L.M.; FRANCESCHI, C.; LOCHS, H. (2015). Impact of personalized diet and probiotic supplementation on inflammation, nutritional parameters and microbiota intestinal – The “RISTOMED project”: randomized controlled trial in healthy older people. *Clinical Nutrition* **34**, 593-602.

VANDENPLAS, Y.; HUYS, G.; DAUBE, G. (2015). Probiotics: na update. *Jornal de Pediatria* **91**, 6-21.

WANG, B.; CHEN, J.; WANG, S.; ZHAO, X.; LU, G.; TANG, X. (2017) *Lactobacillus plantarum* L9 not *Lactobacillus acidophilus* LA reduces tumour necrosis factor induced bacterial translocation in CaCo-2 cells. *Beneficial Microbes* **8**, 497-505.

WEST, N.P.; HORN, P.L.; BARRETT, S.; WARREN, H.S.; LEHTINEN, M.J.; KOERBIN, G.; BRUN, M.; PYNE, D.B.; LAHTINEN, S.J.; FRICHER, P.A.; CRIPPS, A.W. (2014). Supplementation with a single and double strain probiotic on the innate immune system for respiratory illness. *e-SPEN Journal* **9**, e178-184.

YANG, Y.; XIA, Y.; CHEN, H.; HONG, L.; FENG, J.; YANG, J.; YANG, Z.; SHI, C.; WU, W.; GAO, R.; WEI, Q.; QIN, H.; MA, Y. The effect of perioperative probiotics treatment for colorectal cancer: short-term outcomes of a randomized controlled trial. *Oncotarget* **7**, 8432-8439.

ZHANG, J.W.; DU, P.; YANG, B.R.; GAO, J.; FANG, W.J.; YING, C.M. (2012). Preoperative Probiotics Decrease Postoperative Infectious Complications of Colorectal Cancer. *The American Journal of the Medical Sciences* **343**, 199-205.

ZHANG, S.; LIU, L.; LI, H.; SUN Q.; LIANG X. & LV, J. (2011). Antioxidant activity of lactic acid bacteria in yogurt. *African Journal of Microbiology Research* **5**, 5194-5201.

ANEXO 1

CHECKLIST PRISMA

Itens do *checklist* a serem incluídos no relato da revisão sistemática ou metanálise

Seção/Tópico	Item N°	Item do <i>checklist</i>	Relatado na página n°
Título			
Título	1	Identifica o artigo como uma revisão sistemática, metanálise ou ambos	i
Resumo			
Resumo estruturado	2	Apresenta um resumo estruturado incluindo, se aplicável: referencial teórico; objetivos; fonte de dados; critérios de elegibilidade; participantes e intervenções; avaliação do estudo e síntese dos métodos; resultados; limitações; conclusões e implicações dos achados principais; número do registro da revisão sistemática.	viii
Introdução			
Racional	3	Descreve a justificativa da revisão no contexto do que já é conhecido.	18
Objetivos	4	Apresenta uma afirmação explícita sobre as questões abordadas com referência a participantes, intervenções, comparações, resultados e delineamento dos estudos (PICOS).	19
Métodos			
Protocolo e registro	5	Indique se existe um protocolo de revisão, se e onde pode ser acessado (ex. endereço eletrônico), e, se disponível, forneça informações sobre o registro da revisão, incluindo o número de registro.	N.A.
Critérios de elegibilidade	6	Especifique características do estudo (ex.: PICOS, extensão do seguimento) e características dos relatos (ex. anos considerados, idioma, a situação da publicação) usadas como critérios de elegibilidade, apresentando justificativa.	42-44
Fontes de Informação	7	Descreva todas as fontes de informação na busca (ex.: base de dados com datas de cobertura, contato com autores para identificação de estudos adicionais) e data da última busca.	42
Busca	8	Apresente a estratégia completa de busca eletrônica para pelo menos uma base de dados, incluindo os limites utilizados, de forma que possa ser repetida.	83-85
Seleção dos estudos	9	Apresente o processo de seleção dos estudos (isto é, rastreados, elegíveis, incluídos na revisão sistemática, e, se aplicável, incluídos na metanálise).	45-46-50-51-65
Processo de coleta de dados	10	Descreva o método de extração de dados dos artigos (ex.: formulários piloto, de forma independente, em duplicata) e todos os processos para obtenção e confirmação de dados dos pesquisadores.	43-44
Lista dos dados	11	Liste e defina todas as variáveis obtidas dos dados (ex.: PICOS, fontes de financiamento) e quaisquer suposições ou simplificações realizadas.	43-44
Risco de viés em cada estudo	12	Descreva os métodos usados para avaliar o risco de viés em cada estudo (incluindo a especificação se foi feito no nível dos estudos ou dos resultados), e como esta informação foi usada na análise de dados.	47
Medidas de sumarização	13	Defina as principais medidas de sumarização dos resultados (ex.: risco relativo, diferença média).	68
Síntese dos resultados	14	Descreva os métodos de análise dos dados e combinação de resultados dos estudos, se realizados,	68

