

## Ejemplo de un medicamento probiótico: Saccharomyces boulardii liofilizada

\*Jean-Paul Buts

### RESUMEN

Saccharomyces boulardii es una levadura natural no modificada genéticamente aislada de la corteza del árbol del litchi en Indochina. En su forma liofilizada es un ejemplo de lo que se denomina "medicamento probiótico". Su denominación de probiótico está en relación a que se activa en el tracto gastrointestinal en interrelación a este medio; y se etiqueta como medicamento porque la forma liofilizada tiene un expediente farmacéutico y clínico que incluyen en la regulación de producto medicinal en casi 100 países.

**PALABRAS CLAVES:** Saccharomyces boulardii, probiótico.

### SUMMARY:

Saccharomyces boulardii is a natural yeast without genetic modification isolated from the bark of the litchi tree in Indochina. In its lyophilized form is an example of the called "probiotic medicine". The probiotic denomination is in relation to that itself assets in the gastrointestinal tract in interrelation to that biologic environment. And is labelled as medicine because the lyophilized form has a clinical and pharmaceutical expedient included in the regulation of medicinal products in almost 100 countries.

**KEY WORDS:** Saccharomyces boulardii, probiotic.

\* **Doctor en Medicina, Especialista en Gastropediatria  
Catedrático en la Universidad Católica de Lovaina**

## INTRODUCCIÓN

**S**accharomyces *boulardii* es una levadura natural no modificada genéticamente que es aislada de la corteza del árbol del litchi en Indochina. Esta levadura muestra un crecimiento óptimo a una temperatura inusualmente alta de aproximadamente 37°C y, por ello, se le considera como una “levadura de temperatura extremadamente alta».

Aunque *Saccharomyces boulardii* es similar a *Saccharomyces cerevisiae*, existen algunas diferencias relativas a sus características taxonómicas, metabólicas y genéticas.<sup>[1,2]</sup>

En la forma liofilizada, *Saccharomyces boulardii* es la sustancia activa de un producto medicinal comercializado en casi 100 países de todo el mundo, con diferentes nombres de marca, presentaciones y concentraciones de dosis; generalmente se presentan en cápsulas de 50 mg.

*Saccharomyces boulardii* liofilizada es un ejemplo de lo que se conoce como “medicamento probiótico”:

- «*Probiótico*» porque *Saccharomyces boulardii* liofilizada se reactiva en el tracto gastrointestinal después de su administración oral y tiene un “impacto positivo en la salud y fisiología del huésped». <sup>[3,4]</sup> Algunas veces el término “agente bioterapéutico” es preferible frente al término “probiótico” para designar a aquellos microorganismos probióticos que “previenen o tratan enfermedades humanas”.<sup>[5,6]</sup>
- «*Medicamento*» porque la fórmula liofilizada se prepara, empaqueta y pone a prueba tal como se hace con un medicamento y porque el expediente farmacéutico y clínico de *Saccharomyces boulardii* liofilizada ha sido elaborado de conformidad con las regulaciones de comercialización de productos medicinales de los países donde el producto está a disposición del público.

Por lo tanto, *Saccharomyces boulardii* liofilizada es un medicamento probiótico que se diferencia claramente de los alimentos probióticos que contienen varias cepas de microorganismos que se administran a animales para mejorar la producción zootécnica o a seres humanos sanos (generalmente en la forma de yogures o productos lácteos) para fortalecer la fisiología del huésped, cuando no existe enfermedad alguna.

## FORMA Y FARMACOCINÉTICA

*Saccharomyces boulardii* liofilizada se obtiene a través del secado por congelación en presencia de lactosa. Este método permite que la levadura se mantenga viva y estable. Un estudio de las propiedades farmacodinámicas de *Saccharomyces boulardii* demostró que, en la mayoría de casos, dichas propiedades están asociadas a su capacidad de reactivación. Al igual que todas las levaduras, *Saccharomyces boulardii* es genéticamente resistente a los antibióticos antimicrobianos; para casi todos los antibióticos estudiados, el MIC de *Saccharomyces boulardii* siempre es muy alto > 128 mg/l.<sup>[7]</sup>

*Saccharomyces boulardii* es resistente a la acidez gástrica y a la proteinólisis y puede almacenarse rápidamente en grandes

cantidades en el tracto gastrointestinal, manteniendo niveles constantes en forma viable.<sup>[6]</sup>

En los animales agénicos (estériles), la levadura *Saccharomyces boulardii*, administrada en una sola dosis, se aloja y permanece en el tracto gastrointestinal, pero en concentraciones menores (5 x 10<sup>7</sup> células/g heces) a las que se albergan en los microorganismos naturales de la flora intestinal dominante (10<sup>9</sup> - 10<sup>10</sup>), lo que demuestra la capacidad de esta levadura para adaptarse a las condiciones fisicoquímicas del medio intestinal. Por otro lado, en los animales hologénicos (con flora bacteriana normal), la levadura *Saccharomyces boulardii* se elimina rápidamente en unos cuantos días. Esto significa que cuando la flora es normal, *Saccharomyces boulardii* no se instala en el tracto gastrointestinal [8]. Un análisis de la cinética de eliminación de las heces de células vivas de *Saccharomyces boulardii* durante la administración regular de este producto en forma liofilizada (±4 x 10<sup>10</sup> células viables de *Saccharomyces boulardii*) en voluntarios adultos saludables <sup>[9]</sup> reveló que al tercer día de administración se alcanzó una condición estable de aproximadamente 10<sup>8</sup> células/día. *Saccharomyces boulardii* desaparece de los excrementos dos o cinco días después de interrumpir la terapia. La tasa de recuperación de células vivas a partir de las heces se estimó en 0,2 % - 0,4 % en ratas <sup>[10]</sup> y en los seres humanos <sup>[11]</sup> con una relación lineal dosis/recuperación. Este coeficiente se multiplica cuando los sujetos reciben simultáneamente un antibiótico activo contra la flora anaeróbica dominante del colon (ampicilina).<sup>[11]</sup> Un estudio clínico realizado en pacientes que han sufrido infecciones recurrentes causadas por *Clostridium difficile* y que han sido tratados con una dosis diaria de 1 g de *Saccharomyces boulardii* reveló que la concentración de células viables de levadura en las heces de los pacientes que no presentaron recaídas posteriores fue, en promedio, más alta (1 x 10<sup>6</sup> células/g) que la observada en pacientes que sufrieron una recaída (2,5 x 10<sup>4</sup>/g, P = 0,02). Por lo tanto, existe una relación causal importante entre el nivel de concentración de *Saccharomyces boulardii* en las heces y la actividad terapéutica del fármaco.<sup>[12]</sup>

## PROPIEDADES FARMACODINÁMICAS

A medida que recorre el tracto gastrointestinal, la levadura *Saccharomyces boulardii* genera efectos farmacodinámicos semejantes a los efectos fisiológicos de la flora intestinal normalmente equilibrada.

### Efectos de *Saccharomyces boulardii* en las infecciones intestinales experimentales

Se han evaluado los efectos de la administración oral de *Saccharomyces boulardii* en varios patrones de infección y/o colonización gastrointestinal por diferentes microorganismos.

#### *Clostridium difficile*

La administración de *Saccharomyces boulardii* reduce significativamente la mortalidad a causa de colitis provocada por *Clostridium difficile* en hámsteres tratados con clindamicina <sup>[13]</sup> y ratones inoculados oralmente ya sea con *Clostridium difficile* <sup>[14]</sup> o directamente con toxinas A y B producidas por esta bacteria.<sup>[15]</sup>

A través de un microscopio óptico <sup>[16]</sup> o electrónico, <sup>[17, 18]</sup> se

ha podido verificar la ausencia de lesiones en la mucosa intestinal y colónica en animales protegidos con *Saccharomyces boulardii*. Esto también se ha podido confirmar en un modelo *in vitro* de la línea celular del epitelio intestinal de una rata (IRD-98).<sup>[19]</sup> El efecto protector de *Saccharomyces boulardii* contra la *Clostridium difficile* productora de enterotoxinas es más eficaz cuando el tratamiento es preventivo y se administran dosis continuas.<sup>[13, 14, 20]</sup> El efecto desaparece cuando las células de la levadura son aniquiladas por la anfotericina B o a través de la hipertermia, y depende linealmente de la dosis administrada y la viabilidad de *Saccharomyces boulardii* [20]. El efecto protector está, a veces, relacionado con la disminución de las concentraciones de *Clostridium difficile*<sup>[21]</sup> en el intestino y siempre ligado a la reducción de los títulos de la toxina A o B.<sup>[14, 17, 20, 21]</sup> Adicionalmente, Elmer y Corthier señalaron una correlación importante entre la tasa de supervivencia de ratones infectados con *Clostridium difficile* y la administración de una dosis oral de *Saccharomyces boulardii*. Si se incrementa la dosis de *Saccharomyces boulardii* de  $3 \times 10^8$  a  $3,3 \times 10^{10}$  células/ml en el agua de bebida de los ratones infectados con *Clostridium difficile*, se producirá un incremento lineal de la tasa de supervivencia de 0 % a 85 %.<sup>[20]</sup>

