ارزیابی خواص ضدباکتریائی عصاره الکلی بره‌موم بر جدایه‌های ورم پستان گاوی در شرایط آزمایشگاهی

یونس انزابی[1]*، صهیب شقاقی[2]

۱- استادیار گروه پاتوبیولوژی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.
۲- دانشجوی دکترای دانشکده دامپزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.
*نویسنده مسئول مکاتبات: anzabi@iaut.ac.ir
(دریافت مقاله: ۹۴/۴/۹ پذیرش نهایی: ۹۴/۶/۲۸)

Archive of SID

چکیده

مطالعه حاضر با هدف بررسی تاثیر ضد باکتریائی عصاره بره‌موم بر تعدادی از جدایه‌های مربوط به ورم پستان گاوی انجام گردید. بدین منظور از روش انتشار در آگار جهت انجام آزمایش حساسیت میکروبی و از روش رقت لوله‌ای جهت تعیین حداقل غلظت ممانعت از رشد (MIC) و حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC) به‌طور جداگانه استفاده گردید. آزمایش حساسیت میکروبی در مورد آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد تتراسایکلین و آمیکاسین و نیز دیسک آغشته به عصاره الکلی بره‌موم نشان داد که قطر منطقه عدم رشد ایجادشده توسط این ترکیب در مورد همه جدایه‌های مورد آزمایش بزرگ‌تر و در مورد *اشریشیا کولی* و *کلبسیلا نومونیا* این اختلاف اندازه معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) بود. همچنین نتایج حاصل از آزمایشات MIC و MBC هم مشخص کرد که میزان مهار رشد باکتری توسط بره‌موم با میزان بره‌موم موجود در رقت‌ها رابطه مستقیم دارد و با افزایش میزان بره‌موم در هر رقت از تعداد کلنی‌های باکتری بعد از کشت کاسته‌شده و در رقتی که نشان‌دهنده MBC عصاره بره‌موم در مورد هریک از جدایه‌ها بود، هیچ‌یک از آن‌ها اصلاً رشد نکرد. لذا به نظر می‌رسد که می‌توان از ترکیبات مربوط به این ماده طبیعی به عنوان مواد آنتی‌باکتریال مناسب به طور موثر علیه طیف وسیعی از باکتری‌های ایجادکننده ورم پستان گاوی به‌جای آنتی‌بیوتیک‌های صناعی استفاده کرد.

کلید واژه‌ها: بره‌موم، عصاره الکلی، اثرضد باکتریائی، جدایه‌های ورم پستان.

www.SID.ir

مقدمه

بره‌موم (Propolis) ماده‌ای چسبنده و خمیری شکلی است که توسط زنبورهای عسل کارگر برای مصارف متعدد از جمله بستن منافذ داخل کندو و جلوگیری از اثر نور و رطوبت و مقابله با عوامل خارجی و نیز ضدعفونی و تنظیم دمای محیط داخلی کندو استفاده می‌شود. این ماده چسبنده غیرسمی بر اساس ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و مکان جغرافیایی که این ماده از آنجا تهیه می‌شود، به ۱۲ نوع تقسیم می‌گردد. بره‌موم حدوداً حاوی ۳۰ درصد موم (wax)، ۵۵ درصد رزین و بالزام (balsams)، ۱۰ درصد روغن‌های اتری و اسیدهای چرب و ۵ درصد گرده گل‌ها (pollen) می‌باشد (رضویان و همکاران ۱۳۹۱). در ارتباط با خواص فیتوشیمیائی بره‌موم زنبورعسل با استفاده از روش‌های آنالیز بیوشیمیائی بیش از ۳۰۰ ترکیب مختلف شناسائی شده و مشخص کرده‌اند که ماده مذکور، از ترکیبات متنوعی از جمله مقادیر بسیار بالایی از فلاونوئیدها، الکل‌ها، اسیدهای آلفاتیک، آمینواسیدها، اسیدهای آروماتیک، استرهای آروماتیک، کالکون‌ها، تریپنوئیدها، قندها و استروئیدها تشکیل شده‌است (Marcucci, 1995؛ مرادی، ۱۳۸۸). همچنین مشخص شده که بره‌موم حاوی مقادیر بالایی از ویتامین‌ها به‌خصوص ویتامین B کمپلکس، ویتامین C، ویتامین E و پرووویتامین A و مواد معدنی و عناصر کمیابی مانند کلسیم، منیزیم، آهن، روی، سیلیس، پتاسیم، فسفر، منگنز، کبالت و مس می‌باشد. (هاتفی و همکاران ۱۳۸۷). البته بایستی توجه کرد که به‌طور کلی خواص کیفی و رنگ بره‌موم بستگی به منابع گیاهی دارد که توسط زنبورهای هر کندو مورد استفاده قرار می‌گیرد (Isla, 2005؛ خادم حقیقیان و همکاران، ۱۳۹۰). همچنین نشان داده شده که ترکیبات فعال مهم موجود در بره‌موم، شامل فلاوونوئیدها و اسیدهای فنولیک می‌باشند (Park *et al*., 2002; Almas *et al*., 2001; Chena *et al*; 2009;).

