

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA
CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO EM MICROBIOLOGIA

Ação probiótica da levedura *Saccharomyces boulardii*

Silvia Helena Sousa Pietra Pedroso

Belo Horizonte
2011

Silvia Helena Sousa Pietra Pedroso

Ação probiótica da levedura *Saccharomyces boulardii*

Monografia apresentada ao Departamento
de Microbiologia da Universidade Federal de
Minas Gerais, como requisito parcial para
obtenção do título de Especialista
em Microbiologia aplicada às Ciências
ambientais e industriais.

Orientador: Prof. Flaviano dos Santos Martins

Belo Horizonte

2011

Agradecimentos

A minha mãe, Mariângela e ao meu pai, Enio, por sempre me apoiarem e me incentivarem.

Ao meu irmão, Vinicius, pela colaboração e companheirismo.

A todos os meus familiares, por sempre acreditarem em mim.

Ao professor Flaviano, pela oportunidade de realização deste trabalho, paciência e orientação.

Aos amigos e professores do curso de Especialização em Microbiologia, por tornarem essa caminhada mais agradável.

À Tete e Rachel, pela eterna amizade.

Ao Sandro, pela torcida, incentivo e amor.

As minhas queridas magas amigas, pelo apoio e compreensão nos momentos de ausência.

“Seja a mudança que deseja ver no mundo”

Mahatma Gandhi

RESUMO

Os micro-organismos vivos que, quando administrados em quantidade suficiente, conferem benefício à saúde do hospedeiro são denominados probióticos. Tais micro-organismos são utilizados em preparações farmacêuticas ou produtos fermentados. *Saccharomyces boulardii*, uma levedura não patogênica, foi isolada da fruta lichia, na Indochina, e cresce na temperatura de 37°C. Ela tem sido utilizada para o tratamento de diferentes tipos de diarreias como: diarreia associada ao uso de antibióticos, diarreia associada ao *Clostridium difficile*, diarreia do viajante e diarreia em pacientes infectados pelo HIV. No presente estudo, foi avaliado o atual conhecimento sobre os efeitos benéficos que *S. boulardii* possui nas doenças do trato gastrointestinal e os mecanismos de ação desse probiótico. Foi demonstrado que essa levedura apresenta eficácia clínica comprovada e que possui diferentes tipos de mecanismos de ação, que por sua vez, podem ser classificados em três áreas principais: ação no lúmen, ação trófica e efeitos de sinalização anti-inflamatórios na mucosa. No entanto, apesar da levedura apresentar eficiência clínica comprovada na prevenção e tratamento de diarreias, a afirmação de que os probióticos possuem efeito benéfico para o hospedeiro, necessita de avaliação rigorosa e seus mecanismos de ação precisam ser mais bem compreendidos antes de qualquer declaração final sobre o valor clínico destes produtos disponíveis na indústria farmacêutica e alimentícia.

Palavras-chave: probióticos, *S. boulardii*, mecanismos de ação.

ABSTRACT

The microorganisms which when administered in sufficient amounts, confer health benefits of the host are called probiotics. These microorganisms are used in pharmaceutical preparations or fermented products. *Saccharomyces boulardii*, a nonpathogenic yeast, was isolated from lychee fruit in Indochina, and grows at 37 °C. It has been used to treat different kinds of diarrhea, like: antibiotics associated diarrhea, *Clostridium difficile*-associated diarrhea, traveler's diarrhea and diarrhea in HIV-infected patients. In the present study, was assessed the current knowledge about the beneficial effects of *S. boulardii* in diseases of the gastrointestinal tract and the mechanisms of action of this probiotic. It has been shown that this yeast has proven clinical efficacy and presents different mechanisms of action, which can be classified into three main areas: action in the lumen, trophic actions and effects of anti-inflammatory signaling in the mucosa. However, although yeast have proven clinical effectiveness in the prevention and treatment of diarrhea, the claim that probiotics have a beneficial effect on the host, requires rigorous evaluation and their mechanisms of action need to be better understood before any final statement on the clinical value of these products in the pharmaceutical and food industries.

Key-words: probiotics, *S. boulardii*, mechanisms of action

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. JUSTIFICATIVA	13
3. METODOLOGIA	16
4. PROBIÓTICOS	17
4.1. Histórico de uso e definição	17
4.2. Prebióticos e Simbióticos	22
4.3. Efeitos benéficos dos probióticos	22
4.4. Probióticos na dieta animal	27
4.5. Probióticos na dieta humana	28
4.6. Mecanismos de ação dos probióticos	29
5. A LEVEDURA <i>Saccharomyces boulardii</i>	34
5.1. Taxonomia	34
5.2. Histórico	37
5.3. Aplicações clínicas	38
5.3.1. <i>Diarréia associada ao uso de antibióticos</i>	38
5.3.2. <i>Diarréia provocada por Clostridium difficile</i>	40
5.3.3. <i>Diarréia do viajante</i>	42
5.3.4. <i>Doença de Crohn</i>	44
5.3.5. <i>Diarréia em pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV)</i>	45

5.4. Mecanismos de ação	46
<i>5.4.1. Ações no nível celular</i>	<i>47</i>
<i>5.4.2. Ações no nível bacteriano</i>	<i>49</i>
<i>5.4.3. . Efeito anti-inflamatório</i>	<i>54</i>
<i>5.4.4. Outros efeitos</i>	<i>55</i>
6. VANTAGENS E DESVANTAGENS DA UTILIZAÇÃO DA LEVEDURA... 57	
7. CONCLUSÃO	59
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60

1. INTRODUÇÃO

O consumo de misturas contendo micro-organismos vivos na forma de alimentos fermentados está associado há anos com efeitos benéficos na saúde e longevidade humanas (PERITI & TONELLI, 2002). O uso de leites fermentados para tratar sintomatologias gastrointestinais data da antiguidade (LEWIS & FREEDMAN, 1998). Em 1907, Elie Metchnikoff forneceu a primeira explicação científica dos efeitos benéficos de iogurtes. O cientista sugeriu que os lactobacilos ingeridos nesse alimento poderiam gerar influência positiva na microbiota indígena do trato intestinal (CZERUCKA *et al.*, 2007). Tal influência poderia se dar pela produção de ácido láctico pela bactérias ingeridas, o que resultaria na inibição do crescimento de algumas espécies patogênicas.

A microbiota normal, ou indígena, possui micro-organismos com efeitos benéficos (*Bifidobacterium*, *Eubacterium* e *Lactobacillus*) e micro-organismos com efeitos deletérios (*Clostridium* e *Veillonella*) para o hospedeiro (ROBERFROID, 2001). Constitui-se, portanto, em um ecossistema extremamente complexo e dinâmico, incluindo mais de 2000 espécies de micro-organismos que coexistem em equilíbrio com o hospedeiro (ZANELLO *et al.*, 2009). No entanto, quando esse balanço microbiano é alterado, podem ocorrer distúrbios clínicos, já que a microbiota indígena possui papel importante sobre o trato gastrointestinal (CZERUCKA *et al.*, 2007).

Estudos recentes têm relacionado o desequilíbrio da microbiota intestinal às doenças do trato gastrointestinal como: diarreias associadas ao uso de antibióticos, úlceras, síndrome do intestino irritável e câncer de cólon (CZERUCKA *et al.*, 2007).

Acredita-se que a microbiota indígena seja a principal reguladora do sistema imunológico.

Dessa forma, várias tentativas têm sido feitas para melhorar a saúde de indivíduos afetados por meio da modulação da microbiota intestinal, utilizando micro-organismos vivos denominados probióticos (CZERUCKA & RAMPAL, 2002).

O termo probiótico foi criado como antônimo a antibiótico e, originalmente, foi proposto por LILLEY & STILLWELL (1965), significando aquele que favorece o crescimento de micro-organismos. PARKER (1974) usou o termo probiótico para denominar suplementos alimentares destinados a animais, incluindo micro-organismos e substâncias que afetam o equilíbrio da microbiota intestinal. Em 1989, FULLER definiu probiótico como “suplemento microbiano vivo que afeta benéficamente o animal hospedeiro graças à melhoria no balanço microbiano intestinal”. Esta definição pode ser estendida ao hospedeiro humano como “micro-organismos não-patogênicos que, quando ingeridos, exercem influência positiva na saúde ou fisiologia do hospedeiro” (MARTEAU *et al.*, 2001) ou, como “preparação ou produto contendo micro-organismos viáveis, em número suficiente, para alterar a microbiota em um compartimento do hospedeiro ou para exercer efeitos benéficos no hospedeiro (SCHREZENMEIR & DE VRESE, 2001). Esta definição enfatiza que outros compartimentos do corpo podem ser alvos dos probióticos, além do intestino, onde uma alteração da microbiota pode exercer um efeito benéfico.

Em 1992, HAVENAAR & HUIJNS IN 'T VELD, consideraram que probióticos são culturas únicas ou mistas de micro-organismos que, administrados a animais ou humanos, produzem efeitos benéficos no hospedeiro por incremento das propriedades da microbiota nativa.

Em 2002, a FAO/WHO (“Food and Agricultural Organization / World Health Organization”) propôs como definição para probiótico “um microrganismo vivo que, quando ingerido em quantidades suficientes, confere benefício à saúde do hospedeiro”.

No entanto, nos últimos anos, a definição de probiótico apresentou alterações, principalmente pelo reconhecimento que tais produtos bacterianos podem influenciar nos resultados fisiológicos, distantes do lúmen intestinal (CZERUCKA *et al.*, 2007).

Além disso, a ativação de mecanismos que protegem a mucosa local e a modulação de funções efetoras da imunidade adaptativa podem influenciar os níveis de proteção e o grau de inflamação de toda mucosa. Essas observações deslocaram o conceito de probióticos da estreita faixa de laticínios isolados e que podem “promover saúde” para o conceito de „imunobióticos” (CLANCY, 2003).

A maioria dos probióticos utilizados são bactérias. Linhagens de *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus rhamnosus* GG – antigamente *Lactobacillus casei* – provavelmente possuem o maior histórico em aplicações como probióticos devido aos efeitos benéficos para a saúde do hospedeiro (CZERUCKA *et al.*, 2007). Apesar do fato de que a grande maioria dos micro-organismos utilizados como probióticos para uso humano serem bactérias, e de origem humana, vários estudos comprovaram a eficácia de uma levedura de origem ambiental, *Saccharomyces boulardii*, na prevenção e tratamento de diarreias (SAZAWAL *et al.*, 2006). *Saccharomyces boulardii* é uma levedura não patogênica, termotolerante, que cresce em temperatura de 37°C e de uso muito difundido na medicina humana (MCFARLAND & BERNASCONI, 1993).

A partir de 1960 iniciou-se a comercialização da levedura liofilizada (BUTS & KEYSER, 2006) pelo “Laboratoires Biocodex” (Paris, França). Assim, seu uso como medicamento para combate às diarreias foi difundido em toda Europa e está disponível no mercado sob diversos nomes comerciais, tais como: Ultra-Levure® (França), Florastor® (Estados Unidos), Precosa® (Dinamarca), Levucell® (Lallemand, Canadá), Perenterol® (Alemanha), Perenteryl® (Chile), Codex® (Itália), Floratil® (Brasil) (MARTINS, 2008).

Atualmente, a levedura é amplamente comercializada na Europa, Américas do Sul e do Norte, Ásia e África (MCFARLAND & BERNASCONI, 1993) e recentemente seu uso foi liberado pela FDA (Food and Drug Administration) nos Estados Unidos (FLORASTOR, 2011). Os direitos de comercialização para a América do Sul foram adquiridos pelas Indústrias Químicas da MERCK S.A. Além disso, outras preparações contendo *S. boulardii* estão disponíveis no Brasil (MARTINS, 2008).

Dessa forma, o objetivo do presente trabalho é revisar e resumir o atual conhecimento sobre os efeitos benéficos que *S. boulardii* possui nas doenças do trato gastrointestinal e os mecanismos de ação desse probiótico.

2. JUSTIFICATIVA

A diarreia é a principal causa de morbidade e mortalidade infantil em países em desenvolvimento (ZANELLO *et al.*, 2009), podendo evoluir de forma aguda ou crônica. No entanto, seu tratamento e prognóstico permanecem como desafio para a comunidade científica a fim de proteger a vida de milhares de pessoas.

Nesse sentido, muita atenção tem sido dada, nas últimas décadas, à modulação da microbiota intestinal normal por adjuvantes microbianos vivos, conhecidos como probióticos, a fim de beneficiar a saúde do hospedeiro e prevenir ou tratar doenças.

Esses organismos vêm sendo propostos como medicamentos para prevenção ou tratamento de um grande número de desordens gastrointestinais, uma vez que apresentam basicamente os mesmos efeitos 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 da levedura *S. boulardii*.

Além do mais, uma das principais preocupações da Organização Mundial de Saúde é a implementação de novas terapias que não atuem como uma forte pressão seletiva, propiciando a geração de patógenos cada vez menos agressivos e resistentes.

A levedura *S. boulardii* parece proteger o trato gastrointestinal de processos inflamatórios, com eficácia clínica e experimental, por intermédio de modulação do sistema imunológico (POTHOULAKIS, 2009). O *S. boulardii*, dessa forma, é

reconhecido como o único micro-organismo de origem ambiental com propriedades probióticas, que é utilizado, atualmente, em todo o mundo.

A utilização de um micro-organismo vivo como terapia aumenta os potenciais riscos em quatro áreas: transferência de genes que conferem resistência a antibióticos, translocação do organismo vivo do intestino para outras áreas do corpo, persistência no intestino e desenvolvimento de reações adversas (MCFARLAND, 2010).

As três primeiras preocupações teóricas possuem um impacto mínimo na levedura *S. boulardii*. Diferentemente de outras linhagens bacterianas de probióticos, não há transferência de material genético entre bactérias e leveduras (CZERUCKA *et al.*, 2007). Dados obtidos por meio de modelos animais, também mostram que a translocação de *S. boulardii* é reduzida (LESSARD *et al.*, 2009). Além disso, estudos farmacocinéticos indicam que *S. boulardii* não persiste no organismo após 3-5 dias de interrompido o tratamento (KLEIN *et al.*, 1993).

A utilização de *S. boulardii* torna-se, portanto, uma alternativa mais segura durante uma terapia realizada com antibióticos (CZERUCKA *et al.*, 2007).

No entanto, há poucos dados convincentes para apoiar as reivindicações feitas sobre probióticos e seus benefícios à saúde (LEWIS & FREEDMAN, 1998). E os estudos existentes podem ser alvos de críticas devido às suas pobres formas de condução, inclusão de pacientes – que são administrados com mais de uma classe de antibióticos -, falhas ao observar as causas efetivas da diarreia e falta de acompanhamento desses pacientes depois de interrompida a terapia (LEWIS & FREEDMAN, 1998).

Dessa forma, a afirmação de que os probióticos possuem efeito benéfico para o hospedeiro, necessita de avaliação rigorosa e seus mecanismos de ação precisam ser melhor entendidos antes de qualquer declaração final sobre o valor clínico destes produtos disponíveis na indústria farmacêutica e alimentícia.

3. METODOLOGIA

Foi realizada uma avaliação da literatura disponível no site “PubMed” utilizando “*Saccharomyces boulardii*” e “probiotics” como palavras-chave.

4. PROBIÓTICOS

4.1. Histórico de uso e definição

Embora o termo e a definição precisa de probiótico tenham sido introduzidos a partir de 1990, o interesse por micro-organismos potencialmente benéficos para a saúde vem de longo tempo (SANTOS, 2010). Relatos dos efeitos benéficos de bactérias na alimentação datam desde a versão Persa do Velho Testamento (Gênesis 18:8), que relata que “Abraão atribuiu sua longevidade ao consumo de leite azedo”. Plínio, um historiador romano, em 76 a.C., recomendou o uso de leite fermentado para o tratamento de gastroenterites (TEITELBAUM & WALKER, 2002).

Estudos no final do século XIX, nos primórdios da Microbiologia, detectavam diferenças entre a microbiota intestinal de pessoas doentes e a de pessoas saudáveis, despertando para a importância da mesma na manutenção do estado de saúde (SANTOS, 2010).

A observação inicial deste efeito benéfico foi atribuída a Metchnikoff (1845-1916), que por sua vez, sugeriu que o uso de bactérias poderia influenciar positivamente a microbiota do trato intestinal e prolongar a vida (METCHNIKOFF, 1907). O cientista observou que a população da Bulgária tinha uma média de vida superior à do restante da Europa e correlacionou esta observação com a grande ingestão de coalhada pelos búlgaros. Metchnikoff, naquela época um professor no Instituto Pasteur em Paris, propôs a hipótese de que o processo de envelhecimento resultaria da putrefação (atividade proteolítica) microbiana, que por sua vez é capaz de produzir substâncias tóxicas no intestino grosso. Bactérias proteolíticas tais como

os clostrídios, que fazem parte da microbiota intestinal normal, produzem substâncias tóxicas, incluindo fenóis, indóis e amônia a partir da digestão de proteínas. De acordo com Metchnikoff estes compostos foram responsáveis por aquilo que ele chamou de "auto-intoxicação intestinal", o que causaria as mudanças físicas associadas à velhice (GUARNER *et al.*, 2008).

A partir deste dado, Metchnikoff supôs que os lactobacilos eram importantes para a saúde humana e passou a defender o uso de iogurtes e alimentos fermentados.

