بررسی تأثیر پروبیوتیک بومی ایران بر درمافیتوزیس ناشی از میکروسپروم کانیس در رت نر نژاد ویستار در شرایط آزمایشگاه

نیره اکبری فاضلی*

دانشجوی دکتری، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۶/۱۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۸/۱۵)

چکیده

پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌هایی زنده هستند که اثرات مفیدی بر میزبان اعمال کرده و غالباً به صورت مکمل‌های غذایی یا دارویی استفاده میشوند. امروزه تولید محصولات پروبیوتیک وسعت جهانی یافته و از خصوصیات عملکردی این میکروارگانیسم ها تقویت سیستم ایمنی، کاهش کلسترول سرمی، کاهش عفونت‌های گوارشی، کاهش احتمال ابتلا به سرطان، کاهش آلرژی‌های پوستی و غیره است. بیماری های قارچی جلدی عفونت هایی هستند که در اثر حمله گونه های مختلف درماتوفیت ها به اپیدرم پوست انسان یا حیوان ایجاد می گردد و به نسوج کراتین دار پوست و ضمایم آن حمله کرده که باعث ایجاد عفونت هایی با علائم بالینی خفیف یا شدید می گردند.دراین تحقیق با استفاده از روش های هیستوپاتولوژی وبررسی عملکرد پروبیوتیک ها بر روی قارچ میکروسپروم کانیس،تاثیر پذیری آن ها مورد بررسی قرار گرفت.برای انجام این آزمون ابتدا پروبیوتیک مناسب را در شرایط آزمایشگاهی انتخاب و در ادامه ۴۰ رت نر نژاد ویستار با وزن و سن یکسان در شرایط استاندارد آزمایشگاه به صورت تصادفی به ۵ گروه کنترل مثبت، منفی و ۳ گروه آزمون تقسیم شد،که روند درمان آن ها در بعد از ایجاد آلودگی،بصورت خوراکی(گاواژ) و پماد پس از رسیدن به نهایت آلودگی بررسی گردید،که سویه های زنده پروبیوتیک مقاومت سلولهای اپیتلیالی را افزایش می دهند، فسفوریلاسیون پروتئین های سیتواسکلتون واتصالات محکم در سلول های HT-29 و Caco-2 را تسهیل می کنند. همچنین متابولیت های پروبیوتیک ها رگزایی را القاء می کنند و باعث انباشت پروتئوگلیکان ها می شوند و زخم را ترمیم می کنند، پروبیوتیک ها مکانیزم ضد میکروبی شامل ترشح پپتیدهای ضدمیکروبی، مهار هجوم باکتری ها و مهار چسبندگی باکتری های پاتوژن به سلول های اپیتلیالی دارندکه مانع ایجاد عفونت در زخم می گردند که نتیجه آن تاثیر مثبت پروبیوتیک ها بر روی قارچ میکروسپوروم کانیس بوده است.

کلیدواژگان

پروبیوتیک، درمافیتوزیس، میکروسپوروم کانیس.

