

بررسی خواص آنتی باکتریال عصاره های الکلی و روغنی پروپولیس تولید شده در استان کردستان بر روی استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس، استرپتوکوک موتانس و انتروباکتر آئروژنز

روزینا کلوندی¹، شعله درویشی²، کامبیز داوری³

1. کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سنندج، سنندج، ایران.

2. استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سنندج، سنندج، ایران (مؤلف مسؤل)، تلفن: 087-33367112، sho.darvishi@yahoo.com

3. مربی گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سنندج، سنندج، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: پروپولیس یکی از مهمترین محصولات زنبور عسل است که به عنوان یک آنتی بیوتیک طبیعی میتواند جایگزین خوبی برای آنتی بیوتیک های صنعتی و کاهش استفاده غیر ضروری از آنها باشد. ساختمان شیمیایی این ماده طبیعی در مناطق مختلف جهان متفاوت است و همچنین حلالی که جهت عصاره گیری پروپولیس به کار می رود می تواند تأثیر زیادی بر روی فعالیت ضد میکروبی آن بگذارد. هدف از این مطالعه بررسی خواص ضد میکروبی عصاره های الکلی و روغنی پروپولیس تولید شده در استان کردستان روی باکتری های استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس، استرپتوکوکوس موتانس و انتروباکتر آئروژنز میباشد. **روش بررسی:** پس از جمع آوری پروپولیس از مناطق مختلف استان کردستان و تهیه عصاره های الکلی و روغنی حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) روی سه سویه باکتری با استفاده از روش رقیق سازی در محیط مایع تعیین شد.

یافته ها: میانگین قطر هاله عدم رشد عصاره الکلی (با حلال اتانول 96 درجه و دی متیل سولفواکساید) بصورت معنی داری بیشتر از عصاره روغنی میباشد $P < 0/01$. حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) عصاره الکلی پروپولیس برای باکتریهای استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس PTCC1435، استرپتوکوکوس موتانس PTCC1683 و انتروباکتر آئروژنز PTCC1221 به ترتیب 0/16mg/ml، 0/32، 0/65 و حداقل غلظت کشندگی (MBC) نیز به ترتیب 0/65 mg/ml، 1/31 و 1/31 به دست آمد. حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) عصاره روغنی پروپولیس برای باکتریهای استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس PTCC1435، استرپتوکوکوس موتانس PTCC1683 و انتروباکتر آئروژنز PTCC1221 به ترتیب 2/62 mg/ml، 1/31 و 1/31 و حداقل غلظت کشندگی (MBC) نیز برای هر سه باکتری 2/62 mg/ml به دست آمد.

نتیجه گیری: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که پروپولیس اثرات ضد میکروبی قابل توجهی دارد. لذا می توان پروپولیس را در صنایع داروسازی و غذایی به کار گرفت.

واژگان کلیدی: پروپولیس، حداقل غلظت مهارکنندگی رشد (MIC)، حداقل غلظت کشندگی (MBC)،

استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس، استرپتوکوکوس موتانس، انتروباکتر آئروژنز

وصول مقاله: 94/10/21 اصلاحیه نهایی: 94/11/15 پذیرش: 94/11/23

مقدمه

کشف داروهای آنتی میکروبی برای درمان عفونت‌هایی که توسط میکروارگانیسمها شامل باکتریها، قارچها، انگلها و ویروسها ایجاد میشوند بدون شک یکی از مهمترین پیشرفتهای بشر در زمینه سلامت در طول تاریخ است که تاکنون جان میلیون ها نفر را نجات داده است. معضل مقاومت به داروهای آنتی میکروبی بخاطر استفاده بیش از حد از آنتی بیوتیکها اگرچه مسأله ای جدید نیست، اما هر لحظه وخیم تر میشود (1). چندین رویکرد برای مقابله با مقاومت نسبت به آنتی بیوتیکها تا به حال مطرح شده است که یکی از آنها تغییر یا جایگزینی آنتی بیوتیک تجویز شده میباشد.