Henry Tissier (do Instituto Pasteur), trabalhando com crianças alimentadas no peito ou não, observou que as primeiras possuíam menos episódios de diarreia e uma microbiota diferente. Desse modo, ele isolou pela primeira vez uma bactéria de um lactente alimentado no peito, à qual denominou *Bacillus bifidus communis* e sugeriu o uso desse micro-organismo para tratar diarreia infantil. Posteriormente descobriu-se que se tratava de uma bifidobactéria. Tissier postulava que as bifidobactérias deslocariam as bactérias proteolíticas que provocavam a diarreia e recomendou a administração de bifidobactéria aos lactentes que padeciam deste sintoma (GUARNER *et al.*, 2008).

Em 1917, em plena Primeira Guerra Mundial, os soldados alemães apresentaram problemas intestinais provocados, principalmente, por surtos de shigelose. Nessa época, o professor alemão Alfred Nissle isolou uma linhagem não patogênica de *Escherichia coli* das fezes de um dos soldados da Primeira Guerra Mundial que não tinha desenvolvido enterocolite (GUARNER *et al.*, 2008) e reinoculou essa bactéria em soldados que apresentavam diarreia. O professor obteve efeitos positivos e os transtornos do trato gastrointestinal começaram a ser

tratados de forma frequente com tais bactérias não patogênicas, no intuito de mudar ou substituir a microbiota intestinal.

Em 1920, RETTGER & CHEPLIN demonstraram que o "Bacillus búlgaro" de Metchnikoff, mais tarde chamado *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, não era capaz de sobreviver no intestino humano, e o fenômeno atribuído à ingestão de alimentos fermentados definiu.

No entanto, após a morte de Metchnikoff, em 1916, o centro de atividade mudou para os Estados Unidos e aí foi fundamentado que as bactérias provenientes do intestino tinham maior probabilidade de produzir o efeito desejado no intestino, e em 1935, demonstrou-se que algumas linhagens de *Lactobacillus acidophilus* eram capazes de colonizar o intestino humano e tratar constipação crônica (RETTGER *et al.*, 1935), o que deu um novo fôlego ao uso de micro-organismos com efeitos benéficos.

Estas observações levaram ao conceito de "probiótico", derivado do grego, cujo significado é "para a vida" (TEITELBAUM & WALKER, 2002).

Apesar das suas aplicações no trato gastrointestinal, existem alguns trabalhos científicos que comprovam a eficácia dos probióticos nas infecções do trato urogenital (HALLEN *et al.*, 1992; HILTON *et al.*, 1992; REID & BRUCE, 1995; PARENT *et al.*, 1996; ASAHARA *et al.*, 2001; REID, 2001; REID *et al.*, 2001; SOYLU, *et al.*, 2008), nas infecções causadas pelo *Helicobacter pylori* (KABIR *et al.*, 1997; SZAJEWSKA, *et al.*, 2010; SONG, *et al.*, 2010; HURDUC, *et al.*, 2009), infecções na boca e dentes (BAYONA GONZALES *et al.*, 1990; BUSSCHER *et al.*, 1999), infecções do trato respiratório (CANGEMI DE GUTIERREZ *et al.*, 2000;

GRANGETTE *et al.*, 2001) e outras (BAUTISTA-GARFIAS *et al.*, 1999; KLIGER & COHRSEN, 2008; SAMONIS *et al.*, 2011).

Apesar de OUWEHAND & SALMINEN (1998) relatarem que para garantir eficácia é de suma importância a viabilidade do probiótico, alguns trabalhos sugerem que micro-organismos não-viáveis podem exercer algum efeito benéfico: KAILA *et al.* (1992), utilizando micro-organismos não-viáveis, observaram uma diminuição na duração de diarreia por rotavirus; VESA *et al.* (2000) observaram uma melhor tolerância à lactose; BUTS & KEYSER (2006), GENEROSO *et al.* (2010 e 2011) observaram que os efeitos do micro-organismo morto por calor era o mesmo provocado pelo micro-organismo vivo.

Apesar da controvérsia, em geral o micro-organismo empregado necessita de condições de ser reativado, para que possa exercer seu efeito benéfico (MARTINS, 2008). Esta exigência reduz o número de micro-organismos que podem atuar como medicamento, já que o intestino humano apresenta uma microbiota extremamente competitiva, que funciona como uma barreira física e química, conhecida como “barreira intestinal”, possuindo mecanismos poderosos de combate a micro-organismos não autóctones (SAAVEDRA, 1995; CHANDAN, 1994).

Embora não sejam mencionadas dosagens específicas para ingestão de probióticos, considera-se que, pelo menos, 10^9 unidades formadoras de colônias (UFCs)/dia de micro-organismos devam ser ingeridos para chegar ao intestino em níveis iguais aos da microbiota dominante (OUWEHAND *et al.* 2002).

Os probióticos têm sido referidos, também, como agentes bioterapêuticos e alimentos funcionais. Porém, alguns autores preferem se referir a eles como termos distintos, definindo probióticos como “um suplemento microbiano vivo, que afeta

beneficamente o animal hospedeiro graças à melhoria no balanço microbiano intestinal”, e alimentos funcionais como “agentes (vivos ou não) que possuem outras funções de seu papel nutricional”, e reservam o termo “agentes bioterapêuticos” para “micro-organismos vivos que possuem eficácia comprovada na prevenção ou tratamento de alguma doença pela interação com a microecologia natural do hospedeiro” (MARTINS, 2008).

Neste último caso, vários autores consideram a levedura *S. boulardii* e a bactéria *Lactobacillus rhamnosus* GG como os principais agentes bioterapêuticos atualmente estudados e comercializados, conforme revisado por ELMER *et al.* (1996), MCFARLAND (2000), ELMER & MCFARLAND (2001), KLIGER *et al.* (2008) e GOLDIN & GORBACH (2008). Além disso, BERNI *et al.* (2011) relata que *S. boulardii* é a única levedura usualmente utilizada na prática clínica.

Entre os probióticos mais estudados, tanto experimentalmente quanto clinicamente, estão as bactérias e uma levedura. Alguns já são comercializados sob a forma de suplemento alimentar ou preparações farmacêuticas, contendo um ou vários micro-organismos. Entre os principais probióticos estão as bactérias do ácido láctico (BAL), que incluem os lactobacilos (*Lactobacillus lactis*, *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. fermentum*, *L. casei*, *L. bulgaricus*, *L. rhamnosus*, *L. paracasei*, *L. jensenii*, *L. reuteri*, *L. johnsonii*, *L. helveticus*, *L. gasseri*), *Enterococcus faecium* SF68 e *E. faecalis*, *Streptococcus salivarius* e *S. thermophilus*, *Pediococcus acidilactici* e espécies de *Leuconostoc* e *Lactococcus*. Além das BAL, temos também as bifidobactérias (*Bifidobacterium bifidum*, *B. longum*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. animalis*, *B. adolescentis*), *Escherichia coli* EMO e *E. coli* Nissle, *Bacillus subtilis* e *B.*

toyoi, e as leveduras *S. boulardii* e *S. cerevisiae*. Esta última, geralmente, é utilizada apenas na medicina veterinária (MARTINS, 2008).

4.2. Prebióticos e Simbióticos

Além dos probióticos, também são estudados os prebióticos e os simbióticos.

Os prebióticos são ingredientes alimentares não-digeríveis, que promovem a saúde do hospedeiro ao estimular a multiplicação ou a ação de uma espécie bacteriana - ou um grupo delas - benéfica no trato digestivo (MARTINS, 2008). A lactulose, os frutooligossacarídeos (FOS) e a inulina são os prebióticos mais estudados e comercializados (ROBERFROID, 2001). O primeiro aumenta a atividade lactofermentativa de populações de *Lactobacillus*, e os FOS estimulam o crescimento de *Bifidobacterium*. É interessante salientar que o desenvolvimento dos prebióticos veio da descoberta dos fatores “bifidus”, grupo de oligossacarídeos presentes em maior quantidade no leite humano e que favorecem a multiplicação de *Bifidobacterium* de recém-nascidos amamentados no seio. Já os simbióticos são combinações de probióticos e prebióticos (NICOLI & VIEIRA, 2000).

4.3. Efeitos benéficos dos probióticos

Entre os efeitos benéficos dos probióticos estão a modulação da resposta imune (SCHIFFRIN *et al.*, 1997; NEUMANN *et al.*, 1998; TEJADA-SIMON *et al.*, 1999; ISOLAURI *et al.*, 2001; HE *et al.*, 2002; TEITELBAUM & WALKER, 2002; REID *et al.*, 2001), o balanço da microbiota normal (PERDIGON *et al.*, 2001; REID *et*

al., 2001), a redução de enzimas fecais responsáveis pelo início do desenvolvimento de alguns tipos de cânceres (HIRAYAMA & RAFTER, 2000; TEITELBAUM & WALKER, 2002; DE VRESE & SCHREZENMEIR, 2008), prevenção de doenças atópicas (ISOLAURI *et al.*, 2001; KALLIOMAKI *et al.*, 2001; KALLIOMAKI *et al.*, 2003; KIRJAVAINEN *et al.*, 2003; ARVOLA *et al.*, 2004; KLIGLER & COHRSEN, 2008) e alérgicas (HOPPU *et al.*, 2001; ISOLAURI, 2001; KIRJAVAINEN *et al.*, 2001; TEITELBAUM & WALKER, 2002; LAIHO *et al.*, 2002; RAUTAVA & ISOLAURI, 2002; KALLIOMAKI *et al.*, 2003; DE VRESE & SCHREZENMEIR, 2008; PHAM *et al.*, 2008), tratamento da diarreia do viajante (SCARPIGNATO & RAMPAL, 1995; KLIGLER & COHRSEN, 2008; PHAM *et al.*, 2008; GOLDIN & GORBACH, 2008), tratamento da diarreia associada ao uso de antibióticos (BARTLETT, 1992; TEITELBAUM & WALKER, 2002; KLIGLER & COHRSEN, 2008; PHAM *et al.*, 2008) e da diarreia infecciosa aguda (KAILA *et al.*, 1992; FIGUEIREDO *et al.*, 2001; KLIGLER & COHRSEN, 2008; PHAM *et al.*, 2008; GOLDIN & GORBACH, 2008), o controle da infecção por rotavírus e *Clostridium difficile* (MCFARLAND *et al.*, 1994; PHAM *et al.*, 2008; GOLDIN & GORBACH, 2008), proteção contra a ação de patógenos (SILVA *et al.*, 1999), o papel de coadjuvante no tratamento com antibióticos no combate às úlceras causadas pelo *H. pylori* (AIBA *et al.*, 1998; TEITELBAUM & WALKER, 2002), a redução do colesterol do soro (EYSEN, 1973; LIN *et al.*, 1989; FUKUSHIMA & NAKANO, 1996; BEENA & PRASAD, 1997; TEITELBAUM & WALKER, 2002), o antagonismo contra enteropatógenos (NICOLI & RAIBAUD, 1990; VANDENBERG, 1993; LIMA FILHO *et al.*, 2000; SILVA *et al.*, 2001), alívio da constipação intestinal (GOLDIN, 1992), o auxílio na absorção da lactose em pessoas com intolerância a este açúcar (SANDERS *et al.*, 1996; VESA *et*

al., 2000; GOLDIN & GORBACH, 2008), alívio dos sintomas da síndrome do intestino irritável (TEITELBAUM & WALKER, 2002; KLIGLER & COHRSEN, 2008; PHAM *et al.*, 2008; GOLDIN & GORBACH, 2008), prevenção de necrose na região entérica em neonatos (TEITELBAUM & WALKER, 2002; PHAM *et al.*, 2008), diarreia viral (TEITELBAUM & WALKER, 2002) prevenção de cáries dentárias (GOLDIN & GORBACH, 2008) e prevenção de infecções do trato respiratório (resfriado comum, gripe) e outras doenças infecciosas assim como tratamento de infecções urogenitais (DE VRESE & SCHREZENMEIR, 2008; REID *et al.*, 2001). Exemplos de alguns produtos alimentícios contendo bactérias probióticas comercializadas no Brasil estão representados na tabela 1, enquanto que exemplos de produtos farmacêuticos contendo bactérias probióticas comercializadas no Brasil estão representados na tabela 2.

Tabela 1 – Produtos alimentícios contendo bactérias probióticas comercializados no Brasil

Categoria do produto	Produto	Produtor	Probióticos
Leite Fermentado	Yakult	Yakult	<i>L. casei</i> cepa Shirota
	Chamyto	Nestlé	<i>L.johnsonii</i> <i>L. helveticus</i>
	Leite Fermentado Parmalat	Parmalat	<i>L.casei</i> <i>B.lactis</i> <i>L. acidophilus</i>
	Vigor Club-Poke-mons	Vigor	<i>L.casei</i> <i>L. acidophilus</i>
Leite Fermentado Aromatizado	Batavito	Batavo	<i>L. casei</i>
	LC1 Active (sabor laranja)	Nestlé	<i>S.thermophilus</i> <i>L. bulgaricus</i> <i>L. acidophilus</i> NCC 208
Iogurte	Iogurte Biofibras	Batavo	<i>B. lactis</i> <i>L. acidophilus</i>
	Dietalact	Parmalat	<i>B. lactis</i> <i>L acidophilus</i>

Fonte: OLIVEIRA *et al.*, 2002

Tabela 2: Produtos farmacêuticos contendo bactérias probióticas comercializadas no Brasil

Categoria do produto	Produto	Produtor	Probióticos	Funções atribuídas
Suplemento alimentar Envelopes de 3 g para misturar com bebidas frias	Biotura	Chr. Hansen	<i>L. acidophilus</i> <i>B. lactis</i> 10 ⁹ UFC	Manter a flora intestinal em equilíbrio
Suspensão oral	Leiba	União Química-Farmacêutica Nacional	<i>L. acidophilus</i> 2,0 x10 ⁸ UFC	Normalizar o equilíbrio da microbiota intestinal
Comprimidos	Floratil	Merck	<i>Saccharomyces</i> <i>boulardii</i>	Normalizar o equilíbrio da microbiota intestinal

Fonte: OLIVEIRA *et al.*, 2002

Para que um micro-organismo utilizado como probiótico exerça o seu efeito benéfico, além de permanecer viável durante sua passagem pelo sistema gastrointestinal, o seu nível populacional deve ser igual ou maior que 10 milhões de células por grama de conteúdo fecal (NICOLI & VIEIRA, 2000). Para isso, ele deve ser ingerido diariamente, para manter seus níveis artificialmente elevados no ecossistema digestivo. À exceção dos *L. rhamnosus* GG e *Lactobacillus casei rhamnosus* Lcr35, não se conhecem probióticos capazes de persistir por um longo

período no trato digestivo do adulto (ALANDER *et al.*, 1999; DE CHAMPS *et al.*, 2003).

4.4. Probióticos na dieta animal

FERREIRA & KUSSAKAWA (1999) relataram que a administração do probiótico *B. subtilis* em granjas de frangos de corte acarretava um aumento da musculatura e uma diminuição da quantidade de gordura, além de uma diminuição na porcentagem de isolamento da *Salmonella* de 60 para 20%. Ainda com este probiótico, observou-se um aumento na atividade das enzimas tripsina, amilase e lipase nos frangos. Foi obtida uma diminuição no número de coliformes fecais, em frangos de corte, utilizando o probiótico *Bacillus natto* (FERREIRA & KUSSAKAWA, 1999). NADER DE MACIAS *et al.* (1992) observaram que *Lactobacillus* spp. competia com micro-organismos indesejáveis do intestino, aumentando, desse modo, a saúde do animal. MAIA *et al.* (2001) observaram o efeito protetor da bactéria *E. faecium*, um componente de um produto comercial (Vitacanis®) composto por *L. acidophilus*, *E. faecium* e *S. cerevisiae*, durante desafio experimental com o enteropatógeno *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorovar. Typhimurium.

Na dieta de ruminantes usa-se muito a levedura *S. cerevisiae*. Ela estimula a atividade dos micro-organismos benéficos do trato gastrointestinal, aumentando, deste modo, a digestibilidade de nutrientes e o potencial de produção dos animais (NEWBOLD *et al.*, 1995; SINGH *et al.*, 1995; WOHLT *et al.*, 1998; PEREIRA *et al.*, 2001; ZEOULA *et al.*; 2008; QUEIROZ *et al.*, 2004).

4.5. Probióticos na dieta humana

O uso de micro-organismos com efeitos benéficos na dieta humana vem sendo amplamente difundido, tanto como suplemento alimentar (leite, leites acidófilos, iogurtes e coalhadas), como na forma de medicamento, como é o caso, no Brasil, da levedura *S. boulardii*, do *Lactobacillus* GG e, mais recentemente, o *L. casei* Shirota (MARTINS, 2008).

O consumo de probióticos como suplemento alimentar é devido, especialmente, à capacidade de várias bactérias diminuírem o colesterol circulante no soro – por exemplo, as bactérias do ácido láctico (MARTINS, 2008). Tais bactérias promovem um aumento notável no HDL (lipoproteínas de alta densidade) e diminuem a quantidade de LDL (lipoproteínas de baixa densidade) (BEENA & PRASAD, 1997).

Outro modo pelo qual estas bactérias conseguem diminuir o colesterol é acelerando a conversão desta substância em ácidos biliares, o que diminui a concentração de colesterol no soro (EYSSSEN, 1973; FUKUSHIMA & NAKANO, 1996).