از طرف دیگر از آنجایی که بره‌موم دارای طیف وسیعی از فعالیت‌های بیولوژیکی است، در طب سنتی هم به‌طور فراوان کاربرد دارد به‌طوری‌که عسل و بره موم قرن‌هاست که در درمان زخم‌ها استفاده می‌شوند (خادم حقیقیان و همکاران ۱۳۹۰؛ Banskota *et al*., 2001). هم‌چنین از این ماده در طب سنتی برای درمان بسیاری از بیماری‌های سیستمیک مانند آرتریت روماتوئید، مشکلات پوستی مانند اگزما و لوپوس، مشکلات تنفسی مانند آسم و نیز بالابردن سلامت عمومی استفاده می‌شود (رضویان و همکاران ۱۳۹۱). در بررسی اتنوفارماکولوژی ماده مذکور در ایران نیز می‌توان به خواص درمانی این ترکیب نظیر معالجه سرفه، سرماخوردگی، دردهای قفسه سینه، سوختگی‌ها، زخم‌ها و مشکلات لثه ودندان به عنوان ضدعفونی‌کننده و التیام‌بخش اشاره کرد (سیدی و فرشینه، ۱۳۸۹). همچنین ویژگی‌های درمانی بره‌موم به عنوان ماده‌ای با خواصی نظیر ضدمسمومیت کبدی، ضدسرطان، آنتی‌اکسیدان، ضدالتهاب، ضدمیکروبی و ضدویروس و نیز افزایش‌دهنده فعالیت‌های ایمنی بدن گزارش گردیده است (رضویان و همکاران ۱۳۹۱؛ Tosi *et al*., 2007; Borrelli *et al*., 2007; Khalil *et al*., 2006).

انواع اورام پستان در نشخوارکنندگان و مخصوصاً در گاو بدون شک از نظر اقتصادی حائز اهمیت بالائی در همه کشورها است و علی‌رغم این‌که در سال‌های اخیر

www.SID.ir

تحقیقات و اقدامات وسیعی جهت کنترل آن‌ها صورت گرفته، ولی هنوز هم به‌عنوان یک مشکل اصلی در خصوص بهداشت شیر و فراورده‌های لبنی در بسیاری از نقاط دنیا مطرح می‌باشند. در این میان *استافیلوکوکوس آرئوس* و *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* به عنوان مهم‌ترین عوامل ایجادکننده ورم پستان واگیردار در گاو نقش مهمی در کاهش تولید شیر، افت کیفیت شیر و حذف اجباری و زود هنگام دام‌ها از گله دارند. همچنین باکتری *استرپتوکوکوس دیس‌گالاکتیه* عامل مهمی در ایجاد ورم پستان حاد در گاو بوده و نحوه بیماری‌زائی آن تقریبا مشابه باکتری *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* می‌باشد، اما اشاعه به‌مراتب کمتری داشته و معمولاً به صورت انفرادی دیده می‌شود. از طرف دیگر ورم پستان محیطی یا تورم پستان کولی‌فرمی در گاو که عوامل دخیل در آن عبارتند از: *اشریشیا کولای*، *کلبسیلا نومونیا* و *انتروباکتر آئروژنز*، اغلب به‌صورت فوق حاد بروز می‌کند و معمول‌ترین فرم کشنده ورم پستان، مخصوصاً در مورد آن دسته از گاوهای شیری است که در فصول سرد سال در فضای بسته نگه‌داری می‌شوند. البته وقوع این نوع ورم پستان غالباً با سطح بهداشت و آلودگی محیط با باکتری‌های ذکرشده ارتباط دارد. در دسترس‌ترین روش مبارزه با انواع اورام پستان در گاو تشخیص دقیق و به‌موقع عامل ایجادکننده و در نهایت اقدام به درمان با استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های مناسب پس از بررسی میزان حساسیت و مقاومت جدایه‌ها با انجام آزمایش سنجش حساسیت میکروبی می‌باشد. اهمیت این امر زمانی بیشتر مشخص می‌شود که توجه گردد که مقاومت آنتی‌بیوتیکی در میان باکتری‌های ذکر شده هم رو به گسترش می‌باشد (طباطبائی و فیروزی ۱۳۸۰).

