

AGENTES MICROBIANOS REGULADORES DA MICROBIOTA INTESTINAL HUMANA E ANIMAL: UMA ABORDAGEM GERAL

CRISTIANA DA PURIFICAÇÃO PINTO¹, ELINALVA MACIEL PAULO^{1,2,3}, HÉLIO KAMIDA MITOSHI^{2,4},
CARLA SANTOS RIBEIRO PINHEIRO⁴ & ANA PAULA TROVATTI UETANABARO^{1,3*}

¹Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS),
Departamento de Ciências Biológicas, Km 03, BR 116, 44031-460, Feira de Santana, Bahia, Brasil

²Laboratório de Microbiologia Aplicada e Saúde Pública, Departamento de Ciências Biológicas/UEFS

³Laboratório de Controle de Qualidade Microbiológico, Departamento de Saúde/UEFS

⁴Laboratório de Pesquisa em Microbiologia, Departamento de Ciências Biológicas/UEFS

*Author for correspondence: apaula@uefs.br

(Agentes microbianos reguladores da microbiota intestinal humana e animal: uma abordagem geral) – Probióticos são aditivos alimentares constituídos por microrganismos vivos que exercem efeitos benéficos no hospedeiro. Seu principal mecanismo de ação baseia-se no princípio da exclusão competitiva. Atualmente, diversos microrganismos vêm sendo isolados e selecionados para a formulação de produtos probióticos, que são classificados pela FDA (Food and Drug Administration) como um produto GRAS (*Generally Recognized as Safe*). Existem no mercado várias formulações probióticas, que podem ser constituídas por diferentes espécies de bactérias, fungos filamentosos e leveduras, ou por somente um tipo de microrganismo. As espécies de leveduras mais utilizadas correspondem a *Saccharomyces cerevisiae* e *S. boulardii*. A administração destas leveduras no hospedeiro foi relatada como segura e bem tolerada pelas crianças, porém recentemente alguns autores descreveram casos de septicemia e fungemia em pacientes imunossuprimidos e imunocompetentes recebendo bioterapia com estas leveduras. Assim, este trabalho consiste em uma revisão, onde são abordados os diferentes aspectos da relação dos microrganismos probióticos sobre a saúde humana e animal.

Palavras-chave: Microbiota intestinal, probióticos, leveduras.

(Regulating microbial agents of human and animal intestinal microbiota: an overview) – Probiotics are alimentary additives constituted by microorganisms that have a beneficial effect in the host. Their main mechanism of action is based on the principle of competitive exclusion. Nowadays several microorganisms have been isolated and selected for the production of probiotic products that are classified by the FDA (Food and Drug Administration) as a GRAS (Generally Recognized Safe) product. There are many probiotics that can be constituted by different species of bacteria, filamentous fungi and yeasts or even by only one microorganism. *S. cerevisiae* and *S. boulardii* are the most used yeast species for probiotic production. The administration of these yeasts in the host was reported as safe and well tolerated by children. However, some authors recently described cases of septicemia and fungemia in immunosuppressed and immunocompetent patients that received bioterapy with these yeasts. Thus, this work is a revision of different aspects of the relationship of probiotic microorganisms in human and animal health.

Key words: Intestinal microbiota, probiotics, yeasts.

HISTÓRICO

Em um ecossistema, os seres vivos se relacionam entre si de forma cooperativa ou competitiva para se estabelecerem no ambiente. Estas relações podem ocorrer entre organismos do mesmo táxon ou de táxons diferentes, podendo ser inter ou intra-específica. Tais interações eram somente observadas em organismos macroscópicos, posteriormente, com a evolução da microbiologia, os organismos microscópicos passaram também a fazer parte deste cenário. Segundo FERREIRA & ASTOLFI-FERREIRA (2006), Pasteur & Joubert, em 1877, detectaram esta interação entre os microrganismos ao observarem a atividade antagonista entre diferentes isolados bacterianos. Esses autores constataram que o controle de bactérias patogênicas poderia ser realizado com bactérias não patogênicas. Médicos antigos do Oriente Médio prescreviam iogurte e outros leites fermentados para cura de desarranjos estomacais, intestinais e como estimulantes

do apetite (ATHERTON & ROBBINS, 1987). No início do século XX, por volta de 1907, Elie Metchnikoff, assistente de Pasteur, popularizou a idéia de que a longevidade de certos habitantes do Cáucaso e dos Bálcãs se devia ao uso contínuo do iogurte, que mantendo a microbiota intestinal com um nível favorável de bactérias lácticas, evitaria a auto-intoxicação resultante da absorção de amins tóxicas produzidas pelos microrganismos proteolíticos do intestino (BIER, 1985). O efeito maléfico de organismos putrefativos poderia ser minimizado ou prevenido pelo estabelecimento de lactobacilos no trato intestinal (SHAHANI & AMADU, 1980). A partir dos estudos de Metchnikoff, vários pesquisadores realizaram pesquisas para constatar esta interação microbiana (DRASAR *et al.*, 1969; MURALIDRAHA *et al.*, 1972; BEERENS *et al.*, 1980; KLAENHAMMER, 1982; GILLILAND, 1988).

No final dos anos 1940, o interesse pela microbiota digestiva e pelos mecanismos de ação destes microrganismos, conduziu ao aumento desses estudos,

ocasião em que foram isolados 1.016 microrganismos vivos e identificados os mais importantes para os processos digestivos e seus efeitos sobre o hospedeiro. Segundo FULLER (1989), destes 1.016 microrganismos vivos da microbiota digestiva das diversas espécies animais, cerca de 30% geralmente eram microrganismos que não exerceriam benefício para o hospedeiro, e que até poderiam causar graves perdas à produção animal, prejuízos na saúde do homem e desequilíbrio do meio ambiente. Dentro deste grupo de microrganismos é possível encontrar as bactérias enteropatogênicas oportunistas (*Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Streptococcus fecalis* etc.). ANDREATTI FILHO & CROCCI (2002) citam em seu trabalho que NURMI & RANTALA (1973) realizaram experimentos com pintinhos de um a dois dias de idade, com o objetivo de prevenir a colonização intestinal por *Salmonella infantis*, enterobactéria patogênica em aves. Neste experimento, eles administraram o conteúdo intestinal de aves adultas sadias em pintinhos, e foi observado que a administração deste material promovia uma rápida colonização da mucosa intestinal e aumentava a resistência dos pintinhos a *Salmonella* spp. Este procedimento foi denominado “conceito de Nurmi” ou Exclusão Competitiva.

