

## Utilização de leveduras como probióticos

Flaviano dos Santos Martins<sup>1</sup>, Fabiana da Conceição Pereira Tiago<sup>2</sup>, Flávio Henrique Ferreira Barbosa<sup>3</sup>, Francisco José Penna<sup>4</sup>, Carlos Augusto Rosa<sup>5</sup>, Regina Maria Drummond Nardi<sup>6</sup>, Maria José Neves<sup>7</sup>, Jacques Robert Nicoli<sup>8</sup>

### RESUMO

Probióticos são definidos como microrganismos vivos que exibem um efeito benéfico no hospedeiro quando ingeridos. Eles vêm sendo estudados há várias décadas e, devido à grande resistência aos antimicrobianos, são propostos como uma alternativa no tratamento ou prevenção de distúrbios gastrointestinais. Atualmente a única levedura utilizada com esta finalidade é a *S. boulardii*, além de alguns estudos com a *S. cerevisiae*. Nesta revisão, mostramos a utilização de leveduras como probióticos, suas utilizações na medicina humana e veterinária, além de seus possíveis mecanismos de ação. Mostramos também resultados de nosso laboratório com as leveduras disponíveis no mercado nacional e também com leveduras que ainda estão apenas em fase de estudo.

**Palavras-chave:** probióticos, leveduras, *Saccharomyces boulardii* e *Saccharomyces cerevisiae*.

### ABSTRACT

Probiotics are defined as viable microorganisms that exhibit a beneficial effect on the host health when ingested. They are being studied at decades and, due to the increase in antimicrobial resistance, they have been proposed as an alternative for treatment and prevention of gastrointestinal disorders. Nowadays, the only yeast used as probiotic is *Saccharomyces boulardii*, instead of some studies with *S. cerevisiae*. In this review, the use of yeast as probiotic in human and veterinary medicine is described as well as their possible mechanisms of action. Data from our laboratory using commercialized or studied yeast as probiotic were cited.

**Keywords:** probiotics, yeasts, *Saccharomyces boulardii* and *Saccharomyces cerevisiae*.

### 1- INTRODUÇÃO

O trato gastrointestinal dos mamíferos abriga uma comunidade microbiana que é extremamente densa e diversa, composta por  $10^{14}$  unidades formadoras de colônias (UFCs) de microrganismos, número dez vezes maior que o de células do hospedeiro (BERG, 1996; SAVAGE, 1977). Estima-se que o número de espécies bacterianas do trato gastrointestinal gire em torno de 400, embora estudos mais modernos indiquem que somente 30 a 40 destas espécies chegam a atingir níveis dominantes, onde possam ter funções para o hospedeiro que as aloja (MOORE & HOLDEMAN, 1974; VAUGHAN *et al.*, 2000). Essa microbiota gastrointestinal varia qualitativamente, quantitativamente e

metabolicamente, dependendo do órgão colonizado, da espécie e da idade do hospedeiro além da localização longitudinal e transversal do trato gastrointestinal (NICOLI, 1995).

Além de funções bioquímicas e digestivas no seu hospedeiro, a microbiota indígena desempenha vários papéis extremamente importantes. A resistência à colonização é a primeira linha de defesa contra a invasão por patógenos alóctones e por autóctones oportunistas através da produção de bacteriocinas, peróxido de hidrogênio, produção de ácidos orgânicos, competição por nutrientes e por sítios de adesão. A presença da microbiota também estimula o peristaltismo, o sistema imune e a maturação e renovação das células epiteliais do cólon (MCFARLAND, 2000).

A microbiota normal possui microrganismos com efeitos benéficos (*Bifidobacterium*, *Eubacterium* e *Lactobacillus*) e microrganismos com efeitos deletérios (*Clostridium* e *Veillonella*) para o hospedeiro (ROBERFROID, 2001). Nos últimos anos vêm aumentando o interesse no uso de microrganismos que possuem os efeitos benéficos com o propósito de beneficiar a saúde do hospedeiro e de prevenir ou tratar doenças. Esses organismos recebem o nome genérico de probióticos e, vêm sendo propostos como alternativa para prevenção ou tratamento de um grande número de desordens gastrointestinais. FULLER (1989) definiu probióticos como “um suplemento microbiano vivo, que afeta beneficemente o animal hospedeiro graças à melhoria no balanço microbiano intestinal”, embora, hoje, os probióticos já tenham também aplicações em outros ecossistemas (BENGMARK, 1998; REID, 2000).

Atualmente diversos microrganismos vêm sendo usados com esta finalidade, como é o caso dos lactobacilos e das bifidobactérias. A grande maioria dos probióticos disponíveis no mercado hoje em dia foi isolada de humanos sadios e alguns deles já possuem diversos de seus mecanismos de ação desvendados, tendo sido testados tanto em ensaios experimentais quanto em ensaios clínicos.

### **1.1- A levedura *Saccharomyces boulardii***

A levedura *Saccharomyces boulardii* faz parte de um dos poucos microrganismos utilizados como probióticos que não são de origem humana e possui a seu favor o maior número de ensaios laboratoriais e clínicos. Em meados de 1920, na Indochina, um microbiologista francês, Henri Boulard, estava à procura de uma linhagem de levedura que fosse capaz de suportar altas temperaturas a fim de produzir um bom vinho. Durante esta época houve uma epidemia de cólera em uma das vilas que ele visitava e ele foi informado que a população local preparava um chá da casca de uma fruta local (lechia) para aliviar e até mesmo parar a diarreia. Posteriormente, verificou-se que a fruta, na verdade, estava recoberta por uma levedura, e a eficácia contra a diarreia se devia a esta levedura, que foi chamada de *S. boulardii* (Florastor, 2003). A *S. boulardii* é uma levedura não patogênica, termotolerante (cresce na temperatura de 37°C) e, atualmente, de uso muito difundido na medicina humana (MCFARLAND & BERNASCONI, 1993).