Várias bactérias podem auxiliar na prevenção do câncer de cólon (LIDBECK *et al.*, 1992; LING *et al.*, 1992; LING *et al.*, 1994; WOLLOWSKI *et al.*, 1999), na absorção da lactose em pessoas que não conseguem digerir este açúcar (SANDERS *et al.*, 1996), na produção de certas vitaminas, principalmente a vitamina K e vitaminas do complexo B e no aumento populacional de certas bactérias desejáveis (BENNA *et al.*, 1997; MATTILA-SANDHOLM *et al.*, 1999).

Quanto ao efeito medicamentoso exercido por estes micro-organismos, cita-se, principalmente, o uso na recomposição da microbiota após tratamentos com antibióticos de amplo espectro, durante o curso de vários tipos de diarreias e outros usos (MARTINS, 2008).

4.6. Mecanismos de ação dos probióticos

Segundo MARTINS (2008) existem vários mecanismos propostos para explicar os efeitos benéficos dos probióticos:

- Produção de substâncias inibidoras de outros micro-organismos. Os micro-organismos produzem substâncias que inibem o crescimento de vários patógenos (SILVA *et al.*, 1987; VANDENBERG, 1993). Essas substâncias incluem os ácidos orgânicos, peróxido de hidrogênio, bacteriocinas, dentre outras. Estes compostos, além de reduzirem o número de células bacterianas viáveis, afetam o metabolismo bacteriano ou a produção de toxinas (ROLFE, 2000). PONGPECH & HENTGES (1989) constataram que as bactérias do ácido lático são capazes de produzir ácidos graxos voláteis, que são responsáveis pelo controle da colonização do intestino pela *Shigella sonnei* e *E. coli* enteropatogênica.
- Competição por sítios de adesão e por nutrientes. Vários micro-organismos usados como probióticos competem por sítios de adesão na superfície do epitélio intestinal e, por nutrientes (Figura 1), inibindo, deste modo, a fixação e a sobrevivência de patógenos (BERNET *et al.*,

1994; COCONNIER *et al.*, 1998; LAZADO *et al.*, 2011; YOON & SUN, 2011). Um exemplo disso é o patógeno intestinal *Vibrio cholerae*, que precisa aderir à parede intestinal para colonizá-la e produzir a doença.

Conseqüentemente, alguns probióticos são escolhidos devido à capacidade de adesão ao epitélio e competição pelos receptores, conforme demonstrado por TANNOCK (1986). Em 1988, WILSON & PERINI observaram, *in vitro*, que os micro-organismos do intestino competem mais efetivamente pela glicose, pela N-acetilglicosamina e pelo ácido silíaco, que o patógeno *C. difficile*.

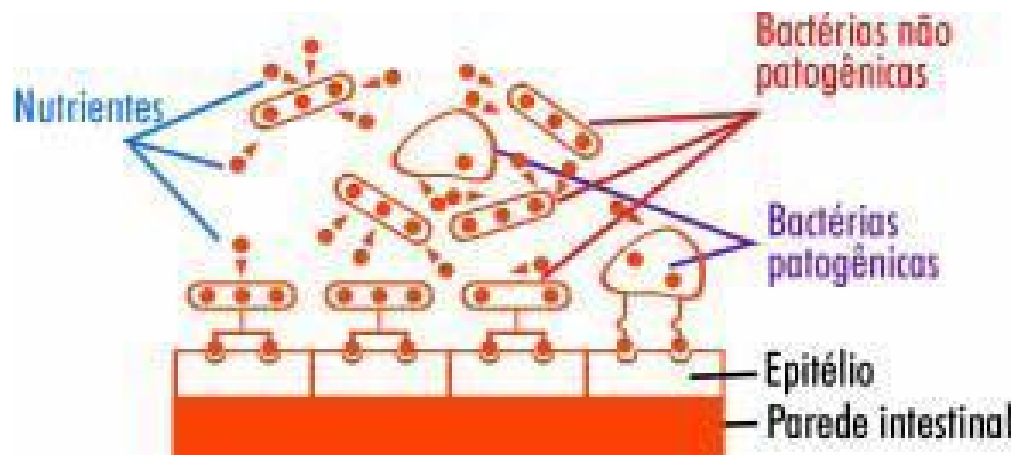


Figura 1: As bactérias patogênicas e não patogênicas geralmente competem por nutrientes. As não patogênicas têm maior poder de competição, colonizando melhor o intestino (FOX, 1988).

- Inibição da produção ou ação de toxinas. A levedura *S. boulardii* pode proteger os animais contra a ação do *C. difficile* pela liberação de uma protease que cliva as toxinas A e B dessa bactéria, inibindo, deste modo, os efeitos na mucosa do cólon (CASTAGLIUOLO *et al.*, 1999).

Outro mecanismo proposto é a ligação da toxina do cólera em sítios específicos desta levedura (BRANDÃO *et al.*, 1998).

- Modulação do sistema imune. Evidências sugerem que a modulação da resposta imune específica e não-específica (Figura 2) pode ser outro mecanismo pelo qual os probióticos protegem o hospedeiro contra as desordens gastrointestinais (KAILA *et al.*, 1992; PERDIGON *et al.*, 1995; MATSUZAKI & CHIN, 2000; TEITEBAUM & WALKER, 2002). Um exemplo é a administração de *Lactobacillus* GG durante a diarreia aguda, causada por rotavírus, que está associada ao aumento da resposta imune ao rotavírus (KAILA *et al.*, 1992). Outro exemplo, mas no trato urogenital, seria que os microbicidas aplicados topicamente podem alterar tanto os componentes bacterianos e epiteliais dessa interação homeostática, resultando em um desequilíbrio da imunidade inata epitelial (FICHOROVA *et al.*, 2011). A modulação do sistema imune também pode ser evidenciada por experimento realizado por JAN *et al.* (2011), onde concluíram que a administração oral de *Lactobacillus gasseri* pode atenuar as principais características dos alérgenos que induzem a inflamação das vias aéreas superiores, além de atenuar também a produção de IL-17 – citocina pró-inflamatória. Tal ação pode apresentar implicação clínica na prevenção da asma alérgica. Além disso, STRINGFELLOW *et al.* (2011) relataram que os probióticos podem, inclusive, ter um papel importante na vacinação. SHIDA *et al.* (2011) ainda demonstraram que

há produção de IL-2 por macrófagos e células T em resposta aos probióticos bacterianos.

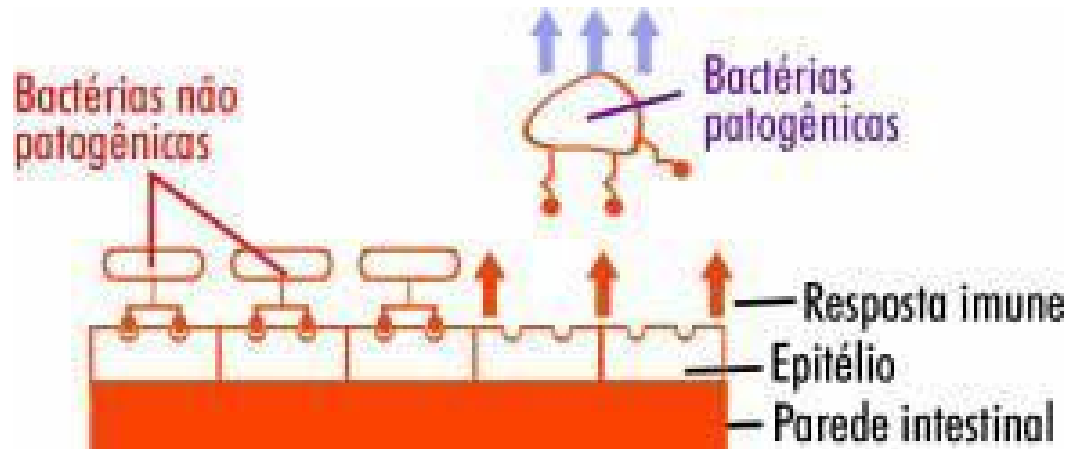


Figura 2: As bactérias não patogênicas atuam como antígenos potencializando a resposta imunológica no hospedeiro. Os patógenos são repelidos pelos receptores nas células epiteliais (FOX, 1988).

- Redução dos níveis de colesterol no soro. Segundo TEITEBAUM & WALKER (2002), os mecanismos que atuam na redução dos níveis de colesterol ainda não são claros. Observa-se que β -hidróxi- β -metilglutaril-Coenzima A redutase no fígado decresce significativamente com o consumo de probióticos, e assim, reduz a síntese de colesterol. Além disso, um aumento na quantidade de ácidos biliares fecais sugere que há um aumento compensatório na conversão de colesterol em ácidos biliares (FUKUSHIMA & NAKANO, 1996).
- Prevenção do câncer. Segundo TEITEBAUM & WALKER (2002), os mecanismos que atuam na redução dos níveis de colesterol ainda não são claros. Pesquisadores acreditam que *Lactobacilli* pode se ligar a

compostos mutagênicos, e assim, a excreção dos mesmos na urina seria reduzida. De fato, excreção de mutagênicos urinários após consumo de hambúrguer suplementado com *L. acidophilus*, decresceu em 50% (LIDBECK *et al.*, 1992). Outra teoria proposta para a prevenção de câncer por probióticos é baseada na habilidade de uma “bactéria má” converter pró-carcinogênicos em carcinogênicos utilizando várias enzimas como β -glucoronidase e nitroreductase (TEITEBAUM & WALKER, 2002). *Lactobacillus* GG tem mostrado habilidade em reduzir quantidades das enzimas supracitadas nas fezes (GOLDIN *et al.*, 1992).

- Produção de substâncias neuroquímicas. Segundo LYTE (2011) probióticos podem produzir substâncias neuroquímicas, permitindo sua classificação como veículos de entrega para compostos neuro-ativos. Tal hipótese destaca o papel, em grande parte, desconhecido da neurociência em compreender como os probióticos podem influenciar na saúde de seu hospedeiro.
- Melhora da barreira intestinal. Segundo ANDERSON *et al.* (2010) *Lactobacillus plantarum* aumenta a expressão de genes envolvidos na sinalização da junção serreada das células epiteliais. Dessa forma, tal probiótico pode melhorar a função de barreira intestinal.

5. A LEVEDURA *Saccharomyces boulardii*

5.1. Taxonomia

A levedura *S. boulardii* (Figura 3) foi, inicialmente, identificada como uma espécie distinta do gênero hemiascomiceto *Saccharomyces* (MCFARLAND, 1993). No entanto, avanços nos métodos de tipagem abriram debate sobre se esse micro-organismo deveria ser reclassificado como uma linhagem de *S. cerevisiae* ou se permaneceria como uma espécie à parte (MCFARLAND, 2010).

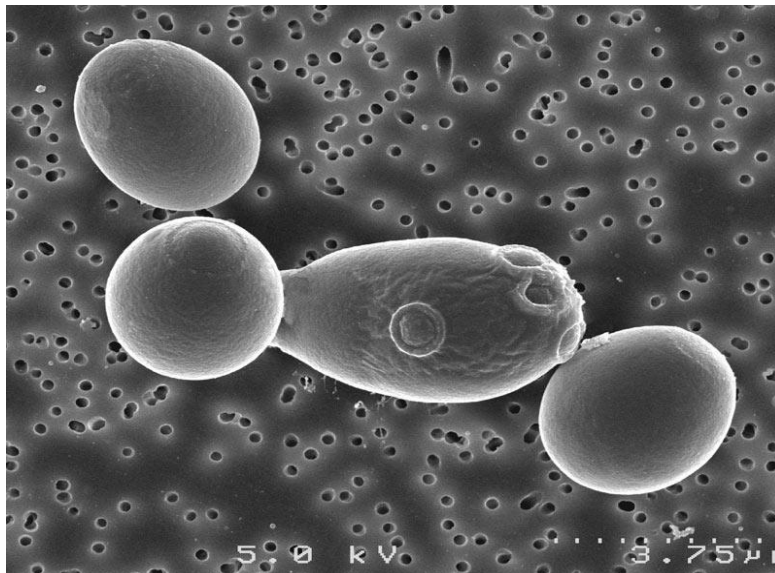


Figura 3: A levedura *Saccharomyces boulardii*. Fonte: The Kaiser Center for Probiotic Research

Trabalhos utilizando métodos, como reação em cadeia de polimerase ou sequenciamento de rRNA, demonstraram que *S. boulardii* é indistinguível de outras linhagens de *S. cerevisiae* (MCCULLOUGH *et al.*, 1998; MITTERDORFER *et al.*,

2002). No entanto, novos métodos como análise de polimorfismo em microsátélites e hibridização de retrotransposon indicam que *S. bouldarii* pode ser diferenciada de outras linhagens de *S. cerevisiae*, por diferenças no metabolismo e fisiologia e pela habilidade de causar efeitos anti patogênicos (MCFARLAND, 2010). Além disso, *S. bouldarii* permanece por mais tempo em modelos de camundongos gnotobióticos (10 dias) comparado com uma rápida remoção de outras linhagens de *S. cerevisiae* (< 1 dia) (PECQUET *et al.*, 1991).

Devido ao valor terapêutico, à deficiência em utilizar galactose e produzir ascósporos de *S. bouldarii*, MCFARLAND (1993) sugeriu que esta levedura deveria ser considerada como uma espécie à parte. Porém, a utilização de galactose não pode ser considerada como critério para classificar *S. bouldarii* como uma espécie diferente de *S. cerevisiae* uma vez que esta capacidade é muito variável dentro da espécie (BARNETT *et al.*, 2000), assim como a capacidade de produção de ascósporos (NAUMOVA *et al.*, 2003).

Uma série de estudos de reassociação de DNA [(nDNA)–nDNA] sugerem a divisão do gênero *Saccharomyces sensu stricto* em quatro espécies relacionadas: *S. bayanus*, *S. cerevisiae*, *S. paradoxus* e *S. pastorianus* (CARDINALI & MARTINI, 1994).

Cariotipagem eletroforética comparativa e análise multivariada do polimorfismo observado em gel de eletroforese de campo pulsado confirmam a existência de quatro “clusters”, cada um correspondente a um “taxon”, que foram distinguidas com base na comparação do DNA, utilizando a técnica de reassociação (nDNA)–nDNA, e corroboram a classificação de *S. bouldarii* fora da espécie *S. cerevisiae* e também fora das outras três espécies (CARDINALI & MARTINI, 1994).

Por outro lado, MALLIÉ *et al.* (2001) relataram que a tipagem por isoenzimas e estudo de polimorfismo de restrição do DNA mitocondrial permite a inclusão de *S. bouldarii* no complexo *sensu stricto*. *S. bouldarii* está muito relacionado com *S. cerevisiae* e, por este motivo, propôs-se a denominação de *S. cerevisiae* var. *bouldarii*. No entanto HENNEQUIN *et al.* (2001), utilizando polimorfismo de microsatélite, identificaram uma sequência específica 9 (CAG) no locus 4, presente apenas em *S. bouldarii* e, deste modo, conferindo uma possível identidade à espécie *S. bouldarii*, que não a de uma linhagem da espécie *S. cerevisiae*.

VAN DER AA KUHLE & JESPERSEN (2003), analisando sequências do domínio D1/D2 da região 26S do rDNA, a região ITS1-5.8S rDNA-ITS2 e o gene da subunidade 2 da citocromo oxidase c mitocondrial, mostraram uma relação muito íntima entre *S. bouldarii* e *S. cerevisiae* e defenderam a identificação de *S. bouldarii* como um membro da espécie *S. cerevisiae*, e não como uma espécie separada.

MITTERDORFER *et al.* (2002), utilizando quatro técnicas moleculares diferentes [PCR (“polymerase chain reaction”) espécie-específico, RAPD-PCR (“randomly amplified polymorphic DNA-PCR”), análise do rDNA por RFLP (“restriction fragment length polymorphic”) e PFGE (“pulse-field gel eletrophoresis”)] classificaram *S. bouldarii* como uma espécie de *S. cerevisiae*.

EDWARDS-INGRAM *et al.* (2007), utilizando hibridização genômica comparativa para análise do genoma inteiro, também concluíram que *S. bouldarii* e *S. cerevisiae* são membros da mesma espécie. Entretanto, apesar da semelhança genética, elas apresentam algumas diferenças genéticas e fisiológicas. FIETTO *et al.* (2004); GRAFF *et al.* (2008) e SANT’ANA *et al.* (2009) observaram que *S. bouldarii* é geneticamente muito semelhante a *S. cerevisiae*, entretanto,

metabolicamente e fisiologicamente diferente, particularmente no que se refere ao crescimento e à resistência à temperatura de 37°C e estresse ácido, que são importantes características de um micro-organismo usado como probiótico.

Alguns autores sugerem que a superexpressão de genes relacionados à síntese de proteínas e respostas a estresses poderiam contribuir para o aumento da taxa de crescimento e melhor sobrevivência de *S. boulardii* ao pH ácido (EDWARDS-INGRAM *et al.* 2007).

5.2. Histórico

A levedura *S. cerevisiae* possui uma longa história em preparações de pães e bebidas alcoólicas, mas até algumas décadas atrás, não tinha sido investigada para conhecimento de suas propriedades probióticas (MCFARLAND, 2010). Em 1920, Henri Boulard, um microbiologista francês, estava no sudoeste asiático, à procura de uma linhagem de levedura que fosse capaz de suportar altas temperaturas, a fim de produzir um bom vinho (MARTINS, 2008). Nessa época houve uma epidemia de cólera no local e o pesquisador observou que a população preparava um chá da casca de uma fruta (lichia) para aliviar e até mesmo curar a diarreia. Posteriormente, verificou-se que a fruta estava recoberta por uma levedura, e a eficácia contra a diarreia se devia à presença desse micro-organismo, que foi denominado então, *Saccharomyces boulardii* (FLORASTOR, 2011).