فعالیت ضدباکتریائی بره‌موم در مورد برخی از باکتری‌های بیماری‌زا نظیر *استرپتوکوکوس سیرکوئیتس*، *استرپتوکوکوس پیوژنز*، *استرپتوکوکوس موتانس*، *استرپتوکوکوس سوربینوس*، *استافیلوکوکوس آرئوس* و *سالمونلاها*، هم در شرایط آزمایشگاهی و هم در شرایط بالینی، به‌خوبی توصیف شده است. در واقع پژوهش‌ها در این زمینه نشان داده که فعالیت چندگانه بره‌موم باعث می‌شود که گلیکان سنتزشده توسط باکتری‌های مذکور نامحلول شده و در نتیجه فعالیت آنزیم گلیکوزیل ترانسفراز که آنزیم مؤثر در انتقال گلوکز و رشد و تکثیر باکتری‌ها می‌باشد، متوقف شود (Orsi *et al*., 2005; Velazquez *et al*., 2007; Seidel *et al*., 2008; Chena *et al*., 2009؛ رضویان و همکاران ۱۳۹۱). البته مکانیزم عمل ضدباکتریایی بره‌موم پیچیده بوده و ظاهراً به نظر می‌رسد که شباهتی با عملکرد اکثر آنتی بوتیک‌های کلاسیک ندارد، اما با توجه به اینکه بره‌موم از تقسیم باکتری‌ها ممانعت می‌کند، لذا می‌توان به این نکته اشاره کرد که احتمالاً از این نظر مانند آنتی‌بیوتیک نالیدیکسیک اسید عمل می‌کند چرا که آنتی بیوتیک مذکورهم از همانندسازی DNA و در نتیجه تقسیم سلولی ممانعت به‌عمل می‌آورد. همچنین بعضی از محققین معتقدند که بره‌موم می‌تواند مانع از فعالیت RNA پلی‌مراز وابسته به DNA میکروارگانیسم‌ها شده و همچنین فعالیت آنزیم‌های محدودالاثر آنها را مهار کند. از سوی دیگر معتقدند که بره‌موم از سنتز پروتئین باکتری‌ها هم ممانعت به عمل آورده و باعث ایجاد تغییر در ماهیت ساختمان غشای

Archive of SID
www.SID.ir

سیتوپلاسمی و دیواره سلولی شده و در نهایت باعث لیز نسبی باکتری‌ها می‌گردد. از طرف دیگر نشان داده‌اند که بره‌موم باعث تخریب باکتری اسپورزای عامل بیماری لوک آمریکائی زنبور عسل شده و نیز مانع از تشکیل مجدد اسپور و رشد آن در محیط کشت می‌گردد که این یافته نشان‌دهنده وجود موادی در بره‌موم با تأثیر روی اسپور باکتری‌ها و از بین بردن آن‌ها در محیط‌های زنده می‌باشد (مرادی ، ۱۳۸۸).

با توجه به مطالب بالا و نظر بر این‌که بررسی مشخصی در خصوص تاثیر عصاره الکلی بره‌موم بر باکتری‌های ایجاد کننده ورم پستان گاوها در ایران انجام نگرفته است، لذا تحقیق حاضر با هدف بررسی میزان تاثیر ماده مذکور بر تعدادی از جدایه‌های مربوط به اورام پستان گاوی و نیز احتمال جایگزینی موفقیت‌آمیز این ماده به‌جای آنتی بیوتیک‌های مورد استفاده در درمان این مشکل و معضل اکثر گاوداری‌های کشور، انجام گردید.

مواد و روش‌ها

به منظور تهیه عصاره الکلی بره‌موم، ابتدا مقدار ۹۰ گرم بره‌موم تازه تهیه‌شده از کندوهای عسل منطقه شهرستان سراب واقع در شرق استان آذربایجان‌شرقی به قطعات ریزتری تبدیل و سپس به آن ٤۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۹٦ درجه اضافه گردید و به مدت ۱۸ ساعت در دمای آزمایشگاه قرار داده شد تا در اتانول حل شود. البته برای تسریع در حل شدن بره‌موم، چندین بار مخلوط حاصله تکان داده شد تا عمل انحلال به خوبی و به‌سرعت انجام گیرد. بعد از حل‌شدن بره‌موم، مخلوط مذکور به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۲۰ درجه سلسیوس در سرعت ۷۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. در ادامه محلول رویی به‌دست آمده از عمل سانتریفیوژ در لوله آزمایش جمع‌آوری شده و از کاغذ صافی واتمن شماره یک گذرانده شد تا عصاره خالص بره‌موم به‌دست آید. سپس رسوبات باقی‌مانده مجدداً با ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۹٦ درجه عصاره‌گیری شد و مراحل قبل مجدداً تکرار گردید. به این‌ترتیب عصاره غلیظ بره‌موم تهیه گردید. لازم به‌ذکر است که جهت حذف اتانول، سوسپانسیون مذکور به مدت ۱۵ دقیقه در دستگاه تبخیر چرخشی در دمای کمتر از ۵۰ درجه سانتی‌گراد تکان داده می‌شد (مرادی، ۱۳۸۸؛ Najafi *et al.*, 2007).

در این مطالعه از ٦ جدایه گرم مثبت و گرم منفی مربوط به ورم پستان گاوها شامل *استافیلوکوکوس آرئوس*، *استرپتوکوکوس آگالاکتیه*، *استرپتوکوکوس دیسگالاکتیه*، *اشریشیا کولای*، *کلبسیلا نومونیا* و *انتروباکتر آئروژنز* که قبلاً در آزمایشگاه میکروب‌شناسی گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز از شیرهای آلوده ارجاعی مربوط به تعدادی از گاوداری‌های منطقه تبریز جداشده و بر اساس روش‌های بیوشیمیائی و بیولوژیکی استاندارد میکروب‌شناسی تشخیصی، تعیین هویت شده بودند، استفاده گردید (طباطبائی و فیروزی۱۳۸۰). البته با توجه به این‌که برای تهیه سوسپانسیون میکروبی نیاز به کشت ۲٤ساعته از هر باکتری بود، بنابراین ۲٤ساعت قبل از انجام هر آزمایش، مقداری از کشت ذخیره هر کدام از جدایه‌های مورد آزمایش را به‌طور جداگانه به محیط کشت BHI agar تلقیح و به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرم‌خانه‌گذاری می‌گردید. سپس کلونی‌های خالص ایجاد شده مربوط به هر

