

مطالعه اثرات حفاظتی ساکارومایسز بولاردی بر آسیبهای کبدی ناشی از سالمونلا تیفی موریوم در رت

مجید مروتی شریف آباد^{۱*}، الهام صالحی^۱

تاریخ دریافت: ۸۸/۱۰/۱ تاریخ پذیرش: ۸۹/۹/۲۹

چکیده

سالمونلوز یکی از بیماریهای عفونی در تمام گونه‌های حیوانات است که تظاهر بالینی آن به صورت سپتی سمی یا اسهال می‌باشد. بسیاری از تحقیقات اخیر نشان می‌دهد که برخی پروبیوتیکها مانند ساکارومایسز بولاردی می‌توانند از رشد باکتریهای انتروپاتوژنیک مانند سالمونلا در شرایط آزمایشگاه جلوگیری نمایند. همچنین با کمک این مخمرها می‌توان از بروز ضایعات پاتولوژیک این باکتری در شرایط زنده و داخل بدن موجودات زنده نیز جلوگیری کرد. به این منظور ۳۰ سر موش نر خریداری شده به سه گروه A و B و C تقسیم شدند. موشهای گروه B و C هر کدام به ترتیب ۱ میلی‌لیتر محلول حاوی 10^7 و 10^8 مخمر ساکارومایسز، به مدت ۵ روزه به صورت دهانی دریافت نمودند. در حالیکه حیوانات گروه A فقط ۱ میلی‌لیتر سالین نرمال به عنوان گروه کنترل دریافت نمودند. به همه موشها در روز پنجم یک میلی‌لیتر سوسپانسیون میکروبی حاوی 10^7 باکتری سالمونلا تیفی موریوم خوراندند. در روز دهم بعد از تجویز باکتری، تمامی موشها یوتانایز شدند. نمونه‌های بافتی مناسب از کبد آنها تهیه و بررسی گردید. نتایج حاصل از بررسی هیستوپاتولوژیک کبد با استفاده از آزمون دقیق فیشر به طور توصیفی مورد بررسی قرار گرفت. نکرور کانونی در کبد ۶ موش در گروه کنترل مشاهده گردید. این در حالی بود که در گروه آزمایش هیچ ضایعه پاتولوژیک مشخصی در کبد رویت نگردید. نتایج مطالعه حاضر بیان می‌کند که ساکارومایسز بولاردی دارای اثرات حفاظتی ناشی از ضایعات سالمونلا تیفی موریوم در بدن موش‌ها می‌باشد.

واژگان کلیدی: کبد، هیستوپاتولوژی، ساکارومایسز بولاردی، سالمونلا تیفی موریوم

مقدمه

صورت ورود به دستگاه گوارش غالباً برای انسان و حیوانات بیماری‌زا هستند. سالمونلا‌ها در برخی گونه‌ها در بدو ورود، وارد فولیکول‌های لنفاوی در لوزه‌ها می‌شوند. اما در سایر گونه‌ها روده‌ها محل استقرار اصلی باکتری می‌باشد و در حقیقت ماکروفاژهای مخاطی را مورد تهاجم قرار می‌دهد. این باکتری در روده باریک، کولون، ندولهای لنفاوی و کیسه صفرا

از میان باکتری‌های روده ای دو جنس شیگلا و سالمونلا به طور ثابت بیماری‌زا می‌باشند. سالمونلاها باسیلهای گرم منفی و متحرک‌اند که ۰/۵ تا ۰/۸۲ میکرون قطر و ۱ تا ۳/۵ میکرون طول آنها است.

۱- گروه علوم پایه دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر، شوشتر-ایران
* - پست الکترونیکی نویسنده مسئول: m.morovati@iau-shoushtar.ir

دارو نیز از طریق مدفوع دفع شده و هیچ گونه باقیمانده دارویی در بدن ندارد (۱۵). این مخمر دارای اثر آنتاگونیستی علیه ارگانوسمهای بیماری‌زا نظیر *E. coli* اتروپاتوژنیک (EPE) بوده و تا ۵۰ درصد باکتریهای داخل سلولی را نیز می‌کاهد (۸). علاوه بر این مطالعات نشان می‌دهد مخمر اثر حفاظتی روی سلولهای اپیتلیوم داشته و سطح ایمنوگلوبولینهای مخاطی را افزایش می‌دهد. با توجه به این که در کشور ما سالمونلوز یکی از مشکلات دامداران می‌باشد، لذا در این مطالعه در نظر است اثرات پیشگیری کننده ساکارومایسزبولاردی از ضایعات احتمالی ایجاد شده توسط سالمونلا تیفی موریوم مورد بررسی قرار گیرد تا خواص ساکارومایسز در پیشگیری از ضایعات کبدی ناشی از سالمونلا تیفی موریوم مشخص گردد. امید است در صورت موفقیت آمیز بودن این طرح راهی برای جلوگیری از ضایعات وارده پیشنهاد شود و نیز گامی در جهت آشنایی بیشتر با پروبیوتیکها برداشته شود.