		incluindo medidas de consistência (por exemplo, I ²) para cada metanálise.	
Risco de viés entre os estudos	15	Especifique qualquer avaliação do risco de viés que possa influenciar a evidência cumulativa (ex.: viés de publicação, relato seletivo nos estudos).	47
Análises adicionais	16	Descreva métodos de análise adicional (ex.: análise de sensibilidade ou análise de subgrupos, metarregressão), se realizados, indicando quais foram pré-especificados.	N.A.
Resultados			
Seleção dos estudos	17	Apresente números dos estudos rastreados, avaliados para elegibilidade e incluídos na revisão, razões para exclusão em cada estágio, preferencialmente por meio de gráfico de fluxo.	45-46, 89-91
Características dos estudos	18	Para cada estudo, apresente características para extração dos dados (ex.: tamanho do estudo, PICOS, período de acompanhamento) e apresente as citações.	50-51
Risco de viés em cada estudo	19	Apresente dados sobre o risco de viés em cada estudo e, se disponível, alguma avaliação em resultados (ver item 12).	47
Resultados de estudos individuais	20	Para todos os desfechos considerados (benefícios ou riscos), apresente para cada estudo: (a) sumário simples de dados para cada grupo de intervenção e (b) efeitos estimados e intervalos de confiança, preferencialmente por meio de gráficos de floresta.	68
Síntese dos resultados	21	Apresente resultados para cada metanálise feita, incluindo intervalos de confiança e medidas de consistência.	68
Risco de viés entre estudos	22	Apresente resultados da avaliação de risco de viés entre os estudos (ver item 15).	47
Análises adicionais	23	Apresente resultados de análises adicionais, se realizadas (ex.: análise de sensibilidade ou subgrupos, metarregressão [ver item 16]).	N.A.
Discussão			
Sumário de evidência	24	Sumarize os resultados principais, incluindo a força de evidência para cada resultado; considere sua relevância para grupos-chave (ex.: profissionais da saúde, usuários e formuladores de políticas).	45-71
Limitações	25	Discuta limitações no nível dos estudos e dos desfechos (ex.: risco de viés) e no nível da revisão (ex.: obtenção incompleta de pesquisas identificadas, viés de relato).	45-49, 93-94
Conclusões	26	Apresente a interpretação geral dos resultados no contexto de outras evidências e implicações para futuras pesquisas.	72
Financiamento			
Financiamento	27	Descreva fontes de financiamento para a revisão sistemática e outros suportes (ex.: suprimento de dados); papel dos financiadores na revisão sistemática.	N.A.

ANEXO 2

ESTRATÉGIAS DE BUSCA

Medline

- 1) (Lactobacillus acidophilus) AND colorectal cancer) AND randomized controlled trial)
- 2) (Lactobacillus acidophilus) AND colorectal cancer) AND randomized controlled trial) AND (oxidative stress) OR antioxidant activity)
- 3) (Probiotics) AND colorectal cancer) AND randomized controlled trial)
- 4) (Probiotics) AND colorectal cancer) AND randomized controlled trial) AND (oxidative stress) OR antioxidant activity)
- 5) (Lactobacillus acidophilus) OR probiotics) AND colorectal cancer) AND randomized controlled trial) AND (oxidative stress) OR antioxidant activity)

Embase

Não foi possível realizar a pesquisa nessa base de dados, pois não havia permissão para a pesquisa sem pagamento.