پروپولیس یکی از مهمترین محصولات زنبور عسل است که از طریق مهار تقسیم سلولی، تاثیر روی سیتوپلاسم باکتریایی و مهار سنتز پروتئین روی رشد باکتریها و مهار آنزیم موثر است بنابراین به عنوان یک آنتی بیوتیک طبیعی عمل کرده و عوارض آنتی بیوتیک های صنعتی را ندارد در نتیجه میتواند به عنوان جایگزین مناسبی برای آنها مطرح باشد (2و3). ترکیبات موجود در این ماده به طور معنی داری با منشأ گیاهی و جغرافیایی، تغییر میکنند و به شرایط آب و هوایی، زیست محیطی، قابلیت دسترسی به آب، زمین و ... بستگی دارند (4). مطالعات نشان داده اند حلالی که جهت عصاره گیری پروپولیس به کار می رود می تواند تاثیر زیادی بر روی فعالیت ضد میکروبی آن بگذارد، مثلا عصاره های گلگیرینه مهار ضعیفی علیه باکتریهای گرم مثبت نشان میدهد در حالی که عصاره های به دست آمده با اتانول یا پروپیلن گلیکول فعالیت مؤثری علیه قارچها نشان می دهد (5).

فلاونوئیدها بخش اعظم قسمت رزینی پروپولیس را تشکیل می دهند و بیشتر خواص آنتی اکسیدانی، ضد باکتریایی، ضد ویروسی، ضد قارچی، ضد سرطانی و ضد التهابی پروپولیس به آنها نسبت داده می شود (6)

در این مطالعه به منظور بررسی مقاوت میکروبی از سه گونه باکتری شامل استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس، استرپتوکوکوس موتانس و انتروباکتر آئروژنز استفاده شد استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس کوکسی گرم مثبت و کواگولاز منفی در جنس استافیلوکوکوس است. اگرچه این باکتری به طور معمول بیماریزا نیست اما توانایی ایجاد عفونت در افرادی که سیستم ایمنی آنها ضعیف شده است را دارد. درمان عفونت‌های استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس مشکل است، زیرا معمولا این باکتری به تعداد زیادی از داروها مقاوم است. حتی با وجود درمان مناسب از بین بردن ارگانیسم مشکل است، زیرا باکتری اغلب در یک پروتز رشد کرده و سیستم گردش خون نسبتاً غیر قابل دسترسی بوده و اغلب بیماران بسیار ناتوان هستند (7).

استرپتوکوک موتانس کوکسی گرم مثبت و بی هوازی است که فلور حفره دهانی در انسان می باشد و عامل اصلی ایجاد پوسیدگی دندان بشمار میاید (8). انتروباکتر آئروژنز به یک جنس از باکتری گرم منفی تعلق دارد که به عنوان یک بیماریزای فرصت طلب شناخته شده است. باعث ایجاد عفونت‌های مجاری ادراری در بیماران ناتوان یا دارای کاتتر میباشد و میتواند پنومونی، عفونت زخم، Sepsis در بیماران بستری ایجاد کند انتروباکتر اغلب به تعداد زیادی از داروها مقاوم می باشد (9).

مطالعات متعدد نشان داده اند که پروپولیس دارای تاثیر بازدارندگی بر روی گونه ی باکتریایی مختلف، برخی گونه های قارچی و تک یاخته ها و طیف وسیعی از ویروس هاست (10 و 11). بره موم بر روی باکتری هایی مانند استافیلوکوکوس و همچنین باکتری های بی هوازی نیز موثر بوده است، اوریسی و همکاران در سال 2007 گزارش نمودند که سالمونلا انترتیدیس به دست آمده از مواد غذایی آلوده نسبت به بره موم در مقایسه با سالمونلا تیفی موریوم جدا شده از عفونت های انسانی حساس تر است (11). پروپولیس حتی از ایجاد مقاومت باکتری ها در برابر آنتی بیوتیک ها ممانعت میکند یا اثر آن را کاهش می دهد (12).