* نویسنده مسئول، رایانامه: n.fazeli70@yahoo.com

مقدمه

درماتوفیتوز، کچلی یا قارچ پوستی یک بیماری شایع پوستی در سگ و گربه و انسان است که به وسیله قارچهایی به نام درماتوفیت به وجود می‌آیند. مو و ناخن نیز ازکراتین تشکیل شده‌اند به همین دلیل قارچهای درماتوفیتی می‌توانند پوست، موو پنجه‌های حیوان یا انسان را آلوده کنند(جیلی وهمکاران[1]، ۱۹۸۴).سه نوع قارچ درماتوفیتی شایع در سگ و گربه به نامهای میکروسپوروم کانیس میکروسپوروم ژیپسیوم و تریکوفیتون منتاگروفایتیس وجود دارند. نوع اول معمولاً از یک حیوان به حیوان دیگر انتقال پیدا می‌کند، نوع دوم از طریق خاک به حیوانات سرایت کرده و سومی از طریق جوندگان مثل موش به حیوان انتقال پیدا می‌کند.درماتوفیت‌ها باعث سست شدن موها شده به طوری که به راحتی موها ریزش پیدا کرده واین ریزش مو باعث ایجاد حالت کچلی معمولا گرد یا سکه مانند در ان ناحیه می‌شود.اصطلاح پروبیوتیک که ریشه لاتین دارد به معنی «برای زندگی[2]» است و سازمان جهانی بهداشت، این اصطلاح را به «ارگانیسم‌های زنده‌ای» اطلاق می‌کنند که در صورت مصرف به میزان لازم، اثرات «سلامت‌زایی» موثری برای میزبان خود دارند. مطالعات نشان می‌دهد که مصرف پروبیوتیک‌ها از ابتلا به حساسیت‌های پوستی و غذایی در اطفال، برخی عفونت‌های باکتریایی، زایمان زودرس، بیماری التهابی روده، عفونت‌های رایج مثانه و گوش، خرابی دندان‌ها، اسهال مزمن و اسهال مسافرتی جلوگیری می‌کند. حتی معلوم شده این باکتری‌ها باعث کاهش میزان کلسترول خون شده و با کاهش مواد سرطان‌زا، از بعضی سرطان‌های خاص هم جلوگیری می‌کنند. این باکتری‌ها می‌توانند با استقرار در محیط روده تعادل میکروبی را در جهت افزایش سودمندی آن‌ها اصلاح کنندو با فعالیت خود مانع از فعالیت میکروارگانیسم‌های غیر مفید و بیماری‌زا می‌گردند. همچنین این باکتری‌ها در روده به صورت رابطه همسفرگی زندگی می‌کنند (استنتون وهمکاران[3]، ۲۰۰۱). هدف اصلی پژوهش تعیین روش مناسب مصرف باکتری پروبیوتیک برای درمان درماتوفیتوزیس به صورت خوراکی یاپماد می باشد.

مواد وروش ها

تهیه ی باکتری های پرو بیوتیک

آماده سازی پروبیوتیک ها وقرارگرفتن دراختیارنمونه ها:برای این منظور ابتدا باکتری‌های پروبیوتیک بومی ایران با توانایی تولید ترکیبات ضد میکروبی از شرکت تک ژن به صورت پودر لیوفیلیزه تهیه شد. ۳۰ نوع نمونه پروبیوتیک با نام های اختصاری زیر تهیه گردید ودر محیط MRS[4] هریک در یکی از لوله ها تلقیح گردید؛ لوله ها را در انکوباتور ۳۷ درجه گذاشته و دو روز به آن اجازه داده شد تا کاملا رشد نماید کدورت ایجادی نشانه رشد بود.

تهیه ی کشت تازه: ابتدا محیط کشت SCC (سابروز کلرامفنیکل سیکلوهگزامید) ساخته شد و *قارچ میکروسپوروم کانیس* دریافتی از مرکز تحقیقات صنعتی ایران را برروی محیط کشت ساخته شده کشت داده شد. ۷ تا ۱۰ روز زمان نیاز بود تا در دمای ۲۶-۲۸ درجه قارچ ما به نهایت رشد خود برسد. باید از قارچ های رشد یافته لام تهیه نمود تا تاییدی بر صحت نمونه قارچی مورد استفاده باشد. برای تهیه سوسپانسیون قارچی از اسپور قارچ های رشد یافته تراشیده و درون سرم فیزئولوژی حل نمودیم در طول موج ۶۴۰ نانومتر اندازه گیری نمودیم که میزان

1. Gillil,etal
2. For life
3. Stanton, Gardiner et al
4. Man rogosa sharpe agar

مشاهده شده بین ۰/۱- ۰/۰۸ بود در این حالت در ۱ میلی لیتر از سوسپانسیون سلول قارچ خواهد بود.

تعیین حداقل غلظت مهاری (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MFC): جهت انجام آزمایشات کمی برای تعیین (MIC)[1] و(MFC)[2] از پروبیوتیک ها رقت های۱۰-۰/۱ درصد درمحیط سابرودکستروز براث تهیه گردید. سپس به هرکدام از رقت ها ۱۰۰ لاندا قارچ فعال اضافه گردید. درکنارلوله ها ازکنترل مثبت (محیط کشت حاوی قارچ) وکنترل منفی (محیط کشت بدون قارچ) استفاده گردید. درنهایت لوله ها به مدت ۴۸ ساعت در ۲۵ درجه سانتیگراد انکوبه وسپس نتایج قرائت گردیدواز تمام لوله های بدون کدورت بر روی محیط سابرودکستروز آگار کشت داده شد. پس از گذشت ۴۸ساعت انکوباسیون در ۲۵درجه سانتیگراد آخرین رقتی از عصاره ها که قادر به مرگ ۹۹ ٪ درصد از قارچ های زنده اولیه بود به عنوان MFC درنظرگرفته شد.