Efecto protector de *Saccharomyces boulardii* contra la infección intestinal causada por *Clostridium difficile*, incluyendo los resultados de los efectos complementarios de varios mecanismos:

- La levadura produjo una secreción *in vivo* de una proteasa de 54 kDa, inhibiendo de este modo los efectos enterotóxicos y citotóxicos de las toxinas A y B de *Clostridium difficile*. El receptor intestinal para la toxina A producido por *Clostridium difficile* es una glicoproteína de alto peso molecular sensible a las proteasas. Pothoulakis et al. [23, 24] demostraron que *Saccharomyces boulardii in vivo* produce una proteasa con un peso molecular de 54 kDa, que disminuyó las secreciones de líquidos y electrolitos en un modelo aislado con asas intestinales de un conejo, pero no tuvo ningún efecto en las lesiones celulares provocadas por *Clostridium difficile* en otras líneas celulares que no fueran las del intestino, tales como los fibroblastos pulmonares humanos (IMR-90) o la línea celular de la leucemia basófila en ratas. La proteasa de *Saccharomyces boulardii* impidió la unión de la enterotoxina A purificada [H3] a las membranas microvellosas intestinales en 37%, redujo en 55% las secreciones de líquidos y electrolitos provocadas por la enterotoxina A en las ratas y disminuyó la permeabilidad intestinal al manitol en 93%. Adicionalmente, después de haber administrado *Saccharomyces boulardii* oralmente a las ratas por tres días, la administración oral de la enterotoxina A ya no generó secreciones intestinales ni permeabilidad. Castagliuolo et al. [24, 25] confirmaron que la proteasa parcialmente purificada puede proteolizar directamente y específicamente la toxina A y destruir, por lo menos parcialmente, el área del receptor en la membrana microvellosa intestinal, inhibiendo la fijación de las toxinas A y B a los receptores.
- Estimulación de la respuesta inmune a la antitoxina A: en el ratón inoculado oralmente con un toxoide de la toxina A, la administración de *Saccharomyces boulardii* permitió amplificar significativamente la respuesta inmune específica medida a través de la concentración sérica de la antitoxina A de anticuerpos secretores IgA e IgM.<sup>[26]</sup>
- Finalmente, se demostró *in vitro*, en un modelo celular, la capacidad de *Saccharomyces boulardii* para inhibir la adherencia de *Clostridium difficile* a las células intestinales.<sup>[27]</sup>

### *Vibrio cholerae*

En un modelo *in vivo* de un asa de yeyuno de rata ligada, la administración de *Saccharomyces boulardii* redujo significativamente la hipersecreción de sales y líquidos provocada por la inoculación previa con la toxina del cólera.<sup>[28]</sup>

Este efecto inhibitor también se confirmó *in vitro* en los modelos de células epiteliales del intestino en ratas: IRD 98, IEC 17<sup>[29]</sup> y IEC 6.<sup>[30]</sup> El efecto de *Saccharomyces boulardii* está asociado a la disminución en 50% de la producción de AMPc inducida por la toxina del cólera. Este efecto desaparece cuando la levadura es destruida por esterilización en autoclave. El sobrenadante del cultivo de *Saccharomyces boulardii* (conocido como medio condicionado o CM) puede, por sí mismo, disminuir los niveles de AMPc inducidos por la toxina del cólera en las células IEC 6, si es administrado en dosis. Este efecto desaparece cuando el medio se desnaturaliza debido al calor, se hidroliza mediante la tripsina o es tratado con ácido tricloroacético, lo que sugiere la presencia de un factor de proteína, el cual ha sido identificado como una proteína de 120 kDa<sup>[30]</sup> a través de una autorradiografía posterior a la separación de proteínas en gel de poliácridamida y elusión. Adicionalmente, el CM no altera los parámetros para fijar la toxina yodada del cólera a su receptor<sup>[29]</sup> y no tiene ninguna actividad proteolítica contra la toxina del cólera.<sup>[30]</sup> Estas observaciones han conducido a Czerucka et al.<sup>[31]</sup> a estudiar el efecto del CM de *Saccharomyces boulardii* en las vías de señalización intracelular que pueden regular la secreción de cloruro.

Se ha estudiado el efecto del CM en el transporte de cloruro en la línea celular T84 establecida a partir de un carcinoma humano. Esta línea celular presenta las características de las células crípticas que segregan cloruro a través de la bomba Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> ATPasa, el co-transportador Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup>, el canal K<sup>+</sup> localizado en el lado basolateral y el canal Cl<sup>-</sup> ubicado en el lado apical. Todos los intercambiadores participan en la secreción de cloruro provocada por agonistas que actúan a través del AMPc, como por ejemplo, la forskolina, el polipéptido intestinal vasoactivo (VIP) y las prostaglandinas (PGE), o a través de Ca<sup>2+</sup>, como el carbacol.<sup>[32]</sup> Se ha utilizado el método de Venglarik et al.<sup>[33]</sup> para cuantificar la secreción de cloruro inducida por la exposición a la toxina del cólera durante 60 minutos.

Con el CM de *Saccharomyces boulardii*, la secreción de cloruro y los niveles de AMPc estimulados por la toxina del cólera en células T84 se redujeron a niveles controlables. Adicionalmente, la secreción de cloruro inducida por el VIP o la PGE2 disminuyó sólo cuando las células estuvieron expuestas por 60 minutos al CM de *Saccharomyces boulardii* antes de la incubación en presencia de estos agonistas. Este proceso está correlacionado con la disminución de los niveles de AMPc.<sup>[31]</sup>

También es necesaria una hora de incubación en presencia del CM de *Saccharomyces boulardii* a fin de disminuir la secreción de cloruro provocada por el carbacol, pero sin disminuir los niveles intracelulares de inositol-trifosfatasa. De este modo, el CM de *Saccharomyces boulardii* parece generar un mediador celular en las células T84 capaz de disociar los canales de iones del Ca<sup>2+</sup> intracelular.

En resumen, estos estudios demuestran que *Saccharomyces boulardii* segrega un péptido de 120 kDa que ejerce una acción

directa sobre los enterocitos y genera vías de señalización en la célula implicada en el control de la secreción.

### ***Escherichia coli***

En el modelo de diarrea inducida por la bacteria *Escherichiacoli* (EPEC) productora de enterotoxinas termoestables en ratones jóvenes, la administración concomitante de una suspensión de *Saccharomyces boulardii* produjo un efecto inhibitorio importante en la hipersecreción intestinal.<sup>[34]</sup>

La *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) es un agente bacteriano dominante, responsable de la diarrea infantil, especialmente en los países en desarrollo.

La *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC) es responsable de infecciones transmitidas por los alimentos en los países industrializados (Estados Unidos, Canadá, Japón) y provoca colitis hemorrágicas que pueden estar asociadas a un síndrome hemolítico y urémico.<sup>[35]</sup> Estas bacterias sintetizan una «toxina tipo Shiga» que inhibe la síntesis de proteínas en las células intestinales, pero que al parecer no provoca enfermedades intestinales relacionadas con la EHEC. La etopatogenia de la EPEC y EHEC se inicia con la adherencia de éstas a la mucosa intestinal, lo que causa cambios morfológicos en las células huésped como la destrucción de la microvellosidad y la formación de lesiones denominadas «lesiones de unión/borramiento» con la acumulación de fibras de actina que forman un «pedestal» bajo la zona de unión bacteriana.<sup>[35]</sup> Una de las consecuencias de dichos cambios es la ruptura de las uniones estrechas, lo que ocasiona la desaparición de la función de barrera del enterocito.<sup>[36]</sup> Dichas infecciones están asociadas a la transmisión de células polimorfonucleares y a la síntesis de citocinas proinflamatorias (JL-8).<sup>[37]</sup> Algunas de las respuestas de las células a la infección están correlacionadas con la activación de las proteínas celulares por fosforilación. Por ende, se ha determinado que la fosforilación de la cadena ligera de miosina (MLC) tiene una implicancia directa en la ruptura de las uniones estrechas que se produce cuando hay una infección con EPEC.<sup>[38]</sup>

La administración de *Saccharomyces boulardii* durante la infección de las células T84 por la bacteria EPEC, que produce la «toxina tipo Shiga» (cepa EDL 931), permite restaurar la función de barrera (medida por la resistencia transepitelial, el paso de inulina o la inmunolocalización de la proteína ZÜ-1). Adicionalmente, un estudio de segmentación de la caspasa 32 demostró que la levadura puede retardar el proceso de apoptosis o muerte celular programada causada por la infección de las células T84 por EPEC. La levadura no tiene ningún efecto en el número de bacterias de EPEC o EHEC que se adhieren a los enterocitos. Por el contrario, la levadura inhibe la fosforilación de algunas proteínas que normalmente se fosforilan por causa de la infección [39, 40].