روش بررسی

این مطالعه یک مطالعه تجربی - آزمایشگاهی با محتوای کاربردی بود. جهت آماده سازی عصاره ی پروپولیس، مقداری بره موم از کندوهای زنبور عسل مناطق مختلف کردستان (کامیاران، بانه، روستای چناره) در اوایل مهر ماه سال 93 جمع آوری گردید. بره موم ها داخل فریزر (20- درجه سانتیگراد) نگه داری و به وسیله نیتروژن مایع (دمای 200- سانتیگراد)، تبدیل به پودر گردید و جهت عصاره گیری استفاده شد.

باکتری ها

تمامی گونه های باکتری طبق جدول 1 از سازمان پژوهشهای علمی و صنعتی ایران تهیه شد.

جدول 1: گونه های باکتری تهیه شده از سازمان پژوهشهای علمی و صنعتی ایران جهت استفاده در این تحقیق

شماره	تیره	سرده	گونه	PTCC ¹
1	استافیلوکوکسیها	استافیلوکوکوس	استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس	1435
2	استرپتوکوکاسیه	استرپتوکوکوس	استرپتوکوکوس موتانس	1683
3	انتروباکتریاسه	انتروباکتر	انتروباکتر آئروژنز	1221

فعال سازی باکتری ها

طبق دستورالعمل فعال سازی باکتری ها از سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران، از محیط تریتون سویا برات (Merck, pH: 7.1±0.02)، تحت شرایط کاملا استریل، زیرهود میکروبی و سپس انتقال به انکوباتور 37 Memmert درجه سانتی گراد به مدت 24 ساعت استفاده شد.

کشت باکتری

پس از گذشت بیست و چهار ساعت از فعال سازی باکتری های موجود در دمای 37 درجه ، با استفاده از لوپ در کنار شعله و زیر هود لامینار میکروبی ، یک لوپ از محیط مایع حاوی باکتری های رشد یافته را به محیط

نوترینت آگار انتقال داده و به صورت کشت خطی پر ، کشت داده شد.

تهیه عصاره ی روغنی و الکلی پروپولیس

عصاره الکلی

پروپولیس جمع آوری شده از کندوهای زنبور عسل مناطق مختلف کردستان (کامیاران، بانه، روستای چناره) در اوایل مهرماه سال 93 ، در دمای 20 -درجه سانتیگراد نگهداری و توسط نیتروژن مایع (دمای 200 - سانتیگراد)، به پودر تبدیل شد طبق روش استاندارد FAO مقدار 100 گرم پودر پروپولیس در 1000 میلی لیتر اتانول 70 درصد حل و پس از 14 روز توسط کاغذهای واتمن NO. 4 و NO. 1 تصفیه شد. محلول تصفیه شده پس از سانتریفیوژ (100 دور در دقیقه ، دمای 40 درجه سانتیگراد) و خالص

ونکومایسین، باسیتراسین، نوویوسین، سفازولین، دوکسی سایکلین، نالیدیکسیک اسید، باکتریسین، کوتریموکسازول، انتروفلوکسازین و پلی میکسین B به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. پلیت حاوی باکتری و دیسکاها به مدت 24 ساعت در در دمای 37 درجه سانتیگراد نگهداری و میانگین قطر هاله عدم رشد توسط کولیس میلی متر ارزیابی شد.

تعیین MIC

برای تعیین MIC، مقدار 5/25 میلی گرم از عصاره الکلی پروپولیس پودر شده در 1 میلی لیتر الکل 96 درصد (عصاره الکلی با حلال اتانول 96 درجه) و یا دی متیل سولفو اکساید (عصاره الکلی با حلال دی متیل سولفو اکساید) و یا عصاره روغنی پروپولیس پودر شده در دی متیل سولفو اکساید حل و فیلتر شد. طبق دستورالعمل موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران شماره 5875، از 13 لوله آزمایش استریل استفاده شد. در لوله های شماره 2 تا 10، 1000 میکرولیتر محیط کشت تریپتون سویا براث (Merck, pH: 7.1±0.02) ریخته شد. سپس در لوله شماره 1 و لوله شماره 2، 1000 میکرولیتر عصاره خالص ریخته شد. بعد از حل شدن کامل 1000 میکرولیتر از لوله شماره 2 را به درون لوله شماره 3 اضافه کرده تا رقت 1:4 حاصل شود این کار را تا لوله شماره 10 انجام داده و از لوله شماره 10، 1000 میکرولیتر بیرون ریخته شد. به لوله شماره 1، 1000 میکرولیتر باکتری باغلظت نیم مک فارلند (CFU/ml) $108 \times 1/5$ اضافه کرده و این کار تا لوله آخر انجام شد. تمامی لوله ها به انکوباتور 37 درجه سانتی گراد به مدت 24 ساعت انتقال داده شد. آزمایش سه بار تکرار گردید.

