

## PROBIOTYCZNE DROŻDŻE *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* VAR. *BOULARDII* JAKO CZYNNIK ETIOLOGICZNY OPORUNISTYCZNYCH ZAKAŻEŃ U LUDZI

Katarzyna Roeske<sup>1\*#</sup>, Aleksandra Zasuń<sup>1#</sup>, Justyna Cieślik<sup>2</sup>, Marta Wróblewska<sup>2,3</sup>, Tomasz Jagielski<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zakład Mikrobiologii Medycznej, Instytut Mikrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski

<sup>2</sup>Zakład Mikrobiologii, Centralny Szpital Kliniczny, Uniwersyteckie Centrum Kliniczne Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

<sup>3</sup>Zakład Mikrobiologii Stomatologicznej, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Wpłynęło w maju, zaakceptowano w lipcu 2020 r.

**Streszczenie:** Drożdże *S. cerevisiae* var. *boulardii*, historycznie stanowiące odrębny gatunek, uznawane są obecnie za podgatunek drożdży *S. cerevisiae*. Szczepy *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* są powszechnie wykorzystywane w profilaktyce i leczeniu zaburzeń układu pokarmowego. Stosowanie preparatów na bazie *S. cerevisiae* var. *boulardii* wpływa na funkcjonowanie bariery jelitowej, co prowadzi do zmiany składu mikrobioty przewodu pokarmowego i łagodzi nieprawidłowości warstwy nabłonkowej jelita. Mimo klinicznie potwierdzonych, probiotycznych właściwości tych jednokomórkowych drobnoustrojów, wzrasta liczba doniesień na temat wywoływanych przez nie zakażeń u ludzi. Badania populacyjne sugerują, że drożdże *S. cerevisiae* są odpowiedzialne za 0,1–3,6% wszystkich przypadków grzybic, stwierdzanych u pacjentów stosujących terapię środkami probiotycznymi zawierającymi *S. cerevisiae* var. *boulardii*. Za czynniki predysponujące do rozwoju zakażeń uznaje się obecność centralnego cewnika żylnego, żywienie pozajelitowe, immunosupresję oraz choroby współistniejące. W niniejszej pracy zebrano najważniejsze informacje dotyczące biologii *S. cerevisiae* var. *boulardii*, a także przedstawiono najnowsze dane epidemiologiczne dotyczące fungemii wywołanych przez te grzyby.

1. Wstęp. 2. Zastosowanie drożdży *S. cerevisiae*. 3. Izolacja i taksonomia probiotycznych drożdży *S. cerevisiae* var. *boulardii*. 4. Probiotyczne właściwości *S. cerevisiae* var. *boulardii*. 5. Zakażenia wywołane przez *S. cerevisiae* var. *boulardii*. 5.1. Przegląd fungemii wywołanych przez *S. cerevisiae* var. *boulardii*. 6. Wnioski

### SACCHAROMYCES CEREVISIAE VAR. BOULARDII PROBIOTIC YEASTS AS ETIOLOGICAL AGENTS OF OPORUNISTIC INFECTIONS IN HUMANS

1. Introduction. 2. Applications of *S. cerevisiae* yeasts. 3. Isolation and taxonomy of probiotic yeasts *S. cerevisiae* var. *boulardii*. 4. Probiotic features of *S. cerevisiae* var. *boulardii*. 5. *S. cerevisiae* var. *boulardii* infections. 5.1. Review of *S. cerevisiae* var. *boulardii* fungemia cases. 6. Conclusions

**Abstract:** *S. cerevisiae* var. *boulardii* yeasts, historically recognized as a separate species, are now considered a subspecies of *S. cerevisiae*. Strains of *S. cerevisiae* var. *boulardii* are widely used for prevention and treatment of disorders of human digestive system. The use of preparations based on *S. cerevisiae* var. *boulardii* impacts the functioning of the intestinal barrier, which leads to a change in the composition of the digestive tract microbiota and alleviates intestinal epithelial defects. Despite the clinically confirmed probiotic properties of these unicellular microorganisms, the number of reports of infections in humans has been increasing. Population studies suggest that *S. cerevisiae* yeasts are responsible for 0.1–3.6% of all cases of mycoses in patients receiving therapy with probiotics containing *S. cerevisiae* var. *boulardii*. The presence of a central venous catheter, parenteral nutrition, immunosuppression and co-morbidities in patients are considered as factors predisposing for infection. This work summarizes the most important information on biology of *S. cerevisiae* var. *boulardii* and presents the latest epidemiological data on fungemia caused by these fungi.

**Słowa kluczowe:** fungemia, probiotyk, *S. cerevisiae* var. *boulardii*, zakażenie

**Key words:** fungemia, infection, probiotic, *S. cerevisiae* var. *boulardii*

### 1. Wstęp

W ciągu ostatnich dekad liczba doniesień na temat zakażeń grzybiczych u ludzi gwałtownie wzrosła, zwłaszcza w odniesieniu do krajów rozwiniętych, co związane jest głównie z rozwojem metod detekcji i identyfikacji drobnoustrojów czy zwiększoną dostępnością danych [11]. W Stanach Zjednoczonych, liczba przy-

padków sepsy wywołanej przez grzyby wzrosła z 5231 w roku 1979 do 16 042 w roku 2000 (wzrost o 207%) [80]. Za przyczyny tego zjawiska uznaje się głównie powszechne stosowanie chemioterapii i antybiotyków o szerokim spektrum działania, stosowanie centralnych dośń żylnych oraz zwiększoną liczbę przeszczepień narządów, którym towarzyszy stosowanie leków immunosupresyjnych. Również za sprawą pandemii,

# Równorzędne pierwsze autorstwo, kolejność alfabetyczna

\* Autor korespondencyjny: Dr Katarzyna Roeske, Zakład Mikrobiologii Medycznej, Instytut Mikrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, ul. Miecznikowa 1, Warszawa; tel. 22 55 41 311; e-mail: kroeske@biol.uw.edu.pl

takich jak zakażenia wywoływane przez HIV czy prątki gruźlicy (*Mycobacterium tuberculosis*), zwiększyła się populacja osób bardziej podatnych na grzybice [95]. Coraz liczniej dokumentowane są przypadki zakażeń wywołanych przez jednokomórkowe grzyby, takie jak drożdże *Saccharomyces cerevisiae*, które uznaje się za, nie jako drobnoustroje oportunistyczne z grupy tzw. *emerging pathogens* [37, 62]. Grzyby te są czynnikiem etiologicznym szerokiej gamy zakażeń, od zapalenia skóry czy pochwy u osób immunokompetentnych po zakażenia krwi i ogólnoustrojowe u osób z obniżoną odpornością i krytycznie chorych [36, 42, 91]. Pacjenci z zakażeniami *S. cerevisiae* to zwykle osoby z zaburzeniami odporności, powyżej 60 roku życia lub wcześniaki [42, 43, 108, 112]. Ciężkie infekcje są też sporadycznie zgłaszane u pacjentów bez oczywistych czynników predysponujących [111].

## 2. Zastosowanie drożdży *S. cerevisiae*

Do gatunku *S. cerevisiae* należą drobnoustroje powszechnie wykorzystywane przez człowieka w produkcji żywności i napojów. Pieczywo oraz napoje alkoholowe, takie jak piwo czy wino, pozyskiwane dzięki fermentacyjnej aktywności drożdży, od tysięcy lat odgrywają znaczącą rolę w funkcjonowaniu większości społeczeństw na całym świecie. Molekularne dane wskazują, że napoje otrzymywane na drodze drożdżowej fermentacji wytwarzano już w 7000 roku p.n.e., a pieczywo ok. 2500 roku p.n.e. [21, 120], przy czym podstawy procesu fermentacji zostały wyjaśnione dopiero w poł. XIX w. przez Louisa Pasteura [21].

Ze względu na powszechność wykorzystania *S. cerevisiae* w procesach przemysłowych, genetyka drożdży jest bardzo dobrze poznana [75]. Pierwsze eksperymenty hodowlane, polegające na krzyżowaniu odmiennych szczepów w celu otrzymania pożądanych cech fenotypowych, prowadził Ojvind Winge w laboratorium Carlsberga w latach 30. XX wieku [5]. Łatwość manipulacji cyklem życiowym tych drobnoustrojów oraz ekonomiczność hodowli uczyniła z nich podstawowy model jednokomórkowego organizmu eukariotycznego do badań biologicznych. Pierwszym szczepem referencyjnym stanowiącym doskonałą bazę do produkcji szeregu mutantów *S. cerevisiae* stał się stabilny haploid S288c, którego genom został w pełni zsekwenconowany w 1996 roku [50].

Dzięki narzędziom genomicznym udało się zbadać sieć interakcji białkowych i genetycznych w komórkach drożdży [12]. Wiedza na temat genomu, proteomu oraz cech fenotypowych pozwoliła na wykorzystanie tych mikroorganizmów do heterologicznej produkcji białek. Ponad 40 dostępnych na rynku rekombinowanych biofarmaceutyków zostało wyprodukowanych w komór-

kach drożdży z rodzaju *Saccharomyces* [103]. W wektorach na bazie *S. cerevisiae* otrzymuje się między innymi hirudynę wykorzystywaną przy zaburzeniach krzepnięcia krwi, czy ludzką transferynę stosowaną w leczeniu anemii [57, 69]. Dzięki drożdżom możliwa stała się produkcja hormonów stosowanych w leczeniu cukrzycy, w tym prekursorów insuliny czy glukagonu, a także hormonu wzrostu (somatotropiny) [67, 70]. Innymi przykładami enzymów wytwarzanych heterologicznie w komórkach drożdży są: galaktozydaza, glukoamylaza,  $\alpha$ -amylaza oraz inwertaza [38, 78, 115]. Drożdże *S. cerevisiae* znalazły również zastosowanie w inżynierii walcynacyjnej. Wektory na bazie komórek *S. cerevisiae* wytwarzające antygeny wirusowe bądź nowotworowe, okazały się przydatne do stymulowania odpowiedzi komórek T CD4<sup>+</sup> i CD8<sup>+</sup> [2]. Drożdże *S. cerevisiae* stały się podstawą opracowania szeroko stosowanej na całym świecie szczepionki przeciw zapaleniu wątroby typu B wywołwanemu przez HBV (hepatitis B virus) [84]. Obecnie trwają badania nad użyciem *S. cerevisiae* do opracowania rekombinowanych szczepionek także przeciw wielu innym patogenom (wirusom, bakteriom i pasożytom) [72].