مواد و روش کار

جهت انجام آزمایش پس از تهیه موش، مخمر و باکتری، موشها به سه گروه A, B, C تقسیم شدند. گروه A به عنوان گروه کنترل و گروههای B و C دریافت کننده ساکارومایسز بولاردی بودند. برای تهیه باکتری سویه مورد نظر از مجموعه باکتریهای آزمایشگاه میکروب شناسی دانشگاه شوشتر برداشت شد. برای اطمینان بیشتر از سویه باکتری، ابتدا رنگ آمیزی گرم بر روی باکتری انجام شد و باکتری باسیلی شکل گرم منفی مشاهده شد و بعد از آن، آزمایشهای بیوشیمیایی شامل کشت در محیطهای مک کانکی، اوره، TSI و محیطهای قندی گلوکز، گالاکتوز، مالتوز، لاکتوز و ژلاتین انجام شد. نتایج به دست آمده با خواص سالمونلا تیفی موریوم همخوانی داشت. مخمر ساکارومایسز بولاردی هم در ساشه‌های ۲۵۰ میلی گرمی به صورت تجاری در بازارهای دارویی اروپا ارائه گردیده است. یک ساشه از

جایگزین می‌شود (۴) و از طریق تولید انتروتوکسین، سیتوتوکسین و اندوتوکسین تولید بیماری می‌نماید. سالمونلاهای مهاجم اثر کشنده بر روی سلولهای اپیتلیال دارند و باعث از هم گسیختگی این سلولها می‌شوند و یک پاسخ سلولی را در لامیناپروپریا القاء می‌نمایند و بعد از آن یک غشاء کاذب دیفتریک در سطح مخاط شکل می‌گیرد. ماکروفاژهای مخاطی باکتری را در سیتوپلاسم خود نگه می‌دارند. در مخاط و زیر مخاط واسکولیت و پری‌واسکولیت و ترومبوز مشاهده می‌شود (۱۸ و ۱۹). به علاوه این باکتری از طریق جریان خون باب به کبد منتقل می‌شود و در کیسه صفرا جایگزین می‌شود. همچنین با تولید سپتیمی خصوصاً در حیوانات جوان تر به بافتهای مختلف منجمله کبد راه می‌یابد و ضایعاتی را نیز در آنجا تولید می‌نماید. گرچه این ضایعات پاتوگنومونیک نیستند ولی به هر حال در عفونت سالمونلا یی در کبد دیده می‌شوند که عبارتند از نکروزهای کانونی کوچک که در حقیقت همان ندولهای پاراتیفوئیدی‌اند. به دنبال آن تجمع سلولهای التهابی دیده می‌شود که شامل هیستوسیتها و ماکروفاژها می‌باشد که در ارتباط با نکروز کبدی و یا مستقل از نکروز کبدی رخ می‌دهند. سلولهای کوپفر کبدی کاملاً برجسته و مشخص شده و سینوزئیدهای کبدی تعداد زیادی لوکوسیت را در بر می‌گیرند (۱۷). به علاوه هپاتیت حاد و التهاب کیسه صفرا از عوارض دیگر باکتری هستند. از جمله راههایی که برای کنترل بیماری مطرح است استفاده از پروبیوتیکها نظیر ساکارومایسز بولاردی است که در دو دهه اخیر توجه زیادی را به خود جلب نموده است. این مخمر به راحتی در محیطهای کشت مخمر نظیر سابارودکستروز آگار رشد می‌کند و به صورت پودر لیوفیلیزه توسط لابراتوار بایکودکس تهیه شده و در کشورهای خارجی موجود است (۶). اطلاعات فارماکوکینتیکی نشان می‌دهد که ساکارومایسز بولاردی بعد از مصرف به یک حالت پایدار رسیده و بعد از قطع