مرحله Invitro تاثیر پروبیوتیک بر میکروسپوروم کانیس وایجادضایعه

پس از یافتن پروبیوتیک مناسب و اطمینان از این موضوع که پروبیوتیک ها بر قارچ میکروسپوروم کانیس موثر می باشند ابتدا موهای روی سر رت ها را تراشیده شد در ادامه توسط یک پارچه زبر در سطح منطقه فوق خراش ایجاد و قارچ میکروسپوروم *کانیس* به میزان 10^8 cfu/ml در منطقه مورد نظر تلقیح شد.برای آلوده نمودن سوسپانسیون قارچی را با اوسرین (پایه پماد با عدم عوارض جانبی) ترکیب نموده و بر روی محل تراشیده شده مالش داده و روی آن را به مدت ۴۸ ساعت پوشاندیم پس از یک هفته اولین علائم آلودگی نمایان شد که پس از آن در زمان های مختلف شامل شروع کار و هفته های اول، دوم، سوم و چهارم وسعت زخم ها در گروه های مختلف اندازه گیری شد.

شروع درمان: رت ها به صورت تصادفی به ۵ گروه تقسیم شدند.گروه کنترل منفی که درآن ها فقط قارچ بیماری زا تلقیح شده ولی درمانی صورت نگرفت.گروه کنترل مثبت که درآن پس از ایجاد عارضه بیماری،درمان با آنتی بیوتیک بتامتازون پایه پماد (اوسرین) صورت گرفت. رت های گروه تجربی ۱ بلافاصله پس از تلقیح سوسپانسیون قارچ میکروسپروم کانیس توسط پروبیوتیک ها ی ترکیب شده با پماد اوسرین به صورت پماد بر روی سطح ضایعه روزانه مالیده شده است،همچنین رت های گروه تجربی ۲ نیز پس از بروز عارضه که حداقل ۷ روز به طول انجامید توسط پماد تهیه شده ی پروبیوتیک ها دوره ی درمان را طی نمودند.گروه تجربی ۳ نیز پس از تلقیح قارچ مذکور وایجاد عارضه ی پوستی توسط پروبیوتیک به مدت۲۱ روز با ۱میلی لیتر سوسپانسیون باکتری به صورت درون معدی گاواژ شدند.

روش تولید و استفاده از پماد پروبیوتیک: ۰/۱ گرم از پروبیوتیک مصرفی را در یک گرم پایه پماد (اوسرین) ترکیب نموده و روزی یکبار به محل عارضه مالیده شد.

کشتن رت ها و تهیه بافت از آن ها: در پایان مرحله رسیدن به نهایت آلودگی نمونه ها ودر پایان درمان توسط پروبیوتیک رت ها توسط کلروفوم کشته شدند و از محل ایجاد عارضه بافت جدا شده و آن را برای ادامه کار که شامل تهیه لام و رنگ نمودن به روش هماتوکسیلین وائوزین بود درون فرمالین نگهداری شد. روش مورد مطالعه روش هیستوپاتولوژی می باشد.

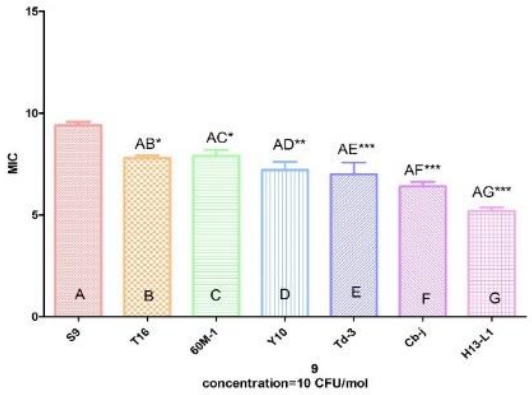
1. Minimum inihibitory concentration
2. Minimum fungicidal concentration

یافته ها

مرحله Invivo تحقیق

جدول ۱- مقایسه هاله عدم رشد قارچ میکروسپوروم کانیس در برابر پروبیوتیک های موثر

ردیف	نام پروبیوتیک	میانگین قطر هاله	(mg/ml) MIC	MFC (mg/ml)
۱	S9	8/5mm	2/9	4/9
۲	T16	6mm	5/7	8/7
۳	60M-1	6mm	7/7	9/7
۴	Y10	5/6mm	9/6	2/7
۵	Y2 F3	5mm	7/6	7
۶	Cb-j	5mm/4	2/6	4/6
۷	H13-L1	3mm	8/4	2/5