Wysokie (>20%) podobieństwo genów drożdżowych do genów ludzkich sprawiło, że grzyby *S. cerevisiae* stały się wygodnym modelem do badania niektórych chorób u ludzi. Dzięki analizie genów homologicznych, drożdżowego *SGS1* i ludzkiego *WRN* kodujących enzym o właściwościach helikazy DNA, wyjaśniono genetyczne podłoże zespołu Wernera (zespół przedwczesnego starzenia się) [24]. Model drożdżowy jest też powszechnie stosowany do badania zaburzeń neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Alzheimera czy Parkinsona. W przypadku choroby Alzheimera, heterologiczna ekspresja ludzkich sekretaz w drożdżach pomogła zrozumieć patomechanizm choroby, w tym szlak przetwarzania genu *APP* kodującego prekursorowe białko amyloidu, oligomeryzację  $\beta$ -amyloidu oraz jego toksyczność [10]. Na modelu drożdżowym badano również toksyczność białka  $\alpha$ -synukleiny, które tworzy nieprawidłowe agregaty w mózgu osób cierpiących na chorobę Parkinsona [51].

## 3. Izolacja i taksonomia probiotycznego szczepu *S. cerevisiae* var. *boulardii*

Jedyny znany szczep *S. cerevisiae* wykazujący właściwości probiotyczne to *S. cerevisiae* var. *boulardii*<sup>1</sup>. Został on wyizolowany przez francuskiego mikrobiologa Henri Boularda w 1920 roku w czasie podróży po Azji, w po-

<sup>1</sup> Szczepy *S. cerevisiae* var. *boulardii* uznawane są obecnie za podgatunek drożdży *S. cerevisiae*. Historycznie stanowiły odrębny gatunek „*S. boulardii*” (nazwa nieaktualna).

szukiwaniu nowych szczepów drożdży fermentacyjnych. Boulard zaobserwował, że ludzie spożywający herbatę sporządzoną ze skórek owoców liczi i mangostanu nie chorują na cholera. Odkrycie to doprowadziło do izolacji szczepu odpowiedzialnego za odporność rdzennych mieszkańców, któremu nadano nazwę „*Saccharomyces boulardii*”. Od lat 50. XIX wieku, szczep ten był wykorzystywany w leczeniu biegunki towarzyszącej antybiotykoterapii, przy czym stosowana do dziś jego liofilizowana forma została wprowadzona na rynek w 1962 roku przez francuską firmę Biocodex [41]. Zainteresowanie właściwościami probiotycznymi, a także farmakokinetyką, bezpieczeństwem, skutecznością i dawkowaniem preparatów na bazie drożdży *S. cerevisiae* var. *boulardii* rośnie nieprzerwanie od lat 90. ubiegłego wieku. Liczba doniesień naukowych na ten temat jeszcze w latach 80. nie przekraczała 20, podczas gdy w 2011 roku wyniosła 822 [79, 86], a w roku 2019 – 2200<sup>2</sup>.

Komórki wegetatywne *S. cerevisiae* var. *boulardii* mają kształt cylindryczny i wielkość 2–3 µm × 5–8 µm [100]. Ściana komórkowa, zbudowana z chityny, mannozy i glukanu, stanowi około 30% suchej masy komórki i jest grubsza niż w przypadku innych szczepów *S. cerevisiae* [39]. Podczas gdy dla większości szczepów *S. cerevisiae* optimum temperaturowe wynosi 30°C, szczepy *S. cerevisiae* var. *boulardii* rosną optymalnie w temperaturze 37°C [31]. Drożdże probiotyczne tolerują również szeroki zakres pH, tj. od 2,0 do 8,0 [45]. Nie posiadają zdolności do sporulacji, a na pożywkach ubogich w azot rosną w postaci filamentów [39, 100].

Pozycja taksonomiczna szczepu Boularda ulegała licznym zmianom. Wraz z pojawieniem się zaawansowanych metod typowania molekularnego, opartych na analizie sekwencji DNA, pojawiły się wątpliwości czy drożdże opisane przez Boularda stanowią istotnie odrębny gatunek (*S. boulardii*), czy też przynależą do gatunku *S. cerevisiae* [86]. Tradycyjnie, klasyfikacja opierała się na kryteriach fenotypowych, takich jak morfologia kolonii i komórek, sposób rozmnażania, czy profile asymilacji różnych form węgla i azotu [85]. Metody konwencjonalne, o niskiej zdolności różnicującej, prowadziły do nieprawidłowej identyfikacji gatunkowej szczepów [99, 120].

Analiza genomu drożdży probiotycznych *S. cerevisiae* var. *boulardii* ujawniła sporo charakterystycznych właściwości tych drobnoustrojów. Stosując hybrydyzację DNA/DNA (spotted microarray) wykazano, że drożdże te utraciły wszystkie elementy transpozycyjne Ty1/2, co może być przyczyną braku zdolności do sporulacji i diploidii (transkrypcja elementów Ty1/2 zachodzi jedynie w komórkach diploidalnych drożdży). Ponadto wykazano u nich trisomię chromo-

somu IX oraz zmienioną liczbę kopii poszczególnych genów, między innymi genu kodującego białko lektynopodobne biorące udział we flokulacji czy L-asparaginazę II regulowaną przez katabolizm azotowy. Inną cechą odróżniającą szczepy *S. cerevisiae* var. *boulardii* od pozostałych szczepów *S. cerevisiae* jest mniejsza liczba kopii genu *CUP1*, co przejawia się większą wrażliwością na obecność jonów miedzi [39].

Za pomocą technik genotypowania wykazano, że drożdże probiotyczne nie tworzą osobnego gatunku, lecz stanowią podgatunek (*varietas*) *S. cerevisiae* [100]. Pomocna była tu m.in. analiza polimorfizmu długości chromosomów (chromosome length polymorphism, CLP), wykonana przy użyciu elektroforezy w zmiennym polu elektrycznym (pulse-field gel electrophoresis, PFGE) [9, 58, 82, 100]. Oferuje ona możliwość rozdzielania całych, nienaruszonych chromosomów, jak również dużych fragmentów restrykcyjnych o wielkości do 10 Mbp, czym różni się od standardowej elektroforezy żelowej pozwalającej na rozdział cząsteczek o wielkości nieprzekraczającej 50 kbp [64]. Kolejne eksperymenty oparte na kariotypowaniu metodą PFGE, dowodziły, że szczepy *S. cerevisiae* var. *boulardii*, choć tworzyły osobny klastery, były filogenetycznie bliskie pozostałym szczepom z gatunku *S. cerevisiae*. Ogólnie, pokrewieństwo filogenetyczne szczepów probiotycznych, mimo pewnej odrębności genetycznej, jest wystarczające, aby osadzić je w tym gatunku [71, 87, 120].

Metodą znacznie prostszą i szybszą w wykonaniu, choć mniej czułą i powtarzalną niż PFGE, jest RAPD (random amplification of polymorphic DNA). Polega ona na losowej amplifikacji polimorficznych fragmentów DNA, z zastosowaniem pojedynczego startera DNA o długości 10–20 pz. Powielanie losowych fragmentów genomu jest ukierunkowane i w jego rezultacie otrzymuje się charakterystyczne, krótkie amplikony, tzw. *DNA fingerprints*, na podstawie których można różnicować szczepy *Saccharomyces* [123]. Powtarzalność analiz RAPD jest jednak niska, a interpretacja wyników może być utrudniona ze względu na różny poziom intensywności prążków DNA w żelu [49]. Ponadto, znane są przypadki wykazywania identycznych profilów genetycznych w szczepach *S. cerevisiae* var. *boulardii* i innych szczepach należących do gatunku *S. cerevisiae* [88, 94].

Kolejną techniką stosowaną do identyfikacji szczepów *S. cerevisiae* var. *boulardii* jest analiza PCR-RFLP (restriction fragments length polymorphism), polegająca na trawieniu restrykcyjnym produktów amplifikacji wysoce konserwowanych regionów ITS (internal transcribed sequence) znajdujących się między genami rDNA. Przeprowadzone przez McCullough typowanie PCR-RFLP szczepów probiotycznych wykazało, że trzy szczepy były nie do odróżnienia od pozostałych szczepów z gatunku *S. cerevisiae* [85]. Przy równoległym

<sup>2</sup> Dane z dnia 17.03.2020 opracowane na podstawie wyszukiwania Google Scholar.

typowaniu metodami PFGE i PCR-RFLP fragmentu ITS szczepy probiotyczne tworzyły osobny klastery, jednak w obrębie gatunku *S. cerevisiae* [87].

Za technikę typowania drożdży probiotycznych o dużej sile dyskryminacyjnej uznaje się analizę liczby powtórzeń krótkich sekwencji (simple sequence repeats, SSRs), zwaną też analizą polimorfizmu mikrosatelit. Badania Hennequin i wsp. dowiodły, że sekwencja mikrosatelitarna CAG w genie *YLR177w* na chromosomie XII w szczepie *S. cerevisiae* var. *boulardii* występuje w unikatowej liczbie dziewięciu powtórzeń [60].

W 2019 roku zaproponowano nową metodę typowania, łączącą zalety typowania metodami MLST (multilocus sequence typing, analiza porównawcza sekwencji genów metabolizmu podstawowego), MSP (methylation-specific PCR) oraz analizy regionów mikrosatelitarnych i polimorficznych regionów delta w obrębie retrotranspozonów Ty. Bazując na technice *multiplex* PCR, w której amplifikowane są mikrosatelity genów *YLR177w*, *YOR267c* i region ITS, możliwe jest odróżnienie szczepów probiotycznych od pozostałych szczepów *S. cerevisiae* [65].

Coraz częściej do identyfikacji drożdży *S. cerevisiae* var. *boulardii* oraz poszukiwania genetycznych determinantów właściwości probiotycznych szczepów wykorzystuje się sekwencjonowanie genomowe (whole genome sequencing, WGS). Analiza genomów dwóch szczepów *S. cerevisiae* var. *boulardii* ujawniła brak 27 funkcjonalnie scharakteryzowanych genów obecnych u innych szczepów należących do gatunku *S. cerevisiae*. Wśród nich znalazły się między innymi dwa geny metabolizmu maltazy (*MAL11* i *MAL13*), dwa transportery heksozowe (*HXT9* i *HXT11*), cztery geny metabolizmu asparaginy (*ASP3-1*, *ASP3-2*, *ASP3-3* i *ASP3-4*) i trzy geny metabolizmu palatynozy (*IMA2*, *IMA3*, *IMA4*). Z wyjątkiem genu *ASP3*, wszystkie te geny lokalizują się w regionach telomerowych lub subtelerowych chromosomu [68]. Na podstawie analizy sekwencji genomowych zdeponowanych w bazie YeastMine, udokumentowane zostały także różnice w liczbie kopii niektórych genów mogących warunkować specyficzne cechy fizjologiczne szczepów probiotycznych, niewystępujące u pozostałych szczepów *S. cerevisiae* [4]. Różnice te dotyczyły m.in. genów kodujących białko PAU, syntazę fosforanu 4-amino-5-hydroksymetylo-2-metylopiyrimidyny biorącą udział w szlaku biosyntezy tiaminy czy genu *COS3*, którego ekspresja warunkuje tolerancję na wysoki poziom zasolenia. Klastery zduplikowanych i potrójnych genów kodują głównie białka związane ze stresem, czynniki elongacyjne, białka rybosomalne, kinazy, transportery i białka eksportu fluorków, co może wpływać na większą niż w przypadku *S. cerevisiae* zdolność *S. cerevisiae* var. *boulardii* do adaptacji do warunków panujących w układzie pokarmowym człowieka [68].