www.SID.ir
Archive of SID

جدایه در سطح محیط کشت مذکور جداگانه با محلول نرمال سالین شسته‌شده و سوسپانسیون میکروبی به‌دست آمده دوباره با محلول مذکور تا حدی رقیق می‌گردید تا کدورت ایجادشده در لوله حاوی سوسپانسیون میکروبی هر یک از جدایه‌ها، معادل کدورت لوله استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند تنظیم گردد. یعنی سوسپانسیون میکروبی همه جدایه‌های مورد استفاده در آزمایش‌های مختلف انجام گرفته، حاوی $1/5\times10^8$ CFU/ml از جدایه‌های مورد آزمایش بودند (Babayi *et al*., 2004).

به‌منظور بررسی اثرات ضدباکتریایی عصاره الکلی بره‌موم مورد آزمایش ابتدا از روش انتشار در آگار (Disk Agar Diffusion) استفاده شد. لازم به توضیح است که بدین‌منظور از دیسک‌های بلانک استریل ساخت شرکت پادتن طب (تهران- ایران) استفاده گردید. به این ترتیب که دیسک‌های بلانک در لوله‌های حاوی عصاره مذکور قرار داده شد و بعد از مدت ۳۰ تا ۵۰ دقیقه و پس از جذب‌شدن کامل آن‌ها توسط دیسک، دیسک‌های مذکور در دمای حدود ٤٥ درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده می‌شد تا کاملاً خشک شوند. سپس در مورد همه جدایه‌های مورد آزمایش به‌طور جداگانه، با استفاده از ۱۰۰میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی که مطابق استاندارد لوله ۰/۵ مک فارلند تهیه شده بود، بر سطح محیط مولرهینتون آگار جداگانه کشت یکنواخت انجام و سپس دیسک‌گذاری می‌شد. درادامه پلیت‌ها به مدت ٢٤ الی ٤٨ ساعت در دمای ۳۷ درجهٔ سلسیوس انکوبه‌شده و نتایج اثر ضدباکتریایی عصاره مورد آزمایش به‌طور جداگانه و با اندازه‌گیری قطر هاله عدم رشد اطراف دیسک‌های مذکور با استفاده از خط‌کش میلی‌متری ثبت می‌شد. لازم به ذکر است که برای حصول اطمینان بیشتر، این آزمایش برای هر یک از جدایه‌های مورد آزمایش جداگانه سه بار تکرار شده و سپس میانگین محاسبه‌شده به عنوان قطر نهایی منطقه عدم رشد آن جدایه ثبت می‌شد. در آزمایش مذکور از آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم بر دیسک) به‌عنوان کنترل جدایه‌های گرم منفی و آمیکاسین (۳۰ میکروگرم بر دیسک) به عنوان کنترل جدایه‌های گرم مثبت استفاده می‌گردید (Anzabi and Khaki, 2015). در ادامه با استفاده از روش رقت لوله‌ای حداقل غلظت ممانعت از رشد (MIC) و حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC) عصاره مورد آزمایش به‌طور جداگانه تعیین گردید. برای تعیین MIC عصاره، از یک سری ۱۰تایی از لوله‌های آزمایش استفاده می‌شد، به این صورت که ۸ لوله برای آزمایش روی رقت‌های مختلف عصاره و یک لوله به عنوان کنترل مثبت و یک لوله هم به عنوان کنترل منفی به‌کار رفت. روش کار به این صورت بود که لوله شماره ۱حاوی mg/ml ۱ از عصاره بود و سپس رقت‌های سریال تهیه می‌شد تا اینکه لوله شماره ۸ دارای mcg/ml ۷/۸ از ترکیب مذکور می‌شد. همچنین همه لوله‌ها حاوی ml ۹ از محیط کشت BHI broth و ml ۱ از سوسپانسیون میکروبی مربوط به هر یک از جدایه‌های مورد آزمایش هم بودند. لازم به ذکر است که در هر سری از آزمایشات مذکور هم‌زمان یک لوله حاوی ml ۹ از محیط کشت یادشده به علاوه ml ۱ از عصاره به عنوان کنترل عصاره و نیز یک لوله حاوی ml ۹ از همان محیط کشت به علاوه ml ۱ از سوسپانسیون میکروبی هم به عنوان کنترل جدایه،