تعیین MBC

برای تعیین MBC پس از آماده سازی محیط کشت مولر هیتون آگار در پلیت 10 سانتی متری آن را به 10 قسمت مساوی تقسیم کرده سپس از رقت های 1 تا 10 MIC عصاره الکلی (با حلال اتانول 96 درجه و یا حلال دی

سازی، در دمای 20 -درجه سانتیگراد بمدت 24 ساعت خشک شد. عصاره به صورت پودر خشک در دمای 20 سانتیگراد و دور از نور تا زمان انجام آزمایش نگهداری شد.

عصاره روغنی

طبق روش استاندارد FAO مقدار 10 گرم پودر پروپولیس در 200 میلی لیتر روغن زیتون (Pietro Coricelli) (olive Pomace) محلول حاصل پس از 90 روز توسط کاغذ های واتمن NO. 4 و NO. 1 تصفیه شد. حجم محلول توسط متانول 80 درصد به 1.5 برابر افزایش یافت. پس از سانتریفیوژ (سرعت 100 دور در دقیقه و در دمای 40 درجه سانتیگراد)، عصاره خالص شده در دمای 20 -درجه سانتی گراد تا زمان انجام آزمایش نگهداری شد.

تعیین قطر هاله عدم رشد

برای تعیین قطر هاله عدم رشد با استفاده از روش دیسک دیفیوژن مطابق با استاندارد مؤسسه استانداردهای آزمایشگاهی و کلینیکی (CLSI) پروتکل M45-A، ابتدا 5/25 mg عصاره خشک شده پروپولیس حاصل از حلال الکلی را در 1 ml الکل 96 درجه یا متیل سولفو اکساید (عصاره الکلی با حلال دی متیل سولفو اکساید) و یا عصاره روغنی پروپولیس پودر شده در دی متیل سولفو اکساید، حل کرده و پس از فیلتر کردن، دیسک های بلانک استریل 4 / 6 میلی متری را به محلول اضافه و پس از 5 ساعت در دمای 30 درجه به مدت 24 ساعت دیسک ها خشک شده و حلال کاملاً حذف شد. پس از کشت 24 ساعته باکتری ها، سوسپانسیون باکتریایی معادل نیم مک فارلند ($108 \times 1/5$ باکتری در میلی لیتر) در سرم فیزیولوژی استریل تهیه و در سطح محیط جامد مولر هیتون آگار گسترانده شد سپس دیسک روی محیط منتقل شد. از دیسک های بلانک استریل 4 / 6 میلی متری در اتانول 96 درصد، عنوان کنترل منفی و از دیسک های استاندارد آنتی بیوتیک از جمله اریترمایسین، استرپتومایسین،

96درجه و دی متیل سولفو اکساید) بصورت معنی داری بیشتر از عصاره روغنی میباشد $P < 0/01$. همچنین طبق جدول CLSI نشان داده شد که باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس نسبت به آنتی بیوتیک های اریترو مایسین، نوویوسین، باسیتراسین به ترتیب با قطر هاله 10، صفر و صفر میلی متر مقاوم میباشد اما به آنتی بیوتیک های استرپتومایسین، ونکومایسین، پلی میکسین B، به ترتیب با قطر هاله 20، 20، 30 میلی متر حساس می باشد و نسبت به آنتی بیوتیک نالیدیکسیک اسید با قطر هاله 15 میلی متر حد واسط می باشد. باکتری استرپتوکوکوس موتانس به آنتی بیوتیکهای ونکومایسین، دوکسی سایکلین، سفازولین، کوتریموکسازول به ترتیب با قطر هاله 35، 30، 30، 20 میلیمتر حساس میباشد.