#### 4. Probiotyczne właściwości *S. cerevisiae* var. *boulardii*

Drożdże *S. cerevisiae* var. *boulardii* posiadają szereg właściwości umożliwiających profilaktykę i leczenie wielu zaburzeń ze strony układu pokarmowego, między innymi biegunki związanej z antybiotykoterapią (najczęściej *Clostridioides difficile*), czy zakażeń wywołanych przez patogeny jelitowe, takie jak: *Shigella flexneri*, enterokrwotoczne szczepy *Escherichia coli*, czy *Candida albicans* [17, 33, 90, 109, 111, 114, 115]. Pomimo dowiedzionej skuteczności preparatów probiotycznych i ich szerokiej dostępności, mechanizmy działania probiotyków nie są w pełni poznane. Cárdenas i wsp. wskazują, że u osób zakażonych *Helicobacter pylori* stosowanie preparatów probiotycznych zawierających drożdże *S. cerevisiae* var. *boulardii* wpływa na zmniejszenie częstości dolegliwości ze strony przewodu pokarmowego, co może być wynikiem zwiększenia zróżnicowania składu mikroflory jelitowej po takiej terapii [18].

Ważną cechą drożdży *S. cerevisiae* var. *boulardii* jest zdolność do przeżywania w przewodzie pokarmowym człowieka. Drożdże probiotyczne są odporne na działanie enzymów trawiennych, soli żółciowych, czy kwasów organicznych [31]. Optymalna temperatura ich wzrostu i prowadzenia procesów metabolicznych wynosi 37°C, w odróżnieniu od pozostałych szczepów *S. cerevisiae* wykazujących optimum wzrostu w temperaturze 30°C [45]. Szczepy *S. cerevisiae* var. *boulardii* tolerują również pH w zakresie od 2,0 do 8,0, dzięki czemu są zdolne do przeżycia zarówno w środowisku żołądka, jak i jelit [45, 53].

Zdolność drożdży probiotycznych do zasiedlania układu pokarmowego człowieka jest dyskusyjna. Badania Edwards-Ingram i wsp. nie dostarczyły dowodów na istnienie różnic między *S. cerevisiae* var. *boulardii* a innymi szczepami *S. cerevisiae* w zdolności do kolonizacji i tempie pasażu przez układ pokarmowy człowieka [39]. Nie potwierdzono również zdolności *S. cerevisiae* var. *boulardii* do adhezji do komórek nabłonka jelita w badaniach na komórkach ludzkich linii Caco2 oraz *in vivo*, na modelu mysim [39]. Buts i wsp. wykazali natomiast, że po trzech dniach regularnego przyjmowania probiotyku, liczebność drożdży w treści jelitowej utrzymuje się na stałym poziomie [16]. W innym badaniu, drożdże probiotyczne wykrywane były w kale ponad 10 dni po podaniu pojedynczej dawki myszom gnotobiotycznym [104].

Mechanizm działania drożdży *S. cerevisiae* var. *boulardii* zależy w dużej mierze od etiologii biegunki. Drożdże probiotyczne oddziałują nie tylko bezpośrednio na patogeny rezydujące w jelitach, ale także modulują aktywność metaboliczną komórek nabłonka jelita, szlaki sygnalizacyjne czy czynniki immunologiczne [31]. Głównym czynnikiem przemawiającym za wykorzy-

staniem drożdży w profilaktyce i terapii chorób układu pokarmowego jest ich naturalna oporność na leki przeciwbakteryjne. Spekuluje się, że bakterie komensalne, w tym bakterie kwasu mlekowego (lactic acid bacteria, LAB) mogą stanowić rezerwuar genów oporności na antybiotyki. Głównym zagrożeniem płynącym z tego zjawiska jest możliwość nabycia przez bakterie chorobotwórcze genów oporności na antybiotyki w drodze horyzontalnego transferu genów. Chociaż transfer materiału genetycznego między bakteriami a drożdżami jest możliwy w procesie koniugacji TKC (trans-kingdom conjugation), angażującym bakteryjny system sekrecji typu IV (type IV secretion system, T4SS), prawdopodobieństwo tego zjawiska jest znacznie mniejsze niż w wypadku koniugujących bakterii [89]. Tym samym terapia probiotyczna szczepami *S. cerevisiae* var. *boulevardii* równoległe z antybiotykoterapią jest bezpieczna [31].

Stosowanie szczepów *S. cerevisiae* var. *boulevardii* pozytywnie wpływa na kontrolę translokacji patogenów jelitowych z przewodu pokarmowego do miejsc pozajelitowych, takich jak krezkowe węzły chłonne, wątroba, śledziona i krew [8, 47]. Głównymi czynnikami promującymi translokację bakteryjną są: wstrząs krwotoczny, urazy pooperacyjne, uszkodzenia jelit, całkowite żywienie pozajelitowe, antybiotykoterapia, leczenie immunosupresyjne, ostre zapalenie trzustki oraz żółtaczką obturacyjną [29, 119].

Przeciwdrobnoustrojowy potencjał drożdży probiotycznych wynika także z aktywności licznych białek [79]. Białka powierzchniowe tj. YJL158C (glikoproteina zawierająca mannozę), YKL096W-A (mannoproteina), YMR306W (syntaza  $\beta$ -D-glukanowa), YKL163W (O-glikozyłowane białko stabilizujące) czy YGR279C (białko o aktywności glukonazy) w szczepach *S. cerevisiae* var. *boulevardii* wiążą komórki patogenów, hamując ich przyleganie do ściany jelita [118]. Inne białka (alkaliczne fosfatazy, proteazy) prowadzą do inaktywacji toksyn patogenów [16, 20, 32] lub enzymatycznej degradacji ich receptorów na komórkach jelita [98].

Co więcej, drożdże *S. cerevisiae* var. *boulevardii* są zdolne do modulowania szlaków sygnałowych zależnych od kinaz aktywowanych mitogenami (MAP) m.in. w zakażeniach *E. coli*, *C. difficile* czy *S. flexnerii* [25, 33, 90]. Antagonistyczny wpływ *S. cerevisiae* var. *boulevardii* na patogeny jelitowe obejmuje także mechanizmy, takie jak konkurencja o składniki odżywcze czy stabilizacja bariery żołądkowo-jelitowej. W licznych badaniach *in vivo* potwierdzono potencjał immunogeny drożdży. Stosowanie preparatów zawierających drożdże probiotyczne obniża poziom cytokin prozapalnych, tj. IL-8, IL-1- $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  w organizmie gospodarza [25, 48, 83, 92, 107], a także stymuluje produkcję wydzielniczej immunoglobuliny A (IgA) [17].

Drożdże probiotyczne wpływają również na aktywność enzymatyczną komórek nabłonka jelita. Dowie-

dziono, że doustne podawanie szczepu probiotycznego prowadzi do wyraźnego wzrostu aktywności laktazy disacharydazowej, sacharazy i maltazy w mikrokosmkach jelitowych, co w rezultacie zwiększa aktywność enzymów trawiennych, a więc poprawia trawienie składników odżywczych i ich wchłanianie [63]. Udowodniono też, że drożdże *S. cerevisiae* var. *boulevardii* regulują skład mikroflory jelit, zwiększając produkcję krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (short-chain fatty acids, SCFA) u pacjentów z długotrwałym, całkowitym żywieniem dojelitowym (TEN, enteral feeding). Krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe, będące istotnym produktem ubocznym metabolizmu bakterii beztlenowych, są głównym źródłem węgla i energii dla mikroflory jelita grubego i uczestniczą w absorpcji wody oraz elektrolitów przez błonę śluzową. Podczas żywienia dojelitowego hamują sekrecję wody do światła jelita i w ten sposób zmniejszają skłonność do powstawania biegunek [110]. Zwiększenie stężenia SCFA w wyniku przyjmowania szczepów probiotycznych *S. cerevisiae* var. *boulevardii* zaobserwowano także w trakcie antybiotykoterapii [14].

Drożdże *S. cerevisiae* var. *boulevardii* zostały zbadane pod kątem skuteczności klinicznej nie tylko w zakażeniach przewodu pokarmowego, ale również w chorobach przewlekłych, w tym chorobie Leśniowskiego-Crohna (Crohn's disease, CD) [34], wrzodziejącym zapaleniu jelita grubego [55], czy zespole jelita drażliwego [27, 56].

## 5. Zakażenia wywołane przez *S. cerevisiae*

Mimo, że stosowanie probiotycznych drożdży ma wiele zalet i uznane jest za bezpieczne, od lat 90. XX wieku przybywa doniesień dotyczących inwazyjnych zakażeń wywołanych przez *S. cerevisiae*. Przegląd piśmiennictwa pokazuje, że drożdże te są czynnikiem etiologicznym wielu różnych zakażeń, od zapalenia dróg rodnych i zakażeń skórnych u pacjentów ogólnie zdrowych, po ogólnoustrojowe zakażenia krwi i narządów u pacjentów z obniżoną odpornością i chorych w ciężkim stanie ogólnym [42, 91]. Drożdże *S. cerevisiae* są obecnie uważane za nowo pojawiające się patogeny (emerging pathogens) [37]. Częstość występowania najgroźniejszych zakażeń, tj. fungemii wywołanych przez drożdże *S. cerevisiae*, nie jest znana. Szacuje się, że mogą stanowić 0,1–3,6% wszystkich przypadków krwio-pochodnych zakażeń grzybiczych [74]. Z zestawienia opracowanego przez Muñoz i wsp. w 2005 roku wynika, że odnotowano łącznie 60 przypadków fungemii o etiologii *S. cerevisiae* [91]. Większość (60%) spośród tych przypadków wykryto na oddziałach intensywnej terapii. Podobnie, większość (71%) spośród takich chorych otrzymywało żywienie pozajelitowe, a niemal

wszyscy (93%) mieli założone centralne cewniki żyłne. Leczenie antybiotykami i innymi lekami przeciwbakteryjnymi o szerokim spektrum działania dotyczyło 88% chorych. Blisko połowa (45%) chorych było suplementowanych probiotycznie [91]. W innym zestawieniu, opartym na 92 przypadkach fungemii wywołanych przez drożdże *S. cerevisiae*, połowę (51%) stanowiły zakażenia spowodowane przez szczepy *S. cerevisiae* var. *bouardii*. W tej grupie, chorzy cierpieli na zaburzenia układu pokarmowego (58%), mieli założony centralny cewnik żylny (84%) i przebywali na oddziale intensywnej terapii (32%). Wśród innych czynników predysponujących do wystąpienia fungemii *S. cerevisiae* var. *bouardii* były całkowite żywienie pozajelitowe, immunosupresja, a także antybiotykoterapia [42]. Szczep *S. cerevisiae* var. *bouardii* jest jedynym znanym organizmem probiotycznym, dla którego zaobserwowano transmisję zakażeń w środowisku szpitalnym i ogniska epidemiczne [19, 74, 106].