Archive of SID
www.SID.ir

استفاده می‌شد. در ادامه همه لوله‌های آزمایش ذکرشده در بالا به مدت ٢٤ساعت در دمای ٣٧ درجه سلسیوس انکوبه می‌شد. پس از طی زمان انکوباسیون، همه لوله‌ها از نظر کدورت ناشی از رشد باکتری‌های مورد آزمایش بررسی می‌گردید (برای افزایش دقت کار این آزمایش برای هر یک از جدایه‌ها به‌طور جداگانه ٣ بار تکرار می‌شد). در نهایت، بالاترین رقتی از عصاره مورد آزمایش که از افزایش کدورت ناشی از رشد جدایه مورد آزمایش ممانعت کرده بود، به عنوان MIC عصاره الکلی برەموم نسبت به آن جدایه در نظر گرفته می‌شد. همچنین در ادامه، از لوله‌هائی که در آزمایش تعیین MIC در آن‌ها عدم رشد باکتری مشاهده میگردید، نمونه‌برداری کرده و جهت تعیین MBC عصاره مورد آزمایش، جداگانه به روش پورپلیت (Pour-plate) کشت داده می‌شد. بدین منظور ml ١ از محتویات لوله‌های مربوط به آزمایش MIC هر جدایه که در آن لوله‌ها رشد باکتری متوقف شده و اصطلاحاً عدم رشد باکتری مشاهده گردیده بود، برداشت کرده و با ml ٢٠ از محیط کشت BHI agar به صورت مخلوط کردن، کشت داده و سپس همه پلیت‌ها به مدت ٢٤ساعت در دمای ٣٧ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شده و از نظر رشد باکتری و ایجاد کلنی مورد ارزیابی قرار می‌گرفت. در نهایت بالاترین رقتی که در واقع حاوی کمترین غلظت عصاره مورد آزمایش بود و در پلیت مربوط به آن رقت هیچ کلنی از باکتری‌های مورد نظر مشاهده نمی‌گردید، به‌عنوان MBC عصاره برەموم در مورد آن جدایه در نظر گرفته می‌شد (Anzabi and Khaki, 2015).

برای تحلیل آماری ارتباط بین حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌ها نسبت به نوع ترکیب با خاصیت ضدباکتریائی (آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد استفاده شده و عصاره برەموم) از آزمون آماری تی مستقل تحت برنامه آماری Spss 18 جهت مقایسه داده‌ها استفاده شد. تفاوت‌های مشاهده شده در میزان MIC و MBC هر یک از جدایه‌ها، از آمار توصیفی استفاده گردید. مقادیر $p<0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج حاصله از بررسی اثرات ضدباکتریایی عصاره الکلی برەموم و آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد تتراسایکلین و آمیکاسین با استفاده از آزمایش حساسیت آنتی-بیوتیکی به روش انتشار دیسک در آگار و همچنین نتایج مربوط به آزمایشات بررسی اثرات ممانعت از رشد و باکتری‌کشی عصاره برەموم بر جدایه‌های مورد آزمایش که به‌طور جداگانه انجام گرفته است، در جداول ١، ٢ و ٣ نشان داده شده است.

www.SID.ir

جدول ۱- میانگین قطر منطقه عدم رشد جدایه‌ها بر حسب میلی‌متر در آزمایش حساسیت آنتی‌بیوتیکی (mean ±SD)

جدایه‌های مورد آزمایش	آنتی‌بیوتیک آمیکاسین (۳۰ میکروگرم در دیسک)	آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم در دیسک)	عصاره الکلی بره‌موم (۳۰ میکرولیتر در دیسک)
اشریشیا کولای	(---)	۱۳±۰/۲^{b}	۲۳±۰/۲^{a}
کلبسیلا نومونیا	(---)	۱۲±۰/۲^{b}	۲۶ ±۰/۲^{a}
انتروباکتر آئروژنز	(---)	۱۶±۰/۲	۱۸±۰/۲
استافیلوکوکوس آرئوس	۱۱±۰/۲	(---)	۱۷±۰/۲
استرپتوکوکوس آگالاکتیه	۱۵±۰/۲	(---)	۲۲±۰/۲
استرپتوکوکوس دیسگالاکتیه	۱۳±۰/۲	(---)	۱۶±۰/۲

حروف غیرمشابه (a,b) در هر ردیف نشانگر اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($p<۰/۰۵$).

علامت (---) نشان‌دهنده عدم استفاده از آنتی بیوتیک مذکور در مورد جدایه آن ردیف می باشد.

جدول ۲- نتایج آزمایشات تعیین (MIC) عصاره الکلی بره موم در مورد هریک از جدایه‌ها

	رقت‌های مختلف استفاده شده از عصاره الکلی بره‌موم (µg/ml)							
جدایه‌های مورد آزمایش	۷/۸	۱۵/۶۲۵	۳۱/۲۵	۶۲/۵	۱۲۵	۲۵۰	۵۰۰	۱۰۰۰
اشریشیا کولای	+	+	+	+	–	–	–	–
کلبسیلا نومونیا	+	+	+	+	+	–	–	–
انتروباکتر آئروژنز	+	+	+	+	–	–	–	–
استافیلوکوکوس آرئوس	+	+	+	+	+	+	–	–
استرپتوکوکوس آگالاکتیه	+	+	+	+	–	–	–	–
استرپتوکوکوس دیسگالاکتیه	+	+	+	+	+	–	–	–

جدول ۳- نتایج آزمایشات تعیین حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC) غلظت‌های مختلف عصاره الکلی بره‌موم