باکتری انتروباکتر آئروژنز به آنتیبیوتیک استرپتومایسین و نالیدیکسیک اسید به ترتیب با قطر هاله 20 و 23 میلی متر حساس می باشد، اما به آنتی بیوتیک های پلی میکسین و ونکومایسین مقاوم میباشد. میانگین قطر هاله عدم رشد عصاره الکلی بصورت معنی داری بیشتر از میانگین قطر هاله عدم رشد عصاره روغنی پروپولیس می باشد $P < 0/01$. دیسک حاوی حلال (روغن، اتانول)، DMSO کنترل منفی (هیچ هاله عدم رشدی را نشان نداد).

متیل سولفو اکساید) و یا عصاره روغنی، 10 میکرولیتر از محتویات لوله ها به پلیت اضافه شد. این کار برای هر سه باکتری انجام گرفت. پلیتها به انکوباتور 37 درجه سانتیگراد منتقل و بعد از 24 ساعت نتایج مشاهده و ثبت گردید. آزمایش سه بار تکرار شد.

تجزیه و تحلیل آماری

جهت آنالیز آماری از نرم افزار SPSS V.18 و آزمون آماری DUNCAN استفاده شد.

یافته ها

میانگین قطر هاله عدم رشد عصاره های پروپولیس و آنتی بیوتیک نتایج مربوط به قطر هاله عدم رشد در جدول 2 نشان داده شده است. بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به عصاره الکلی (با حلال اتانول 96درجه) به ترتیب برای باکتری های استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس، استرپتوکوکوس موتانس و انتروباکتر آئروژینوزا و پس از آن مربوط به عصاره الکلی (با حلال DMSO)، به ترتیب برای باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس، استرپتوکوکوس موتانس و انتروباکتر آئروژینوزا و در آخر مربوط به عصاره روغنی برای باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس، استرپتوکوکوس موتانس و انتروباکتر آئروژینوزا بود. آنالیز آماری نشان داد که میانگین قطر هاله عدم رشد عصاره الکلی (با حلال اتانول

جدول 2: میانگین هاله عدم رشد عصاره های الکلی (با حلال اتانول 96 درجه)، روغنی و الکلی (با حلال DMSO) پروپولیس در باکتری های استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس PTCC1435، استرپتوکوکوس موتانس PTCC1683، انتروباکتر آئروژینوزا PTCC122

عصاره	مقایسه قطر هاله عدم رشد (میلی متر)		
	استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس	استرپتوکوکوس موتانس	انتروباکتر آئروژینوزا
الکلی (حلال اتانول 96 درجه)	24/67	19/33	18
الکلی (DMSO)	23/33	18	16/67
روغنی	14/33	13/67	12/33

مقادیر MIC و MBC

طبق مقادیر MIC و MBC ارائه شده در جداول (3) تا (5) بالاترین فعالیت ضد باکتریایی مربوط به عصاره الکلی (با حلال اتانول 96 درجه) بر روی باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس و پس از آن عصاره الکلی (با حلال DMSO) بر روی باکتریهای استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس و استرپتوکوکوس موتانس میباشد. عصاره روغنی در هر سه باکتری، MBC یکسان داشت.

جدول 3: مقدار MIC و MBC عصاره الکلی (با حلال اتانول 96 درجه) پروپولیس برای باکتری های استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس PTCC1435، استرپتوکوکوس موتانس PTCC1683، انتروباکتر آئروژنز PTCC1221

عصاره الکلی		باکتری
MBC	MIC	
0/65	0/16	استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس
1/31	0/32	استرپتوکوکوس موتانس
1/31	0/65	انتروباکتر آئروژنز

جدول 4: مقدار MIC و MBC عصاره الکلی (با حلال DMSO) پروپولیس برای باکتری های استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس PTCC1435، استرپتوکوکوس موتانس PTCC1683، انتروباکتر آئروژنز PTCC1221