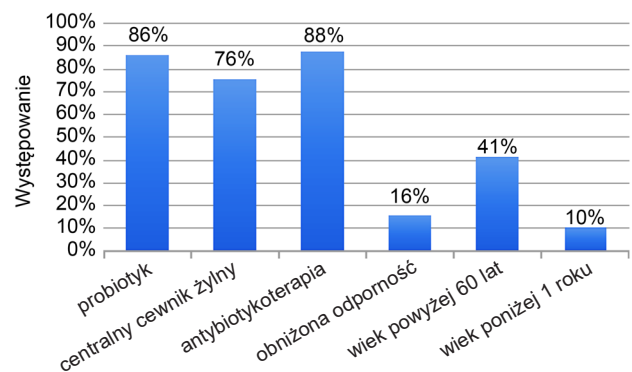
Istnieje kilka hipotez, wyjaśniających drogi zakażenia grzybami *S. cerevisiae* var. *bouardii*. Pierwsza mówi o przekroczeniu bariery jelitowej i przeniknięciu do krwi, węzłów chłonnych, śledziony, wątroby, czy nerek, tak jak to opisano wcześniej dla *C. albicans* [7, 74]. Drożdże mogą się przedostawać do ludzkiego krwiobiegu również przez centralne wkłucie, co może tłumaczyć rozwój fungemii u pacjentów nieotrzymujących probiotyku drożdżowego, u których otrzymano dodatni wynik posiewu krwi z centralnego cewnika żylnego [74]. Transmisja między chorym a osobą przebywającą w pobliżu pacjentów otrzymujących leczenie probiotyczne zostało udowodnione przez Cassone i wsp. [19]. Szczepy wyizolowane od trzech pacjentów oddziału intensywnej terapii z centralnymi dościami żylnymi, nieprzyjmujących probiotycznych szczepów *S. cerevisiae* var. *bouardii* miały identyczny kariotyp jak szczep pochodzący od hospitalizowanego w tej samej sali pacjenta otrzymującego probiotyk [19]. W innym badaniu wykazano, że po otwarciu opakowania liofilizowanych szczepów *S. cerevisiae* var. *bouardii*, żywe komórki utrzymują się na powierzchniach szpitalnych w odległości jednego metra od opakowania nawet przez dwie godziny i mogą pozostawać na dłoniach pracownika medycznego, który nie używał rękawiczek ochronnych podczas otwierania opakowania probiotyku, nawet po intensywnym myciu rąk [59].

W Polsce opisano dotychczas niewiele przypadków zakażeń drożdżowych, które powiązano z suplementacją probiotykiem zawierającym szczep *S. cerevisiae* var. *bouardii*. W 2017 roku Sulik-Tyszka i wsp. przeprowadzili retrospektywną analizę danych dotyczących pacjentów przebywających na oddziałach hematologii i onkologii Warszawskiego Szpitala Uniwersyteckiego w latach 2011–2013 (32 000 chorych) [113]. W badanym okresie, jedynym probiotykiem poda-

wanym pacjentom był Enterol 250 (Biocodex, France) w dawce 250 mg liofilizowanych komórek drożdży. Wskazaniem do jego stosowania była biegunka oraz kolonizacja układu pokarmowego przez *C. difficile*. Probiotyczny szczep drożdży wyhodowano z 53 wymazów z jamy ustnej i odbytu pobranych od 38 pacjentów. Pacjenci, u których wykazano kolonizację drożdżami, cierpieli na ostrą białaczkę szpikową (29%) lub szpiczaka mnogiego (18%), zespół mielodysplastyczny (18%), chłoniaka (11%), przewlekłą białaczkę mielomonocytową oraz ostrą białaczkę limfoblastyczną (po 5%) lub inne schorzenia (14%). Niemal wszyscy (97%) pacjenci skolonizowani przez drożdże *S. cerevisiae* var. *bouardii* otrzymywali antybiotykoterapię skojarzoną z podawaniem probiotyku Enterol. Ciekawe, że u pacjentów onkohematologicznych, stanowiących grupę szczególnego ryzyka, drożdże *S. cerevisiae* var. *bouardii* izolowano wyłącznie z ich przewodu pokarmowego, sugerując, że szczep probiotyczny ma ograniczoną zdolność do wywoływania sepsy w tej populacji chorych [113].

### 5.1. Przegląd fungemii wywołanych przez *S. cerevisiae* var. *bouardii*

Na potrzeby niniejszej pracy zebrano wszystkie przypadki fungemii wywołanych na świecie przez szczepy probiotyczne *S. cerevisiae* var. *bouardii* z lat 1991–2019 (Tab. I). Ogólnie, w powyższym przedziale czasowym opisano w literaturze 58 zachorowań, w których najczęstszym czynnikiem predysponującym do wystąpienia fungemii były stosowanie probiotyków zawierających szczep *S. cerevisiae* var. *bouardii* (86%) i wcześniejsza antybiotykoterapia (88%) (Ryc. 1). Najlicniejszą grupę stanowili pacjenci przyjmujący preparat Ultra-Levure (Biocodex, France) (Ryc. 2). Większość (76%) pacjentów miała założony centralny cewnik żylny. Wyższy odsetek (88%) chorych przyjmował leki przeciwbakteryjne o szerokim spektrum działania. Z kolei, 15% chorych cierpiało na niedobór odporności



Ryc. 1. Czynniki predysponujące do wystąpienia zakażeń szczepem *S. cerevisiae* var. *bouardii*

Wykres sporządzony na podstawie przypadków klinicznych zebranych w Tab. I.

Tabela I  
Przegląd przypadków zakażeń wywoływanych przez *S. cerevisiae* var. *boulaardii*

Miejsce	Wiek <sup>e</sup>	Płeć <sup>b</sup>	Diagnoza / choroba towarzysząca	Leczenie immunosupresyjne	Wcześniejsza antybiotykoterapia	Centralny ceownik żylny	Probiotyk	Lek przeciwgrzybiczy <sup>d</sup>	Wynik leczenia <sup>e</sup>	Źródło
Francja	33	M	biegunka towarzysząca antybiotykoterapii / UC	bd <sup>g</sup>	+	+	Ultra-Levure	AMB, FLU	wyleczony	[124]
Francja	14	M	biegunka / poparzenia	bd <sup>g</sup>	+	+	Ultra-Levure	AMB, FLU	wyleczony	[122]
Maroko	1	K	biegunka / zapalenie płuc	+	+	+	Perenterol	FLU	wyleczony	[97]
France	49	M	biegunka / bakteryjna infekcja płuc	+	+	+	Ultra-Levure	FLU	wyleczony	[13]
Szwajcaria	51	K	infekcja <i>C. difficile</i> / guzkowe zapalenie tętnic	+	+	+	Perenterol	AMB	wyleczony	[6]
Francja	49	M	biegunka / zapalenie płuc	bd <sup>g</sup>	+	+	Ultra-Levure	FLU	wyleczony	[46]
USA	78	K	biegunka / POChP	-	+	+	Ultra-Levure	FLU	wyleczony	[93]
Francja	30 mies.	M	żywnienie pozajelitowe / atrezja jelita cienkiego	bd <sup>g</sup>	+	+	+	AMB	wyleczony	[59]
Francja	36	M	żywnienie pozajelitowe / AIDS	-	+	+	+	FLU	wyleczony	[59]
Francja	47	M	biegunka, żywnienie pozajelitowe / rak przetyku	-	+	+	+	FLU	wyleczony	[59]
Francja	78	K	żywnienie dojelitowe / ARDS	-	+	-	+	brak	wyleczony	[59]
Włochy	8 mies.	M	zapobiegawczo / ostra białaczka szpikowa	-	+	+	Codex	AMB	wyleczony	[22]
Hiszpania	3 mies.	M	biegunka / wrodzona kardiopatia	-	+	+	Ultra-Levure	AMB	wyleczony	[94]
Hiszpania	N	K	nie podano / atrezja jelita cienkiego	-	+	+	-	AMB	wyleczony	[94]
Belgia	74	M	żywnienie dojelitowe, infekcja <i>C. difficile</i> , biegunka / krwiak podjączynówkowy	-	-	+	Perenterol	FLU	zgon	[101]
Francja	50	M	żywnienie dojelitowe / zatrzymanie akcji serca	-	+	+	+	brak	zgon	[74]
Francja	51	K	żywnienie dojelitowe / kacheksja	+	+	+	+	FLU	zgon	[74]
Francja	50	M	żywnienie dojelitowe / ARDS	-	+	+	+	FLU	wyleczony	[74]
Francja	82	K	żywnienie dojelitowe / ARDS	-	+	+	+	brak	wyleczony	[74]
Francja	75	M	żywnienie dojelitowe / ARDS	-	+	+	+	brak	wyleczony	[74]
Francja	77	M	żywnienie dojelitowe / zapalenie otrzewnej, choroba wrzodowa dwunastnicy	+	+	+	+	AMB	zgon	[74]
Francja	71	K	żywnienie dojelitowe / udar naczyniowy mózgu	+	+	+	+	brak	wyleczony	[74]
Włochy	34	M	żywnienie dojelitowe / uraz głowy i klatki piersiowej	bd <sup>g</sup>	+	+	- / - / -	FLU	wyleczony	[19]
Włochy	48	M	żywnienie dojelitowe / pęknięty tętniak	bd <sup>g</sup>	+	+	- / - / -	FLU	wyleczony	[19]
Włochy	75	K	żywnienie dojelitowe / zawał mięśnia sercowego	bd <sup>g</sup>	+	+	- / - / -	FLU	wyleczony	[19]
Włochy	3 tyg.	M	zapobiegawczo / wcześniak, choroba jelit	-	bd <sup>g</sup>	+	Ultra-Levure	AMB	wyleczony	[77]
Chile	42	K	biegunka, infekcja <i>C. difficile</i> / przeszczep nerki	+	+	bd <sup>g</sup>	Perenterol	FLU	wyleczony	[102]
Chile	41	M	biegunka, infekcja <i>C. difficile</i> / AIDS	bd <sup>g</sup>	+	bd <sup>g</sup>	Perenterol	AMB	wyleczony	[102]
Niemcy	48	M	biegunka, infekcja <i>C. difficile</i> / cukrzyca	-	+	+	+	brak	zgon	[73]
Belgia	89	K	biegunka, infekcja <i>C. difficile</i> , żywnienie dojelitowe / anoreksja	-	+	-	Perenterol	FLU	zgon	[26]
Belgia	65	M	biegunka / rak głowy i szyi, choroba jelit	-	+	+	Perenterol	AMB	wyleczony	[61]

Tabela I. C.d.