Así, las células T84 infectadas con EPEC o EHEC activan las tres vías de las MAP quinasas (proteína activadora mitógena): la proteína quinasa 1 y 2 reguladora extracelular (ERK-1 y ERK-2), la MAP quinasa p38 y la JUN-quinasa. La activación de estas quinasas no parece estar relacionada con el proceso de «unión/borramiento», ni con los cambios en las uniones intracelulares estrechas.<sup>[41, 42]</sup>

Por otro lado, la activación de ERK 1/2 está relacionada directamente con la internalización de la bacteria. La presencia de *Saccharomyces boulardii* reduce el número de bacterias internalizadas y también modula el grado de fosforilación de ERK-

1 y 2 [41]. En condiciones fisiológicas normales, la activación de ERK-1 y 2 por desfosforilación interviene en el proceso de crecimiento y diferenciación celular en respuesta a factores tróficos como la insulina, l'IgF-1.

La desfosforilación de la vía MAP quinasa p38 está involucrada en el proceso de apoptosis. Durante una infección causada por bacterias invasivas como la *Salmonella typhimurium*<sup>[43]</sup> y la *Listeria monocytogenes*<sup>[44]</sup>, las vías de señalización intracelular de las MAP quinasas intervinieron en el proceso invasivo y en la síntesis de las citocinas. Czerucka et al.<sup>[41, 42]</sup> demostraron que la vía de la MAP-quinasa estimulada durante la infección por EPEC y EHEC, así como la vía NF- $\kappa$ B inducida por EHEC, están involucradas en la síntesis de la IL-8. *Saccharomyces boulardii* inhibe estas vías así como la síntesis de la IL-8 durante el proceso de infección [40]. Adicionalmente, *Saccharomyces boulardii* impide la apoptosis provocada por EHEC y reduce la síntesis de TNF $\pm$ .

### ***Otras bacterias enteropatógenas***

La administración de una sola dosis de 10 mg de *Saccharomyces boulardii* en ratones gnotoxénicos inoculados oralmente con una suspensión de *Shigella flexneri* o *Salmonella typhimurium* produce un efecto protector en términos de mortalidad (*Shigella flexneri*) o de severidad de las lesiones intestinales (*Salmonella typhi murium*) provocadas por estos agentes enteropatógenos.<sup>[45]</sup> Este efecto protector no reduce el grado ni la velocidad de multiplicación de estas bacterias en el intestino.

## **EFFECTOS DE SACCHAROMYCES BOULARDII EN EL TRACTO INTESTINAL**

### ***Efectos tróficos***

La administración oral de *Saccharomyces boulardii* durante una semana en voluntarios adultos saludables no produjo ningún efecto en la morfología intestinal (histología convencional), ni en la altura de los vellos intestinales ni la profundidad de las criptas. De modo similar, el análisis con microscopio de electrones de las células epiteliales del intestino de ratas tratadas con *Saccharomyces boulardii* no mostró ninguna translocación intracelular en la levadura ni alteración morfológica de los microvellos, los vellos ni las criptas.<sup>[46]</sup> En base a un método tridimensional de microdensificación de biopsias humanas, Jahn et al.<sup>[47]</sup> confirmaron que, después del tratamiento oral con *Saccharomyces boulardii*, no se observó ninguna diferencia significativa en el área superficial de los vellos ni en la profundidad de las criptas. En un estudio realizado en humanos y ratas, Buts et al.<sup>[46]</sup> demostraron que, en comparación con las biopsias iniciales, las biopsias de voluntarios humanos mostraron un incremento significativo en la actividad total específica de la sacarosa-isomaltasa (+ 82 %), la lactasa (+ 77 %) y la maltasa (+ 75 %) después de una semana de tratamiento. De igual manera, en ratas de 30 días de vida destetadas y tratadas durante dos semanas con *Saccharomyces boulardii*, la actividad total y específica de la sacarosa-isomaltasa, la maltasa y la lactasa fue significativamente mayor con respecto a la de las ratas del grupo control tratado con placebo.

En un estudio realizado con voluntarios adultos sanos, Jahn et al.<sup>[47]</sup> utilizaron un método *in situ* para medir la actividad de las enzimas microvellosas en secciones congeladas de muestras de biopsia intestinal. Después del tratamiento con *Saccharomyces*

*boulardii*, estos autores observaron un incremento importante de la lactasa, las  $\pm$ -glucosidasas y la fosfatasa alcalina de + 22 % a + 55 % con respecto a las actividades de línea base medidas antes del tratamiento. De estos estudios, se infiere que, en los hombres y las ratas, *Saccharomyces boulardii* estimula la expresión de las disacaridasas y la fosfatasa alcalina, enzimas que participan en la digestión de nutrientes y que generalmente se alteran cuando se producen desórdenes intestinales agudos y crónicos. *Saccharomyces boulardii* segrega una sacarasa en el medio endoluminal, a niveles que permiten tratar eficazmente la deficiencia congénita de sacarasa-isomaltasa.<sup>[48]</sup> Un estudio reciente<sup>[49]</sup> demostró que *Saccharomyces boulardii* también libera una leucina aminopeptidasa hacia el medio endoluminal, que pertenece al grupo de zinc-metaloproteasa, la cual refuerza la proteólisis de pequeños péptidos aminoterminales. Este mecanismo puede reducir la alergenicidad a las proteínas dietarias, especialmente después de una gastroenteritis aguda. Finalmente, un estudio<sup>[50]</sup> demostró que la administración oral de *Saccharomyces boulardii* en ratas, durante una semana, tras una enterectomía proximal extendida al 60 %, no sólo indujo la actividad de las disacaridasas, sino también la absorción de la D-glucosa y Na<sup>+</sup> a través del transporte de glucosa/Na<sup>+</sup>. Se ha medido el nivel de absorción de la D-glucosa en las preparaciones vesiculares de borde en cepillo, teniendo en cuenta el tiempo de intubación y concentración de glucosa en el medio de incubación de las ratas control resectadas pero que no recibieron tratamiento y las ratas control transectadas. Se estimuló la expresión de 70 kDa SGLT-1 en el borde en cepillo del cotransportador-1 de sodio-glucosa, medido por autorradiografía, en las ratas transectadas tratadas con *Saccharomyces boulardii*. Estos resultados son compatibles con los que *Zaouche et al* obtuvieron posteriormente.<sup>[51]</sup>

*Saccharomyces boulardii* estimula la producción de glicoproteínas en el borde en cepillo de los microvellos, como las hidrolasas, los transportadores, las IgA secretoras<sup>[26, 52]</sup> y los receptores de inmunoglobulinas poliméricas<sup>[52]</sup> cuyas funciones fisiológicas y síntesis intracelular son marcadamente diferentes. Recientemente, se ha evaluado el mecanismo de esta estimulación. Debido a que *Saccharomyces boulardii* no penetra en los enterocitos,<sup>[46]</sup> hemos evaluado el impacto potencial de los efectos tróficos generados por *Saccharomyces boulardii* durante su recorrido endoluminal.

La determinación de HPLC en la levadura liofilizada reveló concentraciones significativas de poliaminas consistentes en 679 nanomoles/100 mg de preparación liofilizada, especialmente espermidina (55 %) y espermina (43 %), con cantidades insignificantes de putrescina (1,4 %).<sup>[53]</sup>

Teóricamente, los aportes de poliaminas pueden influir en la expresión intestinal de las glicoproteínas en el borde en cepillo (hidrolasas, proteasas, moléculas de transporte, etc.). De hecho, se ha observado una mayor estimulación de la actividad de las disacaridasas, aminopeptidasas y la secreción endoluminal de la IgA secretora en el intestino delgado de las ratas jóvenes no destetadas debido a la ingestión oral de espermina y espermidina equivalente a 1000 nanomoles por día de poliaminas purificadas. Cuando se trató a las ratas jóvenes con una dosis de espermina (500 nanomoles/día) equivalente al contenido de poliamina de la levadura liofilizada (679 nanomoles/100 mg), se observaron respuestas enzimáticas similares, tales como el incremento significativo de la actividad específica total de sacarasa (x 2,5) y la maltasa (+ 24 %). Como respuesta a los 1000 nanomoles de espermina, la estimulación de las actividades enzimáticas fue proporcionalmente más alta, con

un incremento de 4,6 x actividad de sacarasa y un incremento de 70 % en la actividad de la maltasa. De modo similar, las ratas destetadas tratadas ya sea con *Saccharomyces boulardii* o con dosis equivalentes de espermina (500 nanomoles) presentaron incrementos paralelos significativos en la actividad específica de la sacarasa (+ 157 %) y la maltasa (+ 47,5 %).

De este modo, la administración oral de 100 mg de *Saccharomyces boulardii* liofilizada con un contenido de 679 nanomoles de poliaminas y otra con un contenido de 500 nanomoles de espermina purificada en ratas jóvenes amamantadas o destetadas generó cambios similares en la microvellosidad. La estimulación de la sacarasa y la maltasa a través de la administración oral de espermina es un proceso dosis dependiente. Es más susceptible en este caso en comparación con otras enzimas microvellosas (lactasa, aminopeptidasa) y se vuelve detectable con dosis de espermina de más de 250 nanomoles al día. Adicionalmente, tanto *Saccharomyces boulardii* [53] como la espermina purificada (500 nanomoles al día) pueden estimular significativamente la producción intestinal del receptor de inmunoglobulinas poliméricas en las ratas destetadas entre 20 y 40 días post parto.