عصاره DMSO		باکتری
MBC	MIC	
1/31	0/32	استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس
1/31	0/65	استرپتوکوکوس موتانس
2/62	0/65	انتروباکتر آئروژنز

جدول 5: مقدار MIC و MBC عصاره روغنی پروپولیس برای باکتری های استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس PTCC1435، استرپتوکوکوس موتانس PTCC1683، انتروباکتر آئروژنز PTCC1221

عصاره DMSO		باکتری
MBC	MIC	
2/62	2/62	استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس
2/62	1/31	استرپتوکوکوس موتانس
2/62	1/31	انتروباکتر آئروژنز

رابطه با عفونت های باکتریایی مشخص شده است که این ماده با وجود داشتن تأثیر به سزایی در مهار رشد باکتری های گرم مثبت، تأثیر ناچیزی روی باکتری های گرم منفی دارد (13).

مالگورزاتا و همکاران در سال 2013 روی فعالیت ضد میکروبی عصاره الکلی پروپولیس لهستان علیه تشکیل

بحث

در تحقیق ما نیز عصاره الکلی پروپولیس روی استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس نتایج قابل توجهی از عدم رشد باکتری را نشان داد.

پروپولیس به میزان زیادی دارای خواص ضد باکتریایی، ضد تک یاخته ای، ضد ویروس و ضد قارچی است و در

epidermidis (ATCC12228), Enterococcus faecalis (ATCC 29212) and Micrococcus luteus (ATCC 9341), Pseudomonas aeruginosa (ATCC27853), Escherichia coli (ATCC 11230), Salmonella typhimurium (CCM 5445) and Enterobacter aerogenes (ATCC 13048), Candida albicans (ATCC 10231), C. tropicalis (ATCC 665) and C. krusei (ATCC 6258).} برای سنجش فعالیت

ضد میکروبی حداقل غلظت مهارکنندگی تعیین شد. نتایج MIC برای باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس، استرپتوکوکوس موتانس و انتروباکتریا ترورژنز در چهار نمونه پروپولیس به صورت زیر بود:

بیوفیلم در شرایط آزمایشگاهی تحقیقاتی را انجام دادند. نتایج نشان داد که عصاره الکلی پروپولیس درجات مختلفی از فعالیت در برابر استافیلوکوک های کواگولاز منفی را نشان میدهد. آنها همچنین دریافتند که فعالیتهای ضدمیکروبی عصاره الکلی پروپولیس در برابر استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس به صورت کاهش رشد باکتری و کاهش توانایی تشکیل بیوفیلم نمایان میشود (14).
اتاک اوزل و همکاران در سال 2005 تحقیقاتی درباره فعالیت ضدمیکروبی عصاره الکلی چهار نمونه پروپولیس ترکیه روی گروههای مختلف میکروارگانیسم ها Streptococcus mutans (ATCC 25175), Staphylococcus aureus (6538-P), Streptococcus sobrinus (ATCC 33478) ,

بره موم Trabzon	بره موم Ankara	بره موم Bartin	بره موم Bursa	باکتری
32	8	32	8	استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس
64	32	64	8	استرپتوکوکوس موتانس
64	32	32	8	انتروباکتریا ترورژنز

MIC: µg/ml

استپانویک و همکاران در سال 2003، با هدف بررسی خواص ضدمیکروبی عصاره الکلی پروپولیس از نواحی مختلف صربستان در برابر 39 میکروارگانیسم (21 باکتری گرم مثبت، 12 باکتری گرم منفی و 6 مخمر) به این نتایج رسیدند که عصاره الکلی پروپولیس صرف نظر از مقاومت میکروبی به آنتی بیوتیک، مقادیر متغیری از فعالیت ضدمیکروبی را در برابر گرم مثبتها، گرم منفی ها و مخمرها نشان میدهد. در واقع گرم مثبتها بیشترین واکنش و حساسیت را نسبت به پروپولیس نشان میدهند و گرم منفیها کمترین حساسیت را دارند. با روش انتشار آگار MIC را اندازه گیری کردند که برای باکتریهای گرم مثبت در محدوده % 0.078 - % 1.25 و برای باکتریهای گرم منفی در محدوده % 1.25 < - % 5 و برای مخمرها % 1.25 - % 0/16 به دست آمد (16).