Miejsce	Wiek <sup>a</sup>	Płeć <sup>b</sup>	Diagnoza / choroba towarzysząca	Leczenie immunosupresyjne	Wcześniejsza antybiotykoterapia	Centralny cewnik żylny	Probiotyk	Lek przeciwgrzybiczy <sup>d</sup>	Wynik leczenia <sup>e</sup>	Źródło
Niemcy	19	M	zapobiegawczo / spastyczna tetraplegia	-	-	-	Perenterol	FLU, VOR	wyleczony	[15]
Hiszpania	76	K	biegunka, infekcja <i>C. difficile</i> / zapalenie mięśnia sercowego	-	+	+	Ultra-Levure	FLU	zgon	[91]
Hiszpania	72	K	biegunka, infekcja <i>C. difficile</i> / choroba serca	-	+	+	Ultra-Levure	brak	zgon	[91]
Hiszpania	74	K	biegunka, infekcja <i>C. difficile</i> / RZS	+	+	+	Ultra-Levure	FLU	zgon	[91]
Szwajcaria	66	K	nie podawano / rak gruczołowy	+	-	+	- <i>f</i>	FLU, VOR	zgon	[52]
Hiszpania	1	K	nie podawano / uraz czaszkowo-mózgowy	-	-	+	- <i>f</i>	brak	wyleczony	[37]
Francja	61	M	biegunka / rak zatok	-	+	+	Ultra-Levure	FLU, VOR	wyleczony	[96]
Grecja	56	M	biegunka, infekcja <i>C. difficile</i> / zapalenie płuc	-	+	+	Ultra-Levure	CAS	wyleczony	[76]
Dania	79	K	biegunka, żywienie pozajelitowe, infekcja <i>C. difficile</i> / RZS, IBD	-	+	+	Saccharflor	AMB	wyleczony	[117]
Francja	19	K	samodzielne wstrzyknięcie przez pacjenta / schizofrenia	-	-	+	Ultra-Levure (dożylnie)	brak	wyleczony	[28]
Turcja	80	F	biegunka / urosepsa	-	+	+	Reflor	FLU, CAS	wyleczony	[43]
Francja	31	K	wstrząs kardiogeny	-	-	+	Ultra-Levure	CAS, FLU	zgon	[40]
Indie	N	M	profilaktyka / sepsa	-	+	-	+	MICA	wyleczony	[106]
Indie	75	K	profilaktyka przeciwbiegunkowa / sepsa, kandydoza	-	+	-	+	CAS	wyleczony	[106]
Indie	37	M	biegunka	-	+	-	+	VOR, CAS	wyleczony	[106]
Indie	25	K	profilaktyka / ostre zapalenie trzustki, ostre uszkodzenie nerek	-	+	-	+	MICA, FLU	wyleczony	[106]
Indie	66	K	profilaktyka / udar mózgu	-	+	-	+	bd <sup>g</sup>	bd <sup>g</sup>	[106]
Indie	32	M	profilaktyka / guz śródpiersia, zaburzenia oddechowe	-	+	-	- <i>f</i>	CAS	wyleczony	[106]
USA	60	M	profilaktyka / infekcja MRSA, infekcja dróg moczowych	-	+	+	Florastor	FLU	wyleczony	[81]
Turcja	8	M	biegunka / zaburzenia oddechowe	-	+	+	Reflor	CAS, AMB	wyleczony	[3]
Brazylia	73	K	biegunka, infekcja <i>C. difficile</i> / glejak płata czołowego	-	+	+	Reflor	MICA	wyleczony	[1]
Portugalia	1	M	profilaktyka / niedoczynnosc tarczycy, infekcje związane z żywieniem dojelitowym	-	+	+	+	AMB	wyleczony	[105]
Turcja	88	M	biegunka / infekcja pęcherza moczowego, sepsa	-	+	+	Reflor	FLU	wyleczony	[66]
Turcja	38	K	biegunka / zapalenie płuc	-	+	+	Reflor	FLU	zgon	[66]
USA	74	M	profilaktyka / ostre zapalenie dróg żółciowych	-	+	-	+	MICA, FLU	wyleczony	[44]
Indie	3,5 mies.	M	biegunka / infekcja dróg oddechowych	-	+	-	+	AMB	wyleczony	[23]
Indie	77	K	biegunka / cukrzyca, POChP, nadciśnienie	-	+	+	+	CAS, AMB	zgon	[54]

W tabeli wymieniono przypadki odnotowane w latach 1991–2019, według kolejności publikacji.

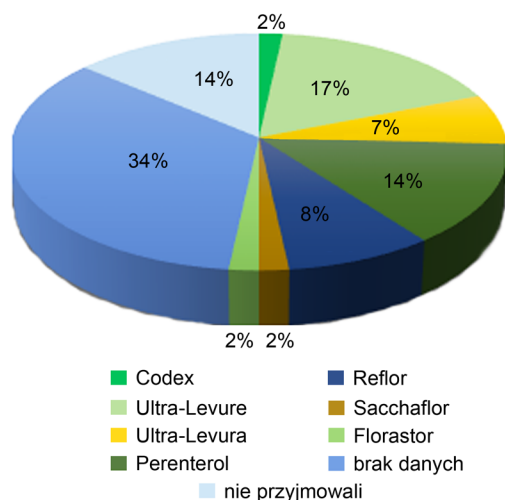
<sup>a</sup> N – noworodek; mies. – miesiąc; <sup>b</sup> K – kobieta; M – mężczyzna

<sup>c</sup> AIDS – zespół nabytego niedoboru odporności (ang. acquired immune deficiency syndrome); ARDS – zespół ostrej niewydolności oddechowej (ang. acute respiratory distress syndrome); UC – wrzodziejące zapalenie jelita grubego (ang. ulcerative colitis); IBD – choroba zapalna jelit (ang. inflammatory bowel disease); MRSA – *Staphylococcus aureus* oporny na metycylinę (ang. methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*); POChP – przewlekła obturacyjna choroba płuc; RZS – reumatoidalne zapalenie stawów

<sup>d</sup> AMB – amfoterycyna B, CAS – kaspofungina, FLU – flukonazol, MICA – mikafungina, VOR – worykonazol; <sup>e</sup> zgonu nie powiązano bezpośrednio z wystąpieniem fungemii

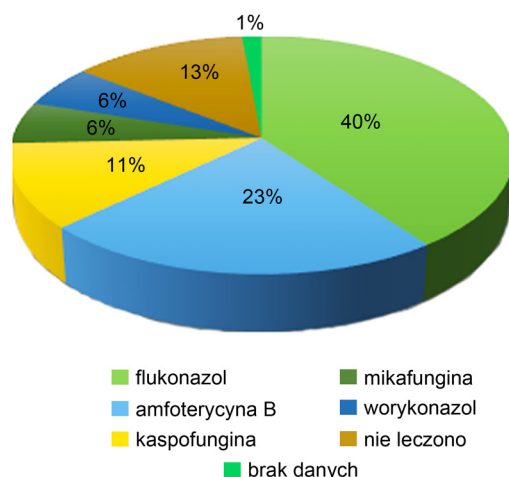
<sup>f</sup> probiotyk podawano pacjentom hospitalizowanym w sąsiednich pomieszczeniach; <sup>g</sup> bd – brak danych





Ryc. 2. Substancje probiotyczne stosowane u pacjentów, u których wystąpiło zakażenie szczepem *S. cerevisiae* var. *boulardii*

Wykres sporządzony na podstawie przypadków klinicznych zebranych w Tab. I.



Ryc. 3. Leki przeciwgrzybicze stosowane w zakażeniach szczepem *S. cerevisiae* var. *boulardii*

Wykres sporządzony na podstawie przypadków klinicznych zebranych w Tab. I.

wynikający z przyjmowania leków steroidowych lub występowania chorób autoimmunologicznych (Ryc. 1). Najczęściej stosowanymi lekami przeciwgrzybiczymi były flukonazol oraz amfoterycyna B, stosowane, odpowiednio, u 40% i 23% chorych (Ryc. 3).

## 6. Wnioski

Pacjenci hospitalizowani, w szczególności chorzy poddawani intensywnej terapii, są często narażeni na zakażenia podczas zabiegów medycznych i w przebiegu leczenia. Poza szpitalnymi szczepami bakterii, zagrożenie mogą stwarzać także drobnoustroje probiotyczne. Przyjmowane są one w wyniku zaleceń lekarskich często bez nadzoru medycznego [30, 59, 95]. Według

najnowszych doniesień, liczba zakażeń będących powikłaniami terapii probiotycznej i wywoływanych przez drożdże z rodzaju *Saccharomyces* przewyższa łączną liczbę infekcji, których czynnikiem etiologicznym są bakterie probiotyczne (*Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Bacillus* spp., *Pediococcus* spp. i *Escherichia* spp.) [30]. Zakażenia grzybicze wywoływane przez *S. cerevisiae* var. *boulardii* dotyczą głównie niemowlęta, osoby z obniżoną odpornością i w wieku powyżej 60 lat [30, 35]. Ze względu na potencjał patogenny drożdży probiotycznych, istnieje potrzeba bardziej wnikliwego badania skutków niepożądanych ich stosowania i prowadzenia szerszych badań epidemiologicznych. Shen i wsp. zalecają ostrożność w stosowaniu preparatów probiotycznych zawierających *S. cerevisiae* var. *boulardii* i podkreślają, że nie powinny być one stosowane u kobiet w ciąży, osób z zaburzeniami odporności, pacjentów kardiochirurgicznych z wszczepionymi sztucznymi zastawkami serca oraz u chorych leczonych na oddziałach intensywnej terapii [111].