	رقت‌های مختلف استفاده شده از عصاره الکلی بره موم (µg/ml)							
جدایه‌های مورد آزمایش	۷/۸	۱۵/۶۲۵	۳۱/۲۵	۶۲/۵	۱۲۵	۲۵۰	۵۰۰	۱۰۰۰
اشریشیا کولای	+	+	+	+	+	–	–	–
کلبسیلا نومونیا	+	+	+	+	+	+	–	–
انتروباکتر آئروژنز	+	+	+	+	+	–	–	–
استافیلوکوکوس آرئوس	+	+	+	+	+	+	+	–
استرپتوکوکوس آگالاکتیه	+	+	+	+	+	–	–	–
استرپتوکوکوس دیسگالاکتیه	+	+	+	+	+	+	–	–

Archive of SID

www.SID.ir

بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر بررسی حساسیت آنتی‌بیوتیکی به روش انتشار در آگار نشان داد، علاوه بر این‌که برەموم استفاده شده به‌عنوان یک ترکیب طبیعی با منشأ گیاهی قدرت انتشار خوبی در سطح محیط کشت جامد دارد، بلکه قطر منطقه عدم رشد ایجاد شده توسط این ترکیب در مورد همه جدایه‌ها به مراتب بزرگتر از قطر ایجاد شده توسط آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد مورد آزمایش یعنی تتراسیکلین و آمیکاسین می‌باشد به‌طوری‌که، با توجه به جدول ۱ تاثیر ضدباکتریائی ۳۰ میکرولیتر از عصاره الکلی برەموم بر همه جدایه‌های مورد آزمایش به‌طور نسبی بیشتر از تاثیر ۳۰ میکرولیتر از آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد تتراسیکلین و آمیکاسین بوده است. در واقع مشخص گردید که عصاره اتانولی برەموم فعالیت ضدباکتریایی به مراتب بهتری در مقایسه با آنتی‌بیوتیک‌های مذکور دارد، طوری‌که از نظر خاصیت ضد باکتریائی، بین آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد استفاده شده (آمیکاسین و تتراسایکلین) و عصاره الکلی بره موم از یک طرف و مقاومت یا حساسیت جدایه‌های مورد آزمایش نسبت به ترکیبات مذکور از طرف دیگر، اختلاف مشخص وجود دارد که این تفاوت در مورد ۲ جدایه گرم منفی مهم مورد آزمایش یعنی *اشریشیا کولای* و *کلبسیلا نومونیا* معنی‌دار می‌باشد. این یافته‌ها هم‌سو با نتایج مطالعه موهان‌نیر و همکاران وی در سال ۲۰۰۵ در مورد اثر ضد لیستریایی گیاه سیاه دانه در محیط کشت می‌باشد، چرا که در آن تحقیق هم مشخص گردیده که عصاره‌های مختلف گیاه مذکور عملکرد بهتری علیه باکتری لیستریا داشتند و در واقع اثر ضد لیستریائی گیاه سیاه دانه بسیار بیشتر از آنتی‌بیوتیک جنتامایسین بوده است (Mohan Nair *et al.*, 2005). البته از طرف دیگر در پژوهشی هم مشاهده شده است که آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین و تایلوزین دارای اثرات ضدباکتریائی به مراتب قوی‌تری نسبت به برەموم در مورد باکتری *Paenibacillus larvae* بوده‌اند (Alippi *et al.*, 2005). این درحالی است که، در بررسی حاضر آنتی‌بیوتیک تتراسایکین (۳۰ میکروگرم در دیسک) بر همه جدایه‌های گرم منفی مورد آزمایش اثر ضدباکتریائی کمتری در مقایسه با اثر عصاره الکلی برەموم (۳۰ میکرولیتر در دیسک) نشان داد. به‌نظر می‌رسد که عدم هم‌خوانی در نتایج مشاهده شده در مطالعات مشابه در خصوص مقایسه قدرت ضدباکتریائی عصاره برەموم نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف رایج، احتمالاً به نوع آنتی‌بیوتیک‌های مورد آزمایش و نیز مقادیر استفاده شده از ماده موثره آنها و نیز نوع باکتری مورد آزمایش هم ارتباط داشته باشد. در مطالعه کوجومگیف و همکاران در سال ۱۹۹۹ ویژگی ضدباکتریایی برەموم علیه *استافیلوکوکوس آرئوس* و *اشریشیا کولای* بررسی شد که نتایج‌شان نشان‌دهنده تاثیر مناسب برەموم بر باکتری‌های مذکور بوده که این یافته با نتایج بررسی حاضر کاملاً هم‌خوانی دارد. حتی ایشان اثبات کردند که کاربرد هم‌زمان برەموم با برخی از آنتی‌بیوتیک‌ها اثر آن‌ها را چندین برابر افزایش داده و در واقع از نظر خاصیت ضدباکتریائی، برەموم با آنتی‌بیوتیک‌های مورد آزمایش آن‌ها اثر هم‌افزائی نیز داشته است (Kujumgiev *et al.*, 1999).