شکل ۱- مقایسه حداقل غلظت ممانعت کنندگی از رشد (MIC) ایجاد شده توسط سوش های مختلف پروبیوتیک در غلظت 10^8 cfu/mol

نتایج مرحله Invitro

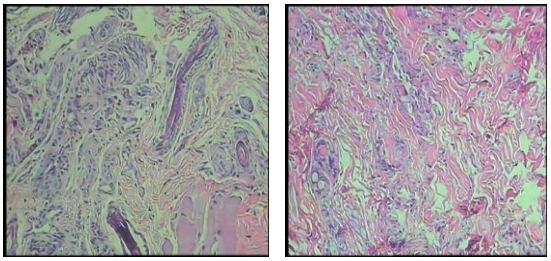
جدول ۲- میانگین وسعت زخم ایجاد شده در گروه های مختلف طی زمان های مختلف

گروه ها	شروع کار	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم
۱-کنترل منفی	1/5 cm	1/5 cm	1/5 cm	1/5 cm	1/5 cm
۲-کنترل مثبت	1/5 cm	1/3 cm	1/0 cm	0/7 cm	0/15 cm
۳-گروه تجربی ۱	1/5 cm	1/2 cm	0/9 cm	0/4 cm	0/04 cm
۴-گروه تجربی۲	1/5 cm	1/2 cm	0/7 cm	0/1 cm	0/0 cm
۵-گروه تجربی۳	1/5 cm	1/3 cm	0/92 cm	0/5 cm	0/15 cm

اسلاید های تهیه شده از بافت ها

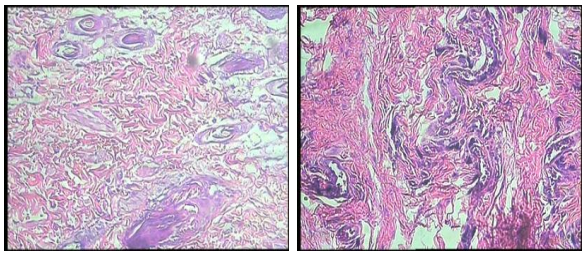
در راستای تایید نتایج حاصل از تحقیق در سه مرحله از رت ها بافت تهیه شد که نتایج آن به شرح زیر می باشد:

سری اول: رت های آلوده (پس از سه هفته و رسیدن به اوج آلودگی):بررسی لام تهیه شده از برش پوستی در سری دوم رت ها که مشتمل بر اپیدرم، درم و فولیکول های مو بود؛ نشان دهنده آثاری از جای زخم، تشکیل بافت گرانوله و نفوذ سلول های التهابی می باشد. این لام که به روش H & E (هماتوکسیلین وائوزین) رنگ آمیزی شده بود نشان داد که آلودگی با قارچ *میکروسپوروم کانیس* به درستی صورت پذیرفته و عناصر قارچی در اپیدرم یا فولیکول های مو دیده شد.



شکل ۲- لام های تهیه شده از برش پوستی رت های آلوده

سری دوم: رت های درمان شده (پس از چهار هفته درمان):بررسی لام تهیه شده از برش پوستی که مشتمل بر اپیدرم، درم و فولیکول های مو بود؛ نشان دهنده عدم آثاری از جای زخم، بدون حضور نوتروفیل هایی با هسته های چند شکل در استراتوم کورنیوم، بدون تشکیل بافت گرانوله و هیچ ویزیکول یا فولیکولی و یا نفوذ سلول های التهابی می باشد.



شکل ۳- لام های تهیه شده از برش پوستی رت های درمان شده

بحث

امروزه همگام با پیشرفت علم و کشف داروهایی موثرتر در درمان بیماری ها، نیاز به دارویی که توسط آن بتوان روند ترمیم زخم پوستی را نیز سرعت بخشید بسیار مورد توجه می باشد که درمافیتوزیس و زخم های پوستی حاصل از عفونت های قارچی از موارد مورد توجه بوده و هست. سویه های زنده پروبیوتیک مقاومت سلولهای اپیتلیالی را افزایش می دهند، فسفوریلاسیون پروتئین های سیتواسکلتون واتصالات محکم در سلول های HT-29 و Caco-2 را تسهیل می کنند. همچنین متابولیت های پروبیوتیک ها رگزایی را القاء می کنند و باعث انباشت پروتئوگلیکان ها می شوند و زخم را ترمیم می کنند که با نتایج ما همخوانی دارد.