Mimo, że dane kliniczne wskazują na bezpieczeństwo przyjmowania środków probiotycznych zawierających szczep *S. cerevisiae* var. *boulardii* w licznych zaburzeniach układu pokarmowego, to personel medyczny powinien zdawać sobie sprawę z potencjalnych zagrożeń wynikających z ich stosowania. Szczegółowa analiza stanu indywidualnego chorego, z naciskiem na występowanie chorób współtowarzyszących (choroby zakaźne, nowotworowe, autoimmunologiczne) i uwzględniająca wiek pacjenta, powinna poprzedzać każde zalecenie lekarskie do stosowania preparatów na bazie *S. cerevisiae* var. *boulardii*.

## Piśmiennictwo

1. Appel-da-Silva M.C., Narvaez G.A., Perez L.R.R., Drehmer L., Lewgoy J.: *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* fungemia following probiotic treatment. *Med. Mycol. Case Rep.* **18**, 15–17 (2017)
2. Ardiani A., Higgins J.P., Hodge J.W.: Vaccines based on whole recombinant *Saccharomyces cerevisiae* cells. *FEMS Yeast Res.* **10**, 1060–1069 (2010)
3. Atıcı S., Soysal A., Karadeniz Cerit K., Yılmaz Ş., Aksu B., Kıyan G., Bakır M.: Catheter-related *Saccharomyces cerevisiae* fungemia following *Saccharomyces boulardii* probiotic treatment: In a child in intensive care unit and review of the literature. *Med. Mycol. Case Rep.* **15**, 33–35 (2017)
4. Balakrishnan R., Park J., Karra K., Hitz B.C., Binkley G., Hong E.L., Sullivan J., Micklem G., Cherry J.M.: Yeast Mine—an integrated data warehouse for *Saccharomyces cerevisiae* data as a multipurpose tool-kit. *Database: the journal of biological databases and curation*, **2012**, bar062-bar062 (2012)
5. Barnett J.A.: A history of research on yeasts 10: foundations of yeast genetics. *Yeast*, **24**, 799–845 (2007)
6. Bassetti S., Frei R., Zimmerli W.: Fungemia with *Saccharomyces cerevisiae* after treatment with *Saccharomyces boulardii*. *Am. J. Med.* **105**, 71–72 (1998)

7. Berg R., Bernasconi P., Fowler D., Gautreaux M.: Inhibition of *Candida albicans* translocation from the gastrointestinal tract of mice by oral administration of *Saccharomyces boulardii*. *J. Infect. Dis.* **168**, 1314–1318 (1993)
8. Berg R.D.: Bacterial translocation from the gastrointestinal tract. *Trends Microbiol.* **3**, 149–154 (1995)
9. Bernardi T.L., de Melo Pereira G.V., Cardoso P.G., Dias E.S., Schwan R.F.: *Saccharomyces cerevisiae* strains associated with the production of cachaça: identification and characterization by traditional and molecular methods (PCR, PFGE and mtDNA-RFLP). *World J. Microb. Biot.* **24**, 2705–2712 (2008)
10. Bharadwaj P., Martins R., Macreadie I.: Yeast as a model for studying Alzheimer's disease. *FEMS Yeast Res.* **10**, 961–969 (2010)
11. Bongomin F., Gago S., Oladele R.O., Denning D.W.: Global and multi-national prevalence of fungal diseases-estimate precision. *J. Fungi (Basel)*, **3**(4), pii: E57 (2017)
12. Botstein D., Fink G.R.: Yeast: an experimental organism for 21<sup>st</sup> century biology. *Genetics*, **189**, 695–704 (2011)
13. Boucaud C., Berrada K., Bouletreau P.: Septicémie à *Saccharomyces boulardii* après administration orale d'ultra-levure. *Rean-Urgences*, 5:665 (1996)
14. Breves G., Walter C., Burmester M., Schröder B.: *In vitro* studies on the effects of *Saccharomyces boulardii* and *Bacillus cereus* var. *toyoi* on nutrient transport in pig jejunum. *J. Anim. Physiol. An. N.* **84**, 9–20 (2000)
15. Burkhardt O., Köhnlein T., Pletz M., Welte T.: *Saccharomyces boulardii* induced sepsis: successful therapy with voriconazole after treatment failure with fluconazole. *Scand. J. Infect. Dis.* **37**, 69–72 (2005)
16. Buts J.-P., Dekeyser N., Stilmant C., Delem E., Smets F., Sokal E.: *Saccharomyces boulardii* produces in rat small intestine a novel protein phosphatase that inhibits *Escherichia coli* endotoxin by dephosphorylation. *Pediatr. Res.* **60**, 24–29 (2006)
17. Buts J.P., Bernasconi P., Vaerman J.P., Dive C.: Stimulation of secretory IgA and secretory component of immunoglobulins in small intestine of rats treated with *Saccharomyces boulardii*. *Dig. Dis. Sci.* **35**, 251–256 (1990)
18. Cárdenas P.A., Garcés D., Prado-Vivar B., Flores N., Fornasini M., Cohen H., Salvador I., Cargua O., Baldeón M.E.: Effect of *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 as complementary treatment of *Helicobacter pylori* infection on gut microbiome. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* doi: 10.1007/s10096-020-03854-3 (2020)
19. Cassone M., Serra P., Mondello F., Girolamo A., Scafetti S., Pistella E., Venditti M.: Outbreak of *Saccharomyces cerevisiae* subtype *boulardii* fungemia in patients neighboring those treated with a probiotic preparation of the organism. *J. Clin. Microbiol.* **41**, 5340–5343 (2003)
20. Castagliuolo I., Valenick L., Riegler M., LaMont J.T., Pothoulakis C.: *Saccharomyces boulardii* protease inhibits *Clostridium difficile* toxin a and b-induced effects in human colonic mucosa. *Gastroenterology*, **114**, A948–A949 (1998)
21. Cavalieri D., McGovern P.E., Hartl D.L., Mortimer R., Polsinelli M.: Evidence for *S. cerevisiae* fermentation in ancient wine. *J. Mol. Evol.*, **57 Suppl 1**, S226–232 (2003)
22. Cesaro S., Chinello P., Rossi L., Zanesco L.: *Saccharomyces cerevisiae* fungemia in a neutropenic patient treated with *Saccharomyces boulardii*. *Support Care Cancer*, **8**, 504–505 (2000)
23. Chakravarty S., Parashar A., Acharyya S.: *Saccharomyces cerevisiae* sepsis following probiotic therapy in an infant. *Indian Pediatr.* **56**, 971–972 (2019)
24. Chen L., Oshima J.: Werner Syndrome. *J. Biomed. Biotechnol.* **2**, 46–54 (2002)
25. Chen X., Kokkotou E.G., Mustafa N., Bhaskar K.R., Sougioultzis S., O'Brien M., Pothoulakis C., Kelly C.P.: *Saccharomyces boulardii* Inhibits ERK1/2 mitogen-activated protein kinase activation both *in vitro* and *in vivo* and protects against *Clostridium difficile* toxin a-induced enteritis. *J. Biol. Chem.* **281**, 24449–24454 (2006)
26. Cherifi S., Robberecht J., Miendje Y.: *Saccharomyces cerevisiae* fungemia in an elderly patient with *Clostridium difficile* colitis. *Acta Clin. Belg.* **59**, 223–224 (2004)
27. Choi C.H., Jo S.Y., Park H.J., Chang S.K., Byeon J.-S., Myung S.-J.: A randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter trial of *Saccharomyces boulardii* in irritable bowel syndrome: effect on quality of life. *J. Clin. Gastroenterol.* **45**, 679–683 (2011)
28. Cohen L., Ranque S., Raoult D.: *Saccharomyces cerevisiae boulardii* transient fungemia after intravenous self-inoculation. *Med. Mycol. Case Rep.* **2**, 63–64 (2013)
29. Colak T., Ipek T., Paksoy M., Polat E., Uygun N., Kayabaşı B.: The effects of cefepim, G-CSF, and sucralfate on bacterial translocation in experimentally induced acute pancreatitis. *Surg. Today*, **31**, 502–506 (2001)
30. Costa R.L., Moreira J., Lorenzo A., Lamas C.C.: Infectious complications following probiotic ingestion: a potentially underestimated problem? A systematic review of reports and case series. *BMC Complement Altern. Med.* **18**, 329 (2018)
31. Czerucka D., Piche T., Rampal P.: Review article: yeast as probiotics – *Saccharomyces boulardii*. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **26**, 767–778 (2007)
32. Czerucka D., Roux I., Rampal P.: *Saccharomyces boulardii* inhibits secretagogue-mediated adenosine 3',5'-cyclic monophosphate induction in intestinal cells. *Gastroenterology*, **106**, 65–72 (1994)
33. Dahan S., Dalmasso G., Imbert V., Peyron J.F., Rampal P., Czerucka D.: *Saccharomyces boulardii* interferes with enterohemorrhagic *Escherichia coli*-induced signaling pathways in T84 cells. *Infect. Immun.* **71**, 766–773 (2003)
34. Dalmasso G., Cottrez F., Imbert V., Lagadec P., Peyron J.F., Rampal P., Czerucka D., Groux H., Foussat A., Brun V.: *Saccharomyces boulardii* inhibits inflammatory bowel disease by trapping T cells in mesenteric lymph nodes. *Gastroenterology*, **131**, 1812–1825 (2006)
35. Dauby N.: Risks of *Saccharomyces boulardii*-containing probiotics for the prevention of *Clostridium difficile* infection in the elderly. *Gastroenterology*, **153**, 1450–1451 (2017)
36. de Llanos R., Llopis S., Molero G., Querol A., Gil C., Fernández-Espinar M.T.: *In vivo* virulence of commercial *Saccharomyces cerevisiae* strains with pathogenicity-associated phenotypical traits. *Int. J. Food Microbiol.* **144**, 393–399 (2011)
37. de Llanos R., Querol A., Pemán J., Gobernado M., Fernández-Espinar M.T.: Food and probiotic strains from the *Saccharomyces cerevisiae* species as a possible origin of human systemic infections. *Int. J. Food Microbiol.* **110**, 286–290 (2006)
38. Domingues L., Oliveira C., Castro I., Lima N., Teixeira A.J.: Production of  $\beta$ -galactosidase from recombinant *Saccharomyces cerevisiae* grown on lactose. *J. Chem. Technol. Biot.* **79**, 809–815 (2004)
39. Edwards-Ingram L., Gitsham P., Burton N., Warhurst G., Clarke I., Hoyle D., Oliver S.G., Stateva L.: Genotypic and physiological characterization of *Saccharomyces boulardii*, the probiotic strain of *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl. Environ. Microbiol.* **73**, 2458–2467 (2007)
40. Ellouze O., Berthoud V., Mervant M., Parthiot J.P., Girard C.: Septic shock due to *Saccharomyces boulardii*. *Med. Mal. Infect.* **46**, 104–105 (2016)
41. Elmer G.W., Surawicz C.M., McFarland L.V.: Biotherapeutic agents. A neglected modality for the treatment and prevention of selected intestinal and vaginal infections. *JAMA*, **275**, 870–876 (1996)