در مطالعه ما نتایج حاصل از آزمایش‌های MIC و MBC به‌روش رقت لوله‌ای نشان داده است که میزان

www.SID.ir

مهار رشد جدایه‌های مورد آزمایش توسط برەموم با مقدار آن در رقت‌های استفاده شده رابطه مستقیم دارد، به‌طوری‌که با افزایش میزان برەموم در هر رقت، از رشد جدایه‌ها ممانعت به‌عمل آمده و در نهایت در رقتی که نشان‌دهنده MBC عصاره برەموم در مورد هریک از جدایه‌ها بود، رشد باکتریائی متوقف شده و در واقع هیچ کلنی هم تشکیل نشد. نتایج ثبت شده نشان می‌دهد که حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره الکلی برەموم برای جدایه‌های گرم منفی یعنی *اشریشیا کولای*، *کلبسیلا نومونیا* و *انتروباکتر آئروژنز* در مطالعه حاضر به ترتیب ۱۲۵، ۲۵۰ و ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر و همچنین حداقل غلظت باکتری‌کشی این عصاره برای جدایه‌های مذکور نیز به ترتیب برابر با ۲۵۰، ۵۰۰ و ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. این در حالی است که حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره مذکور برای جدایه‌های گرم مثبت مورد آزمایش یعنی *استافیلوکوکوس آرئوس*، *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* و *استرپتوکوکوس دیسگالاکتیه* به ترتیب ۵۰۰، ۱۲۵ و ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر ثبت شده است. همچنین حداقل غلظت باکتری‌کشی این عصاره برای جدایه‌های مذکور نیز به‌ترتیب برابر با ۱۰۰۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. در واقع به‌طور کلی، نتایج حاصل از آزمایشات مربوط به تعیین MIC و MBC عصاره برەموم هم در بررسی حاضر نشان داد که این عصاره بر همه جدایه‌های مورد آزمایش دارای اثر ممانعت از رشد و باکتری‌کشی نسبتاً خوبی می‌باشد. البته همان‌طور که نتایج جدول ۱ هم مشخص می‌کند، علی‌الخصوص این خواص در مورد جدایه‌های گرم منفی به مراتب بیشتر و موثرتر بوده است. این در حالی است که بررسی‌های مختلف نشان داده است که برەموم بر باکتری‌های گرم مثبت موثرتر از باکتری‌های گرم منفی می‌باشد که این تفاوت در تأثیر را غالباً ناشی از متفاوت بودن ساختمان دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی اعلام کرده‌اند (مرادی، ۱۳۸۸). در توجیه این عدم هم‌خوانی می‌توان به این نکته اشاره کرد که حساسیت باکتری‌های گرم منفی در مقابل ترکیبات ضد میکروبی در مقایسه با باکتری‌های گرم مثبت کمتر است. این خود به دلیل نوع ترکیبات موجود در دیواره سلولی این دسته از باکتری‌ها می‌باشد، که فقط دارای لایه نازکی از موکوپپتید بوده و قسمت اعظم ساختار دیواره سلولی آنها را لایه خارجی (outer membrane) تشکیل می‌دهد که عمدتاً از جنس لیپوپلی‌ساکارید می‌باشد این در حالی است که باکتری‌های گرم مثبت در دیواره سلولی خود دارای مقدار زیادی ترکیب پیچیده و نسبتاً مقاوم موکوپپتیدی هستند و به همین علت در مقابل مواد ضدباکتریایی مقاوم‌تر هستند (Schaechter *et al.*, 1989).

از طرف دیگر با مقایسه نتایج بررسی حاضر با یافته‌های مطالعات مشابه، شاهد برخی تشابهات و اختلافات دیگری هم هستیم به طوری‌که، برومفیت وهمکارانش در سال ۱۹۹۰ با بررسی اثرات ضدباکتریایی برەموم روی باکتری *استافیلوکوکوس آرئوس* قطر منطقه ممانعت از رشد را در آزمایش آنتی‌بیوگرام ۱٤ میلی‌متر به‌دست آورده‌اند (Brumfitt *et al.*, 1990). در حالی‌که، نتایج ثبت شده در جدول ۱ مطالعه حاضر این مقدار را در مورد جدایه‌های *استافیلوکوکوس آرئوس* حدود ۱۷ میلی‌متر نشان می‌دهد. همچنین طی مطالعه‌ای، ولازگوئز و همکارانش در سال ۲۰۰۷ مقدار MIC