5.3. Aplicações clínicas

A levedura *S. boulardii* tem sido testada em relação à eficácia clínica em diversos tipos de doenças agudas, incluindo diarreia associada ao uso de antibióticos, infecção por *C. difficile*, diarreia do viajante e doença de Crohn (MCFARLAND, 2010).

5.3.1. Diarreia associada ao uso de antibióticos

Um dos primeiros ensaios sobre tal aplicação clínica foi realizado por ADAM *et al.* (1977). Os pesquisadores trataram 388 pacientes hospitalizados com 200 mg de *S. boulardii* (4×10^9 UFC/d) ou placebo por sete dias e encontraram uma redução significativa no período de diarreia associada ao uso de antibióticos no grupo recebendo o micro-organismo (4,5%) comparado com o grupo controle (17,5%, $P < 0,05$). O efeito protetor de *S. boulardii* foi confirmado em estudos posteriores por MONTEIRO *et al.* (1981); SURAWICZ *et al.* (1989); BARTLETT (1992); MCFARLAND *et al.* (1995); CREMONINI *et al.* (2002); DUMAN *et al.* (2005); CAN *et al.* (2006); SURAWICZ (2003); DORON *et al.* (2008); GUARINO *et al.* (2009); LEWIS *et al.* (1998); CINDORUK *et al.* (2007) e BRAVO *et al.* (2008). Alguns destes estudos estão representados na tabela 3.

Tabela 3: Ensaio randomizados e controlados para a prevenção da diarreia associada ao uso de antibióticos (AAD) utilizando *S. boulardii*

Ref.	GT	População (adultos)	Dose diária ufc/d (mg/d)	Duração (d)	A (s)	AAD em <i>S. boulardii</i> (%)	AAD em controle s (%)
Adam <i>et al</i> 1977	<i>S. boulardii</i> vs placebo	388 hospitalizados	4×10^9 (200 mg)	7	0	9/199 (4.5)	33/189 (17.5)
Monteiro <i>et al</i> 1981	<i>S. boulardii</i> vs placebo	240 Portugal	4 caps/d	6	0	19/121 (15.7)	33/119 (27.7)
Surawicz <i>et al</i> 2003	<i>S. boulardii</i> vs placebo	180 hospitalizados Washington	2×10^{10} (1000 mg)	14 d	2-3	11/116 (9.5)	14/64 (21.8)
McFarland <i>et al</i> 1995	<i>S. boulardii</i> vs placebo	193 hospitalizados 4 hospitais	2×10^{10} (1000 mg)	3 d	7	7/97 (7.2)	14/96 (14.6)
Lewis <i>et al</i> 1998	<i>S. boulardii</i> vs placebo	69 pacientes	4.5×10^9 (226 mg)	14	0	7/33 (21)	5/36 (13.9)
Duman <i>et al</i> 2005	<i>S. boulardii</i> vs placebo	389 Turquia com <i>H. pylori</i> + úlcera péptica, todos receberam terapia	2×10^{10} (1000 mg)	14	4	14/204 (6.9)	28/180 (15.6)
Canal <i>et al</i> 2006	<i>S. boulardii</i> vs placebo	151	1×10^{10} (500 mg)	-----	4	1/73 (1.4)	7/78 (9.0)
Cindork <i>et al</i> 2007	<i>S. boulardii</i> vs placebo	124 com <i>H. pylori</i> + dispepsia	2×10^{10} (1000 mg)	14	6	9/62 (14.5)	19/62 (30.6)
Bravo <i>et al</i> 2008	<i>S. boulardii</i> vs placebo	89	1×10^{10} (500 mg)	12	9	3/41 (7.3)	5/45 (11.1)
Cremonini <i>et al</i> 2002	<i>S. boulardii</i> vs placebo	43 <i>H. pylori</i> + em tripla terapia	5×10^9	14	2	1/22 (5)	6/21 (30)

GT: Grupos de tratamento; UFC: unidades formadoras de colônia; d: dias; A: acompanhamento; s: semanas.

Fonte: MCFARLAND, 2010.

5.3.2. Diarréia provocada por *Clostridium difficile*

Por mais de duas décadas, a infecção provocada por *C. difficile* persiste como a principal causa de doenças gastrointestinais nosocomiais (MCFARLAND, 2010). Como só existem dois antibióticos (vancomicina e metronidazole) utilizados no tratamento padrão dessa infecção, os probióticos podem oferecer alternativa promissora como uma terapia adjuvante.

S. boulardii apresenta promessa no controle da infecção por *C. difficile* em vários níveis: produção de protease de tamanho de 54-kDA, que por sua vez, degrada diretamente as toxinas produzidas por *C. difficile* e também destrói diretamente o local de receptor no cólon (POTHOULAKIS, 2009) e estimulação da resposta imunológica contra as toxinas A e B produzidas por *C. difficile* (BUTS,2009).

CHEN *et al.* (2006), também trabalhando com o sobrenadante da levedura (SbS), observaram que o SbS inibe a produção de IL-8 induzida pela toxina A do *C. difficile* ou IL-1 β , assim como a ativação de algumas MAP quinases. *In vivo*, demonstraram que SbS normaliza a secreção de fluidos mediada pela toxina A.

Alguns estudos realizados por ELMER & MCFARLAND, 2001; SURAWICZ, 2003; SURAWICZ *et al.*, 1989a; MCFARLAND *et al.*,1994; CASTAGLIUOLO *et al.*, 1999; SURAWICZ *et al.*, 1989b; KIMMEY *et al.*, 1990; ELMER *et al.*, 1999; SURAWICZ *et al.*, 2000; PENNERDEN *et al.*, 2011; JOHNSON, 2009 confirmaram os efeitos benéficos provocados pelo terapia adjuvante utilizando *S. boulardii*. Alguns destes estudos estão representados na tabela 4.

Tabela 4: Ensaios randomizados e controlados para o tratamento de infecção provocada por *C. difficile* utilizando *S. boulardii*.

Ref.	GT	População (adultos)	Dose diária	Duração (s)	A(s)	RCPR	RCP
McFarland et al 1994	<i>S. boulardii</i> vs placebo	124 sob doses de V e M.	3 x10 ¹⁰ (1000 mg)	4	4	4 15/57 (26.3%)	30/67 (44.8%)
Surawicz et al 1989a	<i>S. boulardii</i> vs placebo	168 recorrência de infecção	2 x 10 ¹⁰ (1000 mg)	4	4	V (2 g/d) 3/18 (17%)a; V (500 mg/d) 23/45 (51%); M (1 g/d) 13/27 (48.1%)	V (2 g/d) 7/14 (50%); V (500 mg/d) 17/38 (44.7%); M (1 g/d) 13/26 (50%)

GT: Grupo de tratamento; A: acompanhamento; RCPR: Recorrência de *C. difficile* no grupo tratado com probióticos; RCP: Recorrência de *C. difficile* no grupo placebo V: vancomicina; M: metronidazole; * ufc/d (mg/d); s: semanas.

Fonte: MCFARLAND, 2010.

5.3.3. Diarréia do viajante

A diarréia do viajante é uma queixa comum de saúde entre os viajantes, atingindo cerca de 12 milhões de pessoas no mundo todo ano (MCFARLAND, 2010), ocorrendo em aproximadamente metade dos indivíduos que viajam para países de alto risco e pode manifestar-se desde a forma suave até a grave (KARKOW *et al.*, 2007; SPIES, 2008). Trabalhos realizados por KOLLARITSCH *et al.*, 1989; KOLLARITSCH *et al.*, 1993; SCARPIGNATO & RAMPAL, 1995 e BISSON *et al.*; 2010 confirmaram os efeitos benéficos provocados pela terapia adjuvante utilizando *S. boulardii*.

A *E. coli* enterotoxigênica e *E. coli* enteroagregativa são os patógenos mais comumente envolvidos na diarréia dos viajantes (50% dos casos), embora vários agentes infecciosos, tais quais *Campylobacter jejuni*, *Shigella*, *Salmonella* e *E. coli* enteroinvasiva, possam causá-la em 10 a 25% dos casos (KARKOW *et al.*, 2007; MINCIS *et al.*, 2008; SPIES, 2008). Juntos, os patógenos *E. coli* enterotoxigênica, *Shigella* e *Salmonella* representam 80% dos casos de diarréia dos viajantes (ZANELLO *et al.*, 2009).

Um experimento realizado *in vitro* com células T84 de cólon humano, as quais sofrem modificação quando infectadas por EPEC, revelou que *S. boulardii* mantém a função da barreira e a viabilidade das células T84 infectadas (BUTS; BERNASCONI, 2005; MARTINS *et al.*, 2005). Esta levedura não modifica o número de bactérias associadas à célula, mas reduz o número de bactérias intracelulares e diminui a fosforilação de várias proteínas, induzida por EPEC (BUTS; BERNASCONI, 2005; MARTINS *et al.*, 2005; WU *et al.*, 2008).

Outro estudo *in vitro* demonstrou que células T84 infectadas por EHEC aumentaram a secreção de IL-8, uma citocina pró-inflamatória capaz de recrutar células polimorfonucleares para o sítio infectado (DALMASSO et al., 2006).

EHEC induz a morte da célula do hospedeiro por apoptose ou necrose. Em células infectadas por EHEC, que foram pré-incubadas com *S. boulardii* não houve ativação de pró-caspases, dessa forma esta levedura bloqueia a apoptose induzida por EHEC (DALMASSO et al., 2006).

Na presença de *S. boulardii*, também houve diminuição na síntese e secreção do fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), citocina que participa da apoptose induzida por EHEC nas células infectadas, indicando que a levedura interfere na via que regula a expressão de TNF- α . No sobrenadante das células incubadas somente com EHEC, altos níveis dessa citocina foram mensurados (DALMASSO *et al.*, 2006; VANDENPLAS *et al.*; 2009).

Além disso, a infecção de células intestinais por EHEC provoca inflamação e perturbação da função da barreira e também pode alterar a permeabilidade intestinal devido à indução da queda da resistência elétrica transmonocamada. *S. boulardii* previne a diminuição da resistência elétrica transmonocamada em células intestinais infectadas por EHEC e também diminui ou inibe a secreção de IL-8 em células pré-incubadas com a levedura e então infectadas por EHEC (FIDAN et al., 2008; VANDENPLAS, *et al.*, 2009).

Em um estudo placebo-controlado e duplo-cego envolvendo 1016 pessoas, verificou-se que *S. boulardii* protegeu moderadamente esses indivíduos contra a diarreia do viajante. Nesse estudo, as células da levedura foram administradas cinco dias antes e durante toda a viagem. Os pacientes foram divididos em três grupos:

um recebeu placebo, outro *S. boulardii* 250 mg/dia e o último recebeu *S. boulardii* 1000 mg/ dia. Essa proteção foi significativa e mostrou ser dose dependente, uma vez que a incidência de diarreia no grupo placebo foi 39,1%, no segundo grupo 34,4% e no grupo que recebeu maior dose da levedura foi de 28,7% (BUTS; BERNASCONI, 2005; KARKOW, *et al.*, 2007; ZANELLO *et al.*, 2009).

A dose do probiótico para prevenção da diarreia do viajante deve ser iniciada alguns dias antes da viagem para alcançar concentração adequada e permitir uma subsequente proteção durante a viagem (SPIES, 2008).

5.3.4. Doença de Crohn

A doença de Crohn é uma doença inflamatória intestinal crônica, caracterizada pela redução na integridade da mucosa, que por sua vez, permite a penetração de antígenos para o interior do tecido intestinal. Caracteriza-se por evolução crônica e/ou recorrente (KARKOW *et al.*, 2007; VILELA, 2008). Os principais sintomas dessa doença são diarreia, dor abdominal e perda de peso. *S. boulardii* diminui a atividade da doença, a frequência dos movimentos intestinais e a recaída nos pacientes acometidos por essa patologia (BROWN; VALIERE, 2004).

GUSLANDI *et al.*, 2000; VILELA *et al.*, 2008; PLEIN *et al.*, 1993 e VILELA *et al.*, 2008, relataram efeitos benéficos produzidos pela terapia adjuvante utilizando *S. boulardii*.

Um estudo clínico, randomizado e prospectivo comparou dois grupos, um de pacientes que receberam mesalazina (3 g/dia) e outro de pacientes que receberam o fármaco (2 g/dia) mais *S. boulardii* (1 g/dia), por seis meses. Após o término do

estudo, a recaída foi menor no grupo que recebeu a levedura, comparado ao grupo que recebeu mesalazina somente (PENNER; FEDORAK, 2005; ZANELLO et al., 2009).

De acordo com KARKOW *et al.* (2007) foi constatada uma redução na quantidade de evacuações, nos movimentos intestinais e na atividade da doença em pacientes que receberam a levedura mais o tratamento convencional. Este estudo piloto, duplo-cego e controlado envolveu 20 pacientes com doença de Crohn, que foram randomizados em dois grupos: um recebendo o probiótico e o outro placebo e ambos recebendo o tratamento convencional, durante sete semanas. Um ensaio controlado e randomizado, realizado em pacientes com doença de Crohn em fase de remissão, revelou que *S. boulardii* reduziu as taxas de excreção de lactulose e a relação de excreção entre lactulose e manitol, melhorando a permeabilidade intestinal nos pacientes que receberam a levedura, comparados ao grupo placebo.

Os pacientes com a doença em fase de remissão apresentam alterações na integridade da mucosa intestinal, verificada através de teste de permeabilidade (VILELA, 2008).

5.3.5. Diarréia em pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV)

A perda de nutrientes, desequilíbrio eletrolítico e desidratação são perigosos para indivíduos infectados por HIV, e por isso a diarréia é uma complicação clínica importante nesses pacientes (KARKOW *et al.*, 2007). A causa da diarréia está relacionada à própria infecção pelo retrovírus, ao efeito da terapia antirretroviral ou à

presença de algum agente causador da diarreia, sendo *Salmonella*, *Campylobacter*, algumas espécies de *Shigella*, *Cryptosporidium parvum*, *Microsporidium* sp., *G. lamblia*, *E. histolytica*, *Strongyloides stercoralis* e *Isospora belli* os agentes etiológicos de diarreia mais comuns nesses pacientes (MINCIS *et al.*, 2008).

Em um estudo aberto, pesquisadores franceses testaram *S. boulardii* em dezessete pacientes com diarreia relacionada ao vírus HIV. Observou-se a redução do volume diário de fezes diarreicas após o tratamento com 3 g diários de *S. boulardii*, durante 15 dias (BUTS; BERNASCONI, 2005). Um estudo placebo-controlado, duplo-cego e randomizado foi realizado em 35 pacientes com diarreia associada à síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA). Após uma semana de tratamento, a diarreia foi controlada em 61% dos indivíduos que receberam *S. boulardii* (3 g/dia) contra 12% no grupo placebo. Além disso, no grupo tratado houve melhora no número, peso e volume das fezes, na dor abdominal, no peso corporal e na qualidade de vida dos pacientes (BUTS; BERNASCONI, 2005; MCFARLAND; BERNASCONI, 1993; ZANELLO *et al.*, 2009).

5.4. Mecanismos de ação

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 *S. boulardii* pode ter um papel protetor e atividades específicas contra vários patógenos entéricos, conforme revisado por CZERUCKA & RAMPAL (2002); CZERUCKA *et al.* (2007); POTHOUKAKIS (2009); MCFARLAND (2010) e IM & POTHOUKAKIS (2010).

Segundo MCFARLAND (2010), *S. boulardii* possui diferentes tipos de mecanismos de ação, que por sua vez, podem ser classificados em três áreas principais: ação no lúmen, ação trófica e efeitos de sinalização anti-inflamatórios na mucosa.

No interior do lúmen intestinal, *S. boulardii* pode interferir com toxinas patogênicas, preservar a fisiologia celular, interferir na adesão de patógenos, interagir com a microbiota normal ou auxiliar no restabelecimento dos níveis de ácidos graxos de cadeia curta e atuar como um regulador imunológico, tanto no interior do lúmen como sistematicamente (MCFARLAND, 2010). Além disso, segundo IM & POTHOUKAKIS (2010), *S. boulardii* pode interferir na patogênese de doenças inflamatórias intestinais pela ação nas células T e na condição da diarreia por melhorar a bio-estrutura fecal.

5.4.1. Ações no nível celular

- (i) Efeito na mucosa intestinal. A análise microscópica de mucosas duodenais e jejunais de camundongos, ratos e seres humanos mostrou que, mesmo em doses elevadas, *S. boulardii* não provocou alterações morfológicas e/ou morfométricas, tanto no nível das vilosidades quanto nas criptas, assim como não foram observadas alterações na lâmina própria (BUTS *et al.*, 1986; CORTIER *et al.*, 1992; JAHN *et al.*, 1996). Entretanto, a levedura promove um aumento da atividade de diversas dissacaridases na mucosa intestinal, tais como lactase, sacarase e maltase (BUTS *et al.*, 1986;

JAHN *et al.*, 1996) graças a um aumento de poliaminas, como a espermidina e a espermina, que regulam a expressão gênica e a síntese protéica (BUTS *et al.*, 1994). Também já foi descrito o efeito da levedura na liberação de aminopeptidases na mucosa e fluido endoluminal de camundongos (BUTS *et al.*, 2002). Foi observada a liberação de proteínas e fatores tróficos durante o trânsito intestinal, que aumentam as defesas imunes, a digestão e a absorção de nutrientes. Existem, ainda, mais de 1500 proteínas não estudadas, que poderiam ser liberadas pela levedura durante seu trânsito intestinal (BUTS & DE KEYSER, 2006).