A partir de 1960 iniciou-se a comercialização da levedura liofilizada, pelo “Laboratoires Biocodex” (Montrouge, França). Assim, seu uso como medicação para combate às diarreias foi difundido em toda Europa. Atualmente, a levedura é amplamente comercializada na Europa, América do Sul e do Norte, Ásia e África (MCFARLAND & BERNASCONI, 1993). Os direitos de comercialização para a América do Sul foram adquiridos pelas Indústrias Químicas da MERCK S.A. Além disso, cinco outras preparações da *S. boulardii* estão disponíveis no Brasil (MARTINS *et al.*, 2005a).

Este probiótico é usado no combate a vários tipos de distúrbios gastrointestinais, como diarreia associada ao uso de antibióticos (BARTLETT, 1992; MCFARLAND *et al.*, 1995; SURAWICZ *et al.*, 1989a; SURAWICZ, 2003), tratamento da diarreia causada pelo *Clostridium difficile* (ELMER & MCFARLAND, 2001; SURAWICZ, 2003) tanto nos casos de prevenção (CASTAGLIUOLO *et al.*, 1999; MCFARLAND *et al.*, 1994; SURAWICZ *et al.*, 1989a) quanto nos casos de recorrência da doença (ELMER *et al.*, 1999; KIMMEY *et al.*, 1990; SURAWICZ *et al.*, 1989b; SURAWICZ *et al.*, 2000), prevenção e tratamento da diarreia do viajante (SCARPIGNATO & RAMPAL, 1995) e da diarreia em pacientes infectados pelo HIV (BORN *et al.*, 1993; SAINT-MARC *et al.*, 1991). *S. boulardii* tem sido sugerida na manutenção do tratamento da doença de Crohn (GUSLANDI *et al.*, 2000) e na prevenção de diarreia em pacientes recebendo alimentação por sonda (BLEICHNER *et al.*, 1997). Além destes, existem ensaios clínicos mostrando o seu efeito sobre a microbiota de prematuros (COSTALOS *et al.*, 2003) e na diminuição da diarreia em pacientes com amebíase aguda (MANSOUR-GHANAIE *et al.*, 2003). Apesar de todos estes trabalhos mostrando os efeitos benéficos da *S. boulardii*, poucos trabalhos têm feito uma relação entre a dose e o efeito de sua ingestão (GIRARD *et al.*, 2003; PERET FILHO *et al.*, 1998).

Existem relatos clínicos claros demonstrando que a levedura apresenta eficácia sob vários parâmetros clínicos analisados, tais como: incidência, tempo de duração, frequência, consistência e quantidade dos episódios diarreicos. A possibilidade de translocação do *S. boulardii* no interior do intestino é praticamente inexistente, uma vez que a levedura somente sobreviva mas não coloniza o cólon (MCFARLAND & BERNASCONI, 1993).

A ingestão ocorre por via oral e, nestas condições, a levedura é insensível à ação dos sucos digestivos e de antibacterianos (BLÉHAUT *et al.*, 1989; BODDY *et al.*, 1991). A administração da levedura deve ser realizada de maneira repetida e regular, pois, a levedura não se implanta no tubo digestivo, embora seja capaz de atingir rapidamente altas concentrações artificiais no cólon (FULLER, 1992). Dois a cinco dias após a descontinuação do seu uso, ela não é mais encontrada nas fezes (BLÉHAUT *et al.*, 1989). Em estudo realizado com voluntários humanos, após o tratamento com a levedura não foi observado alterações nos níveis populacionais de anaeróbios estritos e facultativos da microbiota normal (KLEIN *et al.*, 1993).

Vários mecanismos de ação da levedura, em infecções experimentais, foram extensivamente estudados. Ensaios em animais e seres humanos, assim como estudos *in vitro*, mostraram que a *S. boulardii* pode ter um papel protetor e atividades específicas contra vários patógenos entéricos, conforme revisado por CZERUCKA & RAMPAL, 2002.

Um primeiro mecanismo de ação da levedura seria a inibição total ou parcial de vários microrganismos patogênicos (BRUGIER & PATTE, 1975). Este efeito de inibição total é observado apenas *in vitro*, pois existem trabalhos mostrando que esta inibição não ocorre *in vivo*, onde apenas uma proteção é observada (RODRIGUES *et al.*, 1996) e uma diminuição nos níveis populacionais de algumas espécies de *Candida* (DUCLUZEAU & BENSADA, 1982). Outros mecanismos levantados foram:

- a imunomodulação (BUTS *et al.*, 1990; CAETANO *et al.*, 1986; RODRIGUES *et al.*, 2000);
- a inibição da ação das toxinas do *C. difficile* devido à produção de uma serino-protease de 54kDa que cliva as toxinas A e B e seus respectivos receptores na mucosa intestinal (CASTAGLIUOLO *et al.*, 1996; CASTAGLIUOLO *et al.*, 1999;

- MCFARLAND *et al.*, 1994; POTHOUKAKIS *et al.*, 1993) e um aumento na resposta imune contra a toxina A (QAMAR *et al.*, 2001);
- a inibição da ação da toxina da cólera devido à ligação da toxina em sítios específicos da levedura diminuindo a quantidade de toxina livre capaz de se ligar aos receptores intestinais (BRANDÃO *et al.*, 1998; DIAS *et al.*, 1995; NEVES *et al.*, 2002);
  - a diminuição dos níveis de cAMP induzidos pela toxina da cólera devido à ação de uma proteína de 120 kDa (CZERUCKA *et al.*, 1989a; CZERUCKA *et al.*, 1994; CZERUCKA & RAMPAL, 1999);
  - a inibição de perdas de água, sódio e potássio induzidas pelas toxinas de *Vibrio cholerae* (CZERUCKA *et al.*, 1994) e de *Escherichia coli* em células epiteliais intestinais (MASSOT *et al.*, 1983);
  - a preservação da função de barreira de células infectadas com *E. coli* enteropatogênica e modulação da sinalização induzida durante a infecção por esta mesma bactéria (CZERUCKA *et al.*, 2000);
  - o aumento da atividade de diversas dissacaridases na mucosa intestinal, tais como lactase, sacarase e maltase (BUTS *et al.*, 1986; JAHN *et al.*, 1996);
  - a ligação de alguns microrganismos na superfície da levedura (GEDEK, 1999);
  - e em trabalhos recentes um novo mecanismo de ação da levedura envolvendo uma possível inibição da produção de óxido nítrico pela levedura (GIRARD *et al.*, 2003).