Paralelamente a los cambios en las actividades enzimáticas, el tratamiento oral con *Saccharomyces boulardii* produjo cambios concomitantes en las concentraciones de poliamina tanto en la mucosa intestinal (+ 21,4 %) como en el líquido endoluminal (+ 48 % a + 316 % en el yeyuno y + 60,8 % a + 150 % en el ileon). Las variaciones en las concentraciones de las tres poliaminas medidas en la mucosa intestinal (putrescina: + 7 %, espermidina: + 21,9 %, espermina: + 21,4 %) fueron proporcionales a las concentraciones medidas en la preparación de la levadura liofilizada. De hecho, la espermina y espermidina, que representan 44 % y 55 % de la cantidad total de poliaminas liberadas por *Saccharomyces boulardii*, se incrementaron en proporciones similares en la mucosa intestinal (+ 21,4 % y + 21,9 %).

Debido a los bajos niveles de putrescina segregados por la levadura (1,4 %), las concentraciones de putrescina en la mucosa variaron ligeramente y no resultaron afectadas por el tratamiento.

Los datos experimentales indican que el transporte transepitelial de poliaminas por las vesículas dentro del borde en cepillo de los microvellos es un proceso seleccionado y saturable, que depende, en gran medida, de sus concentraciones endoluminales. En las muestras de líquido de yeyuno e ileon obtenidas al enjuagar el lumen, seguido de un proceso de filtración para expandir las células de la levadura, los niveles de espermidina y espermina se incrementaron de 48 % a 316 % en las ratas tratadas con *Saccharomyces boulardii* en comparación con los controles, mientras que los niveles de putrescina no cambiaron significativamente. Debido a que las poliaminas endoluminales (especialmente, la putrescina) provienen de varias fuentes, por ejemplo, algunos alimentos (quesos), secreciones intestinales, células descamantes y el metabolismo de la flora bacteriana, los cambios en la concentración son mucho más significativos en el medio endoluminal que en la mucosa intestinal.

En resumen, los datos arriba mencionados indican que con las dosis utilizadas, la preparación liofilizada de *Saccharomyces boulardii* produjo efectos tróficos en la mucosa intestinal, que probablemente son mediados por la liberación endoluminal de espermina y espermidina. Estas sustancias policatiónicas pueden ser liberadas por las levaduras durante su catabolismo en el

intestino, en lugar de ser segregadas por células vivas durante su paso. De hecho, sólo se han detectado rastros de putrescina en el medio de cultivo de la levadura después de 96 horas de crecimiento exponencial, sin evidencia alguna de espermina o espermidina en el medio.

Debido a los efectos fisiológicos conocidos de las poliaminas exógenas en la maduración de las células intestinales, expresión enzimática y mecanismos de transporte, división de células crípticas, síntesis del ADN y la transcripción de genes, es posible que los aportes sustanciales de poliamina de *Saccharomyces boulardii* tengan implicancias clínicas importantes. Aunque se ha documentado muy bien el uso de *Saccharomyces boulardii* en casos de gastroenteritis aguda, diarrea asociada al uso de antibióticos y trastornos intestinales y colónicos causados por *Clostridium difficile* en niños, es necesario realizar investigaciones más exhaustivas sobre los efectos tróficos potenciales de la levadura en la prevención de la diarrea crónica persistente, la diarrea refractaria y la alergenicidad de las proteínas dietarias, así como los efectos de su uso como terapia de reemplazo para deficiencias enzimáticas congénitas (sacarasa-isomaltasa, trehalasa).

Además de los efectos tróficos mediados por las poliaminas, se ha abierto una gran ventana de investigación al estudiarse los efectos de *Saccharomyces boulardii* en ácidos grasos de cadena corta (AGCC): butirato, acetato, propionato. Los AGCC son unos de los metabolitos más importantes producidos por la flora anaeróbica del colon; desempeñan un papel fundamental en la absorción colónica de líquidos y electrolitos.<sup>[54]</sup> En un modelo *ex vivo* del ecosistema microbiano de un cerdo, la administración de *Saccharomyces boulardii* restauró la producción de AGCC a niveles normales, la misma que había disminuido debido al efecto destructivo de la clindamicina sobre la flora microbiana.<sup>[55]</sup> En un estudio clínico farmacológico realizado con pacientes que reciben únicamente alimentación enteral, el tratamiento con *Saccharomyces boulardii* produjo un incremento en las concentraciones fecales de los AGCC, particularmente butirato, hasta niveles comparables a los de los sujetos normales.<sup>[56]</sup> Esta propiedad responde, por lo menos parcialmente, al efecto antidiarreico de *Saccharomyces boulardii* en contextos clínicos donde la reducción de los AGCC tiene relación con las alteraciones de la flora colónica, como por ejemplo casos de diarreas asociadas al uso de antibióticos y diarreas asociadas a la alimentación enteral.

#### Efecto antisecretor

*Saccharomyces boulardii* disminuyó la secreción de líquidos (-39 %) y la permeabilidad al manitol (-5 %) inducida por la toxina A de *Clostridium difficile* en el íleon de la rata.<sup>[23, 25]</sup> Adicionalmente, *Saccharomyces boulardii* inhibió la secreción de cloruro inducida por las dos vías señalizadoras mediadas por el AMPc intracelular y los iones de calcio en las células intestinales de los vellos.<sup>[31, 57]</sup>

Finalmente, en situaciones de administración preventiva en ratas, *Saccharomyces boulardii* produjo un efecto potente en casos de diarrea secretora inducida por el aceite de ricino, administrándose en dosis.<sup>[58]</sup> La L-arginina inhibió significativamente este efecto, lo que sugiere la implicación de la vía de óxido nítrico en este mecanismo.

#### Efecto inmunoestimulante

Durante el período de crecimiento de la rata, *Saccharomyces boulardii* incrementó significativamente (+ 57%) las concentraciones de IgA secretora en el líquido intestinal así como las concentraciones de la muestra secretora (+ 63 %) en las células crípticas de la mucosa intestinal.<sup>[52]</sup> Se observó una respuesta similar en los ratones BALB/c inoculados oralmente con el toxoide de la toxina A de *Clostridium difficile*, lo que incrementó ampliamente los niveles totales de IgA secretora (x 1,8) y los niveles de IgA secretora de la antitoxina A (x 4,4).<sup>[26]</sup>

#### Efecto antiinflamatorio

Los estudios sobre los mecanismos protectores de *Saccharomyces boulardii* contra la infección por EPEC y EHEC demostraron que *Saccharomyces boulardii* inhibe las MAP-quinasas y las vías de señalización NF- $\kappa$ B así como la secreción de citocinas proinflamatorias IL-8.<sup>[40]</sup> De modo similar, Sogioultzis mostró un factor hidrosoluble secretado por *Saccharomyces boulardii* que también inhibe la señalización NF- $\kappa$ B cuando las células intestinales están expuestas a la toxina A de *Clostridium difficile*.<sup>[59]</sup> Esta investigación plantea la posibilidad de realizar estudios clínicos sobre el efecto de *Saccharomyces boulardii* en el tratamiento de enfermedades intestinales inflamatorias idiopáticas criptogénicas (CIDI, en inglés).

En resumen, los mecanismos de acción antidiarreicos de *Saccharomyces boulardii* se definen principalmente a través de dos tipos de propiedades farmacodinámicas:

- Inhibición de ciertas toxinas bacterianas y/o sus efectos patógenos.
- Impacto directo en la mucosa intestinal que se traducen en efectos tróficos, acciones antisecretoras y la estimulación de la inmunidad.
- Efectos intestinales y antiinflamatorios.

### ESTUDIOS CLÍNICOS

#### Diarrea asociada al uso de antibióticos y trastornos intestinales causados por *Clostridium difficile*

Dependiendo de cada autor, la diarrea asociada al uso de antibióticos (AAD, en inglés) genera complicaciones en 5 % a 30 % de los tratamientos con antibióticos. Los síntomas van desde una «simple» diarrea sin deshidratación ni trastornos de líquidos o electrolitos a severas diarreas secretoras que pueden ser fatales para el paciente, siendo la colitis pseudomembranosa o enterocolitis un caso extremo.