Nas últimas décadas, muita atenção tem sido dada à modulação da microbiota intestinal normal por adjuvantes microbianos vivos chamados de probióticos. PAULO (1991) cita em sua revisão que Parker, em 1974, definiu probiótico como sendo um preparado composto por microrganismos destinados à suplementação de dietas com o objetivo de contribuir para o balanço microbiano digestivo. Mais tarde, em 1989, foi considerado por Fuller como um suplemento alimentar microbiano vivo que afetava benéficamente o animal hospedeiro pela melhora do balanço microbiano digestivo. Atualmente, o probiótico é definido como uma preparação ou produtos contendo determinado(s) microrganismo(s) viável(is) em quantidade suficiente, que alteram a microbiota em um determinado compartimento do hospedeiro, exercendo, deste modo, pelo menos um efeito benéfico (SCHREZENMEIR & DE VRESE, 2001).

No Brasil, desde 1986, o probiótico é considerado como um aditivo alimentar compostos por microrganismos viáveis, usado na ração animal em substituição aos antibióticos, como promotor de crescimento segundo a Secretaria de Defesa Agropecuária e Defesa Sanitária Animal do Ministério da Agricultura. Segundo a Resolução RDC nº 2, de 07 de janeiro de 2002, probióticos são microrganismos vivos capazes de melhorar o equilíbrio microbiano intestinal produzindo efeitos benéficos à saúde do indivíduo. A grande vantagem da utilização de probióticos é a ausência de efeitos secundários, como a seleção de bactérias resistentes. Os efeitos benéficos destes microrganismos são basicamente os mesmos da microbiota normal do hospedeiro. 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 algumas leveduras (NICOLI *et al.*, 2003).

O PAPEL DA MICROBIOTA INTESTINAL

O termo microbiota intestinal refere-se à população microbiana que reside normalmente nos intestinos do hospedeiro. BARBOSA *et al.* (2005) citam que pelo menos três *habitats* podem ser considerados: luz intestinal, camada de muco e superfície epitelial. As bactérias anaeróbias, que são as predominantes, formam camadas na superfície da mucosa intestinal. Estima-se que o trato gastrointestinal dos mamíferos possui uma população total composta por 10^{14} Unidades Formadoras de Colônias (UFC) de microrganismos, sendo que o número de espécies bacterianas chega em torno de 400, embora estudos atuais indiquem que somente 30 a 40 espécies chegam a atingir níveis dominantes, onde possam ter funções para o hospedeiro que os aloja (MOORE & HOLDEMAN, 1974).

Os diversos componentes da microbiota gastrointestinal estão presentes em sítios anatômicos diferentes, variando os níveis populacionais de cada grupo. NICOLI *et al.* (2003), utilizando animais gnotobióticos, relatam que no intestino grosso humano podem ser observados três níveis distintos: (I) microbiota dominante (99% da população, 10^9 – 10^{11} UFC/g de conteúdo) constituída somente por bactérias anaeróbias estritas (*Bacteroides*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Bifidobacterium*); (II) microbiota subdominante (0,99% da população, 10^7 – 10^8 UFC/g de conteúdo) predominantemente anaeróbia facultativa (*E. coli*, *Enterococcus faecalis* e algumas vezes *Lactobacillus*); e (III) microbiota residual (0,01% da população, $<10^7$ UFC/g de conteúdo) contendo uma grande variedade de outros gêneros de bactérias (*Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*, *Veillonella*, como também leveduras e protozoários).

No estômago também residem várias espécies de bactérias, principalmente cocos Gram-positivos, mais tolerantes à acidez gástrica. O número dessas bactérias é geralmente inferior a 10^3 UFC/mL (BARBOSA *et al.*, 2005). Em geral, nos indivíduos sadios, a população microbiana é estável quanto às características quantitativas e qualitativas, e qualquer alteração nestas condições pode levar a uma disbiose intestinal (disfunção colônica devido à alteração da microbiota intestinal).

A microbiota normal associada ao trato digestivo é responsável por três funções importantes à saúde do hospedeiro: a resistência à colonização (inibe a multiplicação de microrganismos exógenos no local); a imunomodulação (permite uma resposta imune mais rápida e adequada durante uma agressão infecciosa); e uma contribuição nutricional (fornece vitaminas e substratos energéticos e reguladores na forma de ácidos graxos voláteis) (VIEIRA & NICOLI, 1990). Além disso, estimula o peristaltismo e a renovação das células epiteliais do cólon (McFARLAND, 2000).

A supressão da microbiota normal cria condições para a implantação de microrganismos provenientes do ambiente externo ou de outras partes do corpo ou, ainda, do aumento considerável de algumas populações microbianas. Estes microrganismos comportam-se como oportunistas e podem se tornar patógenos (BROCK, 1994).

Um desequilíbrio da microbiota intestinal levando a uma maior proliferação de patógenos pode provocar distúrbios gastrointestinais, podendo ocorrer principalmente por modificação na dieta alimentar (TAYLOR, 1980), estresse e pela administração oral de antibióticos (SORRELS & SPECK, 1970; SHAHANI & AMADU, 1980). Na interação microbiota entérica normal - microbiota patogênica, a microbiota normal intestinal atua como um mecanismo protetor na prevenção contra o estabelecimento da infecção entérica (DAHAN *et al.*, 2003; BILOO *et al.*, 2006). NISSELE (1916), citado por HENTGES (1970), discutiu a possibilidade da microbiota intestinal normal poder ser um fator significativo na resistência natural a infecções entéricas no homem e em outros animais. A microbiota intestinal normal controla a invasão de patógenos no trato intestinal pelos seguintes mecanismos: produção de bacteriocinas e outras substâncias inibitórias (MARTINIS *et al.*, 2003); competição pelo substrato na utilização de fontes energéticas (HADAM & MIKOLAJEIK, 1974); e competição pelo sítio de aderência ao epitélio intestinal (KLEEMAN & KLAENHAMER, 1982), inibição da produção ou ação de toxinas bacterianas (BRANDÃO, 1998).

Trabalhos recentes confirmam estes efeitos benéficos (AURELI & FRANCIOSA, 2002; MORELLI, 2002; KARIMI & PENA, 2003; MERCENIER *et al.*, 2003; CABANA *et al.*, 2006; DONOHUE, 2006; LOPITZ-OTSOA *et al.*, 2006) e acrescentam outros, como a modulação da resposta imune (COPPOLA & GIL-TURNES, 2004; MARTINS *et al.*, 2007), a redução da absorção de micotoxina presentes na ração animal (BAPTISTA, 2005) e como sendo efetivos no tratamento da giardíase (BESIRBELLIOGLU *et al.*, 2006).