A maior parte dos probióticos comercializados são bactérias. Apenas duas leveduras são usadas, a *S. boulardii* na medicina humana e a *S. cerevisiae* na medicina veterinária. A vantagem de se trabalhar com levedura é que ela pode ser liofilizada, é rapidamente eliminada após interrupção da terapia e não é afetada pelo uso de antibacterianos (BLEHAUT *et al.*, 1989; BODDY *et al.*, 1991). Esta última propriedade é importante, pois algumas terapias associam a administração de probióticos com o uso de antibacterianos durante infecções gastrointestinais como, por exemplo, no caso de pacientes infectados por *Helicobacter pylori*, cuja terapia é uma combinação de drogas (ARMUZZI *et al.*, 2001).

O uso da levedura não acarreta mudanças nas populações normais da microbiota do cólon após ingestão de 4-5 dias. Porém, após este tempo, nota-se um aumento nas populações de aeróbios ( $1,4 \times 10^6/g$  para  $2,1 \times 10^8/g$  de conteúdo intestinal) e de coliformes totais ( $1,8 \times 10^6/g$  para  $1,9 \times 10^7/g$  de conteúdo intestinal) (MCFARLAND & BERNASCONI, 1993).

Em todo o mundo já foram descritos 27 casos de fungemia devido ao uso da *S. boulardii* (BASSETTI *et al.*, 1998; CASSONE *et al.*, 2003; CESARO *et al.*, 2000; FREDENUCCI *et al.*, 1998; HENNEQUIN *et al.*, 2000; LESTIN *et al.*, 2003; LHERM *et al.*, 2002; NIAULT *et al.*, 1999; PERAPOCH *et al.*, 2000; PLETINCX *et al.*, 1995; RIJNDERS *et al.*, 2000; RIQUELME *et al.*, 2003; VIGGIANO *et al.*, 1995; ZUNIC *et al.*, 1991). Ultimamente, infecções fúngicas invasivas devido a agentes novos ou raros têm sido freqüentemente descritos em todo o mundo. Esses casos são considerados como uma consequência do aumento da população de risco para doenças crônicas ou debilitantes, aumento no uso de drogas imunossupressivas e de antibióticos de amplo espectro, nutrição parental e uso de cateter venoso central. Devido a tudo isso, o uso da levedura não é recomendado em pacientes imunossuprimidos ou muito debilitados como no caso de tratamentos radioterápicos ou quimioterápicos (CESARO *et al.*, 2000), já que alguns casos de fungemia têm sido descritos na literatura nesses pacientes após tratamento enteral com *S. boulardii*, embora nenhum deles tenha levado o paciente a óbito e, foram, na maioria

dos casos, resolvidos após interrupção do probiótico e utilização de fluconazol ou anfotericina B (CASSONE *et al.*, 2003).

Assim como ocorre com a levedura, existem casos descritos de bacteremia devido à utilização de bactérias usadas como probióticos (MACKAY *et al.*, 1999; OGGIONI *et al.*, 1998; RAUTIO *et al.*, 1999; RICHARD *et al.*, 1988). Entretanto, essas correlações entre infecções sistêmicas e consumo de probióticos são raras e sempre ocorrem em pacientes sob condições clínicas extremamente debilitantes.

## 1.2- Utilização de outras leveduras como probiótico

Existem atualmente disponíveis no mercado brasileiro sete preparações farmacêuticas contendo leveduras como probiótico. Deste total seis possuem a levedura *S. boulardii* e uma contem a levedura *S. cerevisiae*. Resultados encontrados em nosso laboratório mostraram que não todos os produtos comercializados possuem todas as características necessárias para uma finalidade bioterapêutica, como número de células viáveis e capacidades de conservação e reativação da levedura, características fundamentais para a atuação de um probiótico no trato gastrointestinal (MARTINS *et al.*, 2005a; MARTINS *et al.*, 2005b).

Devido ao grande interesse na utilização de probióticos hoje em dia e, também, pelo estímulo da Organização Mundial da Saúde na utilização dessa alternativa ao uso dos antibióticos, grandes laboratórios e centros de pesquisas vem investindo nesta linha de pesquisa. Recentemente, um trabalho realizado por nosso grupo de pesquisa demonstrou que uma linhagem de *S. cerevisiae*, isolada da produção de aguardente, foi eficaz na proteção de camundongos contra desafios com patógenos intestinais (MARTINS *et al.*, 2005c). Dados ainda não publicados mostraram que possíveis mecanismos de ação presentes nesta proteção seriam uma imunomodulação pela levedura e uma diminuição da capacidade de translocação de um destes patógenos, a salmonela.

Ainda na mesma linha de pesquisa, dados bem preliminares e ainda não publicados vem demonstrando que outras leveduras não pertencentes ao gênero *Saccharomyces*, isoladas de diversos ambientes e também da indústria agro-alimentar, são capazes de colonizar o trato digestivo de animais experimentais e também de produzirem substâncias *in vitro* responsáveis pela inibição de enteropatógenos.