پروبیوتیک ها مکانیزم ضد میکروبی شامل ترشح پپتیدهای ضد میکروبی، مهار هجوم باکتری ها و مهار چسبندگی باکتری های پاتوژن به سلول های اپیتلیالی دارندکه مانع ایجاد عفونت در زخم می گردند.(ساسی هاران[1]، ۲۰۱۰).

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد مقایسه قطر هاله عدم رشد ایجاد شده توسط سوش های مختلف پروبیوتیک در غلظت 10^8 cfu/mol، بزرگترین هاله عدم رشد ایجاد شده در اثر سویه S9 ایجاد شده و همچنین مقایسه حداقل غلظت ممانعت کنندگی از رشد (MIC) ایجاد شده توسط سوش های مختلف پروبیوتیک در غلظت 10^8 cfu/mol نشان می دهد بالاترین MFC بدست آمده در اثر سویه S9 ایجاد شده است. مقایسه حداقل غلظت کشندگی (MFC) ایجاد شده توسط سوش های مختلف پروبیوتیک در غلظت 10^8cfu/mol حاصله نشان می دهد بالاترین MFC بدست آمده در اثر سویه S9 ایجاد شده است.

بنابراین پس از انجام محاسبات آماری سویه S9 مناسب ترین و موثرترین پروبیوتیک شناخته شد که برای مراحل بعدی تحقیق مورد استفاده واقع گردید.مقایسه اندازه زخم در گروه های مختلف در ابتدای شروع آزمایش نشان داد که در اندازه زخم ها و با روند بهبود و کاهش اندازه زخم ها تفاوت معنی داری دیده نمی شود. مقایسه اندازه زخم در گروه های مختلف در پایان هفته اول آزمایش نشان داد در اندازه زخم ها و یا روند بهبود و کاهش اندازه زخم ها تفاوت معنی داری دیده نمی شود یا به عبارت دیگر درمان در پایان هفته اول نتایج موثری نداشته است. مقایسه اندازه زخم در گروه های مختلف در پایان هفته دوم نشان داد که تنها در گروه چهارم کاهش معنی دار اندازه زخم ایجاد شده با گروه کنترل مشاهده شد. مقایسه اندازه زخم در گروه های مختلف در پایان هفته سوم نشان داد که در کلیه گروه ها نسبت به گروه کنترل کاهش معنی دار اندازه زخم مشاهده می شود. مقایسه اندازه زخم در گروه های مختلف در پایان هفته چهارم نشان داد که در کلیه گروه ها نسبت به گروه کنترل کاهش معنی دار اندازه زخم ایجاد شده مشاهده شد.اثرات مفید پروبیوتیک ها که باکتری های مقیم در لوله گوارش هستند، بر ترمیم زخم های گوارشی به اثبات رسیده است و تحقیقات اندکی بر روی اثر بخش بودن این باکتری ها بر ترمیم زخم های پوستی صورت گرفته است (زارعی وهمکاران[2]، ۲۰۰۶). پروبیوتیک ها، میکروارگانیسم های موجود در دستگاه گوارش هستند که از خصوصیات عملکردی آن ها می توان به تقویت سیستم ایمنی،کاهش کلسترول سرمی، کاهش عفونت های گوارشی و اسهال های مزمن و مسافرتی اشاره کردکه با نتایج این تحقیق مطابقت دارد(سلمین وهمکاران[3]، ۲۰۰۸).میزان تولید اگزوپلی ساکارید در باکتری های پروبیوتیک اهمیت بسیار زیادی دارد، برخی از این باکتری ها اگزوپلی ساکارید فراوانی ترشح