PROBIÓTICO COMO AGENTE PREVENTIVO E TERAPÊUTICO DOS DISTÚRBIOS GASTROINTESTINAIS

Atualmente diversos microrganismos vêm sendo isolados e selecionados para a formulação de produtos probióticos, que são classificados pela FDA (Food and Drug Administration) como um produto GRAS (*Generally Recognized As Safe*). Os probióticos são utilizados na prevenção e terapia dos distúrbios gastrointestinais, tais como diarreia associada a antibióticos (incluindo doenças intestinais associadas ao *Clostridium difficile*), infecções bacterianas e diarreia viral, incluindo diarreia causada por rotavírus, *Shigella*, *Salmonella*, *E. coli* enterotoxigênica, *Vibrio cholerae* e vírus da imunodeficiência humana, desordem da imunodeficiência adquirida, diarreia alimentar enteral, gastroenterite causada pela *Helicobacter pylori*, deficiência a sacarase e maltase, doença inflamatória do intestino, síndrome da irritabilidade do intestino, proliferação excessiva de bactérias no intestino delgado e intolerância a lactose, inibição de enzimas bacterianas envolvidas na síntese de carcinogênicos colínicos (ROLFE, 2000), diarreia do viajante e diverticulite (NOVAK & KATZ, 2006).

Para serem efetivos, os microrganismos probióticos utilizados devem ser originados da microbiota normal da própria espécie do hospedeiro (humano ou

animal), devem sobreviver às condições naturais do hospedeiro, como enzimas digestivas, sais biliares e suco gástrico, bem como estarem presentes em número significativo (acima de 10^6 UFC/g do produto) (FULLER, 1989). Além disso, eles deverão resistir às condições de processamento industrial (TESHIMA, 2003).

A utilização de probióticos substituindo os antibióticos como promotores de crescimento já se tornou uma realidade em diversos países, nos quais são usados na criação de diferentes espécies animais, como: suínos, no controle da diarreia pós-desmame, causada principalmente pela *E. coli* (PAULO, 1991); aves, para aumentar a eficiência alimentar e reduzir as mortalidades causadas por *E. coli* e *Salmonella*; em bezerros, para minimizar as conseqüências do estresse, provocado pela prática da criação intensiva. Outros animais também utilizam estes inoculantes microbianos, como ovelhas, potros, perus, cães, avestruz e peixes, visando melhorar as condições intestinais proporcionando uma melhoria geral da saúde, dando origem a animais robustos e sadios (PAULO, 1993).

Muitos microrganismos probióticos disponíveis no mercado foram isolados de humanos sadios e alguns deles já possuem diversos de seus mecanismos de ação desvendados, tendo sido testados tanto em ensaios experimentais como em ensaios clínicos, sendo as bactérias a maior parte dos probióticos comercializados (MARTINS *et al.*, 2005b). BITTENCOURT *et al.* (2001) citam trabalhos com probióticos de uso animal comercializados ou estudados que já foram identificados e que englobam microrganismos, como: *Lactobacillus*, principalmente *L. lactis*, *L. bulgaricus*, *L. plantarum*, *L. casei*, *L. fermentum* e *L. acidophilus* (NEUMANN *et al.*, 1998); *Escherichia coli* (FIGUEIREDO *et al.*, 2001); *Enterococcus faecium* e *E. faecalis* (MAIA *et al.*, 2001); *Bifidobacterium bifidu*, *B. infantis* e *B. longum* (PODOPRIGORA *et al.*, 1999); *Bacillus subtilis* e *B. toyoi*, bem como as leveduras *Saccharomyces* spp. (RODRIGUES *et al.*, 1996; PERET FILHO *et al.*, 1998). Além desses microrganismos, também são utilizadas espécies de propionibactérias e diferentes espécies de fungos filamentosos (GILLILAND, 1988).

É essencial que nos produtos probióticos vendidos com qualquer indicação de saúde seja encontrado o critério mínimo de um milhão de células probióticas viáveis por mililitro de produto até a data de validade. De acordo com a literatura, a dosagem mínima de células probióticas por dia para qualquer efeito benéfico no consumidor é de 10^8 – 10^9 UFC/mL do probiótico (KURMANN & RASIC, 1991) correspondendo a um consumo diário de 100g do produto contendo 10^6 – 10^7 UFC/mL.

UTILIZAÇÃO DE LEVEDURAS COMO PROBIÓTICOS

As leveduras são organismos eucarióticos unicelulares que existem no solo, ar, plantas, frutos e alimentos, podendo ser de vida livre, simbiótica ou parasitária. Muitas delas exercem efeitos antagônicos na microbiota do hospedeiro. A espécie mais comum é *Saccharomyces cerevisiae*, conhecida vulgarmente como

levedura de padeiro ou da cerveja (STONE, 1998). Segundo JAKOBSEN & NARVHUS (1996), citados por LOURENS-HATTINGH & VILJOEN (2001), historicamente, o uso da levedura, especialmente do gênero *Saccharomyces*, como um probiótico é associado com a alimentação do gado.

Existem, aproximadamente, 700 espécies diferentes de leveduras, separadas em cerca de 39 gêneros, mas apenas uma espécie é utilizada como probiótico, a *S. cerevisiae*, na medicina veterinária e humana. As linhagens de *S. cerevisiae* usadas nos produtos probióticos são, de acordo com definições taxonômicas oficiais, um subtipo das espécies de *S. cerevisiae* conhecido como *S. cerevisiae* Hansen CBS 5926. Anteriormente, acreditava-se ser uma espécie separada designada como *S. boulardii* (McCULLOUGH *et al.*, 1998), e embora a denominação antiga seja considerada inválida atualmente, ela continua aparecendo em descrições de produtos terapêuticos disponíveis comercialmente (POSTERARO *et al.*, 2005); por este motivo, foi mantida no presente trabalho.

S. boulardii não pode ser distinguida de outras linhagens de *S. cerevisiae* por critérios fenotípicos, por isso sua identificação destas linhagens requer a tipagem molecular. Para identificar a metodologia mais eficaz para distinguir *S. boulardii*, POSTERARO *et al.* (2005) tiparam 35 isolados de *S. cerevisiae*, dos quais 27 foram obtidos de amostras clínicas e oito isolados de *S. boulardii* (seis obtidas de preparações probióticas e dois espécimes clínicos), utilizando quatro diferentes métodos moleculares, dois deles baseados na análise do perfil de restrição por enzimas de produtos de PCR ou sequenciamento de regiões espaçadoras, o terceiro método foi baseado na análise do polimorfismo de microssatélites dos genes YKL139w e YLR177w de *S. cerevisiae*, e o último foi baseado na análise de hibridação com o retrotransposon Ty917. Os resultados mostraram que muitos dos isolados clínicos apresentaram-se idênticos a um ou mais isolados com os três primeiros métodos utilizados, enquanto que com a hibridação com Ty917 todos os isolados testados pareceram muito heterogêneos. Os oito isolados de *S. boulardii* foram claramente distintos dos isolados clínicos de *S. cerevisiae* somente com a hibridação com Ty917 e com as análises de microssatélite de DNA. Neste último método, oito isolados de *S. boulardii* exibiram variância alélica em um dos loci testados, o que não foi observado em nenhuma outra linhagem.

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 (BODDY *et al.*, 1991 *apud* MARTINS *et al.*, 2005b). Esta última propriedade é importante, pois algumas terapias associam a administração de probióticos como, por exemplo, o uso de antibacterianos durante infecções gastrintestinais (ROLFE, 2000) e em casos de pacientes infectados por *Helicobacter pylori* (ARMUZZI *et al.*, 2001 *apud* MARTINS *et al.*, 2005b).