در بررسی حاضر اثر ضدمیکروبی عصاره الکلی پروپولیس با حلال های اتانول 96 درجه و دی متیل سولفواکساید به روش MIC و MBC انجام شد و نتایج MIC برای باکتری های استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس، استرپتوکوکوس موتانس و انتروباکتر آتروژنز به ترتیب 0/16mg/ml، 32/0 و 65/0 (حلال اتانول) و 32/0، 65/0 و 65/0 (DMSO) به دست آمد. نتایج با تحقیق فوق اختلاف دارد که شاید با توجه به تفاوت در نوع پروپولیس ترکیه و کردستان این اختلاف ایجاد شده باشد به طوری که نتایج مطالعه Cheng. Paul. C and Wong. Geary در سال 1996 به روشنی این مطلب را بیان می کند که منبع گیاهی، فصل تولید و حلال مورد استفاده در تهیه پروپولیس بر خواص آن تاثیر بسزایی دارد و تعیین کننده میزان اثر ضد باکتریایی آن است (15).

سیرینگالدئیداست که این ترکیبات به تنهایی یا بواسطه خاصیت هم افزایی اثرات خود را اعمال می نمایند (21).

نتیجه گیری

برای اولین بار در استان کردستان تأثیر ضد میکروبی عصاره الکلی و روغنی پروپولیس بررسی شده که با توجه به نتایج به دست آمده میتوان از این عصاره ها در برابر بیماریزایی باکتری های استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس، استرپتوکوکوس موتانس و انتروباکتر آئروژنز استفاده کرد. ضمن اینکه عصاره روغنی که از روغن زیتون تهیه شده می تواند قابلیت خوراکی نمودن این عصاره را در دزهای پایین ایجاد کرد تا جایگزینی مناسب به جای آنتی بیوتیک های شیمیایی و صنعتی باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد سر کار خانم روزیتا کلوندی می باشد. نویسندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را نسبت به معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج به دلیل حمایت های مادی و معنوی در اجرای این مطالعه ابراز می دارند.

در این تحقیق نیز عصاره پروپولیس نسبت به باکتری های گرم مثبت (استافیلوکوکوس اپیدرمایدیس و استرپتوکوکوس موتانس) اثر مهارتی بهتری را نشان داده است. طبق نتایج مطالعه Brumfitt و همکاران این تفاوت مربوط به تفاوت در ساختمان دیواره باکتری های گرم منفی و مثبت است (17). مطالعات متعددی مکانیسم اثر ضد باکتریایی پروپولیس را بررسی کرده اند. نتایج مطالعه Takai si اظهار می دارد که پروپولیس مانع تقسیم سلولی باکتریها شده و تشکیل توده های چندسلولی کاذب را مهار می کند. نتایج این مطالعه همچنین نشان داد که پروپولیس باعث تغییر ماهیت سیتوپلاسم و غشای باکتری می شود از طرفی باعث لیز نسبی باکتری و مهار سنتز پروتئین باکتری می شود (18). نتایج مطالعه Park و همکاران در سال 1998 نشان داد که پروپولیس باعث مهار آنزیم گلوکز ترانس فراز باکتری ها می شود (19).

از سوی دیگر اثبات شده که پروپولیس فعالیت آنزیم های RNA پلی مرز وابسته به DNA باکتری و آنزیم محدود اثر آن را مهار می کند (20). مهم ترین ترکیبات ضد باکتریایی پروپولیس شامل پنیوبانکسین، پینوسیمبرین، گالاترین، کافثیک اسید فنیل استر، دی و تری اکسی فلاون ها، سیناپیک اسید، ایزوفروول کی اسید، دی ترپنیک اسید و

References

1. Monaghan R L, & Barrett J F. Antibacterial drug discovery—then, now and the genomics future. *Biochemical Pharmacology* 2006; 71: 901-909.
2. Marcucci MC. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie* 1995; 26: 83-99.
3. Zeighampour F, Shams E, & Naghavi N S. Antibacterial activity of propolis ethanol extract against antibiotic resistance bacteria isolated from burn wound infections. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences* 2014; 16: 30 - 25.
4. Pascoal A, Rodrigues S, Teixeira A, Feás X, & Estevinho LM. Biological activities of commercial bee pollens: Antimicrobial, antimutagenic, antioxidant and anti-inflammatory. *Food and Chemical Toxicology* 2014; 63:233-239 .
5. Littman ML, & Zimmerman LE. *Cryptococcosis*: Grune & Stratton. New York, 1956.