Existem, também, alguns trabalhos (CHIA *et al.*, 1995; IZADNIA *et al.*, 1998; KOVACS & BERK, 2000; SCHELLENBERG *et al.*, 1994) mostrando a eficácia de leveduras de cervejaria e panificação tanto em ensaios laboratoriais como em pacientes humanos, no combate às diarreias.

Na dieta de ruminantes é muito usada a levedura *S. cerevisiae*. Ela estimularia a atividade dos microrganismos benéficos do trato gastrointestinal aumentando, desde modo, a digestibilidade de nutrientes e o potencial de produção dos animais (NEWBOLD *et al.*, 1995; SINGH *et al.*, 1995; WOHLT *et al.*, 1998).

## 2- CONCLUSÃO

Um dos grandes problemas atuais da medicina é a alta resistência bacteriana aos antibióticos disponíveis no mercado. Nas últimas décadas, muita atenção tem sido dada à

modulação da microbiota intestinal normal por adjuvantes microbianos vivos chamados de probióticos. A grande vantagem da terapia com os probióticos é a ausência de efeitos secundários, como a seleção de bactérias resistentes. Os efeitos benéficos destes microrganismos são basicamente os mesmos da microbiota normal do corpo humano. O que se faz neste caso é a utilização, em grande quantidade, daqueles que possuem eficácia comprovada, podendo ser constituintes normais da microbiota, como é o caso das bifidobactérias e dos lactobacilos, ou não, como a levedura *S. boulardii*.

O interesse no uso destes agentes microbianos vivos com o propósito de beneficiar a saúde do hospedeiro e prevenção ou tratamento de doenças tem sido explorado nesses últimos anos. Esses organismos vêm sendo propostos como complementos ou alternativas no tratamento de um grande número de distúrbios gastrointestinais.

Devido à escassez de trabalhos nacionais mostrando a utilização e a eficácia de probióticos, nosso grupo de pesquisa vem investindo há vários anos nesta linha de estudo, procurando estudar os componentes da microbiota com potencial probiótico e a utilização de microrganismos ambientais para a mesma finalidade. Grandes países europeus, além de outros, vem investindo grandes somas de dinheiro na busca de novos probióticos e no estudo dos mecanismos de ação daqueles já disponíveis. Estes estudos se mostram bastante proeminentes. É de grande interesse para o Brasil a busca de novos tratamentos (e um destes seria o uso de antibióticos) no combate às diarreias, em especial de novas leveduras uma vez que, atualmente, a única levedura disponível no mercado para uso como probiótico em seres humanos é a *S. boulardii*. Como é um medicamento patenteado e de valor elevado e, levando-se em consideração que os principais casos de diarreia ocorrem em pessoas de baixa renda, seria de grande interesse a seleção de uma nova levedura de origem nacional, a custos mais acessíveis. Além do mais, uma das principais preocupações da Organização Mundial da Saúde é a implementação de novas terapias que não atuem como uma forte pressão seletiva, propiciando a geração de patógenos cada vez mais agressivos e resistentes.

### 3- BIBLIOGRAFIA

ARMUZZI, A.; CREMONINI, F.; OJETTI, V.; BARTOLOZZI, F.; CANDUCCI, F.; CANDELLI, M.; SANTARELLI, L.; CAMMAROTA, G.; DE LORENZO, A.; POLA, P.; GASBARRINI, G.; GASBARRINI, A. Effect of *Lactobacillus* GG supplementation on antibiotic-associated gastrointestinal side effects during *Helicobacter pylori* eradication therapy: a pilot study. *Digestion*, v. 63, p. 1-7, 2001.

BARTLETT, J.G. Antibiotic-associated diarrhea. *Clin. Infect. Dis.*, v. 15, p. 573-581, 1992.

BASSETTI, S.; FREI, R.; ZIMMERLI, W. Fungemia with *Saccharomyces cerevisiae* after treatment with *Saccharomyces boulardii*. *Am. J. Med.*, v. 105, p. 71-72, 1998.

BAUMLER, A.J. The record of horizontal gene transfer in *Salmonella*. *Trends Microbiol.*, v. 5, p. 318-322, 1997.

BENGMARK, S. Ecological control of the gastrointestinal tract. The role of probiotic flora. *Gut*, v. 42, p. 2-7, 1998.