- (ii) Resposta imunológica. Existem diversos trabalhos mostrando o efeito da levedura no sistema imune (CAETANO *et al.*, 1986; BUTS *et al.*, 1990; RODRIGUES *et al.*, 2000). Estudos em ratos e camundongos permitiram demonstrar que a levedura induz um aumento significativo nos níveis de IgA (Imunoglobulina do tipo A) secretados (BUTS *et al.*, 1990; RODRIGUES *et al.*, 1996; RODRIGUES *et al.*, 2000; QAMAR *et al.*, 2001; MARTINS, 2009a); entretanto, em um estudo com 12 voluntários humanos, recebendo a levedura durante 3 semanas, esse aumento de IgA não foi observado (JAHN *et al.*, 1996). Em camundongos desafiados com a toxina A de *C. difficile*, a levedura provocou um aumento de 4 vezes nos níveis de IgA dirigidos contra a toxina A. QAMAR *et al.* (2001) e RODRIGUES *et al.* (2000), trabalhando com animais isentos de germes, também observaram um aumento nos níveis de IgA. Além disso, MARTINS *et*

al. (2009a), em trabalho comparativo entre quatro probióticos, também observaram um maior aumento nos níveis de IL-10 e sIgA em decorrência da presença da levedura *S. boulardii*.

5.4.2. Ações no nível bacteriano

- (i) Um primeiro mecanismo de ação da levedura seria a inibição parcial de vários microrganismos patogênicos (BRUGIER & PATTE, 1975) e, em especial, há trabalhos que mostram uma diminuição nos níveis populacionais de algumas espécies de *Candida* (DUCLUZEAU & BENZAADA, 1982; MURZYN *et al.*, 2010; KRASOWSKA *et al.*, 2009).
- (ii) Efeito sobre a microbiota. Um estudo com voluntários sadios mostrou que a levedura não induz qualquer mudança significativa na microbiota, ainda que se observe um aumento no número de bactérias aeróbias e de coliformes (KLEIN *et al.*, 1993). Em um estudo com prematuros, COSTALOS *et al.* (2003) observaram uma diminuição nos níveis intestinais de *E. coli* e *Enterococcus* e um aumento de *Bifidobacterium* e *Staphylococcus* no grupo tratado com a levedura.
- (iii) *Saccharomyces boulardii* e *C. difficile*. De todos os efeitos benéficos da levedura, os mais extensivamente estudados e relatados na literatura são o seu efeito nas diarreias associadas ao uso de antibióticos e nas diarreias associadas ao *C. difficile*. Em um

primeiro estudo realizado por TOOTHAKER & ELMER (1984), com hamsters, mostrou-se que a mortalidade associada ao *C. difficile* foi de 51% em animais tratados com a levedura, contra 80% dos animais controle. Como a diarreia associada ao *C. difficile* está diretamente ligada à produção das toxinas A e B, CORTHIER *et al.* (1992) observaram que nos animais tratados com a levedura, o título de toxinas diminuiu 1000 vezes, quando comparado com os animais controle. Trabalhando com as toxinas A e B de *C. difficile*, CZERUCKA *et al.* (1991) observaram um efeito protetor da levedura utilizando um modelo de células intestinais. Em um modelo utilizando alças intestinais de ratos, observou-se que a levedura bloqueia a atividade secretória da toxina A (POTHOULAKIS *et al.*, 1993). Esses autores observaram que essa atividade antissecretória também foi encontrada no meio condicionado da levedura, sugerindo que esse efeito era devido a substância(s) secretada(s) pela levedura e, posteriormente, verificaram que essa inibição da ação das toxinas do *C. difficile* era devida à produção de uma serino-protease de 54 kDa, que clivava as toxinas A e B e seus respectivos receptores na mucosa intestinal (CASTAGLIUOLO *et al.*, 1996; CASTAGLIUOLO *et al.*, 1999). Além disso, em um trabalho com camundongos BALB/c, QAMAR *et al.* (2001) observaram um aumento na resposta imune contra a toxina A. Também foi demonstrado, *in vitro*, que a levedura inibe a adesão do *C. difficile* em células VERO devido a uma serino-protease

(TASTEYRE *et al.*, 2002). POTHOUKAKIS (2009) relatou que *S. boulardii* secreta um fator capaz de alterar a diarreia inflamatória por modificações em importantes vias inflamatórias de sinalização relevantes não só para a toxina de *C. difficile*, mas também para outras formas de inflamação intestinal.

- (iv) *Saccharomyces boulardii* e *V. cholerae*. Em ratos tratados com a levedura durante 5 dias, foi observado um efeito protetor contra a infecção por *Vibrio cholerae* (DIAS *et al.*, 1995). Utilizando linhagens celulares, CZERUCKA *et al.* (1989a, 1989b) observaram que a levedura diminui em 50% o aumento de AMPc (adenosine monophosphate cyclic) intracelular induzido pela toxina do cólera, limitando, assim, a secreção de cloreto. Como o sobrenadante da levedura foi suficiente para proteger as células da ação da toxina, observou-se uma diminuição dos níveis de AMPc induzidos pela toxina do cólera devido à ação de uma proteína extracelular de 120 kDa (CZERUCKA *et al.*, 1994; CZERUCKA & RAMPAL, 1999). CZERUCKA & RAMPAL (2002) relataram que essa proteína exerceria tal efeito por meio da habilidade de bloquear receptores que, por sua vez, regula a atividade de AMPc. Também se observou a inibição de perdas de água, sódio e potássio induzida pelas toxinas de *V. cholerae* (CZERUCKA *et al.*, 1994). Outros estudos mostraram que a inibição da ação da toxina do cólera era devida à ligação da toxina em sítios específicos da levedura, diminuindo,

assim, a quantidade de toxina livre capaz de se ligar aos receptores intestinais (BRANDÃO *et al.*, 1998; NEVES *et al.*, 2002).

- (v) *Saccharomyces boulardii* e EPEC (*E. coli* enteropatogênica) e EHEC (*E. coli* entero-hemorrágica). MASSOT *et al.* (1983) observaram a inibição de perdas de água, sódio e potássio induzidas por *E. coli*, em células epiteliais intestinais, pela *S. boulardii*. Estudos *in vitro* com células do cólon, infectadas por EPEC, permitiram demonstrar que a levedura é capaz de preservar a integridade da barreira epitelial, mantendo as junções serreadas, assim como sua intervenção na modulação da sinalização celular induzida durante a infecção por esta mesma bactéria (CZERUCKA *et al.*, 2000). DAHAN *et al.* (2003) observaram que a levedura exerce um efeito protetor nas infecções por EHEC, mantendo a integridade epitelial e interferindo em vias de transdução do sinal, assim como diminuindo os níveis de citocinas pró-inflamatórias via inibição de NF- κ B (“nuclear factor kappa B”) e MAPK (“mitogen activated protein kinase”) ativadas pela bactéria. DALMASSO *et al.* (2006) demonstraram que *S. boulardii* induz uma diminuição nos níveis de TNF- α e na apoptose relacionados à infecção de células com EHEC.

- (vi) *Saccharomyces boulardii* e *Salmonella enterica* sorovar- Typhimurium.

A levedura confere um efeito protetor em animais infectados com *S. Typhimurium* (RODRIGUES *et al.*, 1996; MARTINS, 2009b;). Tal efeito pode estar relacionado a uma imunomodulação pela levedura

(RODRIGUES *et al.*, 2000). MARTINS *et al.* (2010) relataram que esta imunomodulação estaria relacionada a efeitos de modulação na permeabilidade, inflamação, via sinalizatória de transdução e modificações nas propriedades invasivas de *Salmonella*.

- (vii) *Saccharomyces boulardii* e *Candida*. Em outro modelo de colite, *in vivo*, induzida quimicamente por DSS (“dextran-sulfate-sodium”), JAWHARA & POULAIN (2007) mostraram que *S. boulardii* diminui a inflamação causada no intestino, assim como a colonização por *C. albicans* nesse modelo de colite. MURZYN *et al.* (2010) relataram que *S. boulardii* afeta a adesão de *C. albicans* e reduz a resposta inflamatória mediada por citocina no hospedeiro. KRASOWSKA *et al.* (2009) também relataram que *S. boulardii* teria um forte efeito negativo sobre importantes fatores de virulência de *C. albicans*, uma vez que interfere na formação de filamentos, adesão e formação de biofilme em superfícies plásticas.
- (viii) *Saccharomyces boulardii* e outros micro-organismos. RODRIGUES *et al.* (1995) e MUMY *et al.* (2007) demonstraram que *S. boulardii* interfere na sinalização induzida por *S. flexneri* em células T84, além de diminuir a secreção de IL-8 e a migração transepitelial de leucócitos polimorfonucleares, sugerindo que o uso da levedura poderia aliviar os sintomas associados à resposta inflamatória do hospedeiro. Em um modelo de colite *in vivo*, WU *et al.* (2007) observaram que *S. boulardii* mantém a integridade epitelial e diminui

os efeitos inflamatórios associados à infecção por *Citrobacter rodentium*.

5.4.3. Efeito anti-inflamatório

SOUGIOULTZIS *et al.* (2006) mostraram que *S. boulardii* secreta substâncias anti-inflamatórias. Trabalhando com células HT-29 e THP-1, esses autores observaram que a levedura secreta um fator anti-inflamatório (<1 kDa) termoestável, que inibe a produção de IL-8, a degradação de I κ B- α (“inhibitory protein κ B α ”) e reduz a ativação de NF- κ B em células desafiadas com IL-1 β ou LPS (lipopolissacarídeos).

Observou-se, também, um efeito anti-inflamatório, pela produção de fatores solúveis de baixo peso molecular, que bloqueiam a ativação de NF- κ B e a expressão de IL-8. Segundo os autores, essas substâncias podem mediar, pelo menos em parte, os efeitos benéficos da levedura *S. boulardii* observados nas infecções intestinais.

CHEN *et al.* (2006), também trabalhando com o sobrenadante da levedura (SbS), observaram que o SbS inibe a produção de IL-8 induzida pela toxina A do *C. difficile* ou IL-1 β , assim como a ativação de algumas MAP cinases. *In vivo*, demonstraram que SbS normaliza a secreção de fluidos mediada pela toxina A.

LEE *et al.* (2005) observaram que *S. boulardii* possui um efeito anti-inflamatório via PPAR- γ (“peroxisome proliferator-activated receptor-gamma”), uma molécula que regula a inflamação no epitélio intestinal. Eles observaram que a levedura aumenta a expressão de PPAR-gamma nos níveis de mRNA e proteína, e

que ela inibe o efeito de TNF- α , IL-1 β ou LPS na diminuição da expressão de PPAR- γ .

Trabalhos recentes sugerem um novo mecanismo de ação da levedura, envolvendo uma possível inibição da produção de óxido nítrico pela levedura (GIRARD *et al.*, 2003; GIRARD *et al.*, 2005). Utilizando animais SCID (“immunoincompetent syngenic severe combined immunodeficiency”), DALMASSO *et al.* (2006) demonstraram que *S. boulardii* interfere no processo inflamatório, devido a uma alteração específica no comportamento de migração de células T que se acumulam nos linfonodos mesentéricos, e que o tratamento com essa levedura limita a infiltração de células Th1 no cólon inflamado e a amplificação da inflamação induzida pela produção de citocinas pró-inflamatórias.

5.4.4. Outros efeitos

Além de todos os efeitos já listados, existem trabalhos mostrando a ligação de alguns microrganismos na superfície da levedura (GEDEK, 1999; MARTINS *et al.*, 2010), assim como a presença de receptores para toxinas bacterianas (BRANDÃO *et al.*, 1998; NEVES *et al.*, 2002). GIRARD *et al.* (2005) mostraram que a levedura minimiza o desequilíbrio eletrolítico induzido por óleo de castor no cólon de ratos.

Além disso, MAUPAS *et al.* (1983) relataram que *S. boulardii* contribui para reduzir significativamente o número e consistência das fezes em diarreia provocada pela síndrome do intestino irritável. SAINT-MARC *et al.* (1991) e ELMER *et al.* (1995) mostraram ação benéfica da levedura em diarreia associada ao HIV. Os

autores também observaram que não houve reação adversa nos pacientes imunocomprometidos.

BESIRBELLIOGLU *et al.* (2006), em estudo realizado na Túrquia, mostraram que pacientes com giardíase tratados com *S. boulardii* não apresentavam cistos deste parasita, enquanto o grupo controle ainda possuía tais cistos.

6. VANTAGENS E DESVANTAGENS DA UTILIZAÇÃO DA LEVEDURA

A maior parte dos probióticos comercializados é representada por bactérias. Apenas duas leveduras são utilizadas, 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 antibacterianos durante infecções gastrointestinais como, por exemplo, no caso de pacientes infectados por *H. pylori*, cuja terapia é uma combinação de drogas (ARMUZZI *et al.*, 2001; SZAJEWSKA *et al.*, 2010; SONG *et al.*, 2010).

O uso da levedura não acarreta mudanças nas populações normais da microbiota do cólon após exposição por 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).

Segundo VENUGOPALAN *et al.* (2010) há 91 casos documentados de infecção invasiva por *Saccharomyces* (54 casos de infecção por *S. cerevisiae* e 37 casos de fungemia por *S. boulardii*). MUÑOZ *et al.* (2005) identificaram 60 casos de fungemia causados por *S. boulardii*, sendo que 48% dos pacientes haviam recebido preparação probiótica contendo a levedura e outros 8% estavam próximos dos pacientes que haviam recebido tal agente. Esse achado sugere que a administração de *S. boulardii* pode representar risco ambiental para pacientes que não estão

recebendo o agente (VENUGOPALAN *et al.*, 2010). No entanto, nenhum destes casos levou à morte devido à utilização do probiótico (MCFARLAND, 2010).

Ultimamente, infecções fúngicas invasivas devido a agentes novos ou raros têm sido frequentemente, 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 catéter 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 devido à levedura 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 (OGGIONI *et al.*, 1998; RICHARD *et al.*, 1988; MACKAY *et al.*, 1999; RAUTIO *et al.*, 1999). Entretanto, essas correlações entre infecções sistêmicas e consumo de probióticos são raras e sempre ocorrem em pacientes sob condições médicas extremamente debilitantes.

7. CONCLUSÃO

A microbiota intestinal é uma mistura complexa e dinâmica de células que coexistem em equilíbrio com o hospedeiro e contribuem para a execução de inúmeras funções essenciais para o organismo, assim como a regulação do sistema imunológico, resistência à colonização de micro-organismos patogênicos e contribuição nutricional. No entanto, há uma relação entre o desequilíbrio dessa microbiota e doenças do trato gastrointestinal.

Estudos envolvendo a ingestão de micro-organismos viáveis, conhecidos como probióticos, a fim de se modular a microbiota intestinal e tratar doenças aumentaram nas últimas décadas, já que a grande vantagem da terapia adjuvante é a ausência de efeitos secundários, como a seleção de bactérias resistentes.

Dessa forma, utiliza-se micro-organismos que possuem eficácia comprovada, podendo ser constituintes normais da microbiota, como é o caso das bifidobactérias e dos lactobacilos, ou não, como *S. boulardii* – única levedura com eficiência clínica comprovada.

No entanto, a afirmação de que os probióticos possuem efeito benéfico para o hospedeiro, necessita de avaliação rigorosa e seus mecanismos de ação precisam ser mais bem compreendidos antes de qualquer declaração final sobre o valor clínico destes produtos disponíveis na indústria farmacêutica e alimentícia.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAM, J.; BARRET, C.; BARRET-BELLET, A.; BENEDETTI, E.; CALENDINI, A.; DARCHEN, P.; GALIBERT, J.M.; GUERCI, P.; GUIOT, G.; HAECHLER, M.; JUNQUA, R.; LE MATELOT, J.; LEGRAND, J.P.; MALLEZ, B.; MASSONNEAU, A.; MESTAS, J.J.; MICHELET, F.X.; PAPEL, B.; PETIT, P.; PFEIFFER, G.; PIDOUX, A.; PORTALIS, H.; PRADO, F.; RAMEAU, J.; VALENCE, P. Controlled Double-blind clinical trials of Ultra-Levure multi centre study by 25 physicians in 388 cases. **Gazette Medicale de France**. v. 84, p. 2072-2078, 1977.

AIBA, Y.; SUZUKI, N.; KABIR, A.M.; TAKAGI, A.; KOGA, Y. Lactic acid-mediated suppression of *Helicobacter pylori* by the oral administration of *Lactobacillus salivarius* as a probiotic in a gnotobiotic murine model. **Am. J. Gastroenterol.** v. 93, p. 2097-2101, 1998.

ANDERSON, R.C.; COOKSON, A.L.; MCNABB, W.C.; PARK, Z.; MCCANN, M.J.; KELLY, W.J.; ROY, N.C. *Lactobacillus plantarum* MB452 enhances the function of the intestinal barrier by increasing the expression levels of genes involved in tight junction formation. **BMC Microbiol.** v. 10, p. 316, 2010.

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.

ARVOLA, T.; MOILANEN, E.; VUENTO, R.; ISOLAURI, E. Weaning to hypoallergenic formula improves gut barrier function in breast-fed infants with atopic eczema. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.**, v. 38, p. 92-96, 2004.