نتایج

نتایج مربوط به علائم بالینی به قرار زیر بود:

از لحاظ میزان تلفات در گروههای B و C تلفاتی بعد از مواجهه با مخمر دیده نشد. اما در گروه A دو عدد از موش‌ها بعد از مواجهه با باکتری (یکی یک روز بعد و دیگری در روز دوم بعد از مواجهه) تلف گردیدند. همچنین در موش‌هایی که سالمونلا دریافت کرده بودند تقریباً در روز دوم اسهال مشاهده شد. اما در موشهایی که مخمر دریافت کرده بودند اسهال مشاهده نشد. نتایج حاصل از مشاهده بافتی نشان می‌دهد میزان ضایعات وارده به کبد در گروه A بسیار بیشتر از گروههای B و C است. همچنان که قبلاً اشاره شد ایجاد ندولهای تیفوئیدی در کبد از جمله مهمترین ضایعات سالمونلا در این عضو می‌باشد که در اکثر مقاطع بافتی تهیه شده در گروه A این ندولها قابل مشاهده است. (شکل‌های ۱ و ۲). بر اساس این تصاویر در مناطق نکروز کانونی، سلولهای کبدی از بین رفته اند و تجمع سلولهای آماسی در ناحیه نکروزه قابل مشاهده است. از جمله ضایعات دیگر مشاهده شده در کبد، پرخونی کبد می‌باشد. (شکل ۳). بر اساس جدول شماره ۱ تجمع سلولهای آماسی در فضای پورتال در گروه A ۹ مورد، در گروه B ۴ مورد و در گروه C ۳ مورد گزارش گردید. همچنین نکروز کانونی کبد در گروه A ۶ مورد، در گروه B و C صفر مورد گزارش گردید. سپس این داده‌ها بر اساس روش آماری fisher exact test به صورت توصیفی مورد ارزیابی آماری قرار گرفت، که نتایج آن در جدول شماره ۲ آمده است. بر اساس جدول فوق، نکروز کانونی کبد بین گروه A و B و همچنین بین گروه A و C معنی‌دار می‌باشد ($P < 0/05$). تجمع سلولهای آماسی در فضای پورتال کبد بین گروه A و B معنی‌دار و همچنین بین گروه A و C معنی‌دار می‌باشد. ($P < 0/05$) ولی تجمع سلولهای آماسی در فضای پورتال کبد و نکروز کانونی کبد بین گروههای C و B غیر معنی‌دار می‌باشد. ($P > 0/05$).

مخمر در ۲۰ میلی لیتر سرم فیزیولوژی استریل حل گردید و سپس در محیط سابارو دکستروز آگار به صورت انبوه کشت داده شد. برای رشد کامل به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد. برای تهیه سوسپانسیون به میزان ۵ میلی لیتر سرم فیزیولوژی استریل به پلیت‌ها اضافه گردید و پس از حل کردن کامل، شیرابه حاصل داخل یک ارلن جمع آوری شد. به کمک لام نئوبار تعداد مخمر در هر میلی لیتر از این شیرابه غلیظ شمارش شد. تعداد مخمر در هر میلی لیتر معادل 10^8 عدد بود و چون در این تحقیق نیاز به دوزهای 10^7 و 10^8 مخمر داشتیم با رقیق سازی قسمتی از سوسپانسیون تعداد 10^7 مخمر نیز تهیه گردید. بنابراین هر میلی لیتر از سوسپانسیون مذکور حاوی این مقدار مخمر بود. به هر موش در گروه آزمایش B و C ۱ میلی لیتر از سوسپانسیون مذکور خوراندند که برای گروه B حاوی 10^7 و برای گروه C حاوی 10^8 مخمر بود. به موش‌های گروه شاهد A هم یک میلی لیتر سرم فیزیولوژی خوراندند. برای دادن سوسپانسیون به موشها میزان ۱ میلی لیتر سوسپانسیون با توجه به دوز مربوط به گروه، در پیپت کشیده و به صورت دهانی با پیپت به موش‌ها خوراندند می‌شد و با این عمل اطمینان حاصل می‌شد که میزان دوز دارو دقیقاً توسط حیوان دریافت شده است. با این روش عمل تلقیح مخمر به مدت ۵ روز انجام شد. در روز پنجم موشهای تمام گروه‌ها علاوه بر مخمر با یک دوز حاوی 10^7 عدد باکتری سالمونلا تیفی موریوم مواجه شدند. در روز دهم بعد از مواجهه باکتری، تمام موشها یوتانایز شدند. سپس مورد کالبد گشایی قرار گرفتند. در هر موش تمام کبد برداشت شد و داخل فرمالین بافر ۱۰ درصد قرار گرفت و برای تهیه مقاطع بافتی و بررسی ضایعات پاتولوژیک به آزمایشگاه هیستوپاتولوژی انتقال داده شد.