- BERG, R.; BERNASCONI, P.; FOWLER, D.; GAUTREAUX, M. Inhibition of *Candida albicans* translocation from the gastrointestinal tract of mice by oral administration of *Saccharomyces boulardii*. *J. Infect. Dis.*, v. 168, p. 1314-1318, 1993.
- BLÉHAUT, H.; MASSOT, J.; ELMER, G.W.; LEVY, R.H. Disposition kinetics of *Saccharomyces boulardii* in man and rat. *Biopharm. Drug. Disp.*, v. 10, p. 353-364, 1989.
- BLEICHNER, G.; BLEHAUT, H.; MENTEC, H.; MOYSE, D. *Saccharomyces boulardii* prevents diarrhea in critically ill tube-fed patients. A multicenter, randomized, double-blind placebo-controlled trial. *Intensive Care Med.*, v. 23, p. 517-523, 1997.
- BODDY, A.V.; ELMER, G.W.; MCFARLAND, L.V.; LEVY, R.H. Influence of antibiotics on the recovery and kinetics of *Saccharomyces boulardii* in rats. *Pharm. Res.*, v. 8, p. 796-800, 1991.
- BORN, P.; LERSCH, C.; ZIMMERHACKL, B.; CLAASSEN, M. The *Saccharomyces boulardii* therapy of HIV-associated diarrhea (letter). *Dtsch. Med. Wochenschr.*, v. 118, p. 765, 1993.
- BRANDÃO, R.L.; CASTRO, I.M.; BAMBIRRA, E.A.; AMARAL, S.C.; FIETTO, L.G.; TROPIA, M.J.M.; NEVES, M.J.; SANTOS, R.G.; GOMES, N.C.M.; NICOLI, J.R. Intracellular signal triggered by cholera toxin in *Saccharomyces boulardii* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl. Environ. Microbiol.*, v. 64, p. 564-568, 1998.
- BRUGIER, S.; PATTE, F. Antagonisme *in vitro* entre l'ultra-levure et différent germes bactériens. *Med. Paris*, v. 45, p. 3-8, 1975.
- BUTS, J.P.; BERNASCONI, P.; VAN CRAYNEST, M.P.; MALDAGUE, P.; DE MEYER, R. Response of human and rat small intestinal mucosa to oral administration of *Saccharomyces boulardii*. *Pediat. Res.*, v. 20, p. 192-196, 1986.
- BUTS, J.P.; BERNASCONI, P.; VAERMAN, J.P.; DIVE, C. Stimulation of secretory IgA and secretory component of immunoglobulins in small intestine of rats treated with *Saccharomyces boulardii*. *Dig. Dis. Sci.*, v. 35, p. 251-256, 1990.
- CAETANO, J.A.M.; PARAMÉS, M.T.; BABO, M.J.; SANTOS, A.; FERREIRA, A.B.; FREITAS, A.A.; COELHO, M.R.C.; MATEUS, A.M. Immunopharmacological effects of *Saccharomyces boulardii* in healthy volunteers. *Int. J. Immunopharmacol.*, v. 8, p. 245-259, 1986.
- CASSONE, M.; SERRA, P.; MONDELLO, F.; GIROLAMO, A.; SCAFETTI, S.; PISTELLA, E.; VENDITTI, M. Outbreak of *Saccharomyces cerevisiae* subtype *boulardii* fungemia in patients neighboring those treated with a probiotic preparation of the organism. *J. Clin. Microbiol.*, v. 41, p. 5340-5343, 2003.
- CASTAGLIUOLO, I.; LAMONT, J.T.; NIKULASSON, S.T.; POTHOUKAKIS, C. *Saccharomyces boulardii* protease inhibits *Clostridium difficile* toxin A effects in the rat ileum. *Infect. Immun.*, v. 64, p. 5225-5232, 1996.
- CASTAGLIUOLO, I.; RIEGLER, M.F.; VALENICK, L.; LAMONT, J.T.; POTHOUKAKIS, C. *Saccharomyces boulardii* protease inhibits the effects of *Clostridium difficile* toxins A and B in human colonic mucosa. *Infect. Immun.*, v. 67, p. 302-307, 1999.

CESARO, S.; CHINELLO, P.; ROSSI, L.; ZANESCO, L. *Saccharomyces cerevisiae* fungemia in a neutropenic patient treated with *Saccharomyces boulardii*. *Support. Care Cancer*, v. 8, p. 504-505, 2000.

CHIA, J.K.S.; CHAN, S.M.; GOLDSTEIN, H. Baker's yeast as adjunctive therapy for relapses of *Clostridium difficile* diarrhea. *Clin. Infect. Dis.*, v. 20, p. 1581, 1995.

COSTALOS, C.; SKOUTERI, V.; GOUNARIS, A.; SEVASTIADOU, S.; TRIANDAFILIDOU, A.; EKONOMIDOU, C.; KONTAXAKI, F.; PETROCHILOU, V. Enteral feeding of premature infants with *Saccharomyces boulardii*. *Early Hum. Dev.*, v. 74, p. 89-96, 2003.

CZERUCKA, D.; NANO, J.L.; BERNASCONI, P.; RAMPAL, P. Effect of *Saccharomyces boulardii* on cholera toxin-induced cAMP levels in rat epithelial intestinal cell lines. *Gastroenterol. Clin. Biol.*, v. 3, p. 383-384, 1989.

CZERUCKA, D.; ROUX, I.; RAMPAL, P. *Saccharomyces boulardii* inhibits secretagogue-mediated adenosine 3',5'-cyclic monophosphate induction in intestinal cells. *Gastroenterology*, v. 106, p. 65-72, 1994.

CZERUCKA, D.; RAMPAL, P. Effect of *Saccharomyces boulardii* on cAMP - and Ca<sup>2+</sup> - dependent Cl<sup>-</sup> secretion in T84 cells. *Dig. Dis. Sci.*, v. 44, p. 2359-2368, 1999.

CZERUCKA, D.; DAHAN, S.; MOGRABI, B.; ROSSI, B.; RAMPAL, P. *Saccharomyces boulardii* preserves the barrier function and modulates the transduction pathway induced in enteropathogenic *Escherichia coli*-infected T84 cells. *Infect. Immun.*, v. 68, p. 5998-6004, 2000.

CZERUCKA, D.; RAMPAL, P. Experimental effects of *Saccharomyces boulardii* on diarrheal pathogens. *Microbes Infect.*, v. 4, p. 733-739, 2002.

DIAS, R.S.; BAMBIRRA, E.A.; SILVA, M.E.; NICOLI, J.R. Protective effect of *Saccharomyces boulardii* against the cholera toxin in rats. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, v. 28, p. 323-325, 1995.

DUCLUZEAU, R.; BENZAADA, M. Comparative effect of a single or continuous administration of *Saccharomyces boulardii* on the establishment of various strains of *Candida* in the digestive tract of gnotobiotic mice. *Ann. Microbiol. (Paris)*, v. 133, p. 491-501, 1982.

ELMER, G.W.; MCFARLAND, L.V. Biotherapeutic agents in the treatment of infectious diarrhea. *Gastroenterol. Clin. North Am.*, v. 30, p. 837-854, 2001.

ELMER, G.W.; MCFARLAND, L.V.; SURAWICZ, C.M.; DANKO, L.; GREENBERG, R.N. Behaviour of *Saccharomyces boulardii* in recurrent *Clostridium difficile* disease patients. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, v. 13, p. 1663-1668, 1999.