O FDA criou em 1989 o termo “*direct-fed microbials*” (DFM), que corresponde a um aditivo de origem microbiana adicionado no alimento, o qual engloba

microrganismos vivos que ocorrem naturalmente, incluindo bactérias, fungos e leveduras. Classificados como aditivos, as culturas de leveduras são utilizadas na alimentação animal há mais de seis décadas. JARDAM & FOURDRAINE (1993), citados por BARBOSA *et al.* (2005), observaram que o uso da levedura triplicou na década de 1990 nos Estados Unidos, passando de 16,9% para 50,8% o número de produtos que utilizam leveduras como fonte de aditivos alimentares no rebanho leiteiro.

Existem atualmente disponíveis no mercado brasileiro sete preparações farmacêuticas contendo leveduras como probiótico. Deste total, seis são formulados com *S. boulardii* e uma contém *S. cerevisiae*. Entretanto, nem todos os produtos comercializados possuem todas as características necessárias para a finalidade bioterapêutica, como número de células viáveis e capacidade de conservação e reativação da levedura, características fundamentais para a atuação de um probiótico no trato gastrintestinal (MARTINS *et al.*, 2005a, 2005b).

4.1 *Saccharomyces boulardii*

S. boulardii foi primeiramente isolada de uma fruta local (*Litchi chinensis*) da Indochina nos anos 1950 e, desde então, vem sendo usada como um agente preventivo e terapêutico para o tratamento de uma variedade de doenças diarreicas (McFARLAND & BERNASCONI, 1993 *apud* LOURENS-HATTINGH & VILJOEN, 2001). É uma levedura bastante utilizada em muitos países como agente preventivo e terapêutico para diarreia e outras desordens gastrintestinais causadas pela administração de agentes antimicrobianos. Possui muitas propriedades que a fazem um agente probiótico potencial, pois inibe o crescimento de um número de microrganismos patogênicos *in vivo* e *in vitro*; sua temperatura ótima de crescimento é 37°C; sobrevive pela passagem do trato gastrintestinal; é rapidamente eliminada, quando a terapia é interrompida; e não é afetada por terapia com antibióticos (BLEHAUT & BODDY *et al.*, 1991 e BRUGIER & PATTE, 1975 *apud* ROLFE, 2000).

S. boulardii tem sido bastante utilizada na Europa para prevenção da diarreia associada a antibióticos: extensamente utilizada como probiótico para tratar os pacientes com reincidência de diarreia associada à *Clostridium difficile* (SURAWICZ *et al.*, 2000). Seu uso também foi sugerido como tratamento para a diarreia de viajante (CANDELLI *et al.*, 2002; RIQUELME *et al.*, 2003).

Estudo realizado por URGANCI *et al.* (2001) avaliou a eficácia e tolerabilidade desta levedura como um agente anti-diarréico em crianças com enfermidade diarreica aguda. A frequência de diarreia no grupo que recebeu probiótico foi significativamente menor (3,4%) quando comparada ao grupo que recebeu o placebo (17,3%). Segundo os autores, o probiótico de levedura foi bem tolerado pelas crianças.

4.2 *Saccharomyces cerevisiae*

Existem, no mundo, milhares de cepas diferentes de *S. cerevisiae*, a grande maioria delas selvagens, que habitam ao nosso redor apresentado diferentes substratos de sua preferência. Existem as que participam da

fermentação alcoólica, onde a capacidade de adsorver bactérias é uma qualidade indesejável; as de panificação, onde se procura a ativação mais rápida possível e a produção de CO₂ para provocar o crescimento da massa, e as que foram selecionadas para uso na alimentação animal, onde diferentes características são buscadas. Portanto, o uso de uma levedura originária da indústria de panificação não é a mais indicada para alimentação animal, assim também como não são as direcionadas à produção de álcool (FRANCO *et al.*, 2005).

As leveduras vivas atuam no aparelho digestivo impedindo que a população bacteriana, principalmente as enterobactérias, instalem-se nele, através do processo de exclusão competitiva. Várias interações antagônicas específicas foram informadas entre cultivo de leveduras como *S. cerevisiae* e patógenos entéricos, por exemplo, *E. coli* enteropatogênica, *Shigella* e *Salmonella*. Apesar da *S. cerevisiae* não fazer parte da microbiota intestinal autóctone, ela pode sobreviver à passagem pelo trato gastrointestinal, o que possibilita seu uso como agente probiótico (GEDEK, 1991 *apud* LOURENS-HATTINGH & VILJOEN, 2001). *S. cerevisiae* tem sido usada como suplemento alimentício devido a seu alto conteúdo de vitaminas, particularmente aquelas do grupo B, minerais, proteínas e enzimas, e também é empregada como um bioterapêutico ou agente probiótico para reequilibrar a microbiota intestinal (NICOLI *et al.*, 2003).

POSTERARO *et al.* (2005) citam estudos clínicos realizados por MCFARLAND *et al.* (1994), BLEICHNER *et al.* (1997) e GUSLANDI *et al.* (2000), mostrando que preparações à base de leveduras *S. cerevisiae* e *S. boulardii* são efetivas para o tratamento de diarreia crônica ou recorrente, especialmente naqueles casos associados com nutrição parenteral e/ou superinfecção por *C. difficile*. Com relação ao efeito terapêutico da *S. cerevisiae* sobre a colite pseudomembranosa causada pelo *C. difficile* em humanos, tem sido atribuído ao lançamento de uma protease 54-KDa que causaria clivagens nas toxinas A e B de *C. difficile* e diminuiria a capacidade de se ligarem aos receptores localizados na parede do cólon (CASTAGLIUOLO *et al.*, 1999).

Um outro efeito benéfico observado pelas leveduras é a redução da absorção de micotoxinas que podem estar presentes na ração ingerida pelos animais, o que pode ser constatado no trabalho realizado por BAPTISTA (2005) que avaliou o efeito de linhagens de *S. cerevisiae* na redução de aflatoxicoses. Este trabalho contribuiu para o entendimento do modo de ação destas leveduras sobre a aflatoxina B₁. Estas leveduras modificaram a absorção, a distribuição e a excreção de aflatoxina B₁ em ratos Wistar.

Os transtornos entéricos em animais associados à proibição do uso de antibióticos pela Comunidade Econômica Européia e pelas exigências estabelecidas pelo Governo Federal Brasileiro sobre o uso destas drogas na ração animal, determinaram a busca de novas alternativas, entre as quais a utilização de probióticos, prebióticos e simbióticos (MAIORKA *et al.*, 2001).