جدول ۱- مقایسه تعداد موارد مشاهده شده ضایعات کبدی در گروههای کنترل و آزمایش

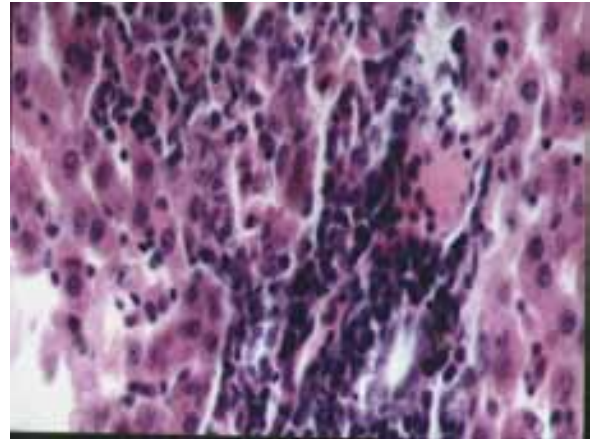
نام ضایعه	گروه	تعداد موارد مشاهده
نکروز کانونی کبد	A	۶
	B	۰
	C	۰
تجمع سلولهای آماسی در فضای پورتال کبد	A	۹
	B	۴
	C	۳

جدول ۲- مقایسه ضایعات کبد در گروههای مختلف براساس تست دقیق فیشر

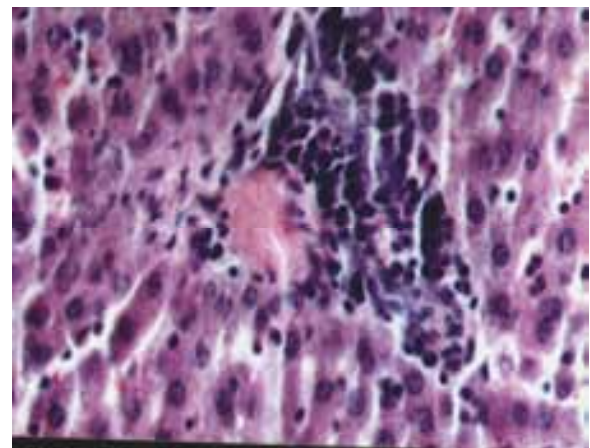
نام ضایعه	گروه	P
نکروز کانونی کبد	A-B	۰،۰۱۱
	A-C	۰،۰۱۱
	B-C	۰،۰۳
تجمع سلولهای آماسی در فضای پورتال کبد	A-B	۰،۰۲۰
	A-C	۰،۰۴۷
	B-C	۱

بحث

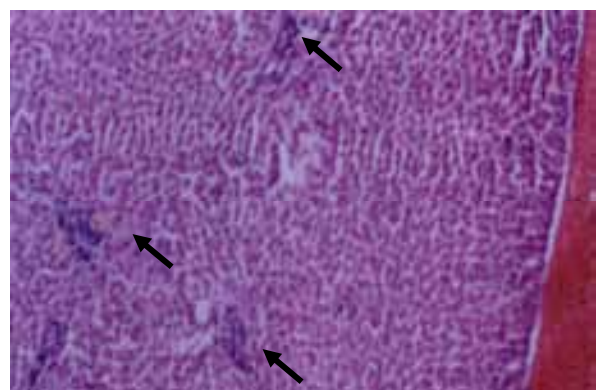
در مطالعه حاضر تجویز خوراکی مخمر ساکارومایسز بولاردی به عنوان یک پروبیوتیک به تعداد 10^7 و 10^8 عدد توانست از استقرار باکتری سالمونلا پس از عفونت تجربی به مقدار زیادی جلوگیری نماید. همچنین از بروز عفونت کلینیکی و مرگ کاست. در مورد مکانیسم عمل مخمر ساکارومایسز بولاردی در جلوگیری از عفونت سالمونلایی نظریات مختلفی بیان شده است. از جمله برخی محققین معتقدند که این مخمر به گیرنده های مانوز می چسبد. با توجه به اینکه باکتری سالمونلا تیفی موریوم برای ایجاد بیماری و تکثیر در روده به گیرنده های مانوز نیاز دارد پس مخمر بر سر گیرنده های مانوز به رقابت با باکتری پرداخته و از اتصال باکتری به این گیرنده ها و در نتیجه کلونیزه شدن باکتری می کاهد (۲). رودریگوس و ناردی (۱۹۹۶) نشان دادند که ساکارومایسز بولاردی در برابر