Florastor, 2003. Disponível em <http://www.florastor.com>. Acesso em 06 de outubro 2003.

FREDENUCCI, I.; CHOMARAT, M.; BOUCAUD, C.; FLANDROIS, J.P. *Saccharomyces boulardii* fungemia in a patient receiving Ultra-levure therapy. *Clin. Infect. Dis.*, v. 27, p. 222-223, 1998.



- FULLER, R. Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.*, v. 66, p. 365-378, 1989.
- FULLER, R. *Probiotics - The Scientific Basis*. Chapter 1 Edited by R. Fuller, Chapman & Hall, Reading UK, p. 1-8, 1992.
- GEDEK, B.R. Adherence of *Escherichia coli* serogroup O 157 and the *Salmonella typhimurium* mutant DT 104 to the surface of *Saccharomyces boulardii*. *Mycoses*, v. 42, p. 261-264, 1999.
- GIRARD, P.; PANSART, Y.; LORENTE, I.; GILLARDIN, J.M. Dose-response relationship and mechanism of action of *Saccharomyces boulardii* in castor oil-induced diarrhea in rats. *Dig. Dis. Sci.*, v. 48, p. 770-774, 2003.
- GUSLANDI, M.; MEZZI, G.; SORGI, M.; TESTONI, P.A. *Saccharomyces boulardii* in maintenance treatment of Crohn's disease. *Dig. Dis. Sci.*, v. 45, p. 1462-1464, 2000.
- HENNEQUIN, C.; KAUFFMANN-LACROIX, C.; JOBERT, A.; VIARD, J.P.; RICOUR, C.; JACQUEMIN, J.L.; BERCHE, P. Possible role of catheters in *Saccharomyces boulardii* fungemia. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, v. 19, p. 16-20, 2000.
- IZADNIA, F.; WONG, C.T.; KOCOSHIS, S.A. Brewer's yeast and *Saccharomyces boulardii* both attenuate *Clostridium difficile*-induced colonic secretion in the rat. *Dig. Dis. Sci.*, v. 43, p. 2055-2060, 1998.
- JAHN, H.U.; ULLRICH, R.; SCHNEIDER, T.; LIEHR, R.M.; SCHIEFERDECKER, H.L.; HOLST, H.; ZEITZ, M. Immunological and trophical effects of *Saccharomyces boulardii* on the small intestine in healthy human volunteers. *Digestion*, v. 57, p. 95-104, 1996.
- KIMMEY, M.B.; ELMER, G.W.; SURAWICZ, C.M.; MCFARLAND, L.V. Prevention of further recurrences of *Clostridium difficile* colitis with *Saccharomyces boulardii*. *Dig. Dis. Sci.*, v. 35, p. 897-901, 1990.
- KLEIN, S.M.; ELMER, G.W.; MCFARLAND, L.V.; SURAWICZ, C.M.; LEVY, R.H. Recovery and elimination of the biotherapeutic agent, *Saccharomyces boulardii*, in healthy human volunteers. *Pharm. Res.*, v. 10, p. 1615-1619, 1993.
- KOVACS, D.J.; BERK, T. Recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhea and colitis treated with *Saccharomyces cerevisiae* (baker's yeast) in combination with antibiotic therapy: a case report. *J. Am. Board Fam. Pract.*, v. 13, p. 138-140, 2000.
- LESTIN, F.; PERTSCHY, A.; RIMEK, D. Fungemia after oral treatment with *Saccharomyces boulardii* in a patient with multiple co-morbidities. *Dtsch. Med. Wochenschr.*, v. 128, p. 2531-2533, 2003.
- LHERM, T.; MONET, C.; NOUGIERE, B.; SOULIER, M.; LARBI, D.; LE GALL, C.; CAEN, D.; MALBRUNOT, C. Seven cases of fungemia with *Saccharomyces boulardii* in critically ill patients. *Intensive Care Med.*, v. 28, p. 797-801, 2002.
- MACKAY, A.D.; TAYLOR, M.B.; KIBBLER, C.C.; HAMILTON-MILLER, J.M.T. *Lactobacillus* endocarditis caused by a probiotic organism. *Clin. Microbiol. Infect.*, v. 5, p. 290-292, 1999.