42. Enache-Angoulvant A., Hennequin C.: Invasive *Saccharomyces* infection: a comprehensive review. *Clin. Infect. Dis.* **41**, 1559–1568 (2005)
43. Eren Z., Gurol Y., Sonmezoglu M., Eren H.S., Celik G., Kantarci G.: [*Saccharomyces cerevisiae* fungemia in an elderly patient following probiotic treatment]. *Mikrobiyol. Bul.* **48**, 351–355 (2014)
44. Fadhel M., Patel S., Liu E., Levitt M., Asif A.: Fungemia in a critically ill patient with acute cholangitis and long term probiotic use. *Med. Mycol. Case Rep.* **23**, 23–25 (2019)
45. Fietto J.L.R., Araújo R.S., Valadão F.N., Fietto L.G., Brandão R.L., Neves M.J., Gomes F.C.O., Nicoli J.R., Castro I.M.: Molecular and physiological comparisons between *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces boulardii*. *Can. J. Microbiol.* **50**, 615–621 (2004)
46. Fredenucci I., Chomarar M., Boucaud C., Flandrois J.P.: *Saccharomyces boulardii* fungemia in a patient receiving Ultra-levure therapy. *Clin. Infect. Dis.* **27**, 222–223 (1998)
47. Geyik M.F., Aldemir M., Hosoglu S., Ayaz C., Satilmis S., Buyukbayram H., Kokoglu O.F.: The effects of *Saccharomyces boulardii* on bacterial translocation in rats with obstructive jaundice. *Ann. R. Coll. Surg. Engl.* **88**, 176–180 (2006)
48. Girardin S.E., Philpott D.J. i wsp.: CARD4/Nod1 mediates NF- $\kappa$ B and JNK activation by invasive *Shigella flexneri*. *EMBO Reports*, **2**, 736–742 (2001)
49. Giusto C., Iacumin L., Comi G., Buiatti S., Manzano M.: PCR-TTGE and RAPD-PCR Techniques to analyze *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces carlsbergensis* isolated from craft beers. *J. I. Brewing*, **112**, 340–345 (2006)
50. Goffeau A., Oliver S.G. i wsp.: Life with 6000 genes. *Science*, **274**, 546, 563–547 (1996)
51. Gokhale K.C., Newnam G.P., Sherman M.Y., Chernoff Y.O.: Modulation of prion-dependent polyglutamine aggregation and toxicity by chaperone proteins in the yeast model. *J. Biol. Chem.* **280**, 22809–22818 (2005)
52. Graf C., Gavazzi G.: *Saccharomyces cerevisiae* fungemia in an immunocompromised patient not treated with *Saccharomyces boulardii* preparation. *J. Infect.* **54**, 310–311 (2007)
53. Graff S., Chaumeil J.C., Boy P., Lai-Kuen R., Charrueau C.: Influence of pH conditions on the viability of *Saccharomyces boulardii* yeast. *J. Gen. Appl. Microbiol.* **54**, 221–227 (2008)
54. Gupta P., Singh Y.P., Taneja A.: A friend or foe in ICU (A case report with solution). *Indian J. Crit. Care Med.* **23**, 430–431 (2019)
55. Guslandi M.: *Saccharomyces boulardii* plus rifaximin in mesalazine-intolerant ulcerative colitis. *J. Clin. Gastroenterol.* **44**, 385 (2010)
56. Guslandi M.: Treatment of irritable bowel syndrome with *Saccharomyces boulardii*. *J. Clin. Gastroenterol.* **45**, 740–741 (2011)
57. Hackel B.J., Huang D., Bubolz J.C., Wang X.X., Shusta E.V.: Production of soluble and active transferrin receptor-targeting single-chain antibody using *Saccharomyces cerevisiae*. *Pharm. Res.* **23**, 790–797 (2006)
58. Hayford A.E., Jespersen L.: Characterization of *Saccharomyces cerevisiae* strains from spontaneously fermented maize dough by profiles of assimilation, chromosome polymorphism, PCR and MAL genotyping. *J. Appl. Microbiol.* **86**, 284–294 (1999)
59. Hennequin C., Kauffmann-Lacroix C., Jobert A., Viard J.P., Ricour C., Jacquemin J.L., Berche P.: Possible role of catheters in *Saccharomyces boulardii* fungemia. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **19**, 16–20 (2000)
60. 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.* **39**, 551–559 (2001)
61. Henry S., D'Hondt L., André M., Holemans X., Canon J.L.: *Saccharomyces cerevisiae* fungemia in a head and neck cancer patient: a case report and review of the literature. *Acta Clin. Belg.* **59**, 220–222 (2004)
62. Herbrecht R., Nivoix Y.: *Saccharomyces cerevisiae* fungemia: an adverse effect of *Saccharomyces boulardii* probiotic administration. *Clin. Infect. Dis.* **40**, 1635–1637 (2005)
63. Hermans D., De Keyser N., Marandi S., Chae Y.H.E., Lambotte L., Buts J.-P.: *Saccharomyces boulardii* upgrades cellular adaptation following proximal enterectomy in rats. *Pediatr. Res.* **45**, 112–112 (1999)
64. Herschleb J., Ananiev G., Schwartz D.C.: Pulsed-field gel electrophoresis. *Nature Protocols*, **2**, 677–684 (2007)
65. Imre A., Rác H.V., Antunovics Z., Rádai Z., Kovács R., Lopandic K., Pócsi I., Pfliegler W.P.: A new, rapid multiplex PCR method identifies frequent probiotic origin among clinical *Saccharomyces* isolates. *Microbiol. Res.* **227**, 126298 (2019)
66. Kara I., Yildırım F., Özgen Ö., Erganiş S., Aydoğdu M., Dizbay M., Gürsel G., Kalkanci A.: *Saccharomyces cerevisiae* fungemia after probiotic treatment in an intensive care unit patient. *J. Mycol. Med.* **28**, 218–221 (2018)
67. Kazachenko K.Y.E., B. D. Kozlov, D. G.: Activities of elements of the yeast  $\alpha$ -factor precursor leader at different stages of somatropin secretion by *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl. Biochem.* **50**, 829–834 (2014)
68. Khatri I., Tomar R., Ganesan K., Prasad G.S., Subramanian S.: Complete genome sequence and comparative genomics of the probiotic yeast *Saccharomyces boulardii*. *Sci. Rep.* **7**, 371 (2017)
69. Kim M.D., Han K.C., Kang H.A., Rhee S.K., Seo J.H.: Coexpression of BiP increased antithrombotic hirudin production in recombinant *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biotechnol.* **101**, 81–87 (2003)
70. Kjeldsen T.: Yeast secretory expression of insulin precursors. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **54**, 277–286 (2000)
71. Klingberg T.D., Lesnik U., Arneborg N., Raspor P., Jespersen L.: Comparison of *Saccharomyces cerevisiae* strains of clinical and nonclinical origin by molecular typing and determination of putative virulence traits. *FEMS Yeast Res.* **8**, 631–640 (2008)
72. Kumar R., Kumar P.: Yeast-based vaccines: New perspective in vaccine development and application. *FEMS Yeast Res.* **19**, pii: foz007 (2019)
73. Lestin F., Pertschy A., Rimek D.: [Fungemia after oral treatment with *Saccharomyces boulardii* in a patient with multiple comorbidities]. *Dtsch. Med. Wochenschr.* **128**, 2531–2533 (2003)
74. Lherm T., Monet C., Nougère B., Soulier M., Larbi D., Le Gall C., Caen D., Malbrunot C.: Seven cases of fungemia with *Saccharomyces boulardii* in critically ill patients. *Intensive Care Med.* **28**, 797–801 (2002)
75. Liti G.: The fascinating and secret wild life of the budding yeast *S. cerevisiae*. *Elife*, **4**, (2015)
76. Lolis N., Veldekis D., Moraitou H., Kanavaki S., Velegraki A., Triandafyllidis C., Tasioudis C., Pefanis A., Pneumatikos I.: *Saccharomyces boulardii* fungemia in an intensive care unit patient treated with caspofungin. *Crit. Care*, **12**, 414 (2008)
77. Lungarotti M.S., Mezzetti D., Radicioni M.: Methaemoglobinemia with concurrent blood isolation of *Saccharomyces* and *Candida*. *Arch. Dis. Child Fetal Neonatal. Ed.* **88**, F446 (2003)
78. Luo J., He M., Li W., Zhang T.: Expression and secretion of alpha-amylase and glucoamylase in *Saccharomyces cerevisiae*. *Chin. J. Biotechnol.* **10**, 241–248 (1994)
79. Łukasiewicz M.: *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* – probiotic yeast. (w) Probiotics, red. Rigobelo E., IntechOpen, Londyn, Wielka Brytania (2012)