Science Direct

- 1) (“Lactobacillus acidophilus”) AND (“colorectal cancer”) AND (“randomized controlled trial”))
- 2) (“Lactobacillus acidophilus”) AND (“colorectal cancer”) AND (“randomized controlled trial”) AND (“oxidative stress”) OR (“antioxidant activity”))
- 3) (“Probiotics”) AND (“colorectal cancer”) AND (“randomized controlled trial”))
- 4) (“Probiotics”) AND (“colorectal cancer”) AND (“randomized controlled trial”) AND (“oxidative stress”) OR (“antioxidant activity”))
- 5) (“Lactobacillus acidophilus”) OR (“probiotics”) AND (“colorectal cancer”) AND (“randomized controlled trial”) AND (“oxidative stress”) OR (“antioxidant activity”))

Cochrane Central Register of Controlled Trials

- 1) #1: Lactobacillus acidophilus
- 2) #2: Colorectal cancer
- 3) #3: Antioxidant activity
- 4) #4: Oxidative stress
- 5) #Probiotics
- 6) #1 AND #2
- 7) #1 AND #2 AND #3 OR #4
- 8) #5 AND #2
- 9) #5 AND #2 AND #3 OR #4
- 10) #1 OR #5 AND #2
- 11) #1 OR #5 AND #2 AND #3 OR #4

Scopus

- 1) ("Lactobacillus acidophilus") AND ("colorectal cancer") AND ("randomized controlled trial")
- 2) ("Lactobacillus acidophilus") AND ("colorectal cancer") AND ("randomized controlled trial") AND ("oxidative stress") OR ("antioxidant activity")
- 3) ("Probiotics") AND ("colorectal cancer") AND ("randomized controlled trial")
- 4) ("Probiotics") AND ("colorectal cancer") AND ("randomized controlled trial") AND ("oxidative stress") OR ("antioxidant activity")
- 5) ("Lactobacillus acidophilus") OR ("probiotics") AND ("colorectal cancer") AND ("randomized controlled trial") AND ("oxidative stress") OR ("antioxidant activity")

Web Of Science

- 1) ("Lactobacillus acidophilus") AND ("colorectal cancer") AND ("randomized controlled trial")
- 2) ("Lactobacillus acidophilus") AND ("colorectal cancer") AND ("randomized controlled trial") AND ("oxidative stress") OR ("antioxidant activity")
- 3) ("Probiotics") AND ("colorectal cancer") AND ("randomized controlled trial")

- 4) ("Probiotics") AND ("colorectal cancer") AND ("randomized controlled trial") AND ("oxidative stress") OR ("antioxidant activity")
- 5) ("Lactobacillus acidophilus") OR ("probiotics") AND ("colorectal cancer") AND ("randomized controlled trial") AND ("oxidative stress") OR ("antioxidant activity")

Scielo

- 1) (Lactobacillus acidophilus) AND colorectal cancer) AND randomized controlled trial)
- 2) (Lactobacillus acidophilus) AND colorectal cancer) AND randomized controlled trial) AND (oxidative stress) OR antioxidant activity)
- 3) (Probiotics) AND colorectal cancer) AND randomized controlled trial)
- 4) (Probiotics) AND colorectal cancer) AND randomized controlled trial) AND (oxidative stress) OR antioxidant activity)
- 5) (Lactobacillus acidophilus) OR probiotics) AND colorectal cancer) AND randomized controlled trial) AND (oxidative stress) OR antioxidant activity)

ANEXO 3

FERRAMENTA DA COLABORAÇÃO COCHRANE PARA AVALIAÇÃO DO RISCO DE VIÉS DE ENSAIOS CLÍNICOS RANDOMIZADOS (CARVALHO, SILVA E GRANDE, 2013).