6. FERNANDES JÚNIOR A, BALESTRIN EC, BETONI JEC, ORSI RDO, CUNHA MD LRD, MONTELLI AC. Propolis: anti-Staphylococcus aureus activity and synergism with antimicrobial drugs. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 2005; 100: 563-566.
7. Namvar A E, Bastarahang S, Abbasi N, Ghehi G S, Farhadbakhtiarian S, Arezi P, et al. Clinical characteristics of Staphylococcus epidermidis: a systematic review. *GMS Hygiene and Infection Control* 2014; 9: 1-7.
8. Brooks G, Carroll K, Butel J, Morse S, & Mietzner T. AIDS and lentivirus. Jawetz, Melnick & Adelberg's medical microbiology. 25th ed. New York :McGraw-Hill, 2010.p. 609-622.
9. Malekzadeh F. General Microbiology, First ed, Tehran: Tehran University Publication, 2006.p.622-38.
10. LIBÉRIO SA, PEREIRA ALA, ARAÚJO MJA, DUTRA RP, NASCIMENTO FR, MONTEIRO-NETO V, et al. The potential use of propolis as a cariostatic agent and its actions on mutans group streptococci. *Journal of Ethnopharmacology* 2009; 125: 1-9.
11. Sforcin J. Propolis and the immune system: a review. *Journal of Ethnopharmacology* 2007; 113: 1-14.
12. Orsi RDO, Sforcin J, Funari S, Rodrigues P, Bankova V. Effects of propolis from Brazil and Bulgaria on Salmonella serovars. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases* 2007; 13: 748-757.
13. Mohammadzadeh S, Shariatpanahi M, Hamedi M, Ahmadkhaniha R, Samadi N, & Ostad SN. Chemical composition, oral toxicity and antimicrobial activity of Iranian propolis. *Food Chemistry* 2007; 103: 1097-1103.
14. Wojtyczka RD, Kępa M, Idzik D, Kubina R, Kabała-Dzik A, Dziedzic A, & Wąsik TJ. In vitro antimicrobial activity of ethanolic extract of Polish propolis against biofilm forming Staphylococcus epidermidis strains. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2013;(11): 8-1.
15. Cheng Paul C and Wong.Geary. Honeybee propolis : prospects in medicine. *Bee World* 1996;77: 8-15.
16. Stepanović S, Antić N, Dakić I, & Švabić-Vlahović M. In vitro antimicrobial activity of propolis and synergism between propolis and antimicrobial drugs. *Microbiological Research* 2003; 158: 353-357.
17. Brumfitt W, Hamilton Miller JM and Franklin I. Antibiotic activity of natural products. *Propolis Microbios* 1990; 62: 19-22.
18. Takaisi Kikuni NB and Schilcher H. Electron microscopic and microcalorimetric investigations of the possible mechanism of the antibacterial action of a defined propolis provenance. *Planta Med* 1994;66: 222- 227.
19. Park YK , Koo MH , Abreu JA , Ikegaki M , Cury JA and Rosalen PL. Antimicrobial activity of propolis on oral microorganisms. *Current Microbiology* 1998;36: 24 - 28.
20. Simuth.J, Trnovsky.J and Jelokova.J. Inhibition of bacterial DNA- dependent RNA polymerases and restriction endonuclease by UV - absorbing components from propolis. *Pharmazie* 1986;41: 131-132.
21. Cheng. Paul.C and Wong.Geary. Honeybee propolis : prospects in medicine. *Bee world* 1996;77: 8-15.