S. cerevisiae constitui uma das leveduras mais utilizadas como aditivo alimentar na ração animal. Além

de serem um concentrado protéico, estas leveduras podem ser utilizadas como fonte de vitaminas do complexo B, especialmente tiamina, riboflavina, niacina e ácido pantotênico e ergosterol, o que as tornam também uma excelente fonte de vitamina D (BACCARIN & PEZATO, 2001). Segundo BUTOLO (1997), tem sido observado que, graças à ação de sinergismo, as vitaminas das leveduras têm, em quantidade equivalente, efeitos mais marcantes do que as vitaminas sintéticas.

Além de favorecer o desempenho de frangos de corte, linhagens de *S. cerevisiae* têm sido descritas como redutores de microrganismos enteropatogênicos (GRIGOLETTI *et al.*, 2002). A indústria avícola é a que possui maior demanda de promotores de crescimento, por ser caracterizada pelo curto ciclo de produção das aves associado a uma grande produtividade. *S. cerevisiae* vem substituindo os antibióticos com o objetivo de melhorar o desempenho na conversão alimentar e conseqüentemente o ganho de peso dos animais (BUTOLO, 1991 *apud* GRIGOLETTI *et al.*, 2002). As leveduras não são habitantes normais do aparelho digestivo das aves. Elas são encontradas na natureza em frutas cítricas, cereais e vegetais. Portanto, a capacidade de atuarem como probiótico dependerá do uso contínuo e do fornecimento de quantidades suficientes de células vivas (FLEMMING, 2005).

Em estudos realizados com aves, SANTIN *et al.* (2001) inferiram que o uso de parede celular de leveduras em dietas de frango de corte aumentava a altura das vilosidades da mucosa intestinal, sugerindo que essa ação poderia explicar a melhoria no desempenho das aves. A superfície das leveduras contém moléculas de carboidratos complexos, mananoligossacarídeos (MOS) (SAFNEWS, 2006), que interferem na habilidade das bactérias de se aderirem à parede intestinal.

Na dieta de ruminantes, *S. cerevisiae* também é muito utilizada por, possivelmente, estimular a atividade de microrganismos benéficos no trato gastrointestinal aumentando, deste modo, a digestibilidade de nutrientes e o potencial de produção de animais (WOHLT *et al.*, 1998 *apud* MARTINS *et al.*, 2005b). ALVES *et al.* (2000) realizaram experimentos adicionando probiótico constituído por *L. acidophilus*, *S. faecium* e *S. cerevisiae* na dieta dos vitelos, resultando em maior peso vivo dos animais aos 119 dias de idade, maior ganho de peso vivo e melhor conversão alimentar no período de 92 aos 119 dias de idade, entretanto, no período experimental total não houve efeito significativo para as variáveis avaliadas.

Experimentos realizados por LIMA *et al.* (2004) sobre nutrição alternativa de ruminante sugerem a adição da uréia e da levedura *S. cerevisiae* no enriquecimento protéico da palma forrageira. Na dieta de leitões são adicionadas leveduras secas como fonte protéica (BERTO *et al.*, 2002). Na aqüicultura são adicionadas formulações probióticas contendo *Pediococcus acidilactici* juntamente com *S. cerevisiae* para um melhor desenvolvimento de larvas de peixe (VINE, 2004). PEZZATO *et al.* (2006) utilizaram parede celular de *S. cerevisiae* e suas células

autolisadas como pró-nutrientes em dietas para alevinos de tilápia do Nilo, obtendo uma melhoria na conversão alimentar, no acúmulo de consumo de ração e no aumento da taxa de eficiência protéica.

ASPECTOS PATOGENICOS DE *S. BOULARDII* E *S. CEREVISIAE*

Durante séculos, a levedura *S. cerevisiae* foi extensamente usada para a produção de pão e de bebidas alcoólicas, como cerveja, vinho e sidra, sendo considerada não patogênica. Porém, nas últimas décadas, alguns trabalhos citados por POSTERARO *et al.* (2005) mostram que esta levedura vem sendo associada a várias infecções humanas, inclusive fungemia, pneumonia, endocardites e infecções da área geniturinária ou pele (TAWFIK *et al.*, 1989; AUCOTT *et al.*, 1990; NIELSEN *et al.*, 1990; ORIOL *et al.*, 1993; SOBEL *et al.*, 1993; PIARROUX *et al.*, 1999). Alguns trabalhos demonstram o dano potencial dessas leveduras. RIQUELME *et al.* (2003), trabalhando no Chile, identificaram dois casos de fungemia em pacientes imunossuprimidos. CANDELLI *et al.* (2002), trabalhando na Itália, identificaram dois pacientes com colite ulcerativa na qual eles suspeitaram que *Saccharomyces* estivesse causando o aumento da diarreia. Estes mesmos autores também relataram que os pacientes imunossuprimidos que foram tratados com *S. boulardii* contra diarreia recorrente associada ao *C. difficile* desenvolveram fungemia e o microrganismo foi identificado como *S. cerevisiae*.

A administração de *S. boulardii* no hospedeiro foi relatada como segura e bem tolerada (McCULLOUGH *et al.*, 1998), mas, recentemente, POSTERARO *et al.* (2005) citaram autores (FREDENUCCI *et al.*, 1998; NIAULT *et al.*, 1999; CESARO *et al.*, 2000; RIJNDERS *et al.*, 2000) que descreveram vários casos de septicemia e fungemia de *S. boulardii* em pacientes imunossuprimidos e imunocompetente recebendo bioterapia com esta levedura. Embora raramente associado com sérias infecções humanas e normalmente só em pacientes com fatores predispostos, existe certa preocupação sobre o potencial patogênico de *S. cerevisiae*

porque é um microrganismo frequentemente ingerido em comidas e bebidas (LLANOS *et al.*, 2006). Além disso, a epidemiologia de infecções com *S. cerevisiae* em humanos são ainda obscuras (HENNEQUIN *et al.*, 2001). Por causa da semelhança entre elas, *S. boulardii* não pode ser distinguida de outras linhagens de *S. cerevisiae* com testes fenotípicos rotineiros usados para identificação de levedura.

Há outras incidências descritas de suspeita de fungemia causada por *S. boulardii* (CASSONE *et al.*, 2003; RIQUELME *et al.*, 2003; ENACHE-ANGOUVANT & HENNEQUIN, 2005; BOYLE *et al.*, 2006), devendo haver, portanto, cuidado na administração deste probiótico em pacientes imunossuprimidos (MARTINS *et al.*, 2005b).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de microrganismos como promotores da saúde humana e animal constitui uma prática realizada há algumas décadas. Diversos trabalhos relatam os efeitos benéficos que estes microrganismos exercem sobre o hospedeiro, tais como: modulação da resposta imune, ação anticolesterolêmica, controle de distúrbios intestinais, neutralização de toxinas bacterianas, melhoria de absorção de nutrientes, entre outros. As preparações probióticas podem ser constituídas tanto por espécies bacterianas como por espécies fúngicas, isolados ou combinados entre si. Recentemente um grande enfoque tem sido dado na utilização de leveduras nestas preparações, como *S. cerevisiae* e *S. boulardii* (formalmente *S. cerevisiae*), por sobreviverem bem no organismo do hospedeiro e às condições ambientais.