Domínio	Suporte para o julgamento	Julgamento do autor da revisão e critérios para julgamento
Viés de seleção 1. Geração da sequência aleatória	Descrever em detalhe o método utilizado para gerar a sequência aleatória, para permitir avaliar se foi possível produzir grupos comparáveis.	<p>Baixo risco de viés:</p> <p>Tabela de números randômicos; Geração de números randômicos por computador; Arremesso de moeda; Embaralhamento de cartões ou envelopes; Jogando dados; Sorteio; Minimização.</p> <p>Alto risco de viés:</p> <p>Sequência gerada por data par ou ímpar de nascimento; Sequência gerada por alguma regra com base na data (ou dia) de admissão; Sequência gerada por alguma regra baseada no número do prontuário do hospital ou clínica; Alocação pelo julgamento do profissional; Alocação pela preferência do participante; Alocação baseada em resultados de exames ou testes prévios; Alocação pela disponibilidade da intervenção.</p> <p>Risco de viés incerto:</p> <p>Informação insuficiente sobre o processo de geração da sequência aleatória para permitir julgamento.</p>
Viés de seleção 2. Ocultação de alocação	Descrever em detalhes o método utilizado para ocultar a sequência aleatória, para determinarmos se a alocação das intervenções pôde ser prevista antes ou durante o recrutamento dos participantes.	<p>Baixo risco de viés:</p> <p>Ocultação de alocação por uma central; Recipientes de drogas numerados de forma sequencial com aparência idêntica; Envelopes sequenciais numerados, opacos e selados.</p> <p>Alto risco de viés:</p> <p>Utilizando um processo aberto de randomização (exemplo: lista randômica de números); Envelopes sem critérios de segurança (exemplo: envelopes não selados, ou que não sejam opacos ou que não sejam numerados sequencialmente); Alternância ou rotação; Data de nascimento; Número de prontuário; Qualquer outro procedimento que não oculte a alocação.</p> <p>Risco de viés incerto:</p> <p>Informação insuficiente sobre o processo de geração da sequência aleatória para permitir julgamento. Este é o caso se estiver descrito que a ocultação foi realizada utilizando envelopes, mas não estiver claro se foram selados, opacos e numerados sequencialmente.</p>
Viés de performance 3. Cegamento de participantes e profissionais Avaliação deve ser feita para cada desfecho principal (ou classes de desfechos)	Descrever todas as medidas utilizadas para cegar participantes e profissionais envolvidos em relação a qual intervenção foi dada ao participante. Fornecer informações se realmente o cegamento foi efetivo.	<p>Baixo risco de viés:</p> <p>Estudo não cego ou cegamento incompleto, mas os autores da revisão julgam que o desfecho não se altera pela falta de cegamento; Cegamento de participantes e profissionais assegurado, e é improvável que o cegamento tenha sido quebrado.</p> <p>Alto risco de viés:</p> <p>Estudo não cego ou cegamento incompleto, e o desfecho é susceptível de ser influenciado pela falta de cegamento; Tentativa de cegamento dos participantes e profissionais, mas é provável que o cegamento tenha sido quebrado, e o desfecho é influenciado pela falta de cegamento.</p> <p>Risco de viés incerto:</p> <p>Informação insuficiente para julgar como alto risco e baixo risco de viés; O estudo não relata esta informação.</p>