80. Martin G.S., Mannino D.M., Eaton S., Moss M.: The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N. Engl. J. Med.* **348**, 1546–1554 (2003)
81. Martin I.W., Zhang S.X. i wsp.: *Saccharomyces boulardii* probiotic-associated fungemia: questioning the safety of this preventive probiotic's use. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **87**, 286–288 (2017)
82. Martinez M.J., Roy S., Archuleta A.B., Wentzell P.D., Anna-Arriola S.S., Rodriguez A.L., Aragon A.D., Quiñones G.A., Allen C., Werner-Washburne M.: Genomic analysis of stationary-phase and exit in *Saccharomyces cerevisiae*: gene expression and identification of novel essential genes. *Mol. Biol. Cell*, **15**, 5295–5305 (2004)
83. Martins F.S., Teixeira M.M. i wsp.: Inhibition of tissue inflammation and bacterial translocation as one of the protective mechanisms of *Saccharomyces boulardii* against *Salmonella* infection in mice. *Microbes and Infection*, **15**, 270–279 (2013)
84. McAleer W.J., Buynak E.B., Maigetter R.Z., Wampler D.E., Miller W.J., Hilleman M.R.: Human hepatitis B vaccine from recombinant yeast. *Nature*, **307**, 178–180 (1984)
85. McCullough M.J., Clemons K.V., McCusker J.H., Stevens D.A.: Species identification and virulence attributes of *Saccharomyces boulardii* (*nom. inval.*). *J. Clin. Microbiol.* **36**, 2613–2617 (1998)
86. McFarland L.V.: Systematic review and meta-analysis of *Saccharomyces boulardii* in adult patients. *World J. Gastroenterol.* **16**, 2202–2222 (2010)
87. Mitterdorfer G., Mayer H.K., Kneifel W., Viernstein H.: Clustering of *Saccharomyces boulardii* strains within the species *S. cerevisiae* using molecular typing techniques. *J. Appl. Microbiol.* **93**, 521–530 (2002)
88. Molnar O., Messner R., Prillinger H., Stahl U., Slavikova E.: Genotypic identification of *Saccharomyces* species using random amplified polymorphic DNA analysis. *Syst. Appl. Microbiol.* **18**, 136–145 (1995)
89. Moriguchi K., Yamamoto S., Tanaka K., Kurata N., Suzuki K.: Trans-kingdom horizontal DNA transfer from bacteria to yeast is highly plastic due to natural polymorphisms in auxiliary nonessential recipient genes. *PLoS One*, **8**, e74590 (2013)
90. Mumy K.L., Chen X., Kelly C.P., McCormick B.A.: *Saccharomyces boulardii* interferes with *Shigella* pathogenesis by postinvasion signaling events. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* **294**, G599–609 (2008)
91. Muñoz P., Bouza E., Cuenca-Estrella M., Eiros J.M., Pérez M.J., Sánchez-Somolinos M., Rincón C., Hortal J., Peláez T.: *Saccharomyces cerevisiae* fungemia: an emerging infectious disease. *Clin. Infect. Dis.* **40**, 1625–1634 (2005)
92. Murzyn A., Krasowska A., Augustyniak D., Majkowska-Skrobek G., Łukaszewicz M., Dziadkowiec D.: The effect of *Saccharomyces boulardii* on *Candida albicans*-infected human intestinal cell lines Caco-2 and Intestin 407. *FEMS Microbiol. Lett.* **310**, 17–23 (2010)
93. Niault M., Thomas F., Prost J., Ansari F.H., Kalfon P.: Fungemia due to *Saccharomyces* species in a patient treated with enteral *Saccharomyces boulardii*. *Clin. Infect. Dis.* **28**, 930 (1999)
94. Perapoch J., Planes A.M., Querol A., López V., Martínez-Bendayán I., Tormo R., Fernández F., Peguero G., Salcedo S.: Fungemia with *Saccharomyces cerevisiae* in two newborns, only one of whom had been treated with ultra-levura. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **19**, 468–470 (2000)
95. Pérez-Torrado R., Querol A.: Opportunistic strains of *Saccharomyces cerevisiae*: A potential risk sold in food products. *Front. Microbiol.* **6**, 1522 (2015)
96. Piechno S., Seguin P., Gangneux J.P.: [*Saccharomyces boulardii* fungal sepsis: beware of the yeast]. *Can. J. Anaesth.* **54**, 245–246 (2007)
97. Pletincx M., Legein J., Vandenplas Y.: Fungemia with *Saccharomyces boulardii* in a 1-year-old girl with protracted diarrhea. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **21**, 113–115 (1995)
98. Pothoulakis C., Kelly C.P., Joshi M.A., Gao N., O'Keane C.J., Castagliuolo I., Lamont J.T.: *Saccharomyces boulardii* inhibits *Clostridium difficile* toxin A binding and enterotoxicity in rat ileum. *Gastroenterology*, **104**, 1108–1115 (1993)
99. Psomas E., Andrighetto C., Litopoulou-Tzanetaki E., Lombardi A., Tzanetakis N.: Some probiotic properties of yeast isolates from infant faeces and Feta cheese. *Int. J. Food Microbiol.* **69**, 125–133 (2001)
100. Rajkowska K., Kunicka-Styczyńska A.: Phenotypic and genotypic characterization of probiotic yeasts. *Biotechnol. Biotec. Eq.* **23**, 662–665 (2009)
101. Rijnders B.J., Van Wijngaerden E., Verwaest C., Peetermans W.E.: *Saccharomyces* fungemia complicating *Saccharomyces boulardii* treatment in a non-immunocompromised host. *Intensive Care Med.* **26**, 825 (2000)
102. Riquelme A.J., Calvo M.A., Guzmán A.M., Depix M.S., García P., Pérez C., Arrese M., Labarca J.A.: *Saccharomyces cerevisiae* fungemia after *Saccharomyces boulardii* treatment in immunocompromised patients. *J. Clin. Gastroenterol.* **36**, 41–43 (2003)
103. Robak M., Walczak E.: Niekonwencjonalne drożdże w produkcji heterologicznych białek. *Biotechnologia*, **87**, 20 (2009)
104. Rodrigues A.C., Cara D.C., Frete S.H., Cunha F.Q., Viera E.C., Nicoli J.R., Viera L.Q.: *Saccharomyces boulardii* stimulates sIgA production and the phagocytic system of gnotobiotic mice. *J. Appl. Microbiol.* **89**, 404–414 (2000)
105. Romanio M.R., Coraine L.A., Maielo V.P., Abramczyc M.L., Souza R.L., Oliveira N.F.: *Saccharomyces cerevisiae* fungemia in a pediatric patient after treatment with probiotics. *Rev. Paul. Pediatr.* **35**, 361–364 (2017)
106. Roy U., Jessani L.G., Rudramurthy S.M., Gopalakrishnan R., Dutta S., Chakravarty C., Jillwin J., Chakrabarti A.: Seven cases of *Saccharomyces* fungemia related to use of probiotics. *Mycoses*, **60**, 375–380 (2017)
107. Saegusa S., Totsuka M., Kaminogawa S., Hosoi T.: *Candida albicans* and *Saccharomyces cerevisiae* induce interleukin-8 production from intestinal epithelial-like Caco-2 cells in the presence of butyric acid. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* **41**, 227–235 (2004)
108. Salonen J.H., Richardson M.D., Gallacher K., Issakainen J., Helenius H., Lehtonen O.P., Nikoskelainen J.: Fungal colonization of haematological patients receiving cytotoxic chemotherapy: emergence of azole-resistant *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Hosp. Infect.* **45**, 293–301 (2000)
109. Sazawal S., Hiremath G., Dhingra U., Malik P., Deb S., Black R.E.: Efficacy of probiotics in prevention of acute diarrhoea: a meta-analysis of masked, randomised, placebo-controlled trials. *Lancet Infect. Dis.* **6**, 374–382 (2006)
110. Schneider S.M., Le Gall P., Girard-Pipau F., Piche T., Pompei A., Nano J.L., Hébuterne X., Rampal P.: Total artificial nutrition is associated with major changes in the fecal flora. *Eur. J. Nutr.* **39**, 248–255 (2000)
111. Shen N.T., Maw A., Tmanova L.L., Pino A., Ancy K., Crawford C.V., Simon M.S., Evans A.T.: Timely use of probiotics in hospitalized adults prevents *Clostridium difficile* infection: A systematic review with meta-regression analysis. *Gastroenterology*, **152**, 1889–1900 (2017)
112. Smith D., Metzgar D., Wills C., Fierer J.: Fatal *Saccharomyces cerevisiae* aortic graft infection. *J. Clin. Microbiol.* **40**, 2691–2692 (2002)
113. Sulik-Tyszka B., Wróblewska M. i wsp.: Experience with *Saccharomyces boulardii* probiotic in oncohaematological patients. *Probiotics Antimicrob. Proteins*, **10**, 350–355 (2018)

114. Surawicz C.M., Elmer G.W. i wsp.: The search for a better treatment for recurrent *Clostridium difficile* disease: use of high-dose vancomycin combined with *Saccharomyces boulardii*. *Clin. Infect. Dis.* **31**, 1012–1017 (2000)
115. Szajewska H., Kołodziej M., Zalewski B.M.: Systematic review with meta-analysis: *Saccharomyces boulardii* for treating acute gastroenteritis in children – a 2020 update. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **51**, 678–88 (2020)
116. Tanaka H., Kamogawa T., Aoyagi H., Kato I., Nakajima R.: Invertase production by *Saccharomyces cerevisiae* protoplasts immobilized in strontium alginate gel beads. *J. Biosci. Bioeng.* **89**, 498–500 (2000)
117. Thygesen J.B., Glerup H., Tarp B.: *Saccharomyces boulardii* fungemia caused by treatment with a probioticum. *BMJ Case Rep.* bcr0620114412 (2012)
118. Tiago F.C.P., Martins F.S., Souza E.L.S., Pimenta P.F.P., Araujo H.R.C., Castro I.M., Brandão R.L., Nicoli J.R.: Adhesion to the yeast cell surface as a mechanism for trapping pathogenic bacteria by *Saccharomyces* probiotics. *J. Med. Microbiol.* **61**, 1194–1207 (2012)
119. Topaloğlu U., Yilmazcan A., Güloğlu R., Taşcıoğlu J., Müftüoğlu T., Unalmışer S.: Hypertonic saline prevents early bacterial translocation in hemorrhagic shock. *Surg. Today*, **29**, 47–50 (1999)
120. van der Aa Kühle A., Jespersen L.: The taxonomic position of *Saccharomyces boulardii* as evaluated by sequence analysis of the D1/D2 domain of 26S rDNA, the ITS1-5.8S rDNA-ITS2 region and the mitochondrial cytochrome-c oxidase II gene. *Syst. Appl. Microbiol.* **26**, 564–571 (2003)
121. Vaughan-Martini A., Martini A.: Facts, myths and legends on the prime industrial microorganism. *J. Ind. Microbiol.* **14**, 514–522 (1995)
122. Viggiano M., Badetti C., Bernini V., Garabedian M., Manelli J.C.: [*Saccharomyces boulardii* fungemia in a patient with severe burns]. *Ann. Fr. Anesth. Reanim.* **14**, 356–358 (1995)
123. Williams J.G., Kubelik A.R., Livak K.J., Rafalski J.A., Tingey S.V.: DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.* **18**, 6531–6535 (1990)
124. Zunic P., Lacotte J., Pegoix M., Buteux G., Leroy G., Mosquet B., Moulin M.: [*Saccharomyces boulardii* fungemia. Apropos of a case]. *Therapie*, **46**, 498–499 (1991)