ASAHARA, T.; NOMOTO, K.; WATANUKI, M.; YOKOKURA, T. Antimicrobial activity of intraurethrally administered probiotic *Lactobacillus casei* in a murine model of *Escherichia coli* urinary tract infection. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 45, p. 1751-1760, 2001.

BARNETT, J.A.; PAYNE, R.W.; YARROW, D. **Yeast: Characteristics and Identification**, 3rd ed., Cambridge University Press, Cambridge, 2000.

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

BAUTISTA-GARFIAS, C.R.; IXTA, O.; ORDUNA, M.; MARTINEZ, F.; AGUILAR, B.; CORTES, A. Enhancement of resistance in mice treated with *Lactobacillus casei*: effect on *Trichinella spiralis* infection. **Vet. Parasitol.**, v. 80, p. 251-260, 1999.

BAYONA GONZALES, A.; LOPEZ CAMARA, V.; GOMEZ CASTELLANOS, A. Prevención de caries por lactobacilos (resultados finales de un ensayo clínico sobre caries dental con lactobacilos muertos [estreptococos y lactobacilos] por vía oral).

(Prevention of caries with lactobacillus (final results of a clinical trial on dental caries with killed lactobacillus [streptococcus and lactobacillus] given orally)). **Pract. Odontol.**, v. 11, p. 37-39, 1990.

BEENA, A.; PRASAD, V. Effect of yogurt and bifidus yogurt fortified with skim milk powder, condensed whey and lactose-hydrolyzed condensed whey on serum cholesterol and triacylglycerol concentration in rats. **J. Dairy Res.** v. 64, p. 453-457, 1997.

BERNET, M.F.; BRASSART, D.; NEESER, J.R.; SERVIN, A.L. *Lactobacillus acidophilus* LA1 binds to cultured human intestinal cells lines and inhibits cell attachment and cell-invasion by enterovirulent bacteria. **Gut**, v. 35, p. 483-489, 1994.

BERNI, C.R.; CUCCHIARA, S.; CUOMO, R.; PACE, F.; PAPALE, F. *Saccharomyces boulardii*: a summary of the evidence for gastroenterology clinical practice in adults and children. **Eur. Rev. Med. Pharmacol.** v. 15(7), p. 809-822, 2011.

BESIRBELLIOGLU, B.A.; ULCAI, A. CAN, M.; ERDEM, H.; TANYUKSEL, M.; AVCI, I.Y., ARAZ, E.; PAHSA, A. *Saccharomyces boulardii* and infection due to *Giardia lamblia*. **Scand J. Infect. Dis.** v. 38, p. 479-481, 2006.

BISSON, J.F.; HIDALGO, S.; ROZAN, P.; MESSAOUDI, M. Preventive effects of different probiotic formulations on traveller's diarrhea model in wistar rats: preventive effects of probiotics on TD. **Dig. Dis. Sci.** v. 55(4), p. 911-919, 2010.

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.

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.

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.

BRAVO, M.V.; BUNOUT, D.; LEIVA, L.; DE LA MAZA, M.P.; BARRERA, G.; DE LA MAZA, J.; HIRSCH, S. Effect of probiotic *Saccharomyces boulardii* on prevention of antibiotic-associated diarrhea in adult outpatients with amoxicillin treatment. **Rev Med Chil.** v. 136, p. 981-988, 2008.

BROWN, A. C.; VALIERE, A. Probiotics and medical nutrition therapy. **NCC.** v. 7, no. 2, p. 56-68, 2004.

BRUGIER, S.; PATTE, F. Antagonisme *in vitro* entre l'ultra-levure et différents germes bactériens. **Med. Paris**, v. 45, p. 3-8, 1975.

BUSSCHER, H.J.; MULDER, A.F.; VAN DER MEI, H.C. *In vitro* adhesion to enamel and *in vivo* colonization of tooth surfaces by Lactobacilli from a bio-yoghurt. **Caries Res.**, v. 33, p. 403-404, 1999.

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*. **Pediatr. 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.

BUTS, J.P.; DE KEYSER, N.; DE RAEDEMAEKER, L. *Saccharomyces boulardii* enhances rat intestinal enzyme expression by endoluminal release of polyamines. **Pediatr. Res.**, v. 36, p. 522-527, 1994.

BUTS, J.P.; DE KEYSER, N.; STILMANT, C.; SOKAL, E.; MARANDI, S. *Saccharomyces boulardii* enhances N-terminal peptide hydrolysis in suckling rat small intestine by endoluminal release of a zinc-binding metalloprotease. **Pediatr. Res.**, v. 51, p. 528-534, 2002.

BUTS, J.-P.; BERNASCONI, P. *Saccharomyces boulardii*: basic science and clinical applications in gastroenterology. **Gastroenterol. Clin. North. Am.** v. 34, p. 515-532, 2005.

BUTS, J.P. Twenty-five years of research on *Saccharomyces boulardii* trophic effects: updates and perspectives. **Dig Dis Sci.** v. 54, p. 15-18, 2009.

BUTS J.P.; DE KEYSER, N. Effects of *Saccharomyces boulardii* on intestinal mucosa. **Dig. Dis. Sci.**, v. 51, p. 1485-1492, 2006.

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.

CAN, M.; BESIRBELLIOGLU, B.A.; AVCI, I.Y.; BEKER, C.M.; PAHSA, A.; Prophylactic *Saccharomyces boulardii* in the prevention of antibiotic-associated diarrhea: a prospective study. **Med Sci Monit.** v. 12, p. 2744-2749, 2002.

CANGEMI DE GUTIERREZ, R.C.; SANTOS DE ARAOZ, V.S.; NADER-MACIAS, M.E. Effect of intranasal administration of *Lactobacillus fermentum* on the respiratory tract of mice. **Biol. Pharm. Bull.**, v. 23, p. 973-978, 2000.

CARDINALI, G.; MARTINI, A. Electrophoretic karyotypes of authentic strains of the *sensu stricto* group of the genus *Saccharomyces*. **Int. J. Syst. Bacteriol.**, v. 44, p. 791-797, 1994.

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.

CHANDAN, R.C. Enhancing market value of milk by adding cultures. **J. Dairy Sci.**, v. 82, p. 2245-2256, 1999. *Apud* GIBSON, S.A.W., ed. **Human Health, the Contribution of Microorganisms**. Springer-Verlag, New York, NY, 1994.

CHEN, X.; KOKKOTOU, E.G.; MUSTAFA, N.; BHASKAR, K.R.; SOUGIOULTZIS, S.; O'BRIEN, M.; POTHOUKAKIS, C.; KELLY, C.P. *Saccharomyces boulardii* inhibits ERK1/2 mitogen-activated protein kinase activation both *in vitro* and *in vivo* and protects against *Clostridium difficile* toxin A-induced enteritis. **J. Biol. Chem.**, v. 281, p. 24449-24454, 2006.

CINDORUK, M.; ERKAN, G.; KARAKAN, T.; DURSUN, A.; UNAL, S. Efficacy and safety of *Saccharomyces boulardii* in the 14-day triple anti-*Helicobacter pylori* therapy: a prospective randomized placebo-controlled double-blind study. **Helicobacter**. v. 12, p. 309-316, 2007.

CLANCY, R. Immunobiotic and the probiotic evolution. **FEMS Immunol. Med. Microbiol.** v. 38, p. 9-12, 2003.

COCONNIER, M.H.; LIEVIN, V.; HEMERY, E.; SERVIN, A.L. Antagonistic activity against *Helicobacter* infection *in vitro* and *in vivo* by the human *Lactobacillus acidophilus* strain LB. **Appl. Environ. Microbiol.** v. 54, p. 4573-4580, 1998.

CORTHER, G.; LUCAS, F.; JOUVERT, S.; CASTEX, F. Effect of oral *Saccharomyces boulardii* treatment on the activity of *Clostridium difficile* toxins in mouse digestive tract. **Toxicon**. v. 30, p. 1583-1589, 1992.

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.

CREMONINI, F.; DI CARO, S.; COVINO, M.; ARMUZZI, A.; GABRIELLI, M.; SANTARELLI, I.; NISTA, E.C.; CAMMAROTA, G.; GASBARRINI, G.; GASBARRINI, A. Effect of different probiotic preparations on anti-helicobacter pylori therapy- related side effects: a parallel group, triple blind, placebo-controlled study. **Am J Gastroenterol**. v. 97, p. 2744-2749, 2002.

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, 1989a.

CZERUCKA, D.; NANO, J.L.; BERNASCONI, P.; RAMPAL, P. Response to cholera toxin of 2 epithelial intestinal cell lines. Effect of *Saccharomyces boulardii*. **Gastroenterol. Clin. Biol.**, v. 13, p. 383-387, 1989b.

CZERUCKA, D.; NANO, J.L.; BERNASCONI, P.; RAMPAL, P. Response of the IRD intestinal epithelial cell line to *Clostridium difficile* toxins A and B in rats. Effect of *Saccharomyces boulardii*. **Gastroenterol. Clin. Biol.**, v. 15, p. 22-27, 1991.

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 Ca²⁺ - dependent Cl⁻ 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.; PICHE, T.; RAMPAL, P. Review article: yeast as probiotics - *Saccharomyces boulardii*. **Aliment. Pharmacol. Ther.**, v. 26, p. 767-778, 2007.

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

DAHAN, S.; DALMASSO, G.; IMBERT, V.; PEYRON, J.F.; RAMPAL, P.;

CZERUCKA, D. *Saccharomyces boulardii* interferes with enterohemorrhagic

Escherichia coli-induced signaling pathways in T84 cells. **Infect. Immun.**, v. 71, p. 766-773, 2003.

DALMASSO, G.; LOUBAT, A.; DAHAN, S.; CALLE, G.; RAMPAL, P.; CZERUCKA, D. *Saccharomyces boulardii* prevents TNF- α -induced apoptosis in EHEC-infected T84 cells. **Res. microbiol.** v. 157, p. 456-465, 2006

DE VRESE, M.; SCHREZENMEIR, J. Probiotics, prebiotics and synbiotic. **Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.** v. 111, p. 1-66, 2008.

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.

DORON, S.I.; HIBBERD, P.L.; GORBACH, S.L. Probiotics for prevention of antibiotic-associated diarrhea. **J. Clin. Gastroenterol.** v. 42, p. 558-563, 2008.

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.

DUMAN, D.G.; BOR, S.; OZUTEMIZ, O.; SAHIN, T.; OGUZ, D.; ISTAN, F.; VURAL, T.; SANDKCI, M.; ISKSAL, F.; SIMSEK, I.; SOYTURK, M.; ARSLAN, S.; SIVRI, B.;

SOYKAN, I.; TEMIZKAN, A.; BESSK, F.; KAYMAKOGLU, S.; KALAYC, C. Efficacy and safety of *Saccharomyces boulardii* in prevention of antibiotic- associated diarrhea due to *Helicobacter pylori* eradication. **Eur J Gastroenterol Hepatol.** v. 17, p. 1357-1361, 2005.

EDWARDS-INGRAM, L.; GITSHAM, P.; BURTON, N.; WARHURST, G.; CLARKE, I.; HOYLE, D.; OLIVER, S.G.; STATEVA, L. Genotypic and physiological characterization of *Saccharomyces boulardii*, the probiotic strain of *Saccharomyces cerevisiae*. **Appl. Environ. Microbiol.** v. 73, p. 2458-2467, 2007.

ELMER, G.W.; MOYER, K.A.; VEJA, R.; SURAWICZ, C.M.; COLLIER, A.C.; HOOTON, T.M.; MCFARLAND, L.V. Evaluation of *Saccharomyces boulardii* for patients with HIV- related chronic diarrhea and in healthy volunteers receiving antifungals. **Microb. Ther.** v. 25, p. 23-31, 1995.

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

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.; SURAWICZ, C.M.; MCFARLAND, L.V. Biotherapeutic agents. A neglected modality for the treatment and prevention of selected intestinal and vaginal infections. **J. Am. Med. Assoc.**, v. 275, p. 870-876, 1996.

EYSSEN, H. Role of the gut microflora in metabolism of lipids and sterols. **Proc. Nutr.Soc.**, v. 32, p. 59-63, 1973.

FAO/WHO. Food and Agriculture Organization / World Health Organization. **Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food.** London, Ontario, Canada. 11p. April 30 and May 1, 2002.

FERREIRA, F.A.B.; KUSSAKAWA, K.C.K. Uso de probióticos na alimentação de frangos de corte. **Biotecnologia**, v. 8, p. 40-43, 1999.

FICHOROVA, R.N.; YAMAMOTO, H.S.; DELANEY, M.S.; ONDERDONK, A.B.; DONCEL, G.F. Novel vaginal microflora colonization model providing new insight into microbicide mechanism of action. **MBio**. v. 2 (6), p. 168-171, 2011.

FIDAN, I.; KALKANCI, A.; YESILYURT, E.; YALCIN, B.; ERDAL, B.; KUSTIMUR, S.; IMIR, T. Effects of *Saccharomyces boulardii* on cytokine secretion from intraepithelial lymphocytes infected by *Escherichia coli* and *Candida albicans*. **Mycoses**. v. 52 (1), p. 29-34, 2008.

FIETTO, J.L.; ARAÚJO, R.S.; VALADÃO, F.N.; FIETTO, L.G.; BRANDÃO, R.L.; NEVES, M.J.; GOMES, F.C.; NICOLI, J.R.; CASTRO, I.M. Molecular and physiological comparisons between *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces boulardii*. **Can. J. Microbiol.** v. 50, p. 615-621, 2004.

FIGUEIREDO, P.P.; VIEIRA, E.C.; NICOLI, J.R.; NARDI, R.D.; RAIBAUD, P.; DUVAL-IFLAH, Y.; PENNA, F.J. Influence of oral inoculation with plasmid-free human *Escherichia coli* on the frequency of diarrhea during the first year of life in human newborns. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.**v. 33, p. 70-74, 2001.

FLORASTOR, 2011. Disponível em <http://www.florastor.com>. Acessado em 28 de junho de 2011.

FOX, S.M. Probiotics: Intestinal inoculants for production animals. **Vet. Med.** , v. 83, n. 8, p.: 806-829, 1988.

FUKUSHIMA, M.; NAKANO, M. Effects of a mixture of organisms, *Lactobacillus acidophilus* or *Streptococcus faecalis* on cholesterol metabolism in rats fed on a fat- and cholesterol- enriched diet. **J. Nutr.** v. 76, p. 857-867. 1996.

FULLER, R. Probiotics in man and animals. **J. Appl. Bacteriol.**, v. 66, p. 365-378, 1989.

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.

GENEROSO, S.V.; VIANA, M.; SANTOS, R.; MARTINS, F.S.; MACHADO, J.A.; ARANTES, R.M.; NICOLI, J.R.; CORREIA, M.I.; CARDOSO, V.N. *Saccharomyces cerevisiae* strain UFMG 905 protects against bacterial translocation, preserves gut barrier integrity and stimulates the immune system in a murine intestinal obstruction model. **Arch. Microbiol.** v. 192(6), p. 477-484. 2010.

GENEROSO, S.V.; VIANA, M.L.; SANTOS, R.G.; ARANTES, R.M.; MARTINS, F.S.; NICOLI, J.R.; MACHADO, J.A.; CORREIA, M.I.; CARDOSO, V.N. Protection against increased intestinal permeability and bacterial translocation induced by intestinal obstruction in mice treated with viable and heat-killed *Saccharomyces boulardii*. **Eur. J. Nutr.** v. 50(4), p. 261-269. 2011.

GÊNESIS. In: A BÍBLIA: tradução ecumênica. São Paulo: Paulinas, 2002.

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.

GIRARD, P.; PANSART, Y.; GILLARDIN, J.M. Inducible nitric oxide synthase involvement in the mechanism of action of *Saccharomyces boulardii* in castor oil-induced diarrhoea in rats. **Nitric Oxide**, v. 13, p. 163-169, 2005.

GOLDIN, B.R.; GORBACH, S.L.; SAXELIN, M.; BARAKAT, S.; GUALTIERI, L.; SALMINEN, S. Survival of *Lactobacillus* species (strain GG) in human gastrointestinal tract. **Dig. Dis. Sci.** v. 37, p. 121-128. 1992.

GOLDIN, B.R.; GORBACH, S.L. Clinical Indications for probiotics: an overview. **Clin. infect. dis.** v. 46, p. 96-100, 2008.

GRAFF, S.; CHAUMEIL, J.C.; BOY, P.; LAI-KUEN, R.; CHARRUEAU, C. Influence of pH conditions on the viability of *Saccharomyces boulardii* yeast. **J. Gen. Appl. Microbiol.** v. 54, p. 221-227, 2008.

GRANGETTE, C.; MULLER-ALOUF, H.; GOUDERCOURT, D.; GEOFFROY, M.C.; TURNEER, M.; MERCENIER, A. Mucosal immune responses and protection against tetanus toxin after intranasal immunization with recombinant *Lactobacillus plantarum*. **Infect. Immun.**, v. 69, p. 1547-1553, 2001.

GUARINO, A.; LOVECCHIO, A.; CANANI, R.B. Probiotics as prevention and treatment for diarrhea. **Curr Opin. Gastroenterol.** v. 25(1), p. 18-23, 2009.