<p>Viés de detecção</p> <p>4. Cegamento de avaliadores de desfecho</p> <p>Avaliação deve ser feita para cada desfecho principal (ou classes de desfechos)</p>	<p>Descrever todas as medidas utilizadas para cegar os avaliadores de desfecho em relação ao conhecimento da intervenção fornecida a cada participante. Fornecer informações se o cegamento pretendido foi efetivo.</p>	<p>Baixo risco de viés:</p> <p>Não cegamento da avaliação dos desfechos, mas os autores da revisão julgam que o desfecho não pode ser influenciado pela falta de cegamento;</p> <p>Cegamento da avaliação dos desfechos foi realizado, e é improvável que o cegamento tenha sido quebrado.</p> <p>Alto risco de viés:</p> <p>Não houve avaliação cega dos desfechos, e os desfechos avaliados são influenciáveis pela falta de cegamento;</p> <p>Os avaliadores de desfechos foram cegos, mas é provável que o cegamento tenha sido quebrado, e o desfecho mensurado pode ter sido influenciado pela falta de cegamento.</p> <p>Risco de viés incerto:</p> <p>Informação insuficiente para julgar como alto risco e baixo risco de viés;</p> <p>O estudo não relata esta informação.</p>
<p>Viés de atrito</p> <p>5. Desfechos incompletos</p> <p>Avaliação deve ser feita para cada desfecho principal (ou classes de desfechos)</p>	<p>Descrever se os dados relacionados aos desfechos estão completos para cada desfecho principal, incluindo perdas e exclusão da análise. Descrever se as perdas e exclusões foram informadas no estudo, assim como suas respectivas razões. Descreve se houve reinclusão de algum participante.</p>	<p>Baixo risco de viés:</p> <p>Não houve perda de dados dos desfechos;</p> <p>Razões para perdas de dados não estão relacionadas ao desfecho de interesse;</p> <p>Perda de dados foi balanceada entre os grupos, com razões semelhantes para perda dos dados entre os grupos;</p> <p>Para dados dicotômicos, a proporção de dados perdidos comparados com o risco observado do evento não é capaz de induzir viés clinicamente relevante na estimativa de efeito;</p> <p>Para desfechos contínuos, estimativa de efeito plausível (diferença média ou diferença média padronizada) nos desfechos perdidos não é capaz de induzir viés clinicamente relevante no tamanho de efeito observado;</p> <p>Dados perdidos foram imputados utilizando-se métodos apropriados.</p> <p>Alto risco de viés:</p> <p>Razões para perda de dados pode estar relacionada ao desfecho investigado, com desequilíbrio na quantidade de pacientes ou razões para perdas entre os grupos de intervenção;</p> <p>Para dados dicotômicos, a proporção de dados perdidos comparada com o risco observado do evento é capaz de induzir viés clinicamente relevante na estimativa de efeito;</p> <p>Para desfechos contínuos, estimativa de efeito plausível (diferença média ou diferença média padronizada) nos desfechos perdidos, capaz de induzir viés clinicamente relevante no tamanho de efeito observado.</p> <p>"As-treated" análise, feita com desvio substancial da intervenção recebida em relação à que foi randomizada;</p> <p>Imputação simples dos dados feita de forma inapropriada.</p> <p>Risco de viés incerto:</p> <p>Relato insuficiente das perdas e exclusões para permitir julgamento (exemplo: número randomizado não relatado, as razões para perdas não foram descritas).</p>
<p>Outros vieses</p> <p>7. Outras fontes de viés</p>	<p>Declarar outro viés que não se enquadra em outro domínio prévio da ferramenta.</p> <p>Se em protocolos de revisões forem pré-especificadas questões neste domínio, cada questão deve ser respondida.</p>	<p>Baixo risco de viés:</p> <p>O estudo parece estar livre de outras fontes de viés.</p> <p>Alto risco de viés:</p> <p>Alto risco relacionado ao delineamento específico do estudo; ou</p> <p>Foi alegado como fraudulento;</p> <p>Teve algum outro problema.</p> <p>Risco de viés incerto:</p> <p>Informação insuficiente para avaliar se um importante risco de viés existe; ou</p> <p>Base lógica insuficiente de que um problema identificado possa introduzir viés.</p>