Apesar dos seus benefícios já comprovados sobre o hospedeiro, ainda deve-se ter certa precaução na sua utilização, pois casos de fungemia em pacientes tratados com estas leveduras já foram relatados, necessitando expandir os estudos neste sentido, recorrendo principalmente às técnicas moleculares para uma melhor caracterização destes microrganismos e identificação de possíveis genes causadores de patologia.

REFERÊNCIAS

- ALVES PAMP, OF CAMPOS, MIV ALMEIDA, RS LIZIEIRE, RCD MODESTA, RQ ALMEIDA & CGH NASCIMENTO. 2007. Uso de probiótico composto por *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus faecium* e *Saccharomyces cerevisiae* na dieta de vitelos bovinos: efeitos sobre o desempenho e a qualidade da carne. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-9596200000500013&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 15 fev. 2007.
- ANDREATTI FILHO RL & AJ CROCCI. 2002. Efeito protetor da microbiota cecal congelada e liofilizada sobre a infecção experimental de frangos de corte por *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 54(5): 457-461.
- ANDRIGHETTO C, E PSOMAS, N TZANETAKIS, G SUZZI & A LOMBARDI. 2000. Randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) PCR for the identification of yeasts isolated from dairy products. *Letters in Applied Microbiology* 30: 5-9.
- ATHERTON D & S ROBBINS. 1987. Probiotics: a European perspective, p. 167-76. In: TP LYONS (ed.). **Biotechnology in the feed industry**. Nicholasville: Altech Technical Publications.
- AURELI P & G FRANCIOSA. 2002. Interactions between novel microorganisms and intestinal flora. *Dig Liver Dis.* 34: 29-33. Suppl 2:S.
- BACCARIN AE & LE PEZZATO. 2001. Efeito da utilização da levedura desidratada de álcool em dietas para tilápia-do-nilo. *Pesq. Agropec. Bras.* 36(3): 549-556.
- BARBOSA FHF, MA SILVA, FS MARTINS & JR NICOLI. 2005. Perfil de hidrofobicidade da superfície celular de *Bifidobacterium lactis* Bb12 e *Bifidobacterium longum* Bb46 em função do meio de cultura. *Revista de Biologia e Ciências da Terra* 5(2): 1-11.
- BAPTISTA AS. 2005. **Saccharomyces cerevisiae na redução de aflatoxicoses e o efeito na distribuição e na excreção da radioatividade de AFB13H em ratos**. Tese de Doutorado. USP, Piracicaba.