- MANSOUR-GHANAIE, F.; DEHBASHI, N.; YAZDANPARAST, K.; SHAFAGHI, A. Efficacy of *Saccharomyces boulardii* with antibiotics in acute amoebiasis. *World J. Gastroenterol.*, v. 9, p. 1832-1833, 2003.
- MARTINS, F.S.; NEVES, M.J.; ROSA, C.A.; NARDI, R.M.D.; PENNA, F.J. & NICOLI, J.R. Comparação de seis produtos probióticos contendo *Saccharomyces boulardii*. *Rev. Bras. Méd.*, v. 62, p. 151-155, 2005a.
- MARTINS, F.S.; CARA, D.C.; ROSA, C.A.; NEVES, M.J.; PENNA, F.J. & NICOLI, J.R. Comparações da conservação, reativação, colonização e efeito protetor de dois produtos probióticos à base de levedura (*Saccharomyces boulardii* - *Saccharomyces cerevisiae*). *Rev. Bras. Méd.*, v. 62, p. 000-000, 2005b (aceito para publicação).
- MARTINS, F.S.; NARDI, R.M.D.; ARANTES, R.M.E.; ROSA, C.A.; NEVES, M.J. AND NICOLI, J.R. Screening of yeast as probiotic based on capacities to colonize the gastrointestinal tract and to protect against enteropathogen challenge in mice. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, v. 51, n. 2, p. 83-92, 2005c.
- MASSOT, J.; DESCONCLOIS, M.; ASTOIN, J. Protection par *Saccharomyces boulardii* de la diarrhée à *E. coli* du souriceau. *Ann. Pharm. Fr.*, v. 40, p. 445-449, 1983.
- MCFARLAND, L.V. Normal flora: diversity and functions. *Microb. Ecol. Health Dis.*, v. 12, p. 193-207, 2000.
- MCFARLAND, L.V.; BERNASCONI, P. *Saccharomyces boulardii*: A review of an innovative biotherapeutic agent. *Microb. Ecol. Health Dis.*, v. 6, p. 157-171, 1993.
- MCFARLAND, L.V.; SURAWICZ, C.M.; GREENBERG, R.N.; FEKETY, R.; ELMER, G.W.; MOYER, K.A.; MELCHER, S.A.; BOWEN, K.E.; COX, J.L.; NOORANI, Z. A randomized placebo-controlled trial of *Saccharomyces boulardii* in combination with standard antibiotics for *Clostridium difficile* disease. *J. Am. Med. Assoc.*, v. 271, p. 1913-1918, 1994.
- MCFARLAND, L.V.; SURAWICZ, C.M.; GREENBERG, R.N.; ELMER, G.W.; MOYER, K.A.; MELCHER, S.A.; BOWEN, K.E.; COX, J.L. Prevention of beta-lactam-associated diarrhea by *Saccharomyces boulardii* compared with placebo. *Am. J. Gastroenterol.*, v. 90, p. 439-448, 1995.
- MOORE, W.E.C.; HOLDEMAN, L.V. Human fecal flora: the normal flora of 20 Japanese-Hawaiians. *Appl. Microbiol.*, v. 27, p. 961-979, 1974.
- NEVES, M.J.; ETCHEBEHERE, L.; BRANDÃO, R.L.; CASTRO, I.M.; LIMA, M.E.; NICOLI, J.R. Partial characterization of cholera toxin binding on membranes of *Saccharomyces boulardii*. *Microecol. Ther.*, v. 29, p. 185-190, 2002.
- NEWBOLD, C.J.; WALLACE, R.J.; CHEN, X.B.; MCINTOSH, F.M. Different strains of *Saccharomyces cerevisiae* differ in their effects on ruminal bacterial numbers *in vitro* and in sheep. *J. Anim. Sci.*, v. 73, p. 1811-1818, 1995.

- NIAULT, M.; THOMAS, F.; PROST, J.; ANSARI, F.H.; KALFON, P. Fungemia due to *Saccharomyces* species in a patient treated with enteral *Saccharomyces boulardii*. *Clin. Infect. Dis.*, v. 28, p. 930, 1999.
- NICOLI, J.R. Normal gastrointestinal microbiota in domestic animals and human beings. *Enferm. Infec. Microbiol.*, v. 15, p. 183-190, 1995.
- OGGIONI, M.R.; POZZI, G.; BALENSIN, P.E.; GALIENI, P.; BIGAZZI, C. Recurrent septicemia in an immunocompromised patient due to probiotic strains of *Bacillus subtilis*. *J. Clin. Microbiol.*, v. 36, p. 325-326, 1998.
- PERAPOCH, J.; PLANES, A.M.; QUEROL, A.; LOPEZ, V.; MARTINEZ-BENDAYAN, I.; TORMO, R.; FERNANDEZ, F.; PEGUERO, G.; SALCEDO, S. Fungemia with *Saccharomyces cerevisiae* in two newborns, only one of whom had been treated with ultra-levure. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, v. 19, p. 468-470, 2000.
- PERET FILHO, L.A.; PENNA, F.J.; BAMBIRRA, E.A.; NICOLI, J.R. Dose effect of oral *Saccharomyces boulardii* treatments on morbidity and mortality in immunosuppressed mice. *J. Med. Microbiol.*, v. 47, p. 111-116, 1998.
- PLETINCX, M.; LEGEIN, J.; VANDENPLAS, Y. Fungemia with *Saccharomyces boulardii* in a 1-year-old girl with protracted diarrhea. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, v. 21, p. 113-115, 1995.
- POTHOULAKIS, C.; KELLY, C.P.; JOSHI, M.A.; GAO, N.; O'KEANE, C.J.; CASTAGLIUOLO, I.; LAMONT, J.T. *Saccharomyces boulardii* inhibits *Clostridium difficile* toxin A binding and enterotoxicity in rat ileum. *Gastroenterology*, v. 104, p. 1108-1115, 1993.
- QAMAR, A.; ABOUDOLA, S.; WARNY, M.; MICHETTI, P.; POTHOULAKIS, C.; LAMONT, J.T.; KELLY, C.P. *Saccharomyces boulardii* stimulates intestinal immunoglobulin A immune response to *Clostridium difficile* toxin A in mice. *Infect. Immun.*, v. 69, p. 2762-2765, 2001.
- RAUTIO, M.; JOUSIMIES-SOMER, H.; KAUMA, H.; PIETARINEN, I.; SAXELIN, M.; TYNKKYNNEN, S.; KOSKELA, M. Liver abscess due to a *Lactobacillus rhamnosus* strain indistinguishable from *L. rhamnosus* strain GG. *Clin. Infect. Dis.*, v. 28, p. 1159-1160, 1999.
- REID, G. Probiotic therapy and functional foods for prevention of urinary tract infections: state of the art and science. *Curr. Infect. Dis. Rep.*, v. 2, p. 518-522, 2000.
- RICHARD, V.; AUWERA, P.; SNOECK, R.; DANEAU, D.; MEUNIER, F. Nosocomial bacteremia caused by *Bacillus* species. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, v. 7, p. 783-785, 1988.
- RIJNDERS, B.J.; VAN WIJNGAERDEN, E.; VERWAEST, C.; PEETERMANS, W.E. *Saccharomyces* fungemia complicating *Saccharomyces boulardii* treatment in a non-immunocompromised host. *Intensive Care Med.*, v. 26, p.825, 2000.
- RIQUELME, A.J.; CALVO, M.A.; GUZMAN, A.M.; DEPIX, M.S.; GARCIA, P.; PEREZ, C.; ARRESE, M.; LABARCA, J.A. *Saccharomyces cerevisiae* fungemia after *Saccharomyces*

*boulardii* treatment in immunocompromised patients. *J. Clin. Gastroenterol.*, v. 36, p. 41-43, 2003.