GUARNER, F.; KHAN, A.G.; GARISCH, J.; ELIAKIM, R.; GANGL, A.; THOMSON, A.; KRABSHUIS, J.; MAIR, T.L.; KAUFMANN, P.; PAULA, J.A.; FEDORAK, R.; SHANAHAN, F.; SANDERS, M.E.; SZAJEWSKA, H. Probióticos e Prebióticos.

Organização mundial de Gastroenterologia: Guias Práticas. 2008.

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.

HALLEN, A.; JARSTRAND, C.; PAHLSON, C. Treatment of bacterial vaginosis with *Lactobacilli*. **Sex. Transm. Dis.**, v. 19, p. 146-148, 1992.

HAVENAAR, R.; HUIS IN'T VELD, M.J.H. Probiotics: a general view. In: WOOD, B.J.B. Lactic acid bacteria in health and disease. Amsterdam: **El. App. Sci.** v 1, p. 151-170. 1992.

HE, F.; MORITA, H.; OUWEHAND, A.C.; HOSODA, M.; HIRAMATSU, M.; KURISAKI, J.; ISOLAURI, E.; BENNO, Y.; SALMINEN, S. Stimulation of the secretion of pro-inflammatory cytokines by *Bifidobacterium* strains. **Microbiol. Immunol.**, v. 46, p. 781-785, 2002.

HENNEQUIN, C.; THIERRY, A.; RICHARD, G.F.; LECOINTRE, G.; NGUYEN, H.V.; GAILLARDIN, C.; DUJON, B. Microsatellite typing as a new tool for identification of *Saccharomyces cerevisiae* strains. **J. Clin. Microbiol.**, v. 39, p. 551-559, 2001.

HILTON, E.; ISENBERG, H.D.; ALPERSTEIN, P.; FRANCE, K.; BORENSTEIN, M.T. Ingestion of yogurt containing *Lactobacillus acidophilus* as prophylaxis for candidal vaginitis. **Ann. Intern. Med.**, v. 116, p. 353-357, 1992.

HIRAYAMA, K.; RAFTER, J. The role of probiotic bacteria in cancer prevention. **Microbes Infect.** v. 2(6), p. 681-686, 2000.

HOPPU, U.; KALLIOMAKI, M.; LAIHO, K.; ISOLAURI, E. Breast milk - immunomodulatory signals against allergic diseases. **Allergy**, v. 56, p. 23-S26, 2001.

HURDUC, V.; PLESCA, D.; DRAGOMIR, D.; SAJIN, M.; VANDENPLAS, Y. A randomized, open trial evaluating the effect of *Saccharomyces boulardii* on the eradication rate of *Helicobacter pylori* infection in children. **Acta Paediatr.** v. 98, p. 127-131, 2009.

IM, E.; POTHOUKAKIS, C. Recent advances in *Saccharomyces boulardii* research. **Gastroenterology**. v. 34, p. 562-570, 2010.

ISOLAURI, E. et al. Probiotics: effects on immunity. **The Am. Jour. Clin. Nutr.** v. 73 (3), p. 444-450, 2001.

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.

JAN, R.L.; YEH, K.C.; HSIEH, M.H.; LIN, Y.L.; KAO, H.F.; LI, P.H.; CHANG, Y.S.; WANG, J.Y. *Lactobacillus gasseri* suppresses Th17 pro-inflammatory response and attenuates allergen-induced airway inflammation in a mouse model of allergic asthma. **Br. J. Nutr.** v. 14, p. 1-10. 2011.

JAWHARA, S.; POULAIN, D. *Saccharomyces boulardii* decreases inflammation and intestinal colonization by *Candida albicans* in a mouse model of chemically-induced colitis. **Med. Mycol.**, v. 18, p. 1-10, 2007.

JOHNSON, S. Recurrent *Clostridium difficile* infection: a review of risk factors, treatments and outcomes. **J. Infect.** v. 58(6), p. 403-410, 2009.

KABIR, A.M.; AIBA, Y.; TAKAGI, A.; KAMIYA, S.; MIWA, T.; KOGA, Y. Prevention of *Helicobacter pylori* infection by lactobacilli in a gnotobiotic murine model. **Gut**, v. 41, p. 49-55, 1997.

KAILA, M.; ISOLAURI, E.; SOPPI, E.; VRTANEN, E.; LAINE, S.; ARVILOMMI, H. Enhancement of the circulating antibody secreting cell response in human diarrhea by human *Lactobacillus* strain. **Pediat. Res.**, v. 32, p. 141-144, 1992.

KALLIOMAKI, M.; SALMINEN, S.; ARVILOMMI, H.; KERO, P.; KOSKINEN, P.; ISOLAURI, E. Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomized placebo-controlled trial. **Lancet**, v. 7, p. 1076-1079, 2001.

KALLIOMAKI, M.; SALMINEN, S.; POUSSA, T.; ARVILOMMI, H.; ISOLAURI, E. Probiotics and prevention of atopic disease: 4-year follow-up of a randomized placebocontrolled trial. **Lancet**, v. 31, p.1869-1871, 2003.

KARKOW, F. J. A.; FAINTUCH, J.; KARKOW, A. G. M. Probióticos: perspectivas médicas. **Revista da AMRIGS**, Porto Alegre, v. 51, n. 1, p. 38-48, 2007.

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.

KIRJAVAINEN, P.V.; APOSTOLOU, E.; ARVOLA, T.; SALMINEN, S.J.; GIBSON, G.R.; ISOLAURI, E. Characterizing the composition of intestinal microflora as a prospective treatment target in infant allergic disease. **FEMS Immunol. Med. Microbiol.**, v. 32, p. 1-7, 2001.

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.

KLIGER, B. & COHRSEN, A. Probiotics. **Am. Fam. Physician.** v. 78, p. 1073-1078, 2008.

KOLLARITSCH, H. Traveller's diarrhea among Austrian tourists to warm climate countries: II Clinical features. **Eur. J. Epidemiol.** v. 5(3), p. 355-362, 1989.

KOLLARITSCH, H.; HOLST, H.; GROBARA, P.; WIEDERMANN, G. Prevention of traveller's diarrhea with *Saccharomyces boulardii*. Results of a placebo controlled double-blind study. **Fortschr. Med.** v. 111(9), p. 152-156, 1993.

KRASOWSKA, A.; MURZYN, A.; DYJANKIEWICZ, A.; LUKASZEWICZ, M.; DZIADKOWIEC, O. The antagonistic effect of *Saccharomyces boulardii* on *Candida albicans* filamentation, adhesion and biofilm formation. **FEMS Yeast Res.** v. 9(8), p. 1312-1321, 2009.

LAIHO, K.; OUWEHAND, A.; SALMINEN, S.; ISOLAURI, E. Inventing probiotic functional foods for patients with allergic disease. **Ann. Allergy Asthma Immunol.**, v.89, p. 75-82, 2002.

LAZADO, C.C.; CAIPANG, C.M.; BRINCHMANN, M.F.; KIRON, V. In vitro adherence of two candidate probiotics from Atlantic cod and their interference with the adhesion of two pathogenic bacteria. **Vet Microbiol.** v. 148(2-4), p. 252-259, 2011.

LEWIS, S.J.; POTTS, L.F.; BARRY, R.E. The lack of therapeutic effect of *Saccharomyces boulardii* in the prevention of antibiotic-related diarrhea in elderly patients. **J. Infect.** v. 36, p. 171-174, 1998.

LIDBECK, A.; NORD, C.E.; RAFTER, J.; NORD, C.; GUSTAFFSON, J.A. Effect of *Lactobacillus acidophilus* supplements on mutagen excretion in faeces and urine in humans. **Microb. Ecol. Health. Dis.** v. 5, p. 59-67. 1992.

LIMA FILHO, J.V.M.; VIEIRA, E.C.; NICOLI, J.R. Antagonistic effect of *Lactobacillus acidophilus*, *Saccharomyces boulardii* and *Escherichia coli* against experimental infections with *Shigella flexneri* and *Salmonella enteritidis* ssp. *typhimurium* in gnotobiotic mice. **J. Appl. Microbiol.**, v. 88, p. 365-371, 2000.

LIN, S.Y.; AYRES, J.W.; WINKLER, W.; SANDINE, W.E. *Lactobacillus* effects on cholesterol: *in vitro* and *in vivo* results. **J. Dairy Res.**, v. 72, p. 2885-2899, 1989.

LING, W.H.; HANNINEN, O.; MYKKANEN, H.; SALMINEN, S.; VON WRIGHT, A. Colonization and fecal enzyme activities after oral *Lactobacillus* GG administration in elderly nursing home residents. **Ann. Nutr. Metab.**, v. 36, p. 162-166, 1992.

LING, W.H.; KORPELA, R.; MYKKANEN, H.; SALMINEN, S.; HANNINEN, O. *Lactobacillus* strain GG supplementation decreases colonic hydrolytic and reductive enzyme activities in healthy female adults. **J. Nutr.**, v. 124, p. 18-23, 1994.

LEE, S.K.; KIM, H.J.; CHI, S.G.; JANG, J.Y.; NAM, K.D.; KIM, N.H.; JOO, K.R.; DONG, S.H.; KIM, B.H.; CHANG, Y.W.; LEE, J.I.; CHANG, R. *Saccharomyces boulardii* activates expression of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma in HT-29 cells. **Korean J. Gastroenterol.**, v. 45, p. 328-334, 2005.

LESSARD, M.; DUPUIS, M.; GAGNON, N.; NADEAU, E.; MATTE, J.J.; GOULET, J.; FAIRBROTHER, J.M. Administration of *Pediococcus acidilactici* or *Saccharomyces cerevisiae boulardii* modulates development of porcine mucosal immunity and reduces intestinal bacterial translocation after *Escherichia coli* challenge. **J. Anim. Sci.** v. 55, p. 922-934, 2009.

LEWIS, S.J.; FREEDMAN, A.R. Review article: the use of biotherapeutic agents in the prevention and treatment of gastrointestinal disease. **Aliment Pharmacol Ther.** v. 12, p. 807-822, 1998.

LILLEY, D.M.; STILLWELL, R.H. Probiotics: growth promoting factors produced by microorganisms. **Science**, v. 147, p. 747-748, 1965.

LYTE, M. Probiotics function mechanistically as delivery vehicles for neuroactive compounds: Microbial endocrinology in the design and use of probiotics. **Bioessays.** v. 33(8), p.574-581, 2011.

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.

MAIA, O.B.; DUARTE, R.; SILVA, A.M.; CARA, D.C.; NICOLI, J.R. Evaluation of the
components of a commercial probiotic in gnotobiotic mice experimentally challenged
with *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. Typhimurium. **Vet. Microbiol.**, v. 79, p.
183-189, 2001.

MALLIÉ, M.; NGUYEN VAN, P.; BERTOUT, S.; VAILLANT, C.; BASTIDE, J.-M.
Genotypic study of *Saccharomyces boulardii* compared to the *Saccharomyces sensu*
stricto complex species. **J. Mycol. Med.**, v. 11, p. 19-25, 2001.

MARTEAU, P.R.; VRESE, M.; CELLIER, C.J.; SCHREZENMEIR. Protection from
gastrointestinal diseases with the use of probiotics. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 73, p. 4305-
4365, 2001.

MARTINS, F.S.; NARDI, R.M.D.; ARANTES, R.M.E.; ROSA, C.A.; NEVES, M.J.;
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, 2005.

MARTINS, F. S. Efeito de dois probióticos, *Saccharomyces boulardii* e
Saccharomyces cerevisiae linhagem UFMG 905, na resposta inflamatória

induzida por *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorovar. Typhimurium. 2008.

(Tese/ Doutorado)

MARTINS, F.S.; SILVA, A.A.; VIEIRA, A.T.; BARBOSA, F.H.; ARANTES, R.M.; TEIXEIRA, M.M.; NICOLI, J.R. Comparative study of *Bifidobacterium animalis*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus casei* and *Saccharomyces boulardii* probiotic properties. **Arch. Microbiol.** v. 191 (8), p. 623-630. 2009a.

MARTINS, F.S.; VELOSO, L.C.; ARANTES, R.M.; NICOLI, J.R. Effects of yeast probiotic formulation on viability, revival and protection against infection with *Salmonella enterica* ssp. *Enteric serovar Typhimurium* in mice. **Lett. Appl. Microbiol.** v. 49(6), p. 738-744, 2009b.

MARTINS, F.S.; DALMASSO, G. ARANTES, R.M.; DOVE, A.; LEMICHEZ, E.; LAGADEC, P.; IMBERT, V.; PEYRON, J.F., RAMPAL, P.; NICOLI, J.R.; CZERUCKA, D. Interaction of *Saccharomyces boulardii* with *Salmonella enterica* serovar Typhimurium protects mice and modifies T84 cell response to the infection. **PLoS One.** v. 5(1), e. 8925, 2010.

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.

MATSUZAKI, T.; CHIN, J. Modulating immune responses with probiotic bacteria. **Immunol. Cell. Biol.**, v. 78, p. 67-73, 2000.

MATTILA-SANDHOLM, T.; BLUM, S.; COLLINS, J.K.; CRITTENDEN, R.; DE VOS, W.; DUNNE, C.; FONDEN, R.; GRENOV, G.; ISOLAURI, E.; KIELY, B.; MARTEAU, P.; MORELLI, L.; OUWEHAND, A.; RENIERO, R.; SAARELA, M.; SALMINEN, S.; SAXELIN, M.; SCHIFFRIN, E.; SHANAHAN, F.; VAUGHAN, E.; VON WRIGHT, A. Probiotics: towards demonstrating efficacy. **Trends Food Sci. Technol.** v. 10, p. 393-399, 1999.

MAUPAS, J.; CHAMPEMONT, P.; DELFORGE, M. Treatment of irritable bowel syndrome with *Saccharomyces boulardii*: a double blind, placebo controlled study. **Med. Chir. Dig.** . v. 12 (1), p. 77–79. 1983.

MCCULLOUGH, M.J.; CLEMONS, K.V.; MCCUSKER, J.H.; STEVENS, D.A. Species identification and virulence attributes of *Saccharomyces boulardii* (nom. inval.). **J. Clin. Microbiol.** v. 36, p. 2613-2617, 1998.

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.

MCFARLAND, L.V. Systematic review and meta-analysis of *Saccharomyces boulardii* in adult patients. **World J. Gastroenterol.** . v. 14, p. 2202-2222, 2010.

MCFARLAND, L.V. Beneficial microbes: health or hazard? **Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.**, v. 12, p. 1609-1071, 2000.

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.; BERNASCONI, P. *Saccharomyces boulardii*: A review of an innovative biotherapeutic agent. **Microb. Ecol. Health Dis.**, v. 6, p. 157-171, 1993.

METCHNIKOFF, E. **The Prolongation of Life.** Heinemann, London, UK, 1907.

MINCIS, M.; MINCIS, R.; CALICHMAN, S. Diarréias agudas:atualização diagnóstica e terapêutica. **Prática Hospitalar.** v. 10, n. 55, p. 146-150, 2008.

MITTERDORFER, G.; MAYER, H.K.; KNEIFEL, W.; VIERNSTEIN, H. Clustering of *Saccharomyces boulardii* strains within the species *S. cerevisiae* using molecular typing techniques. **J. Appl. Microbiol.** v. 93, p. 521-530, 2002.

MONTEIRO, E.; FERNANDES, J.P.; VIEIRA, M.R.; CORREIA, J.P.; CAETANO, J.M.; RIBEIRO, T.; ANTUNES, A.B.; NORONHA, R.; BATISTA, F.; REIS, L.; MENDES, M.P.; CABRITA, A.; ROSETA, A.; ABECASSIS, L.; PECEGUEIRO, A.; ROSA, S.; FERREIRA, S.B.; FERNANDES, D. Double blind clinical Trial on the use of ultra-levure in the prophylaxis of antibiotic induced gastro-intestinal and mucocutaneous disorders. **Acta Med. Port.** v. 3, p. 143-145, 1981.

MUMY, K.L.; CHEN, X.; KELLY, C.P.; MCCORMICK, B.A. *Saccharomyces boulardii* interferes with *Shigella* pathogenesis by post-invasion signaling events. **Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol.** v. 294, p. 599-609, 2007.

MUÑOZ, P.; BOUZA, E.; CUENCA-ESTRELLA, M.; EIROS, J.M.; PÉREZ, M.J.; SÁNCHEZ-SOMOLINOS, M. *Saccharomyces boulardii* fungemia: an emerging infectious disease. **Clin. Infect. Dis.** v. 40, p. 1625-1634, 2005.

MURZYN, A.; KRASOWSKA, A.; AUGUSTYNIAK, D.; MAJKOWSKA-SKROBEK, G.; LUKASZEWICZ, M.; DZIADKOWIEC, D. The effect of *Saccharomyces boulardii* on *Candida albicans*-infected human intestinal cell lines Caco-2 and Intestin 407. **FEMS Yeast. Res.** v. 310 (1), p. 17-23, 2010.

NADER DE MACIAS, M.E.; APELLA, M.C.; ROMERO, N.C.; S.N.; OLIVER, G. Inhibition of *Shigella sonnei* by *Lactobacillus casei acidophilus* and *Lact. J. Appl. Bacteriol.* v. 73, p. 407-411, 1992.

NAUMOVA, E.S.; KORSHUNOVA, I.V.; JESPERSEN, L.; NAUMOV, G.I. Molecular genetic identification of *Saccharomyces sensu stricto* strains from African sorghum beer. **FEMS Yeast Res.**, v. 3, p. 177-184, 2003.