ANEXO 4

ARTIGOS EXCLUÍDOS APÓS A LEITURA NA ÍNTEGRA DEVIDO AO NÃO CUMPRIMENTO DO DESENHO DE ESTUDO

Autor(es)	Ano	Título	Justificativa
Krebs, B.	2016	Prebiotic and Symbiotic Treatment Before Colorectal Surgery – Randomized Double-Blind Trial	Não incluía <i>Lactobacillus acidophilus</i> .
Komatsu, S. <i>et al</i>		Efficacy of perioperative synbiotics treatment for the prevention of surgical site infection after laparoscopic colorectal surgery: a randomized controlled trial	Não incluía <i>Lactobacillus acidophilus</i> .
Kotzampassi, K. <i>et al</i>	2015	A Four-Probiotics Regimen Reduces Postoperative Complications After Colorectal Surgery: A Randomized Double-Blind, Placebo-Controlled Study	Incluía leveduras.
Aisu, N. <i>et al</i>	2015	A impact of perioperative probiotic treatment for surgical site infections patients with colorectal cancer	Não incluía <i>Lactobacillus acidophilus</i> .
Oliveira e Aarestrup	2012	Avaliação nutricional e atividade inflamatória sistêmica de pacientes com câncer colorretal submetidos à suplementação com simbiótico	Estudo não randomizado
Sadahiro, S. <i>et al</i>	2014	Comparison between oral antibiotics and probiotics as bowel preparation for elective colon cancer surgery to prevent infection: Prospective randomized trial.	Não incluía <i>Lactobacillus acidophilus</i> .
Zhang, J.W. <i>et al</i>	2010	Effect of viable Bifidobacterium supplement on the immune status and inflammatory response in patients undergoing resection for colorectal cancer	Não incluía <i>Lactobacillus acidophilus</i> .
Gianotti, L. <i>et al</i>	2010	A Randomized Double-Blind Trial on Perioperative Administration of Probiotics in Colorectal Cancer patients	Não incluía <i>Lactobacillus acidophilus</i> .
Worthley, D.L. <i>et al</i>	2009	A Human, Double-Blind, Placebo-Controlled, Crossover Trial of Prebiotic, Probiotic and Symbiotic Supplementation: Effects on Luminal, Inflammatory, Epigenetic, and Epithelial Biomarker of Colorectal Cancer	Não incluía <i>Lactobacillus acidophilus</i> .
Rafter, J. <i>et al</i>	2007	Dietary Symbiotics Reduce Cancer Risk Factors in Polypectomized and Colon	Não incluía <i>Lactobacillus acidophilus</i> .

Cancer Patients			
Gatt, M. <i>et al</i>	2005	Randomized clinical trial of multimodal optimization of surgical care in patients undergoing major colonic	O estudo não foi feito de forma exclusiva com pacientes com CCR.
Anderson, A. D. G. <i>et al</i>	2004	Randomised clinical trial of symbiotic therapy in elective surgical patients	O estudo não foi feito de forma exclusiva com pacientes com CCR.
Jain, P. K. <i>et al</i>	2004	Influence of symbiotic containing <i>Lactobacillus acidophilus</i> La5, <i>Bifidobacterium lactis</i> Bb12, <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus bulgaricus</i> and oligofructose on gut barrier function and sepsis in critically ill patients: a randomized controlled trial	O estudo não foi feito de forma exclusiva com pacientes com CCR.

ANEXO 5

ARTIGOS EXCLUÍDOS APÓS A LEITURA NA ÍNTEGRA DEVIDO AO NÃO CUMPRIMENTO DOS IDIOMAS DE REDAÇÃO DEFINIDOS

Autor(es)	Ano	Título
Zhu, D. <i>et al</i>	2012	Effect of perioperative probiotics on intestinal flora and immune function in patients with colorectal cancer

ANEXO 6

ARTIGOS EXCLUÍDOS APÓS A LEITURA NA ÍNTEGRA DEVIDO AO NÃO CUMPRIMENTO DOS DESFECHOS DEFINIDOS

Autor(es)	Ano	Título
Lee, Chu, Jeon, Lee, Park, Lee, Lee, Kim	2014	Effects of 12 weeks of probiotic supplementation on quality of life in colorectal cancer survivors: A double-blind, randomized, placebo-controlled trial
Pellino G. <i>et al</i>	2013	Early postoperative administration of probiotics versus placebo in elderly patients undergoing elective colorectal surgery: a double-blind randomized controlled trial.
Ohigashi, Hoshino, Ohde, Onodera	2011	Functional outcome, quality of life, and efficacy of probiotics in postoperative patients with colorectal cancer

ANEXO 7

E-mail enviado ao autor para correspondência do artigo “A administração perioperatória de simbióticos em pacientes com câncer colorretal reduz a incidência de infecções pós-operatórias: ensaio clínico randomizado duplo-cego” solicitando mais informações.

Confirmação de envio de email -Dados não publicados

noreply_e-mail@cnpq.br

ter 30/01/2018 12:57

Para: Bruna Brasil Rodrigues Furtado <bruna.furtado@unioeste.br>;

Caro(a) usuário(a),

Esta mensagem refere-se à solicitação de envio de email para Daniel de Carvalho Damin.