La patofisiología siempre implica la alteración del equilibrio de la flora microbiana y alteraciones en la flora de barrera inducidas por la eliminación de ciertas bacterias susceptibles a los antibióticos administrados. Desde hace tiempo se sabe que *Clostridium difficile* es responsable de 10 % a 30 % de los casos de diarreas asociadas al uso de antibióticos y 95 % de los casos de colitis pseudomembranosa.<sup>[60]</sup> También causa ciertas enterocolopatías refractarias en niños.<sup>[61]</sup> Las diarreas asociadas al uso de antibióticos causadas por *Clostridium difficile*, además de su posible severidad, también se caracterizan por la alta incidencia de recaídas después de la terapia inicial: 20 % después del episodio inicial y más de 60 % después de la primera recurrencia.<sup>[62]</sup> La

etiopatogenesis de las enfermedades diarreicas asociadas al uso de antibióticos no está relacionada únicamente con la bacteria *Clostridium difficile*; también se le ha vinculado frecuentemente con un síndrome de «deficiencia bacteriana en el colon» asociado a la falta de degradación de carbohidratos en la flora bacteriana normal, o con una deficiencia de ácidos grasos de cadena corta.<sup>[63]</sup> En algunos casos, también se ha involucrado a varios microorganismos como la *Klebsiella oxytoca*.<sup>[64]</sup> En la actualidad, se tiene un mejor conocimiento sobre los factores de riesgo de las enfermedades diarreicas asociadas al uso de antibióticos. Estas enfermedades están relacionadas ya sea con el tipo o duración de los tratamientos repetidos con antibióticos, tratamientos múltiples con antibióticos, antibióticos excretados en la bilis, antibióticos que actúan sobre los microorganismos anaeróbicos, antibióticos de amplio espectro o factores asociados al huésped (extremos de edad, severidad de la infección causal, trastornos gastrointestinales crónicos, cirugía, condición inmunocomprometida, antecedentes de enfermedades diarreicas asociadas al uso de antibióticos, hospitalización).<sup>[65]</sup> La existencia de uno de estos factores de riesgo o la combinación de varios de estos factores puede ameritar la prevención selectiva de las enfermedades diarreicas asociadas al uso de antibióticos. En la práctica clínica, el uso de *Saccharomyces boulardii* liofilizada obedece principalmente a estas consideraciones epidemiológicas y patofisiológicas.

### **Prevención de las enfermedades diarreicas asociadas al uso de antibióticos**

Dos estudios prospectivos, aleatorios, doble ciego y controlados por placebo han confirmado la eficacia de *Saccharomyces boulardii* en la prevención de las enfermedades diarreicas asociadas al uso de antibióticos.

En un primer estudio realizado con ciento ochenta pacientes hospitalizados,<sup>[66]</sup> se administró una dosis de *Saccharomyces boulardii* de 1 g al día durante el tratamiento y dos semanas después de la interrupción de dicho tratamiento. El porcentaje de pacientes que desarrollaron enfermedades diarreicas asociadas al uso de antibióticos fue de 21,8 % en el grupo que recibió placebo mientras que en el grupo de tratamiento activo este porcentaje fue de 9,5 % (P = 0,038).

En un segundo estudio realizado en dos centros con ciento noventa y tres pacientes hospitalizados que recibieron un betalactámico solo o en combinación con otros antibióticos,<sup>[67]</sup> la administración de una dosis diaria de 1 g de *Saccharomyces boulardii* (el tratamiento se inició 48 horas después del tratamiento antibiótico y continuó hasta tres días después de su interrupción) redujo la incidencia de enfermedades diarreicas en la misma proporción: 14,6 % en el grupo que recibió placebo y 7,2 % en el grupo tratado (P = 0,03) con *Saccharomyces boulardii*.

Estos resultados confirman los datos de un estudio previo realizado con trescientos ochenta y cinco pacientes ambulatorios adultos.<sup>[68]</sup> El tratamiento con dosis diarias de 200 mg de *Saccharomyces boulardii* durante el tratamiento (β-lactamas o tetraciclinas) redujo el porcentaje de pacientes con enfermedades diarreicas asociadas al uso de antibióticos de 17,5 % a 4,5 %.

### **Tratamiento de formas recurrentes de diarrea y colitis causadas por *Clostridium difficile***

Se realizaron varios estudios clínicos diseñados para evaluar la eficacia de *Saccharomyces boulardii* en el tratamiento de recaídas de colitis y diarrea causadas por *Clostridium difficile*.

En un estudio de etiqueta abierta preliminar realizado con 13 pacientes que presentaron recaídas múltiples de colitis pseudomembranosa causada por *Clostridium difficile* [69], la administración de una dosis diaria de 1 g de *Saccharomyces boulardii*, durante un mes, en combinación con un tratamiento estándar de vancomicina, permitió prevenir posibles recaídas futuras en once de los trece pacientes.

Un estudio multicentro, aleatorizado, doble ciego, controlado por placebo, realizado con ciento veinticuatro pacientes tratados con vancomicina o metronidazol para un episodio de colitis o diarrea causada por *Clostridium difficile* [62], evaluó el efecto de *Saccharomyces boulardii* en la incidencia de recaídas posteriores. En los pacientes que habían presentado por lo menos una recaída (n = 60), la administración de *Saccharomyces boulardii* redujo significativamente la posibilidad de recaídas posteriores: 64,7 % en el grupo de placebo frente a 34,6 % en el grupo tratado con *Saccharomyces boulardii* (P = 0,04).

Otro estudio multicentro, doble ciego, controlado por placebo, realizado con ciento setenta y siete pacientes con infección intestinal multiresistente al *Clostridium difficile*, que recibieron tratamiento con vancomicina por diez días en dosis altas (2 g al día) o bajas (500 mg) o metronidazol y *Saccharomyces boulardii* (1 g/día), o placebo, por cuatro semanas, demostró que el esquema de «una dosis alta de vancomicina combinada con *Saccharomyces boulardii*» fue el tratamiento más adecuado para tratar este trastorno.<sup>[70]</sup>

### **Tratamiento de la enterocolopatía causada por *Clostridium difficile* en niños**

Son pocos los casos en los que la infección intestinal por *Clostridium difficile* en niños se expresa a manera de colitis pseudomembranosa; normalmente se manifiesta como diarrea aguda o enterocolopatía crónica. En un estudio de etiqueta abierta, sólo se registró a diecinueve bebés y niños que presentaron una condición clínica de diarrea crónica y en los que sólo se identificó *Clostridium difficile* como el único enteropatógeno en el cultivo de heces. La mayoría de pacientes había recibido uno o más tratamientos con antibióticos para varias infecciones durante las semanas o los meses previos a su ingreso en el estudio. El tratamiento con una dosis diaria de 500 - 1000 mg de *Saccharomyces boulardii*, dependiendo ésta de la edad del niño, por dos semanas, produjo la rápida desaparición de los síntomas en dieciocho niños y eliminó la toxina B en dieciséis niños.<sup>[61]</sup>

### **Gastroenteritis aguda**

Un estudio prospectivo aleatorizado evaluó la eficacia de una dosis diaria de 500 mg de *Saccharomyces boulardii* como complemento de la terapia de rehidratación oral en la enteritis aguda de severidad promedio en niños. La comparación entre el grupo tratado (n = 19) y el grupo control (n = 19) en el 1er y 4to día reveló una diferencia importante en cuatro criterios de evaluación clínica: cantidad, peso y consistencia

de las deposiciones y tiempo de transición del carmín rojo.<sup>[71]</sup>

En un estudio doble ciego, controlado por placebo, realizado con ciento treinta niños de tres meses a tres años de edad, la administración de una dosis diaria de 300 mg de *Saccharomyces boulardii*, redujo significativamente la frecuencia de defecación a partir de las 48 horas de tratamiento. A las 48 y 96 horas de tratamiento, el número de casos de recuperación clínica fue significativamente mayor en el grupo tratado.<sup>[72]</sup>

En un estudio doble ciego, controlado por placebo, realizado con noventa y dos sujetos adultos con diarrea aguda,<sup>[73]</sup> la administración de *Saccharomyces boulardii* redujo significativamente ( $P = 0,035$ ) los síntomas de diarrea después de 48 horas de tratamiento, según un puntaje compuesto que evalúa la cantidad y consistencia de las deposiciones.

### **Diarrea del viajero**

Los turistas que viajan a países de alta temperatura están expuestos a altos riesgos de contraer enfermedades diarreicas. Esta es la enfermedad más común que los turistas contraen cuando visitan áreas tropicales o subtropicales.

La eficacia de *Saccharomyces boulardii* en la prevención de la diarrea del viajero ha sido demostrada en un estudio que incluye a mil doscientos treinta y un sujetos que viajan a diferentes países. Los participantes fueron clasificados en tres grupos: el primer grupo recibió un placebo, el segundo grupo recibió una dosis diaria de 250 mg de *Saccharomyces boulardii* y el tercero recibió una dosis diaria de 500 mg de *Saccharomyces boulardii*. Estas dosis se administraron cinco días antes de salir del país y durante el viaje. La incidencia de casos de diarrea fue de 42,6 %, 33,6 % ( $P < 0,007$ ) y 31,8 % ( $P < 0,002$ ), respectivamente. Se observaron diferencias regionales. El efecto fue mejor en los países de África del Norte y África Occidental, con una reducción de 58 % ( $P < 0,002$ ) y 59 % ( $P < 0,01$ ), y en varias islas tropicales (reducción de 40 %;  $P < 0,05$ ).<sup>[74]</sup>

## **ESTUDIOS CLÍNICOS SOBRE OTROS TRASTORNOS**

Se han realizado estudios clínicos sobre otras enfermedades que implican un trastorno del equilibrio del ecosistema intestinal.

### **Diarrea asociada a la nutrición enteral**

Tres estudios aleatorizados, doble ciego, controlados por placebo, han demostrado la eficacia de *Saccharomyces boulardii* en la prevención de la diarrea en pacientes que sólo reciben nutrición enteral.