1. Sasidharan et al

2. Zareie et al
3. Salminen et al

می کنند که ممکن است از طریق ایجاد چسبندگی و نیز ایجاد بستر و زمینه برای حرکت سلول های اپیتلیال موجب التیام و بسته شدن سریع تر زخم گردد(لاو وهمکاران[1]،۲۰۰۶). که با نتایج این پژوهش مشابه است.در زمستان ۸۲ دکتروجدانی و دکتر زالی در تهران پروبیوتیک ها و مکانیسم اثر انها را در پیشگیری و درمان بیماری های انسان بررسی کردند و نشان دادند که پروبیوتیک ها با تولید ترکیبات مهار کننده باکتری ها و تعدیل PH روده و تقویت سیستم ایمنی و... اثر خود را القا می کنند. (وجدانی ر, ۱۳۸۲) مطالعات انجام گرفته بر روی باکتری های پروبیوتیک حاکی از این است که شیر حاوی *Lactobacillus plantarum* فعالیت ترمیمی بالایی نسبت به زخم معده حاد ناشی از اسید استیک در موش های صحرایی دارد.(ابوطالبی، ف. ۱۳۸۹) همچنین بررسی انجام گرفته بر روی باکتری پروبیوتیک *Lactobacillus gasseri* نیز حاکی از این است که این باکتری فعالیت محافظتی بر ضد زخم معده حاد ناشی از اسید استیک در موش های صحرایی دارد (چیدا[2]،۲۰۰۴). که با نتایج این تحقیق تشابه دارد.

غنی سازی با سویه های *Lactobacillus acidophilus* و *Bifidobacterium adolescentis* مانع از تشکیل زخم های روده شده است (حاگی وارا[3]،۲۰۰۵)یافته های بدست آمده از *Lactobacillus casei* حاکی از این است که این باکتری می تواند درمان جایگزین یا مخلوط با باکتری های که در مطالعات قبلی اثر ترمیمی شان به اثبات رسیده کمکی در درمان زخم معده وزخم های ایجاد شده در پوست باشد که مشابه با نتایج پژوهش حاضر می باشد.

نتیجه

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد مقایسه قطر هاله عدم رشد ایجاد شده توسط سوش های مختلف پروبیوتیک در غلظت 10^8cfu/mol، بزرگترین هاله عدم رشد ایجاد شده در اثر سویه S9 ایجاد شده و همچنین مقایسه حداقل غلظت ممانعت کنندگی از رشد (MIC) ایجاد شده توسط سوش های مختلف پروبیوتیک در غلظت 10^8cfu/mol نشان می دهد بالاترین MFC بدست آمده در اثر سویه S9 ایجاد شده است. مقایسه حداقل غلظت کشندگی (MFC) ایجاد شده توسط سوش های مختلف پروبیوتیک در غلظت 10^8cfu/molحاصله نشان می دهد بالاترین MFC بدست آمده در اثر سویه S9 ایجاد شده است بنابراین پس از انجام محاسبات آماری سویه S9 مناسب ترین و موثرترین پروبیوتیک شناخته شد نتایج حاصل شده از این تحقیق نشان دهنده تاثیر پذیری درمافیتوزیس ناشی از *میکروسپوروم کانیس* نسبت به درمان پروبیوتیک در مقابل درمان های روتین درمافیتوزیس می باشد.

1. Low el al
2. Uchida, M., Kurakazu, K
3. Hagiwara M, Kataoka K, Arimochi H, O

منابع و مآخذ

1. Alexander, M. (1999). Persistence of Colonization of Human Colonic Mucosa by a Probiotic Strain, Lactobacillus rhamnosus GG, after Oral Consumption." Applied and environmental microbiology: 351-354.
2. Allison, G. E., C. Fremaux, et al. (2009). "Expansion of bacteriocin activity and host range upon complementation of two peptides encoded within the lactacin F operon." Journal of bacteriology 176(8): 2235-2241.
3. Ambado, Y. G. (2004). "Probiotic and Technological Properties of Enterococci Isolates from Infants and Cheese." Food Biotechnology, 18(3): 307-325.
4. Armuzzi, A., F. Cremonini, et al. (2010). "The effect of oral administration of Lactobacillus GG on antibiotic-associated gastrointestinal side-effects during Helicobacter pylori eradication therapy." Alimentary pharmacology & therapeutics 15(2): 163-169.
5. Arunachalam K, Gill HS, Chandra RK (2000). Enhancement of natural immune function by dietary consumption of Bifidobacterium lactis (HN019). Eur J Clin Nutr; 54(3): 263-7.
6. Bancroft JD,Stevens A (1977), Theory and Practice of Histological Thechniques Churchil Livingstone.
7. Bauer ME, Perks P, Lightman SL, Shanks N(2001). Restraint is associated with changes in glucocorticoid immunoregulation physilo Behav.22(9):44_45.
8. Beerens, H., C. Romond, et al. (2000). "nfluence of breast-feeding on the bifida flora of the newborn intestine." medical bacteriology.
9. Benno, Y. and T. Mitsuka (2009). "Impact of Bifidobacterium longum on human fecal microflora." Microbiol Immunology.
10. Bezkorovainy, A. (2001). "determinants of survival and growth in the gut." American Journal of Clinical Nutrition 73: 399-405.
11. Boirivant M, Strober W. (2007). The mechanism of action of probiotics. Gastroenterology,; 23: 679-692.
12. Bottazzi V (2010).Food and feed production with microorganisms.Biotechnology.112:34-44.
13. Collins, J. K., G. Thornton, et al. (2006). "selection of probiotics strains for human applications." International Dairy product 8: 478-490.
14. decreasing intracellular reactive oxygen species.Apoptosis;(2005). 10: 569-81.
15. Deepika T.(2010) Lakshmipathy, Krishnan Kannabiran. Review on dermatomycosis: pathogenesis and treatment. Natural Science; Vol.2, No.7, 726-731.
16. Dewulf J, Bereton J, Claisse O, Pot B.(2010) properties of non-conventional lactic acid bacteria: Immuno modulation by Oenococcus oeni. Int Food Microbiol,; 140: 136-145.
17. Erkkila S and Petaja E (2000). Screening of commercial meat starter cultures at low pH in the presence of bile salts for potential probiotic use. Meat Science 55:297-300.
18. Falahati M, Omid Tabrizi N, Jahaniani F.(2005) Anti Dermatophyte Activities of Eucalyptus camaldulensis in Comparison with Griseofulvin. IRANIAN JOURNAL OF PHARMACOLOGY & THERAPEUTICS; 4:80-83.
19. Fennema, R. and P. Walstra (2004). "lactic acid bacteria." Applied Microbiology: 407-419.