Para confirmar o envio através da Plataforma Lattes, acesse o endereço abaixo:

<http://buscatextual.cnpq.br/buscatextual/email.do?metodo=confirmacao&token=h3da7d0FhSvO0Ch3u8CR0XenOyVtqGy9molbAKswTG6eZux0nQ>

Caro Dr. Daniel de Carvalho Damin

Sou mestranda do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual do Oeste do Paraná. A minha linha de pesquisa é de prospecção de compostos bioativos de aplicação em saúde e o meu projeto consiste em revisão sistemática e meta-análise sobre a ação de *Lactobacillus acidophilus* isolado ou em associação com outros probióticos e prebióticos em pacientes com câncer colorretal. Encontrei seu artigo intitulado "A administração perioperatória de simbióticos em pacientes com câncer colorretal reduz a incidência de infecções pós-operatórias: ensaio clínico randomizado duplo-cego" na Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões, o que foi uma grata e importante surpresa, pois a maioria dos trabalhos que encontrei até então são provenientes da China e não consegui acesso a base de dados europeia EMBASE. De muitas maneiras, seu artigo é incluível no estudo que estou realizando, entretanto, achei poucos resultados. Gostaria de saber se há outros artigos encaminhados e/ou se seria possível o envio dos dados não publicados (por exemplo, pacientes que tiveram septicemia/bacteremia, duração da antibioticoterapia, duração de febre pós-operatória, avaliação de infecção do trato urinário, taxas de translocação bacteriana, etc.).

Agradeço desde já pela atenção

Atenciosamente

Bruna Brasil Rodrigues Furtado

O conteúdo desta mensagem é de responsabilidade do seu remetente e a solicitação de envio foi realizada através de opção disponível no Currículo Lattes.

ANEXO 8

LISTA DE ANTIMICROBIANOS UTILIZADOS NOS ESTUDOS SELECIONADOS

Autor	Antimicrobianos	
	Controle	Probióticos
Flesch <i>et al</i> , 2017	Metronidazol para profilaxia (n = 42) Gentamicina para profilaxia (n = 42)	Metronidazol para profilaxia (n = 49) Gentamicina para profilaxia (n = 49)
Hibberdet <i>et al</i> , 2017	Não menciona utilização de antibióticos.	
Yang <i>et al</i> , 2016	Cefoxitina como profilaxia e que foi mantida até o fim da drenagem intraperitoneal ou enquanto havia febre > 38,5°C (n = 30)	Cefoxitina como profilaxia e que foi mantida até o fim da drenagem intraperitoneal ou enquanto havia febre > 38,5°C (n = 30)
Tanet <i>et al</i> , 2016	Menciona que os pacientes receberam antibioticoterapia profilática, mas não menciona quais antimicrobianos foram utilizados.	
Gao <i>et al</i> , 2015	Metronidazol para profilaxia (n = 11) Ceftriaxona para profilaxia (n = 11)	Metronidazol para profilaxia (n = 11) Ceftriaxona para profilaxia (n = 11)
Liu <i>et al</i> , 2015	Metronidazol para profilaxia e pós-operatório (n = 68) Penicilina (n = 30) Ceftriaxona (n = 38)	Metronidazol para profilaxia e pós-operatório (n = 66) Penicilina (n = 33) Ceftriaxona (n = 33)
Liu <i>et al</i> , 2013	Metronidazol para profilaxia e pós-operatório (n = 68) Ceftriaxona para profilaxia (n = 68) Penicilina (n = 39) Ceftriaxona (n = 32)	Metronidazol para profilaxia e pós-operatório (n = 70) Ceftriaxona para profilaxia (n = 70) Penicilina (n = 35) Ceftriaxona (n = 36)
Liu <i>et al</i> , 2011	Metronidazol para profilaxia e pós-operatório (n = 50) Ceftriaxona para profilaxia (n = 50) Penicilina (n = 26) Ceftriaxona (n = 24)	Metronidazol para profilaxia e pós-operatório (n = 50) Ceftriaxona para profilaxia (n = 50) Penicilina (n = 24) Ceftriaxona (n = 26)