En los pacientes que fueron hospitalizados en una unidad de cuidado intensivo, la administración de una dosis de 500 mg/l de *Saccharomyces boulardii* en los nutrientes disminuyó la incidencia en días de diarrea de 16,9 % a 8,7 % ( $P < 0,001$ ).<sup>[75]</sup>

En los pacientes que fueron hospitalizados en una unidad de cuidado para quemados, la terapia preventiva con dosis diarias de 2 g de *Saccharomyces boulardii* disminuyó la incidencia en días de

diarrea de 9,1 % a 1,5 % ( $p < 0,00$ ) y mejoró significativamente la tolerancia gastrointestinal a la nutrición enteral expresada únicamente por el nivel de ingesta calórica.<sup>[76]</sup>

Finalmente, un estudio multicentro (once centros) realizado con ciento veintiocho pacientes confirmó la eficacia de *Saccharomyces boulardii*, administrada en una dosis diaria de 2 g, en la prevención de la diarrea en pacientes hospitalizados en unidades de cuidado intensivo médico-quirúrgicas que recibieron únicamente nutrición enteral.<sup>[77]</sup> Los autores observaron una reducción significativa en el ciclo de la diarrea en el grupo que recibió *Saccharomyces boulardii* (14 % con *Saccharomyces boulardii* frente a 19 % con placebo,  $P < 0,01$ ) con una eficacia relativa de 29 %.

### **La diarrea en casos de SIDA**

En un estudio de etiqueta abierta realizado con diecisiete pacientes que presentaban diarrea crónica provocada por el SIDA, la administración de una dosis diaria de 3 g de *Saccharomyces boulardii* durante dos semanas produjo un verdadero efecto antidiarreico, con una disminución de la cantidad de deposiciones diaria de 9,0 a 2,1 en promedio.<sup>[78]</sup> Un estudio doble ciego realizado con treinta y cinco pacientes confirmó estos resultados después de una semana de terapia: se pudo controlar mejor la diarrea en 61 % de los pacientes del grupo tratado con *Saccharomyces boulardii*, mientras que en el grupo tratado con placebo este porcentaje fue de 12 % ( $P < 0,002$ ). La cantidad, peso y volumen de las deposiciones, el dolor abdominal, el peso corporal y la calidad de vida, determinada en base a la escala de Karnofsky, también mejoró significativamente.<sup>[79]</sup>

### **Síndrome de Intestino Irritable (SII)**

Un estudio doble ciego, controlado por placebo, realizado con treinta y cuatro pacientes con síndrome de intestino irritable con predominio de diarreas demostró el impacto significativo de *Saccharomyces boulardii* en la cantidad y consistencia de las deposiciones ( $P < 0,05$ ) después de un mes de tratamiento.<sup>[80]</sup>

### **Enfermedades intestinales inflamatorias idiopáticas criptogénicas**

Un estudio clínico aleatorizado realizó una comparación entre el tratamiento con *Saccharomyces boulardii* (1 g al día) en combinación con mesalazina (2 g al día) y el tratamiento con mesalazina únicamente (3 g al día) a fin de medir su eficacia en la prevención de recaídas en las personas con la enfermedad de Crohn [81]. Después de seis meses de estudio, la tasa de recaída fue 37,5 % en el grupo que recibió sólo mesalazina ( $n = 16$ ) y 6,25 % en el grupo que recibió *Saccharomyces boulardii* conjuntamente con mesalazina ( $n = 16$ ), ( $P = 0,04$ ).

Un estudio piloto reciente ha dado pie a alternativas interesantes para la terapia de mantenimiento en casos de formas moderadas de colitis ulcerativa.<sup>[82]</sup>

## **USO SEGURO**

*Saccharomyces boulardii* liofilizada es un producto medici-



nal que tiene una buena tolerancia bajo condiciones de uso normales. Son pocos los casos reportados en los que se ha vinculado a *Saccharomyces boulardii* con cultivos de heces positivos y fungemia. En los casos documentados, todos los pacientes tuvieron una sonda venosa central permanente y es posible que su condición inmunocomprometida haya exacerbado, en algunos casos, la expresión de los síntomas.<sup>[83]</sup>

La fungemia causada por *Saccharomyces boulardii* desapareció, ya sea espontáneamente con la discontinuación del producto o como consecuencia del tratamiento antimicótico y en algunos casos también fue necesario retirar la sonda. La infección de la sonda durante la manipulación de los paquetes o cápsulas parece ser el mecanismo etiopatogénico más probable. En consecuencia, la administración de *Saccharomyces boulardii* liofilizada fue contraindicada en los pacientes con sonda venosa central permanente.<sup>[83, 84]</sup>

## CONCLUSIÓN

Gracias a los avances significativos logrados en la comprensión de la función fisiológica de la flora bacteriana intestinal, los mecanismos de acción de *Saccharomyces boulardii* han quedado parcialmente esclarecidos: liberación *in vivo* de sustancias que inhiben ciertas toxinas bacterianas y sus efectos patogénicos, tróficos, antiseoretos, inmunoestimulantes y antiinflamatorios en la mucosa intestinal.

La eficacia de *Saccharomyces boulardii* liofilizada ha sido demostrada clínicamente a través de estudios controlados de diferentes síndromes diarreicos asociados al trastorno del equilibrio del ecosistema microbiano intestinal. Existe evidencia sobre la función de este producto en la prevención de la diarrea asociada al uso de antibióticos en pacientes de alto riesgo y el tratamiento de infecciones intestinales recurrentes causadas por *Clostridium difficile*.

La característica probiótica (microorganismo vivo) de la sustancia activa en este producto explica la complejidad de sus mecanismos de acción y la diversidad de sus posibles aplicaciones clínicas.

## PUNTOS CLAVE

- *Saccharomyces boulardii* liofilizada es un ejemplo de un medicamento probiótico cuya sustancia activa incluye un microorganismo vivo destinado a tratar o prevenir varias enfermedades gastrointestinales; además, ha sido desarrollado como un producto medicinal de conformidad con la legislación vigente.
- Al ser administrado regularmente por vía oral, *Saccharomyces boulardii* no se instala en el tracto gastrointestinal, sino que lo recorre manteniendo su forma viable a un nivel estable de concentración a partir del 3er día de administración. La levadura desaparece de las heces 48 horas después de interrumpir la terapia.
- A medida que recorre el tracto gastrointestinal, *Saccharomyces boulardii* produce efectos farmacodinámicos que son semejantes a los efectos protectores de la flora intestinal normal. Los mecanismos de acción de *Saccharomyces boulardii* incluyen la

inhibición de algunas toxinas bacterianas y sus efectos patogénicos, tróficos, antiseoretos, inmunoestimulantes y antiinflamatorios en la mucosa intestinal.

- *Saccharomyces boulardii* liofilizada tiene efectos clínicos sobre la diarrea asociada al uso de antibióticos y las infecciones intestinales recurrentes causadas por *Clostridium difficile*, pero también contribuye a la prevención y tratamiento de otras enfermedades diarreicas.
- Se han abierto perspectivas de investigación interesantes para la terapia de mantenimiento de enfermedades inflamatorias crónicas del intestino.

## REFERENCIAS

1. HENNEQUIN C, THIERRY A, RICHARD GF, et al. Microsatellite typing as a new tool for identification of *Saccharomyces cerevisiae* strains. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 551-9.
2. MAILLIÉ M, NGUYEN VAN P, BERTOUTS, VAILLANT C, BASTIDE LM. Genotypic study of *Saccharomyces boulardii* compared to the *Saccharomyces sensu stricto* complex species. *J Mycol Med* 2001; 11:19-25.
3. FULLER R. Probiotics in human medicine. *Gut* 1991; 32: 439-42.
4. MARTEAU PR, DE VRESE M, CELLIER O, SCHREZENMEIR. Protection from gastrointestinal diseases with the use of probiotics. *Am J Clin Nutr* 2001; 73: 4305-65.
5. ELMER GW, SURAWICZ CM, MCFARLAND LY. Biotherapeutic agents. A neglected modality for the treatment and prevention of selected intestinal and vaginal infections. *JAMA* 1996; 275: 870-6.
6. MCFARLAND LV, BERNASCONI P. *Saccharomyces boulardii*: a review of an innovative biotherapeutic agent. *Microbiol Ecology Health Dis* 1993; 6: 57-171.
7. BERGOGNE-BÉRÉZIN E. Impact écologique de l'antibiothérapie. Place des micro-organismes de substitution dans le contrôle des diarrhées et colites associées aux antibiotiques. *Presse Med* 1995; 24: 145-56.
8. DUC!UZEAU R, BENSADA M. Effet comparé de l'administration unique ou en continu du *Saccharomyces boulardii* sur l'établissement de diverses souches de *Candida* dans le tractus digestif de souris gnotoxéniques. *Ann Microbiol (Pari,)* 1992; 133: 491-501.
9. BLÉHAUT H, MASSOT J, ELMER GW, LEVY RH. Disposition kinetics of *Saccharomyces boulardii* in man and rat. *Biopharm Drug Dispos* 1989; 10: 353-64.
10. BODDY AV, ELMER GW, MCFARLAND LV, LEVY RH. Influence of antibiotics on the recovery and kinetics of *Saccharomyces boulardii* in rats. *Pharm Res* 1991; 8: 796-