ROBERFROID, M.B. Prebiotics: preferential substrates for specific germs? *Am. J. Clin. Nutr.*, v. 73, p. 406-409, 2001.

RODRIGUES, A.C.; NARDI, R.M.; BAMBIRRA, E.A.; VIEIRA, E.C.; NICOLI, J.R. Effect of *Saccharomyces boulardii* against experimental oral infection with *Salmonella typhimurium* and *Shigella flexneri* in conventional and gnotobiotic mice. *J. Appl. Bacteriol.*, v. 81, p. 251-256, 1996.

RODRIGUES, A.C.; CARA, D.C.; FRETEZ, S.H.G.G.; CUNHA, F.Q.; VIEIRA, E.C.; NICOLI, J.R.; VIEIRA, L.Q. *Saccharomyces boulardii* stimulates sIgA production and the phagocytic system of gnotobiotic mice. *J. Appl. Microbiol.*, v. 88, p. 1-12, 2000.

SAINT-MARC, T.; ROSSELLO-PRATS, L.; TOURAINE, J.L. Efficacy of *Saccharomyces boulardii* in the treatment of diarrhea in AIDS (letter). *Ann. Med. Intern.*, v. 142, p. 64-65, 1991.

SAVAGE, D.C. Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Annu. Rev. Microbiol.*, v. 31, p. 107-133, 1977.

SCARPIGNATO, C.; RAMPAL, P. Prevention and treatment of traveler's diarrhea: a clinical pharmacological approach. *Chemotherapy*, v. 41, p. 48-81, 1995.

SCHELLENBERG, D.; BONINGTON, A.; CHAMPION, M.; LANCASTER, R.; WEBB, S.; MAIN, J. Treatment of *Clostridium difficile* diarrhea with brewer's yeast. *Lancet*, v. 343, p. 171-172, 1994.

SINGH, R.; CHAUDHARY, L.C.; KAMRA, D.N.; PATHAK, N.N. Effect of feeding yeast *Saccharomyces cerevisiae* cell suspension on growth and nutrient utilization in rabbits. *Indian J. Anim. Sci.*, v. 65, p. 104-106, 1995.

SURAWICZ, C.M.; ELMER, G.W.; SPEELMAN, P.; MCFARLAND, L.V.; CHINN, J.; VAN BELL, G. Prevention of antibiotic-associated diarrhea by *Saccharomyces boulardii*. *Gastroenterology*, v. 96, p. 981-988, 1989a.

SURAWICZ, C.M.; MCFARLAND, L.V.; ELMER, G.; CHINN, J. Treatment of recurrent *Clostridium difficile* colitis with vancomycin and *Saccharomyces boulardii*. *Am. J. Gastroenterol.*, v. 84, p. 1285-1287, 1989b.

SURAWICZ, C.M.; MCFARLAND, L.V.; GREENBERG, R.N.; RUBIN, M.; FEKETY, R.; MULLIGAN, M.E.; GARCIA, R.J.; BRANDMARKER, S.; BOWEN, K.; BORJAL, D.; ELMER, G.W. The search for a better treatment for recurrent *Clostridium difficile* disease: use of high-dose vancomycin combined with *Saccharomyces boulardii*. *Clin. Infect. Dis.*, v. 31, 1012-1017, 2000.

SURAWICZ, C.M. Probiotics, antibiotic-associated diarrhoea and *Clostridium difficile* diarrhoea in humans. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.*, v. 17, p. 775-783, 2003.

VAUGHAN, E.E.; SCHUT, F.; HEILIG, H.G.H.J.; ZOETENDAL, E.G.; DE VOS, W.M.; AKKERMANS, A.D.L. A molecular view of the intestinal ecosystem. *Curr. Issues Intest. Microbiol.*, v. 1, p. 1-12, 2000.

VIGGIANO, M.; BADETTI, C.; BERNINI, V.; GARABEDIAN, M.; MANELLI, J.C. *Saccharomyces boulardii* fungemia in a patient with severe burns. *Ann. Fr. Anesth. Reanim.*, v. 14, p. 356-358, 1995.

WOHLT, J.E.; CORCIONE, T.J.; ZAJAC, P.K. Effect of yeast on feed intake and performance of cows fed diets based on corn silage during early lactation. *J. Dairy Sci.*, v. 87, p. 1345-1352, 1998.

ZUNIC, P.; LACOTTE, J.; PEGOIX, M.; BUTEUX, G.; LEROY, G.; MOSQUET, B.; MOULIN, M. *Saccharomyces boulardii* fungemia. A propos d'un cas. *Therapie*, v. 46, p. 498-489, 1991.

---

[1] MSc, Doutorando, Departamento de Pediatria, Faculdade de Medicina, Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biológicas, UFMG, CDTN/CNEN. E-mail: flavianosmartins@yahoo.fr.

[2] Iniciação Científica, Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biológicas, UFMG.

[3] Mestrando, Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biológicas, UFMG.

[4] Doutor, Professor Titular, Departamento de Pediatria, Faculdade de Medicina, UFMG.

[5] Doutor, Professor Adjunto, Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biológicas, UFMG.

[6] Doutor, Professor Adjunto, Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biológicas, UFMG.

[7] Doutor, Pesquisador Titular, Laboratório de Radiobiologia, Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear/Comissão Nacional de Energia Nuclear (CDTN/CNEN).

[8] Doutor, Professor Titular, Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biológicas, UFMG.