شکل ۱- نکروز کانونی کبد همراه با تجمع سلولهای آماسی در فضای پورتال و ناحیه نکروزه (رنگ آمیزی H&E، 480X)



شکل ۲- تجمع سلولهای آماسی تک هسته ای در فضای پورتال همراه با افزایش این سلولها در سینوزوئیدهای کبدی (رنگ آمیزی H&E، 480X)



شکل ۳- تجمع سلولهای آماسی در فضای پورتال کبد (پیکان) همراه با پر خونی کبد (رنگ آمیزی H&E، 120X)

که در گروه آزمایش به طور معناداری میزان باکتری‌های گوارشی انتقال یافته به روده باریک، کبد وطحال کاهش یافته است (۴). پرت فیلو در تعدادی رت با داروی سیکلوفسفامید تضعیف ایمنی ایجاد کرد و متعاقبا به گروهی از آنها قارچ ساکارومایسز خوراند. سپس به تمامی آنها باکتری سالمونلا تجویز کرد. میزان ضایعات تولیدی در کبد گروهی که از قارچ تغذیه کرده بودند به مراتب نسبت به گروهی که از قارچ تغذیه نکرده بودند کمتر بوده است (۱۴). اما در مورد توجیه حضور سلولهای آماسی در فضای پورتال کبد در یکی دو مورد از موشهای گروه آزمایش که در بخش نتایج به آن اشاره شد می‌توان گفت در حقیقت این حضور می‌تواند ناشی از وجود مخمر باشد. چرا که کاتانو و همکاران (۱۹۸۶) در طی تحقیقی به انسان‌هایی که داوطلبانه برای انجام آزمایش انتخاب شده بودند به مدت ۷ روز (هر روز) ۱ گرم ساکارومایسز بولاردی از طریق خوراکی دادند. بررسی سلولهای خونی، افزایش قابل توجهی را در تعداد میانگین اریتروسیتها، هموگلوبین، لوکوسیتها، نوتروفیلها، سلولهای چند هسته ای و فاگوسیتهای تک هسته‌ای در ۶۰ نفر مشخص کرد، که نشانه یک فرایند التهابی بود (۱۲). همچنین گدک (۱۹۹۹) دریافت که در محیط آزمایشگاه ساکارومایسز بولاردی به طور مستقیم سیستم کمپلمان را فعال کرده و C3b را تثبیت می‌کند و فاگوسیتوز ساکارومایسز بولاردی توسط سلولهای تک هسته ای وابسته به کمپلمان است (۹). از سوی دیگر برخی محققین معتقدند که این مخمر قادر به راه یافتن به خون می‌باشد (۱۱). به عبارت جامعتر با توجه به اینکه در کبد این موش‌ها هیچگونه ضایعه پاتولوژیک دیگری مشاهده نگردید، می‌توان گفت احتمالاً حضور سلولهای آماسی به دلیل نقش مخمر در تحریک سیستم ایمنی و ایجاد فرایندهای التهابی بوده است. از سوی دیگر احتمال وجود عفونتهای دیگر به غیر از باکتری سالمونلادر کبد که به طور همزمان روی داده نیز بعید نمی‌باشد.

آلودگی تجربی موش با سالمونلا تیفی موریوم به طریقه خوراکی نقش محافظتی ایفا می‌نماید. وی معتقد بود که این حفاظت به دلیل کاهش جمعیت باکتریایی روده نبوده، بلکه مخمر در حقیقت از اتصال باکتری به جایگاههای هدف خود جلوگیری به عمل می‌آورد (۱۶). مک کولاف (۱۹۹۸) نقش حفاظتی مخمر را چنین توجیه کرد که در حقیقت این مخمر، به عنوان آنتاگونیستی در برابر ترکیبات تولیدی حاصل از باکتری عمل می‌نماید و در نتیجه در مهار یا مرگ باکتری ایفای نقش می‌کند (۱۳). کیرولو (۲۰۰۲) بیان کرد که این مخمر باعث تقویت ایمنی میزبان می‌گردد (۱۰).