- 800.
11. KLEIN SM, ELMER GW, MCFARLAND LV, SURAWICZ CM, LEVY RH. Recovery and elimination of the biotherapeutic agent, *Saccharomyces boulardii*, in healthy human volunteers. *Pharm Res* 1993; 10: 1615-9.
  12. ELMER GW, MCFARLAND LV, SURAWICZ CM, DANKOSL, GREENBERG RN. Behavior of *Saccharomyces boulardii* in recurrent healthy human volunteers. *Aliment Pharmacol Ther* 1999; 13; 1663-8.
  13. TOOTHAKER RD, ELMER GW. Prevention of Clindamycin-induced mortality in hamster by *Saccharomyces boulardii*. *Antimicrobial Ag Chemother* 1984; 26: 552-6.
  14. CORTHER G, DUBOIS F, DUCLUZEAU R. Prevention of *Clostridium difficile* induced mortality in gnotobiotic mice by *Saccharomyces boulardii*. *Clin J Microbiol* 1986; 32: 294-6.
  15. 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* 1992; 30: 1583-9.
  16. MASSOT J, SANCHEZ O, COUCHY R, ANTOIN J, PARODI AL. Bacterio-pharmacological activity of *Saccharomyces boulardii* in Clindamycin induced colitis in the hamster. *Arzn-Forsch/Drug Res* 1984; 34: 794-7.
  17. CASTEX F, CORTHER G, JOUBERT S, ELMER GW, LUCAS F, BASTIDE M. Prevention of *Clostridium difficile*-induced experimental pseudomembranous colitis by *Saccharomyces boulardii*: a scanning electron microscopic and microbiological study. *J Gen Microbiol* 1990; 136; 1085-9.
  18. CORTHER G, MULLER MC, WILKINS TD, LYERLY D, L'HARIDON R. Protection against pseudomembranous colitis in gnotobiotic mice by use of monoclonal antibodies against *Clostridium difficile* toxin A. *Infect Immun* 1991; 59; 1192-5.
  19. CZERUCKA D, NANO JL, Bernasconi P, Rampal P. Réponse aux toxines A et B de *Clostridium difficile* d'une lignée de cellules épithéliales de rat; IRD 98. Effet de *Saccharomyces boulardii*. *Gastroenterol Clin Biol* 1991; 15: 22-7.
  20. ELMER GW, CORTHER G. Modulation of *Clostridium difficile* induced mortality as a function of the dose and viability of the *Saccharomyces boulardii* used as a preventative agent in gnotobiotic mice. *Can J Microbiol* 1991; 37: 315-7.
  21. ELMER GW, MCFARLAND LV. Suppression by *Saccharomyces boulardii* of toxinogenic *Clostridium difficile* overgrowth after vancomycin treatment in hamsters. *Antimicrobial Ag Chemother* 1987; 31: 129-31.
  22. CZERUCKA D, RAMPAL P. Experimental effects of *Saccharomyces boulardii* on diarrheal pathogens. *Microbes Infect* 2002; 4: 733-9.
  23. POTHOUKAKIS C, KELLY CP, JOSHI MA, et al. *Saccharomyces boulardii* inhibits *Clostridium difficile* toxin A binding and enterotoxicity in rat ileum. *Gastroenterology* 1993; 104: 1108-15.
  24. CASTAGLIUOLO L, LAMONT JT, NIKULASSON ST, POTHOUKAKIS C. *Saccharomyces boulardii* protease inhibits *Clostridium difficile* toxin A effects in the rat ileum. *Infect Immun* 1996; 12: 5225-32.
  25. CASTAGLIUOLO L, RIEGLER MF, VALENICK L, LAMONT JT, POTHOUKAKIS C. *Saccharomyces boulardii* protease mediates *Clostridium difficile* toxin A and B effects in human colonic mucosa. *Infect Immun* 1999; 67: 302-7.
  26. QAMAR A, ABOUDOLA S, WARNY M, et al. *Saccharomyces boulardii* stimulates intestinal immunoglobulin A immune response to *Clostridium difficile* toxin A in mice. *Infect Immun* 2001; 69: 2762-5.
  27. TASTEYRE A, BARE MC, KARJALAINEN T, BOURLIOUX P, COLLIGNON A. Inhibition of in vivo cell adherence of *Clostridium difficile* by *Saccharomyces boulardii*. *Microbiol Pathogen* 2002; 32: 219-25.
  28. VIDON N, HUCHET B, RAMBAUD JC. Influence de *Saccharomyces boulardii* sur la sécrétion jéjunale induite chez le rat par la toxine cholérique. *Gastroenterol Clin Biol* 1986; 10: 13-6.
  29. CZERUCKA D, NANO JL, BERNASCONI P, RAMPAL P. Réponse à la toxine cholérique de deux lignées de cellules épithéliales intestinales. Effet de *Saccharomyces boulardii*. *Gastroenterol Clin Biol* 1989; 13: 383-7.
  30. CZERUCKA D, ROUX L, RAMPAL P. *Saccharomyces boulardii* inhibits secretagogue-mediated adenosine 3', 5' -cyclic monophosphate induction in intestinal cells. *Gastroenterology* 1994; 106: 65-72.
  31. CZERUCKA D, RAMPAL P. Effect of *Saccharomyces boulardii* on cAMP- and Ca<sup>2+</sup>-dependent Cl<sup>-</sup> secretion in T84 cells. *Dig Dis Sei* 1999; 44: 2359-68.
  32. BARRETT KE. Positive and negative regulation of chloride secretion. *Am J Physiol* 1993; 265: C859-68.
  33. VENGLARIK CJ, BRIDGES RJ, FRIZEL RA. A simple assay for agonist-regulated Cl<sup>-</sup> and K<sup>+</sup> conductances in salt-secreting epithelial cells. *Am J Physiol* 1990; 259: C358-64.
  34. MASSOT J, DESCONCLOIS M, ASTOIN J. Protection par *Saccharomyces boulardii* de la diarrhée à *Escherichia coli* du souriceau. *Annal Pharm Franc* 1982; 41: 445-9.
  35. NATARO J, KAPER JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev* 1998; 11: 142-201