20. Freter, R. and R. Fuller (2002). " factors affecting the microecology of the gut." probiotics the scientific basis.

21. Fuller R(2001).Probiotics in human medicine (2005).Gut 66:55-56

22. Garrity, George M.Boone, David R.; Castenholz, Richard W,(2004). Bergy`s Manual of systematic Bacteriology. 4th Ed.Springer pub.Mishigan. 45:40-44

23. Gilliland SE, Staley TE and Bush LJ. (1984). Importance of bile tolerance of Lactobacillus acidophilus used as a dietary adjunct. Journal of Dairy Science 67:3045-3051.

24. Goktepe, I., V. K. Juneja, et al. (2005). Probiotics in food safety and human health, CRC Press. Holzapfel, W., P. Haberrer, et al. (1998). " Overview of gut flora and probiotics." International Journal of Food Microbiology, 41: 85-101.

25. Graff LA, WALKER jr, Bernstein CN (2009).Depression and anxiety in inflammatory bowel disease a review of comorbidity and management. Inflamm bowel dis.44(7):11-13.

26. Guarner, F. and G. J. Schaafsma (1998). "Probiotics." International Journal of Food Microbiology 39(3): 237-238.

27. Hagiwara M, Kataoka K, Arimochi H, Ohnishi Y. (2005), Inhibitory effect of fluvastatin on ileal ulcer formation in rats induced by nonsteroidal anti-inflammatory drug. World j Gastroentrol, 11(7): 1040-43.

28. Halper J, Leshin LS, Lewis SJ, Li WI. (2003)Wound healing and angiogenic properties of supernatants from Lactobacillus cultures. Exp Biol Medicine;. 228:1329-37.

29. Hart, A. L., A. J. Stagg, et al. (2003). "Use of probiotics in the treatment of inflammatory bowel disease." Journal of clinical gastroenterology, 36(2): 111-119.

30. Haung MT, Wood AW, Newmark JL (2008), et al. Inhibition of the mutagenicity of bay-region diol-epoxides of polycyclic aromatic hydrocarbons by polyphenolic plant flavonoidsCarcinogenesis76:81-86.

31. Heller, K. J., W. Bockelmann, et al. (2003). "Cheese and its potential as a probiotic food." Hands book of fermented functional foods: 203-226.

32. Holzapfel, W., P. Haberrer, et al. (1998). " Overview of gut flora and probiotics." International Journal of Food Microbiology 41: 85-101.

33. Huang, M. T., A. W. Wood, et al. (2008). "Inhibition of the mutagenicity of bay-region diol-epoxides of polycyclic aromatic hydrocarbons by polyphenolic plant flavonoids Carcinogenesis." Chemical research in toxicology.

34. Jibsong, F. W. (2002). "Guidelines for evaluation probiotics in food." Food and agriculture organization of united nations.

35. Jibsong, F. W. (2002). "Guidelines for evaluation probiotics in food." Food and agriculture organization of united nations.