- BEERENS H, CD RAMOND & CD NEUT. 1980. Influence of breast feeding on the bifid flora of newborn intestine. **The American Journal Clinical Nutrition** 33: 2434-9.
- BERTO DA, FS WECHSLER & CC NORONHA. 2002. Exigências de treonina de leitões dos 7 aos 12 e dos 12 aos 23 kg. **Revista Brasileira de Zootecnia** 31: 1176-1183.
- BESIRBELIOGLU B, A ULCAI, M CAN, H ERDEM, M TANYKSEL, I AVCI, E ARAZ & A PHASA. 2006. *Saccharomyces boulardii* and infection due to *Giardia lamblia*. **Scandinavian J. of Infectious Diseases** 38(6-7): 479-481.
- BIER O. 1985. Lactobacilos. *In: Microbiologia e imunologia*. 24ª ed. São Paulo: Melhoramentos.
- BILOO AG, MA MEMON, SA KHASKELI, G MURTAZA, I KALID, M SAEED & AQ SIDDIGI. 2006. Role of a probiotic (*Saccharomyces boulardii*) in management and prevention of diarrhea. **World J Gastroenterol** 28(12): 4557-4560.
- BITTENCOURT JL, JR NICOLI, FJ PENA, MC VIEIRA, APR SOBRINHO & RME ARANTES. 2007. Colonização e efeitos no ecossistema digestivo de camundongos gnotobióticos de uma cultura comercial (BIOVICERIN®) de *Bacillus cereus*. Disponível em <www.uepb.edu.br/eduep/rbct/sumarios/resumos/cereusresumo.htm>. Acesso em: 20 mar. 2007.
- BOYLE RJ, RM ROBINS-BROWNE & MLK TANG. 2006. Probiotic use in clinical practice: what are the risks? **Am J Clin Nutr.** 83: 1256-64.
- BRANDÃO RL, IM CASTRO, EA BAMBIRRA, SC AMARAL, LO FIETTO, MJM TROPPIA, MJ NEVES, RG SANTOS, NCM GOMES & JR NICOLI. 1998. Intracellular signal triggered by cholera toxin in *Saccharomyces boulardii* and *Saccharomyces cerevisiae*. **Appl. Environm. Microbiol.** 64: 564-568.
- BROCK JA. 1994. **Biology of microorganisms**, p. 360-380. 7ª ed. New Jersey.
- BUTOLO JE. 1997. Uso da levedura desidratada na alimentação de aves. *In: SIMPÓSIO SOBRE TECNOLOGIA DA PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DA LEVEDURA DESIDRATADA NA ALIMENTAÇÃO ANIMAL*, 8. Anais... Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, p. 51-83.
- CABANA MD, AL SHANE, C CHAO & M OLIVIA-HEMKER. 2006. Probiotics in primary care pediatrics. **Clinical Pediatrics** 405-409.
- CANDELLI M, EC NISTA, M NESTOLA, A ARMUZZI, NG SILVERI, G GASBARRINI & A GASBARRINI. 2002. *Saccharomyces cerevisiae*-associated diarrhea in an immunocompetent patient with ulcerative colitis. **J Clin Gastroenterol.** 36: 39-40.
- CASSONE M, P SERRA, F MONDELLO, A GIROLAMO, S SCAFETTI, E PISTERILLA & M VENDITTI. 2003. Outbreak of *Saccharomyces cerevisiae* subtype *boulardii* fungemia in patients neighboring those treated with a probiotic preparation of the organism. **Journal of clinical microbiology** 41(11): 5340-5343.
- CASTAGLIUOLO I, MF RIEGLER, L VALENICK, JT LAMONT & C POTHOLAKIS. 1999. *Saccharomyces boulardii* protease inhibits the effects of *Clostridium difficile* toxins A and B in human colonic mucosa. **Infect. Immun.** 67: 302-307.
- COPPOLA MM & C GIL-TURNES. 2004. Probióticos e resposta imune. **Cienc. Rural** 34(4): 1297-1303.
- DAHAN S, G DALMASO, V IMBERT, JF PEYRON, P RAMPAL & D CZERUCKA. 2003. *Saccharomyces boulardii* interferes with enterohemorrhagic *Escherichia coli*-induced signaling pathways in T84 cells. **Infect Immun.** 71: 766-773.
- DONOHUE DC. 2006. Safety of probiotics. **Asia Pac J Clin Nutr.** 15(4): 563-9.
- DRASAR BS, M SHINER & DM MCLEOD. 1969. Studies on the intestinal flora. **Gastroenterology** 58(1): 71-79.
- ENACHE-ANGOUVANT A & C HENNEQUIN. 2005. Invasive *Saccharomyces* infection: a comprehensive review. **Clinical Infectious Diseases** 41: 1559-68.
- FERREIRA PA & CS ASTOLFI-FERREIRA. 2006. Medidas inespecíficas para o controle bacteriano. *In: SIMPÓSIO BRASIL SUL DE AVICULTURA*, 7. Anais... Chapecol. p. 56-69.
- FIGUEIREDO PP, EC VIEIRA, JR NICOLI, RD NARDI, P RAIBAUD, Y DUVAL-IFLAH & FJ PENNA. 2001. 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.** 33: 70-74.
- FLEMMING JS. 2005. **Utilização de leveduras, probióticos e mananoligossacarídeos (MOS) na alimentação de frangos de corte**. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Paraná.
- FRANCO SG, AC PEDROSO & C GROGOLLETTI. 2005. Efeitos da inclusão de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) associados ou não a antibióticos na alimentação de frangos de corte. **Ciência Animal Brasileira** 6(2): 79-85.
- FULLER R. 1989. Probiotics in man and animals. **J. Appl. Bacteriol.** 66: 365-78.
- GILLILAND SE. 1988. Probiotics: fact or fancy? *In: INTERNATIONAL BIOTECHNOLOGY SYMPOSIUM. Proceedings...* Paris 2: 923-33.
- GRIGOLETTI C, SG FRANCO, JS FLEMMING, LM FEDALTO & M BACILA. 2002. *Saccharomyces cerevisiae* na alimentação de frangos de corte. **Archives of Veterinary Science.** v.7, n.2, p.151-157, 2002.
- HANDAM, J. I.; MIKOLAJEIK, E. M. Acidolin: an antibiotic produced by *Lactobacillus acidophilus*. **The journal of Antibiotics**, v. 27, n. 8, p.631-6, 1974.
- 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.
- HENTGES, D. J. Enteric pathogen normal flora interactions. **The American Journal of Clinical Nutrition**, n. 23, v. 11, p. 1451-6, 1970.
- KARIMI, O.; PENA, A.S. Probiotics: Isolated bacteria strain or mixtures of different strains? Two different approaches in the use of probiotics as therapeutics. **Drugs Today (Bare)**. v.39, n. 8, p. 565-97, 2003.
- KLAENHAMMER, T. R. Microbiological considerations in selection and preparation of *Lactobacillus* strains for use as dietary adjuncts. **Journal of Dairy Science**, v. 65, p. 1339-49, 1982.
- KLEEMAN, E. G.; KLAENHAMMER, T. R. Adherence of *Lactobacillus* species to human fetal intestinal cells. **Journal of Dairy Science**, v. 65, p. 2063-69, 1982.
- KURMANN, J.A.; RASIC, J.L. The health potential of products containing *bifidobacteria*. **Elsevier Appl. Food Sci. Ser.** p. 117-157. 1991.
- LIMA, C. D. S.; GOMES, H. de S.; DETONI, C. E. Adição de uréia e da levedura *Saccharomyces cerevisiae* no enriquecimento protéico da palma forrageira (*Opuntia ficus indica* L.) cv. miúda. **Magistra**, Cruz das Almas- BA, v.16, n.1, p.01-08. 2004.
- LLANOS R, A QUEROL, J PEMÁN, M GOBERNADO & MT FERNÁNDEZ-ESPINAR. 2006. Food and probiotic strains from the *Saccharomyces cerevisiae* species as a possible origin of human systemic infections. **International Journal of Food Microbiology** 110: 286-290.
- LOPITZ-OTSOA F, A REMENTERIA, N ELGUEZABAL & J GARAZAR. 2006. Kéfir: a symbiotic yeasts-bacteria community with alleged healthy capabilities. **Rev. Iberoam Micol** 23: 67-74.
- LOURENS-HATTINGH A & BC VILJOEN. 2001. Growth and survival of a probiotic yeast in dairy products. **Food Research International** 34: 791-796.
- MAIA OB, R DUARTE, AM SILVA, DC CARA & JR NICOLI. 2001. Evaluation of the components of a commercial probiotic in gnotobiotic mice experimentally challenged with *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. *Typhimurium*. **Vet. Microbiol.** 79: 183-189.
- MAIORKA A, E SANTIN, SM SUGETA, JG ALMEIDA & M MACARI. 2001. Utilização de probióticos, probióticos ou simbióticos em dietas para frangos. **Rev. Bras. Cienc. Avic.** 13(1): 75-82.
- MARTINIS ECP, OS SANTAROSA & FZ FREITAS. 2007. Caracterização preliminar de bacteriocinas produzidas por seis cepas de bactérias lácticas isoladas de produtos cárneos embalados a vácuo. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?>. Acesso em: 15 fev. 2007.
- MARTINS FS, HF BARBOSA, FJ PENA, CA ROSA, RDM NARDI, MJ NEVES & JR NICOLI. 2007a. Estudo do potencial probiótico de linhagens de *Saccharomyces cerevisiae* através de testes *in vitro*. Disponível em <www.uepb.edu.br/eduep/rbct/sumarios/pdf/potencialprobiotico.pdf>. Acesso em: 10 fev. 2007.
- MARTINS FS, FCP TIAGO, FHF BARBOSA, FJ PENA, CA ROSA, RDM NARDI, MJ NEVES & JR NICOLI. 2007b. Utilização de leveduras como