براندو (۱۹۹۸) نشان داد که در حقیقت این مخمر باعث مهار فعالیت توکسین‌های ناشی از باکتری می‌گردد (۵). در مورد علائم بالینی، همچنان که در بخش نتایج ذکر شد در گروه کنترل علاوه بر اینکه دو عدد از موشها بعد از دریافت باکتری تلف شدند، تمامی آنها دو روز بعد از دریافت باکتری دچار اسهال شدند. اما در گروه آزمایش چنین یافته ای مشاهده نشد. که این خود موید اثرات محافظتی مخمر در جلوگیری از عفونت سالمونلایی می‌باشد. چنانکه کریستین (۱۹۹۸) نشان داد ساکارومایسز بولاردی در پیشگیری و درمان سندرمهای اسهال وابسته به مصرف آنتی‌بیوتیک می‌تواند بسیار مفید باشد (۷).

همچنین تجربه حاضر نشان داد که مخمر در جلوگیری از ضایعات کبدی می‌تواند مفید واقع شود، به نحوی که نکرز کانونی کبد و تجمع سلولهای آماسی در فضای پورتال کبد در گروه کنترل به طور معنی‌داری بیشتر از گروههای آزمایش بود. با توجه به تحقیقات محققین مختلف در مورد مکانیزم‌های گوناگون دفاعی مخمر که در بالا به آن اشاره شد چنین یافته‌هایی دور از انتظار نمی‌باشد. چنانکه آلدمیر (Aldemir) در سال ۲۰۰۲ گروهی رت را به صورت تجربی به باکتری گوارشی آلوده کرد و گروهی را به عنوان شاهد اتخاذ کرد و به هر دو گروه ساکارو مایسز خوراند و دریافت

سالمونلا تیفی موریوم پیشنهاد می گردد اثرات درمانی آن در مورد عوامل عفونی دیگر نیز در تحقیقات بعدی مورد ارزیابی قرار گیرد تا در صورت موفقیت آمیز بودن راهی برای جلوگیری از خسارات وارده پیشنهاد گردد، شاید گامی در جهت آشنایی بیشتر با پروبیوتیکها برداشته شود.

منابع

- ۱- زهرایی صالحی، ت. (۱۳۷۸): پاتوزنز سالمونلاها، چاپ اول، انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، صفحه ۴۰-۳۰
- ۲- فولر، ر. (۱۳۸۰): پروبیوتیکها و کاربرد آنها در تغذیه دام و طیور، چاپ اول، انتشارات نور بخش، صفحه ۵۰-۴۷
- ۳- مرجانیان، ر. (۱۳۸۲): بررسی تاثیر ساکارومایسز بولاردی در پیشگیری از عفونت تجربی ناشی از سالمونلا تیفی موریوم در رت به عنوان مدل تجربی، پایان نامه جهت دریافت دکتری عمومی دامپزشکی، شماره ۲۳، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد، صفحه ۱۰۰-۹۵.
- 4- Aldemir, M. (2002): Effect of octreotide acetate and *Saccharomyces boulardii* on bacterial translocation in an intestinal loop obstruction model of rats. *Tohoku J Exp Med.* 198:1-9.
- 5- Brandao, R. L. Castro, I. M, (1998): Intracellular signal triggered by cholera toxin in *Saccharomyces boulardii* and *Saccharomyces cerevisiae*, *Applied and environmental microbiology.* 64:564-568.
- 6- Buts, J. P, Dekeyser. N, (1999): *Saccharomyces boulardii* upgrade cellular adaptation after proximal enterectomy in rats. *International Journal of immunopharmacology.* 45,1:89-96.