NEUMAN, E.; OLIVEIRA, M.A.P.; CABRAL, C.M.; NICOLI, J.R.; VIEIRA, E.C; CARA, D.C.; VIEIRA, L.Q. Monoassociation with *Lactobacillus acidophilus* UFV- H₂B₂₀ stimulates the phagocytic system of germfree mice. **Braz. J. Med. Biol. Res.** v. 31, p. 1565-1573, 1998.

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.

NICOLI, J.R. E VIEIRA, L.Q. Probióticos, prebióticos e simbióticos: moduladores do ecossistema digestivo. **Ciência Hoje**, v. 28, p. 34-38, 2000.

NICOLI, J.R.; RAIBAUD, P. *In vivo* and *in vitro* antagonistic effect against *Clostridium perfringens* of a diffusible compound produced by a *Peptostreptococcus* sp. From human intestinal flora in mice. **Microecol. Ther.** v. 20, p. 141-146, 1990.

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.

OLIVEIRA, M.N.; SIVIERI, K.; ALEGRO, J.H.A.; SAAD, S.M.I. Aspectos tecnológicos de alimentos funcionais contendo probióticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 38, n.1, 2002.

OUWEHAND, A.C.; SALMINEN, S.; ISOLAURI, E. Probiotics: an overview of beneficial effects. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 82, p. 279-289, 2002.

OUWEHAND A.C.; SALMINEN, S.J. The health effects of cultured milk products with viable and non-viable bacteria. **Int. Dairy J.**, v. 8, p. 749-758, 1998.

PANNERDEN, C.M.; VERBON, A. KUIPERS, E.J. Recurrent *Clostridium difficile* infection: what are the treatment options? **Drugs**. v. 71 (7), p. 853-868, 2011.

PARENT, D.; BOSSENS, M.; BAYOT, D.; KIRKPATRICK, C.; GRAF, F.; WILKINSON, F.E.; KAISER, R.R. Therapy of bacterial vaginosis using exogenously applied *Lactobacillus acidophilus* and a low dose of estriol: a placebo-controlled multicentric clinical trial. **Arzneimittelforschung**, v. 46, p. 68-73, 1996.

PARKER, R.B. Probiotics, the other half of the antibiotic story. **Anim. Nutr. Heal.** v. 29, p.4-8, 1974.

PECQUET, S.; GUILLAUMIN, D.; TANCREDE, C.; ANDREMONT, A. Kinetics of *Saccharomyces cerevisiae* elimination from the intestines of human volunteers and effect of this yeast on resistance to microbial colonization in gnotobiotic mice. **Appl. Environ. Microbiol.** v. 57, p. 3049-3051, 1991.

PENNER, R. M.; FEDORAK, R. N. Probiotics in the management of inflammatory bowel disease. **The Med. J. Med;** . v. 7, no. 3, 2005.

PERDIGÓN, G.; FULLER, R.; RAYA, R. Lactic Acid Bacteria and their effect on the immune system. **Curr. Issues Intest. Microbiol.** v. 2(1), p.27-42, 2001.

PEREIRA, E.S.; QUEIROZ, A.C.; PAULINO, M.F.; CECON, P.R.; FILHO, S.C.V.; MIRANDA, L.F.; ARRUDA, A.M.V.; FERNANDES, A.M.; CABRAL, L.S. Fontes Nitrogenadas e Uso de *Sacharomyces cerevisiae* em Dietas à Base de Cana-de-Açúcar para Novilhos: Consumo, Digestibilidade, Balanço Nitrogenado e Parâmetros Ruminais. **Rev. Bras. Zootec.** v. 30(2), p.563-572, 2001.

PERITI, P.; TONELLI, F. Biotherapeutics and biotherapy of surgical enteropathies. **Digest. Liver. Dis.** v. 34, p. 587-597, 2002.

PHAM, M.; LEMBERG, D.A.; DAY, A.S. Probiotics: sorting the evidence from the myths. **Med J Aust.** v.188, p. 304-308, 2008.

PLEIN, K.; HOTZ, J. Therapeutic effects of *Saccharomyces boulardii* on mild residual symptoms in a stable phase of Crohn's disease with special respect to chronic diarrhea--a pilot study. **Z. Gastroenterol.** v. 31(2), p. 129-134, 1993.

PONGPECH, P.; HENTGES, D.J. Inhibition of *Shigella sonnei* and enterotoxigenic *Escherichia coli* by volatile fatty acid in mice. **Microb. Ecol. Health Dis.** v. 2, p. 153-161, 1989.

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.

POTHOULAKIS, C. Review article: anti-inflammatory mechanisms of action of *Saccharomyces boulardii*. **Aliment. Pharmacol. Ther.** v. 15, p.- 826-833,2009.

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.

QUEIROZ, R.C.; BERGAMASCHINE, A.F.; BASTOS, J.F.P.; SANTOS, P.C.; LEMOS, G.C. Uso de produto à base de enzima e levedura na dieta de bovinos:

digestibilidade dos nutrientes e desempenho em confinamento. **Rev. Bras. Zootec.** v. 33, nº6, 2004.

RAUTAVA, S.; ISOLAURI, E. The development of gut immune responses and gut microbiota: effects of probiotics in prevention and treatment of allergic disease. **Curr. Issues Intest. Microbiol.**, v. 3, p. 15-22, 2002.

RAUTIO, M.; JOUSIMIES-SOMER, H.; KAUMA, H.; PIETARINEN, I.; SAXELIN, M.; TYNKKYNEN, 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 agents to protect the urogenital tract against infection. **Am. J. Clin.Nutr.**, v. 73, p. 437S-443S, 2001.

REID, G.; BRUCE, A.W. Low vaginal pH and urinary-tract infection. **Lancet**, v. 346, p. 8991-8992, 1995.

REID, G.; BRUCE, A.W.; FRASER, N.; HEINEMANN, C.; OWEN, J.; HENNING, B. Oral probiotics can resolve urogenital infections. **FEMS Immunol. Med. Microbiol.**, v.30, p. 49-52, 2001.

RETTGER, L.F.; CHEPLIN, H.A. Studies on the Transformation of the Intestinal Flora, with Special Reference to the Implantation of Bacillus Acidophilus: II. **Feeding**

Experiments on Man. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1920.

RETTGER, L.F.; LEVY, W.N.; WEINSTEIN, L.; WEISS, J.E. *Lactobacillus acidophilus* and its therapeutic application. **Yale University Press**, New Haven, 1935.

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.

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

RODRIGUES, Ana Cristina Persichini. **Efeito de *Saccharomyces boulardii* contra os enteropatógenos *Salmonella enteritidis* var. Typhimurium, *Shigella flexneri* e *Escherichia coli* enteroinvasora em camundongos NMRI gnotobióticos e convencionais.** Belo Horizonte, Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, 1995. (Dissertação, Mestrado).

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(3), p.251-256, 1996.

RODRIGUES, A.C.; CARA, D.C.; FRETEZ, S.H.; 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. 89(3), p. 404-414, 2000.

ROLFE, R.D. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. **J. Nutr.**, v. 130, p. 396S-402S, 2000.

SAAVEDRA, J.M. Microbes to fight microbes: a not so novel approach to controlling diarrheal disease. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.**, v. 21, p. 25-29, 1995.

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

SAMONIS, G.; FALAGAS, M.E.; LIONAKIS, S.; NTQOUKAKIS, M.; KAFTERIDIS, D.P.; NTALAS, I.; MARAKI, S. *Saccharomyces boulardii* and *Candida albicans* experimental colonization of the murine gut. **Med. Mycol.** v. 49(3), p. 395-399, 2011.

SANDERS, M.E.; WALKER, D.C.; WALKER, K.M.; AOYAMA, K.; KLAENHAMMER, T.R. Performance of commercial cultures in fluid milk applications. **J. Dairy Sci.** v. 79, p. 943-955, 1996.

SANT'ANA, G.S.; PAES, L.S.; PAIVA, A.F.; FIETTO, L.G.; TOTOLA, A.H.; TRÓPIA, M.J.; SILVEIRA-LEMONS, D.; LUCAS, C.; FIETTO, J.L.; BRANDÃO, R.L.; CASTRO, I.M. Protective effect of íons against cell death induced by acid stress in *Saccharomyces*. **Fems Yeast Res.** v. 9(5), p. 701-712, 2009.

SANTOS, F.A.; NOGUEIRA, N.A.P.; CUNHA, G.M.A. Aspectos microbiológicos do queijo tipo "coalho" comercializado em Fortaleza - Ceará. **B CEPPA.** v.13, n.1, p.31-36, 1995.

SANTOS, A.C.A.L. **Uso de probióticos na recuperação da flora intestinal.** Rio de Janeiro. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. 2010. (Monografia)

SAZAWAL, S.; DHINGRA, U.; HIREMATH, G.; KUMAR, J.; DHINGRA, P.; SARKAR, A.; MENON, V.P.; BLACK, R.E. Effects of fortified milk on morbidity in young children in north India: community based, randomised, double masked placebo controlled trial. **Clin. Res. Ed.** v. 334, p. 140, 2006.

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

SCHREZENMEIR, J.; DE VRESE, M. Probiotics, prebiotics and symbiotics – approaching a definition. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 73, p. 361S-364S, 2001.

SCHIFFRIN, E.J., BRASSART, D., SERVIN, A.L., ROCHA, F. and DONNET-HUGHES, A. Immune modulation of blood leukocytes in humans by lactic acid bacteria: criteria for strain selection. **Am. J. Clin. Nutr.** v.66, p. 515S–520, 1997.

SHIDA, K.; NANNO, M.; NAGATA, S. Flexible cytokine production by macrophages and T cells in response to probiotic bacteria: a possible mechanism by which probiotics exert multifunctional immune regulatory activities. **Gut Microbes.** v. 2(2), p. 109-114, 2011.

SILVA, A.M.; BAMBIRRA, E.A.; OLIVEIRA, A.L.; SOUZA, P.P.; GOMES, D.A.; VIEIRA, E.C.; NICOLI, J.R. Protective effect of bifidus milk on the experimental infection with *Salmonella enteritidis* subsp. *typhimurium* in conventional and gnotobiotic mice. **J. Appl. Microbiol.** v. 86, p. 331-336, 1999.

SILVA, S.H.; VIEIRA, E.C.; DIAS, R.S.; NICOLI, J.R. Antagonism against *Vibrio cholerae* by diffusible substances produced by bacterial components of the human faecal microbiota. **J. Med. Microbiol.** v. 50, p. 161-164, 2001.

SILVA, M.; JACOBUS, N.V.; DENEKE, C.; GORBACH, S.L. Antimicrobial substance from a human *Lactobacillus* strain. **Antimicrob. Agents Chemother.** v. 8, p. 1231-1233, 1987.

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.

SONG, M.J.; PARK, D.I.; PARK, J.H.; KIM, H.J.; CHO, Y.K.; SOHN, C.I.; JEON, W.K.; KIM, B.I. The effect of probiotics and mucoprotective agents on PPI- based triple therapy for eradication of *Helicobacter pylori*. **Helicobacter.** v. 15, p. 206-213, 2010.

SOUGIOULTZIS, S.; SIMEONIDIS, S.; BHASKAR, K.R.; CHEN, X.; ANTON, P.M.; KEATES, S.; POTHOUKAKIS, C.; KELLY, C.P. *Saccharomyces boulardii* produces a soluble anti-inflammatory factor that inhibits NF-kappaB-mediated IL-8 gene expression. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 343, p. 69-76, 2006.

SOYLU, A.; BERKTAS, S.; SARIOGLU, S.; ERBIL, G.; YILMAZ, O.; DEMIR, B.K.; TUFAN, Y.; YESILIRMAK, D.; TURKMEN, M.; KAVUKÇU, S. *Saccharomyces boulardii* prevents oral-poliovirus vaccine-induced IgA nephropathy in mice. **Pediatr. Nephrol.** v. 23, p. 1287-1291, 2008.

SPIES, L. A. Traveler's diarrhea: an update on prevention and treatment. **J. Mid. Wo. Heal.** v. 53, p. 251-254, 2008.

STRINGFELLOW, K.; CALDWELL, D.; LEE, J.; MOHNL, M.; BELTRAN, R.; SCHATZMAYR, G.; FITZ-COY, S.; BROUSSARD, C.; FARNELL, M. Evaluation of

probiotic administration on the immune response of coccidiois- vaccinated broilers. **Poult. Sci.** v. 90(8), p. 1652-1658, 2011.

SURAWICZ, C.M.; ELMER, G.W.; SPEELMAN, P.; MCFARLAND, L.V.; CHINN, J.; VAN BELLE, G. Prevention of antibiotic-associated diarrhea by *Saccharomyces boulardii*: a prospective study. **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.

SZAJEWSKA, H.; HAVATH, A.; PIWOWARCZYK, A. Meta-analysis: the effects of *Saccharomyces boulardii* supplementation on *Helicobacter pylori* eradication rates

and side effects during treatment. **Aliment. Pharmacol. Ther.** v. 32, p. 1069-1079, 2010.

TANNOCK, G.W. Microbial interactions and influences in gastrointestinal tract. *Lactobacilli* and the gastrointestinal tract. **Proc. IV ISME**, p. 526-532, 1986.

TASTEYRE, A.; BARC, M.C.; KARJALAINEN, T.; BOURLIOUX, P.; COLLIGNON, A.
Inhibition of *in vitro* cell adherence of *Clostridium difficile* by
Saccharomyces
boulardii. **Microb. Pathog.**, v. 32, p. 219-25, 2002.

TEITELBAUM, J.E.; WALKER, W.A. Nutritional impact of pre- and probiotics as protective gastrointestinal organisms. **Annu. Rev. Nutr.**, v. 22, p. 107-138, 2002.

TEJADA-SIMON, M.V.; PESTKA, J.J. Proinflammatory cytokine and nitric oxide induction in murine macrophages by cell wall and cytoplasmic extracts of lactic acid bacteria. **J Food Prot.** v.62, p. 1435-1444, 1999.

THE KAISER CENTER FOR PROBIOTIC RESEARCH. Guide to Probiotics.
Disponível em <<http://probioticsreviewed.com/probiotic-strains/saccharomyces-boulardii/>>. Acesso em 13 novembro 2011.

TOOTHAKER, R.D.; ELMER, G.W. Prevention of clindamycin-induced mortality in hamsters by *Saccharomyces boulardii*. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 26, p. 552- 556, 1984.

VANDENBERG, P.A. Lactic acid bacteria, their metabolic products and interference with microbial growth. **FEMS Microbiol. Rev.**, v. 12, p. 221-238, 1993.

VANDENPLAS, Y.; BRUNSER, O.; SZAJEWSKA, H. *Saccharomyces boulardii* in childhood. **Eur. J. Pediatr.** v. 168, no. 3, p. 253-265, 2009.

VAN DER AA KUHLE, A.; JESPERSEN, L. The taxonomic position of *Saccharomyces boulardii* as evaluated by sequence analysis of the D1/D2 domain of 26S rDNA, the ITS1-5.8S rDNA-ITS2 region and the mitochondrial cytochrome-c oxidase II gene. **Syst. Appl. Microbiol.**, v. 26, p. 564-571, 2003.

VENUGOPALAN, V.; SHRINER, K.A.; WONG-BERINGER, A. Regulatory oversight and safety of probiotic use. **Em. Infec. Dis.** v. 16, p. 1661-1665, 2010.

VESA, T.; MARTEAU, P.; KORPELA, R. Lactose intolerance. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 19, p. 165S-175S, 2000.

VILELA, G.E., FERRARI, M.L.A., TORRES, H.O.G., PINTO, A.G., AGUIRRE, A.C.C., MARTINS, F.P., GOULART, E.M.A.G., CUNHA, A.S. Influence of *Saccharomyces boulardii* on the intestinal permeability of patients with Crohn's disease in remission. **Scand. J. Gastroenterol.** 43: 842-848, 2008.

WILSON, K.H.; PERINI, F. Role of competition for nutrients of *Clostridium difficile*

by the colonic microflora. **Infect. Immun.**, v. 56, p. 2610-2614, 1988.

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.

WOLLOSWSKI, I.; JI, S.T.; BAKALINSKY, A.T.; NEUDECKER, C.; POOLZOBEL, B.L. Bacteria used for the production of yogurt inactivate carcinogens and prevent DNA damage in the colon of rats. **J. Nutr.** v. 129, p. 77-82, 1999.

WU, X.; VALLANCE, B.A.; BOYER, L.; BERGSTROM, K.S.B.; WALKER, J.; MADSEN, K.; O'KUSKY, J.R.; BUCHAN, A.M.; JACOBSON, K. *Saccharomyces boulardii* ameliorates *Citrobacter rodentium*-induced colitis through actions on bacterial virulence factors. **Am. J. Physiol. – Gastr. Liv. Physiol.** v. 294, p. 295-306, 2008.

YOON, S.S.; JUN, S. Probiotics, Nuclear Receptor Signaling, and anti-inflammatory pathways. **Gastroenterol. Res. Pract.** v. 2011, p. 938-971, 2011.

ZANELLO, G.; MEURENS, F.; BERRI, M.; SALMON, H. *Saccharomyces boulardii* effects on gastrointestinal diseases. **Curr. Issues Mol. Biol.** v. 11, p. 47-58, 2009.

ZEOULA, L.M.; BELEZE, J.R.F.; GERON, L.J.V.; MAEDA, E.M.; PRADO, I.N.; PAULA, M.C. Digestibilidade parcial e total de rações com a inclusão de ionóforo ou probiótico para bubalinos e bovinos. **Rev. Bras. Zootec.** v. 37, 2008.