36. PHILPOTT DJ, MCKAY DM, SHERMAN PM, PERDUE MH. Infection of T84 cells with enteropathogenic *Escherichia coli* alters barrier and transport functions, *Am J Physiol* 1998; 33: G634-45
37. SAVKOVIC SD, KOUTSOURIS A, HECHT G. Attachment of a non invasive enteric pathogen, enteropathogenic *Escherichia coli*, to cultured human intestinal epithelial monolayers induces transmigration of neutrophils. *Infect Immun* 1996; 64: 4480-7.
38. YUHAN R, KOUTSOURIS A, SAVKOVIC SD, HEICHT G. Enteropathogenic *Escherichia coli*-induced myosin light chain phosphorylation alters intestinal epithelial permeability. *Gastroenterology* 1997; 113: 1873-82.
39. CZERUCKA D, DAHAN S, MOGRABI B, ROSSI B, RAMPAL P. *Saccharomyces boulardii* preserves the barrier function and modulates the signal transduction pathway induced in enteropathogenic *Escherichia coli* infected T84 cells. *Infect Immun* 2000; 68: 5998-6004.
40. DAHAN S, DALMASSO G, IMBERT V, PEYRON JF, RAMPAL P, CZERUCKA D. *Saccharomyces boulardii* interferes with enterohemorrhagic *Escherichia coli*-induced signaling pathways in T84 cells. *Infect Immun* 2003; 71: 766-73.
41. CZERUCKA D, DAHAN S, MOGRABI B, ROSSI B, RAMPAL P. Implication of mitogen-activated protein kinases in T84 cells responses to enteropathogenic *Escherichia coli* infection. *Infect Immun* 2001; 69: 1298-305.
42. DAHAN S, BUSUTILL V, IMBERT V, PEYRON JF, RAMPAL P, CZERUCKA D. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* infection induces interleukin-8 production via activation of mitogen-activated protein kinases and the transcription factors NF-kappa B and AP-1 in T84 cells. *Infect Immun* 2002; 70: 2304-10.
43. HOBBIES S, CHEN LM, DAVIS RJ, GALAN JE. Involvement of mitogen-activated protein kinase pathways in the nuclear responses and cytokine production induced by *Salmonella typhimurium* in cultured intestinal epithelial cells. *J Immunol* 1997; 57: 1290-8.
44. TANG P, SUTHERLAND YA, GOLD MR, FINLAY BB. *Listeria monocytogenes* invasion of epithelial cells requires the MEK-1/ERK-2 mitogen-activated protein kinase pathway. *Infect Immun* 1998; 66: 1106-12.
45. RODRIGUES ACP, NARDI RM, BAMBIRRA EA, VIEIRA EC, NICOLI JR. Effect of *Saccharomyces boulardii* against experimental oral infection with *Salmonella typhimurium* and *Shigella flexneri* conventional and gnotobiotic mice. *J Appl Bacteriol* 1996; 91: 251-6.
46. BUTS JP, BEMASCONI P, VAN CRAYNEST MP, MALDAGUE P, DE MEYER R. Response of human and rat small intestinal mucosa to oral administration of *Saccharomyces boulardii*. *Pediatr Res* 1986; 20: 192-6.
47. JAHN HU, ULLRICH R, SCHNEIDER T, et al. Immunology and tropical effects of *Saccharomyces boulardii* on the small intestine in healthy human volunteers. *Digestion* 1996; 57: 95-104.
48. HARMS HK, BERTELE-HARMS RM, BRUER-KLEIS D. Enzyme substitution therapy with the yeast *Saccharomyces boulardii* in congenital sucrase isomaltase deficiency. *N Engl J Med* 1987; 316: 1306-9.
49. BUTS JP, 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* 2002; 51: 528-34.
50. BUTS JP, DE KEYSER N, MARANDI S, et al. *Saccharomyces boulardii* upgrades cellular adaptation after proximal enterectomy in rats. *GUT* 1999; 45: 89-96.
51. ZAUCHE A, LOUKIL C, DE LA GAUSIE P, et al. Effects of oral *Saccharomyces boulardii* on bacterial overgrowth, translocation and intestinal adaptation after small bowel resection in rats. *Scand J Gastroenterol* 2000; 35: 160-5.
52. BUTS JP, BERNASCONI P, VAERMAN JP, DIVE C. Stimulation of secretory IgA and secretory component of immunoglobulins in small intestine of rats treated with *Saccharomyces boulardii*. *Dig Dis Sci* 1990; 35: 251-6.
53. BUTS JP, DE KEYSER N, DE RAEDEMAER L. *Saccharomyces boulardii* enhances rat intestinal enzyme expression by endoluminal release of polyamines. *Pediatr Res* 1994; 36: 522-7.
54. BOWLING TF, RAIMUNDO AH, GRIMBLE GK, SILK DB. Reversal by short-chain fatty acids of colonic fluid secretion induced by enteral feeding. *Lancet* 1993; 342: 1266-8.
55. BREVES G, FAUL K, SCHRODER B, HOLST HF, CASPARY W, STEIN J. Application of the colon-stimulation technique for studying the effects of *Saccharomyces boulardii* on basic parameters of porcine cecal microbial metabolism disturbed by Clindamycin. *Digestion* 2000; 61: 193-200.
56. SCHNEIDER SM, GIRARD-PIPAU F, FILIPPI J, et al. Effects of *Saccharomyces boulardii* on the intestinal flora of patients on long-term enteral nutrition. *Gastroenterology* 2002; 122: A-459 (abstract).
57. KRAMMER M, KARBACH U. Antidiarrheal action of the yeast *Saccharomyces boulardii* in the rat small and large intestine by stimulating chloride absorption. *Z Gastroenterol* 1993; 31: 73-7.
58. GIRARD P, PANSART Y, LORETTE L, GILLARDIN JM. Dose-response relationship and mechanism of action of *Saccharomyces boulardii* in castor oil-induced diarrhea in rats. *Dig Dis Sci* 2003; 48: 770-4.
59. SOGIOULTZIS, ET AL. *Gastroenterology* 2003; 125: 606 abstract.

60. KELLY CP, POTHOUKAKIS C, LAMONT JT. Pseudomembranous colitis. *N Engl J Med* 1994; 330: 257-62.
61. BUTS JP, CORTIER G, DELMÉE M. *Saccharomyces boulardii* for Clostridium difficile-associated enterocolopathies in infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1993; 16: 419-25.
62. MCFARLAND LV, SURAWICZ CM, GREENBERG RN, et al. A randomized placebo-controlled trial of *Saccharomyces boulardii* in combination with standard antibiotics for Clostridium difficile disease *JAMA* 1994; 271: 1913-8.
63. CLAUSEN MR, BONNEN H, TVEDE M, MORTENSEN PB. Colonic fermentation to short-chain fatty acids is decreased in antibiotic-associated diarrhea. *Gastroenterology* 1991; 101: 1497-504.
64. BENOIT R, DORVAL D, LOULERGUE J, et al. Diarrhée post-antibiotique: rôle de *Klebsiella oxytoca*. *Gastroenterol Clin Biol* 1992; 16: 860-4.
65. MCFARLAND LV. Risk factors for antibiotic-associated diarrhea. A review of the literature. *Ann Med Int* 1998; 149: 261-45.
66. SURAWICZ CM, ELMER GW, SPEELMAN P, MCFARLAND LV, CHINN J, VANBELLEG. Prevention of antibiotic associated diarrhea by *Saccharomyces boulardii*: a prospective study. *Gastroenterology* 1989;96: 981-8.
67. MCFARLAND LV, SURAWICZ CM, GREENBERG RN, et al. Prevention of beta-lactam associated diarrhea by *Saccharomyces boulardii* compared with placebo. *Am J Gastroenterol* 1995; 90: 439-48.
68. ADAM J, BARRET A, BARRET-BELLET C. Essais cliniques contrôlés en double insu de l'Ultra-Levure lyophilisée. Étude multicentrique par 25 médecins de 388 cas; *Med Chir Dig* 1976; 5: 401-5.
69. SURAWICZ CM, MCFARLAND LV, ELMER G, CHINN J. Treatment of recurrent *Clostridium difficile* colitis with vancomycin and *Saccharomyces boulardii*. *Am J Gastroenterol* 1989; 84: 1285-7.
70. SURAWICZ CM, MCFARLAND LV, GREENBERG R, et al. The search for a better treatment for recurrent *Clostridium difficile* disease: use of high-dose Vancomycin combined with *Saccharomyces boulardii*. *Clin Infect Dis* 2000; 31: 1012-7.
71. CHAPOY P. Traitement des diarrhées aiguës infantiles: essai contrôlé de *Saccharomyces boulardii*. *Ann Pediatr* 1985; 32: 561-3,
72. CETINA-SAURI G, SIERRIA BASTO G. Évaluation thérapeutique de *Saccharomyces boulardii* chez des enfants souffrant de diarrhée aiguë, *Ann Pediatr*. 1994; 41: 397-400.
73. HOCHTER W, CHASE D, HAGENHOFF G. *Saccharomyces boulardii* in treatment of acute adult diarrhea. Efficacy and tolerance of treatment. *Münch Med Wochenschr* 1990; 132: 188-92.
74. KOLLARITSCH H, et al. Prevention of traveller's diarrhoea. Comparison of different non-antibiotic preparations. *Travel Med Int* 1989; 9-[7,
75. TEMPE JD, STEIDEL AL, BLÉHAUT H, HASSELMANN M, LUTUN P, MAURIER F. Prévention par *Saccharomyces boulardii* des diarrhées de l'alimentation entérale à débit continu. *Sem Hop (Paris)* 1983; 59: 1409-12.
76. SCHLOTTERER M, BERNASCONI P, LEBRETON F, WASSERMANN D. Intérêt de *Saccharomyces boulardii* dans la tolérance digestive de la nutrition entérale à débit continu chez le brûlé. *Nutr Clin Metabol* 1987; 1: 31-4.
77. BLEICHNER G, BLÉHAUT H, MENTEC H, MOYSE D. *Saccharomyces boulardii* prevents diarrhea in critically ill tube-fed patients. A multicenter, randomized, double-blind placebo-controlled trial. *Intensive Care Med* 1997; 23: 517-23.
78. SAINT-MARC T, ROSSELLO-PRATS L, TOURAINE JL. Efficacité de *Saccharomyces boulardii* dans le traitement des diarrhées du sida. *Ann Med Int* 1991; 142: 64-5.
79. SAINT-MARC T, BLÉHAUT H, MUSIAL C, TOURAINE JL. Diarrhées en relation avec le sida. Essai en double aveugle de *Saccharomyces boulardii*. *Sem Hop (Paris)* 1995; 71: 735-41.
80. MAUPAS JL, CHAMPEMONT P, DELFORGEM. Traitement des colopathies fonctionnelles. Essai en double aveugle de l'Ultra-Levure (Treatment of irritable bowel syndrome with *Saccharomyces boulardii*-a double blind, placebo controlled study). *Med Chir. Dig* 1983; 12: 77-9.
81. GUSLANDI M, MEZZI G, SORGI M, TESTONI PA. *Saccharomyces boulardii* in maintenance treatment of Crohn's disease. *Dig Dis Sci* 2000; 45: 1462-4.
82. GUSLANDI M, GIOLLO P, TESTONI PA. A pilot trial of *Saccharomyces boulardii* in ulcerative colitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15: 697-8.
83. HENNEQUIN C, KAUFFMAN-LACROIX C, JOBERT A, et al. Possible role of catheters in *Saccharomyces boulardii* fungemia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000; 19: 16-20.
84. PERAPOCH J, PLANES AM, QUEROL A, et al. Fungemia with *Saccharomyces boulardii* cerevisiae, only one of whom had been treated with Ultra-Levure. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000; 19: 468-70