36. Knipp U, Birkholz S, Kaup W, (1996)Opferkuch W.Partial characterization of a cell proliferation-inhibiting protein produced by Helicobacter pylori. Infect Immun;. 64: 3491-96.

37. Kopp, H. L. (2001). "prophylactic and therapeutic role of probiotics." Journal of Am Diet Association 101: 229-241.

38. Korakli M.(2006) Structure/function relationship of homopolysaccharide producing glycansucrases and therapeutic potential of their synthesised glycans. ApplMicrobiol Biotechnol, 71:790-803.

39. Lilley, D. M. and R .H. Stillwell (1965). "probiotic:growth promoting factors." Science. 147: 747-748.

40. Mack, D. R., s. Michael, et al. (2009). "probiotics inhibit enteropathogenic E. coli adherence in vitro by inducing intestinal mucin gene expression." American Journal of Physiology.

41. Mitsuoka, T. (1992). "The human gastrointestinal tract The lactic acid bacteria." applied fields in microbiology 1: 96-114.

42. Orhage, K., B. Brismer, et al. (2004). "Effect of supplements with Bifidobacterium longum and Lactobacillus acidophilus in the intestinal microflora during administration of clindamycin." Microbial Ecology Health.

43. Parker, R. B. (1994). " Probiotics, the other half of the antibiotic story." Animal Nutrition & Health.

44. Pires C, Lobato A, Carneiro F.(2014) Clinical, epidemiological, and therapeutic profile of dermatophytosis. An Bras Dermatol; 89(2):259-64.

45. Reid, G. (2011). " Probiotics for urogenital health." Nutrition Clinical Care.

46. Ricci V, Ciacci C, Zarrilli R, Sommi P.(2010) Effect of Helicobacter pylori on gastric epithelial cell migration and proliferation in vitro: role of VacA and CagA. Infect Immun;. 64: 2829-33.

47. Rolfe, R. D. (2000). "The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health." The Journal of nutrition 130(2): 396S-402S.

48. Saavedra, L., M. P. Taranto, et al. (2009). "Homemade traditional cheeses for the isolation of probiotic< i> Enterococcus faecium</i> strains." International Journal of Food Microbiology 88(2): 241-245

49. Salminen S, Nybom S, Meriluoto J, Carmen Collado M, Vesterlund S, El-Nezami H. (2010)Interaction of probiotics and pathogens-benefits to Micro human health Current Opin Biotechnol,; 21: 157-167

50. Salminen, s. and J. Seppo (1998). "Adhesion of some probiotic and dairy< i> Lactobacillus</i> strains to Caco-2 cell cultures." International Journal of Food Microbiology 41(1): 45-51.

51. Salminen, S., M. A. Dighton, et al. (1998). " Lactic acid bacteria health and disease." Microbiology and Functional aspects 2: 211-253.

52. Shirota, M. and K. Aso (1966). "Study of microflora of human intestine." Bacteriology 21: 274-283.

53. Silveira-Gomes F, Oliveira E, Nepomuceno L.(2013) Dermatophytosis diagnosed at the Evandro Chagas Institute, Pará, Brazil. Brazilian Journal of Microbiology; 44(2): 443-446.

54. Stanton, C., G. Gardiner, et al. (2001). "Market potential for probiotics." American_Journal of Clinical Nutrition 73: 476-483.

55. Stanton, S., C. Desmond, et al. (2003). " Challenges of facing development of probiotic." Hands book of fermented functional foods: 27-58.

56. Street J, Lenehan B.(2009) Vascular endothelial growth factor regulates osteoblast survival –evidence for an autocrine feedback mechanism. J OSR;.4(19): 1-9

57. Touré, R., E. Kheadr, et al. (2003). "Production of antibacterial substances by bifidobacterial isolates from infant stool active against Listeria monocytogenes." Applied Microbiology 95(5): 1058-1069.

58. Uchida, M., Kurakazu, K.(2004), Yogurt containing lactobacillus gasseri OLL2716 exerts gastroprotective action against acutegastric lesion and antral ulcer in rats. J Pharmacol Sci, 96:84-90.

59. Zareie M, Johnson-Henry K, Jury J, Yang PC, Ngan BY, McKay DM, Soderholm JD. (2006) Perdue MH, Sherman P.M. Probiotics prevent bacterial translocation and improve intestinal barrier function in rats following chronic psychological stress. Gut; 55: 1553–1560.