- probióticos. Disponível em <www.uepb.edu.br/eduep/rbct/sumarios/pdf/leveduras.pdf>. Acesso em: 10 fev. 2007.
- MARTINS FS, ACP RODRIGUES, FCP TIAGO, FJ PENNA, CA ROSA, ME ARANTES, RMD NARDI, MJ NEVES & JR NICOLI. 2007c. *Saccharomyces cerevisiae* strain 905 reduces the translocation of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium and stimulates the immune system in gnotobiotic and conventional mice. **Journal of Medical Microbiology** 56(3): 352-359.
- McCULLOUGH MJ, KV CLEMONS, JH McCUSKER & DA STEVENS. 1998. Species identification and virulence attributes of *Saccharomyces boulardii* (nom. inval.). **J. Clin. Microbiol.** 36: 2613-2617.
- McFARLAND LV. 2000. Normal flora: diversity and functions. **Microb. Ecol. Health dis.** 12: 193-207.
- MERCENIER A, S PAVAN & B POT. 2003. Probiotics as biotherapeutic agents: present knowledge and future prospects. **Curr Pharm Des.** 9(2): 175-91.
- MOORE WEC & LV HOLDEMAN. 1974. Human fecal flora: the normal flora of 20 Japanese-Hawaiians. **Applied Microbiology** 27(5): 961-979.
- MORELLI L. 2002. Probiotics: clinics and/or nutrition. **Dig Liver Dis.** 34: 11, Suppl 2:S8.
- MURALIDHARA KS, DC ENGLAND, WE SANDINE & PR ELLIKER. 1972. *Lactobacillus* concentrates effect on coliforms in swine. **Journal of Animal Science** 35(1): 309.
- NEUMANN EE, MAP OLIVEIRA, CM CABRAL, LN MOURA, JR NICOLI, EC VIEIRA, DC CARA, GI PODOPRIGORA & LQ VIEIRA. 1998. Monoassociation with *Lactobacillus acidophilus* UFV-H₂B₂₀ stimulates the immune defense mechanisms of germfree mice. **Braz J Med Biol Res.** 31(12): 1565-1573.
- NICOLI JR, EC VIEIRA, FJ PENNA, LQ VIEIRA, ACP RODRIGUES, E NEUMANN, AM SILVA, JV LIMA FILHO, EA BAMBIRRA, RE ARANTES & DCC MACHADO. 2003. Probióticos: experiências com animais gnotobióticos. **Prebióticos e probióticos: atualização e prospecção**. Viçosa: Editor Célia L. L. F. Ferreira.
- NOVAK J & JA KATZ. 2006. Probiotics and prebiotics for gastrointestinal infections. **Curr Infect Dis Rep.** 8(2): 103-9.
- PAULO EM. 1991. **Isolamento e caracterização de *Lactobacillus acidophilus* de fezes de suíno para uso como probiótico**. Dissertação de Mestrado. Viçosa, UFV.
- PAULO EM. 1993. Probióticos: inoculantes intestinais para produção animal. **Tecbahia, Revista Baiana de Tecnologia**, p. 24-25.
- PERET FILHO LA, FJ PENNA, EA BAMBIRRA & JR NICOLI. 1998. Dose effect of oral *Saccharomyces boulardii* treatments on morbidity and mortality in immunosuppressed mice. **J Med Microbiol.** 47: 111-116.
- PEZZATO LE, A MENEZES, MM BARROS, IG GUIMARÃES & D SCHICH. 2006. Levedura em dietas para alevinos de tilápia do Nilo. **Vet. e Zoot.** 13(1): 84-94.
- PODOPRIGORA GI, LB COMUNIAN, EF PIMENTEL, LN MOURA, DC CARA, JR NICOLI & EC VIEIRA. 1999. Study of stimulatory effect of bifidobacteria on the host mononuclear phagocyte system using gnotobiotic animal models. **Anaerobe** 5: 509-512.
- POSTERARO B, M SANGUINETTI, L ROMANO, R TORELLI, L NOVARESE & G FADDA. 2005. Molecular tools for differentiating probiotic and clinical strains of *Saccharomyces cerevisiae*. **International Journal of Food Microbiology** 103: 295-304.
- PSOMAS E, C ANDRIGHETTO, E LITOPOULOU-TZANETAKI, A LOMBARDI & N TZANETAKIS. 2001. Some probiotic properties of yeast isolates from infant faeces and Feta cheese. **International Journal of Food Microbiology** 69: 125-133.
- RIQUELME AJ, MA CALVO, AM GUZMÁN, MS DEPIX, P GARCÍA, C PÉREZ, M ARRESE & JA LABARCA. 2003. *Saccharomyces cerevisiae* fungemia after *Saccharomyces boulardii* treatment in immunocompromised patients. **J Clin Gastroenterol.** 36(1): 41-43.
- RODRIGUES ACP, RD NARDI, EA BAMBIRRA, EC VIEIRA & JR NICOLI. 1996. Effect of *Saccharomyces boulardii* against experimental oral infection with *Salmonella typhimurium* and *Shigella flexneri* in conventional and gnotobiotic mice. **Applied Bacteriology** 81: 251-256.
- ROLFE RD. 2000. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. **J. Nutr.** 130(2S Suppl): 396S-402S.
- ROMANO A, S CASAREGOLA, P TORRE & C GAILLARDIN. 1996. Use of RAPD and mitochondrial DNA RFLP for typing of *Candida zeylanoides* and *Debaryomyces hansenii* yeast strains isolated from cheese. **Syst. appl. microbiol.** 19(2): 255-264.
- SAFNEWS. 2006. Uma arma secreta da levedura ajuda na produção animal. Disponível em: <<http://www.safagri.com/portuguese/mar2001.htm>>. Acesso em: nov. 2006.
- SANTIN E, A MAIORKA & M MACARI. 2001. Performance and intestinal mucosa development in broiler chickens fed ration containing *Saccharomyces cerevisiae* cell wall. **Journal of Applied Poultry Research** 10: 230-244.
- SCHREZENMEIR J & M DE VRESE. 2001. Probiotics, prebiotics and symbiotics-approaching a definition. **American Journal of Clinical Nutrition** 73(2): 361S-364S.
- SHAHANI KM & DA AMADU. 1980. Role of dietary lactobacilli in gastrointestinal microecology. **The American Journal of Clinical Nutrition** 33: 2448-57.
- SORRELS K & ML SPECK. 1970. Inhibition of *Salmonella citrovorum*. **Journal of Dairy Science** 59: 338.
- SURAWICZ CM, LV McFARLAND, RN GREENBERG, M RUBIN, R FEKETY, ME MULLIGAN, RJ GARCIA, S BRANDMARKER, D BORJAL & GW ELMER. 2000. The search for a better treatment for recurrent *Clostridium difficile* disease: use of high-dose vancomycin combined with *Saccharomyces boulardii*. **Clinical Infectious Diseases** 31: 1012-17.
- STONE CW. 1998. **Yeast products in the feed industry. A practical guide for feed professionals**. Iowa: Diamond U. Mills, Inc.
- TAYLOR DY. 1980. **Post weaning diarrhea. Pig diseases**. 14. ed., s. 1.
- TESHIMA E. 2003. Aspectos terapêuticos de probióticos, prebióticos e simbióticos. In: CLLF FERREIRA (ed.). **Prebióticos e probióticos: atualização e prospecção**. Viçosa.
- URGANCÍ N, T POLAT, M UYSALOL & F ÇETINKAYA. 2007. Evaluation of the efficacy of *Saccharomyces boulardii* in children with acute diarrhea. Disponível em: <<http://www.geocities.com/gastroyu/dec2001/boulardii.htm>>. Acesso em: 30 jan. 2007.
- VIEIRA EC & JR NICOLI. 1990. Gnotobiologia: a ciência dos animais limpos. **Ciência hoje** 66: 24-30.
- VINE NG. 2004. **Towards the development of a protocol for the selection of probiotics in marine fish larviculture**. Tese de Doutorado. Rhodes University.