در مورد مقایسه نتایج هیستوپاتولوژیک گروههای آزمایش B و C با استفاده از تست دقیق فیشر مشخص شد که اختلاف معنی داری بین دو گروه وجود ندارد و این یافته حاکی از این است که احتمالاً 10^8 مخمر با 10^7 مخمر در جلوگیری از ضایعات پاتولوژیک اختلاف چندانی ندارند. به عبارت جامع تر 10^7 مخمر نیز قادر به محافظت از سلولهای کبدی بوده است و اما اینکه حداقل مقدار محافظت کننده مخمر چه میزان می باشد نیاز به بررسی های بیشتری دارد. با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق و تحقیقات دیگر، تاثیر مخمر در جلوگیری از ضایعات کبدی محرز است. که احتمالاً دلیل اصلی این اثر حفاظتی، مربوط به نقش مخمر در تحریک سیستم ایمنی است. چنانکه روی فولر معتقد است ساکارومایسز بولاردی با عامل بیماری زا همراه شده و سیستم ایمنی را با قدرت بیشتری تحریک می کند و در حقیقت به عنوان یک ادجوانت عمل می نماید که در این رابطه می توان به گلوکان اشاره نمود، که نوعی پلی گلیکان در دیواره سلولی ساکارومایسز بولاردی است و فعالیت و تزاید ماکروفاژها را افزایش می دهد. و البته نظریاتی هم در مورد افزایش نوتروفیلها در اثر گلوکان وجود دارد (۲).

باتزوکیسر (۱۹۹۴) پی بردند که بعد از خوراندن ساکارومایسز بولاردی به گروهی رت افزایشی در میزان ترشح IgA و همچنین گیرنده های ایمونوگلوبولین های پلی مریک در مایع روده و ناحیه مخاطی روده قابل مشاهده است (۶). مرجانیان نیز در سال ۱۳۸۲ با خوراندن ساکارومایسز بولاردی به گروهی رت که قبلاً در مجاورت سالمونلا تیفی موریوم قرار گرفته بودند نشان داد میزان دفع باکتری از طریق مدفوع در این گروه به طور معناداری کاهش یافته است. وی دلیل این امر را چنین توجیه کرد که احتمالاً این مخمر می تواند باعث تحریک سیستم ایمنی هومورال گردد و سطح آنتی بادی ها را افزایش دهد (۳). در پایان با توجه به اثرات مفید مخمر در پیشگیری از ضایعات ناشی از

- 7- Christine, M.S, (1998): Prevention of antibiotic associated diarrhea by *Saccharomyces boulardii*. *Gastrology*. 96:981-988.
- 8- Ciaran, P., Kelly, M. (1993): *Saccharomyces boulardii* inhibits closteredium dificile toxin a binding and entertoxicity. *Gastroentology*. 104:1108-1115.
- 9- GedekB, R, (1999): Adherence of *Escherichia coli* serogroup O 157 and *Salmonella typhimurium* mutant DT 104 O to the surface of *Saccharomyces boulardii*, *Mycoses* .42:261-264.
- 10- Kirolov, D. A, Peronova. N. B, (2002): Modifying action of *Saccharomyces boulardii* on the biological properties of enterobacteria, *Zh Microbiol Epidemiol Immunobiol*.4:57-59.
- 11- Macfarland, L. v, Bernasconis, P. (1993): *Saccharomyces boulardii* a review of an innovative biotherapeutic agent, *Microbial ecology in health and disease*.6 :157-171.
- 12- Machado, Caetano. J. A, Parames. M. T. (1986): immnopharmacological effect of *Saccharomyces boulardii* in healthy volunteers. *International Journal of immunopharmacology*. 8: 245-249.
- 13- McCullough, M.J. (1998): Species identification and violence attributes of *Saccharomyces boulardii*, *Journal of clinical microbiology*.36 :2613-2617 .
- 14- Peret, F. M. (1998): Dose effect of oral *Saccharomyces boulardii* treatment on morbidity and mortality in immunosuppressed mice, *J med microbial*. 47:111-116.
- 15- Rigother, M. C, Maccario. J. (1989): Effects of *Saccharomyces boulardii* yeast on trophozoites of *entamoeba histolytica* invitro and cecal amibiasis in the young rat, *Hum.comp*. 65: 51-60.
- 16- Rodrigues, A. C., Nardi. R. M. (1996): Effect of *S.boulardii* against experimental oral infection with *Salmonella typhimurium* and shigella flexneri in conventional and gnotobiotic mice, *J APPL Bacterial*. 81:251-256.
- 17- Thomas, c.,Ronald.D. (1997): *Veterinary pathology*, first.ed, Williams and Wilkings. :227-240.
- 18- William, C. (1995):Thomson[^] special *Veterinary Pathology*, 2nd edition, Mosby company, :257-268.