Archive of SID
www.SID.ir

عصاره اتانولی برەموم را روی باکتری *استافیلوکوکوس آرئوس* ۰/۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر به‌دست آورده‌اند (Velazquez *et al.*, 2007). همچنین در یک بررسی در سال ۱۹۸۵ مشخص شده است که برەموم بر ۲۰۹ سویه *استافیلوکوکوس آرئوس* موثر بوده و MIC آن در حد ۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و MBC آن نیز ۱۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بوده است (Meresta and Meresta, 1988). این در حالی است که MIC عصاره اتانولی برەموم در مطالعه ما، در خصوص جدایه‌های *استافیلوکوکوس آرئوس*، معادل ۵۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر و MBC مربوطه هم معادل ۱۰۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر بوده است. در توجیه این عدم هم‌خوانی‌ها، می‌توان به نوع ترکیبات موجود در عصاره که در مناطق مختلف می‌تواند متفاوت باشد، اشاره کرد. در این خصوص اعلام شده است که منبع گیاهی و فصل تولید برەموم و نیز نوع حلال استفاده شده در عمل عصاره‌گیری بر اثرات ضدباکتریائی برەموم تأثیر چشم‌گیری دارد و حلال‌های آلی ترکیبات بیشتری از بره موم را آزاد کرده و لذا اثرات ضدباکتریائی بیشتری حاصل می‌شود (مرادی، ۱۳۸۸). در تأیید این موضوع حتی برخی از محققین اعلام نموده‌اند که مقایسه نتایج مشاهده شده در مورد خواص ضدباکتریائی ترکیبات گیاهی مختلف بسیار دشوار می‌باشد که از دلایل این موضوع به تفاوت در روش‌های مختلف آزمایشگاهی به هنگام بررسی خواص ضد باکتریائی عصاره‌ها، نوع ترکیبات گیاهی و منابع تهیه آن‌ها، مرحله رشد گیاه و نیز سویه‌های باکتریائی مورد آزمایش، اشاره نموده‌اند. از طرف دیگر، در برخی از مطالعات انجام گرفته در گذشته، اعلام شده است که عصاره‌های الکلی و اتری و نیز دیگر حلال‌های آلی تاثیر مشخصی بر خواص ضدباکتریائی داشته است. بنابراین، از جمله دلایل مشاهده اختلاف چشمگیر در اثرات ضدباکتریائی برەموم روی برخی از جدایه‌های مورد آزمایش در مطالعه حاضر را می‌توان به نوع مواد موثره موجود در عصاره و همچنین روش عصاره گیری و نیز نوع حلال مرتبط دانست (Singh *et al.*, 2003; Moreno *et al.*, 2006). مخصوصاً این مطلب زمانی اهمیت بیشتری پیدا می‌کند که بدانیم ساختار و ترکیبات موجود در برەموم یک منطقه با منطقه دیگر متفاوت است وحتی برەموم تولید شده در فصول مختلف یک منطقه نیز با فصول دیگر تفاوت دارد (Sforcin and Bankova, 2011). البته لازم به ذکر است که در مطالعات متعددی گزارش نموده‌اند که عصاره الکلی برەموم اثرات ضدباکتریائی به مراتب بهتری دارد، که علت آن را آزاد شدن و تخلیص بهتر فلاونوئیدها که در واقع مهمترین جز فعال برەموم می‌باشد، اعلام کرده اند (Viuda Martos *et al.*, 2008) و حتی در این ارتباط نشان داده شده است که عصاره اتانولی برەموم دارای ویژگی‌های متعددی از جمله خواص ضدباکتریایی، ضدویروسی، ضدالتهابی بوده و حتی محرک سیستم ایمنی هم می‌باشد (Kim *et al.*, 2005).

نتایج مطالعه ما نشان داد که برەموم مورد آزمایش که از کندوهای زنبورعسل منطقه سراب استان آذربایجان‌شرقی تهیه شده بود، دارای اثرات ضدباکتریائی خوبی بر همه جدایه‌ها بوده و از طرف دیگر نتایج آزمایشات حساسیت آنتی‌بیوتیکی انجام گرفته هم نشان داد که قطر منطقه عدم رشدی که توسط آنتی‌بیوتیک‌های استاندارد در قبال اکثر جدایه‌های

www.SID.ir

مذکور ایجاد شده بود، به مراتب کوچکتر از قطر منطقه عدم رشد ایجاد شده توسط عصاره اتانولی برەموم بود. اهمیت این موضوع زمانی بیشتر مشخص می‌شود که بدانیم ترکیبات طبیعی انواع گیاهان بومی موجود در بیشتر مناطق جغرافیائی کشور پهناور ایران (مخصوصاً در منطقه استان آذربایجان‌شرقی)، غالباً عوارض جانبی احتمالی آنتی‌بیوتیک‌های ساختگی دست بشر را نداشته و همچنین از نظر اقتصادی هزینه به مراتب کمتری را به مصرف‌کنندگان تحمیل می‌کند. از طرف دیگر بسیاری از ترکیبات طبیعی معمولاً اثرات مفید دیگری نظیر خاصیت آنتی‌اکسیدانی و تقویت‌کننده سیستم ایمنی را، علاوه بر خواص ضدمیکروبی، دارا هستند. ضمن اینکه برەموم ماده‌ای ایمن و در عین حال غیرسمی بوده که از جمله خواص جالب آن اثرات ضدباکتریائی در مقابل باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های رایج می‌باشد (مرادی ، ۱۳۸۸).

در نهایت، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از برەموم می‌تواند به عنوان جایگزینی مناسب برای آنتی‌بیوتیک‌های صناعی جهت مقابله با جدایه‌های مورد آزمایش مخصوصاً انواع گرم منفی در نظر گرفته شود. البته، در این خصوص مطالعات بیشتری نیاز است تا بتوان اثرات ضد باکتریائی برەموم و ترکیبات آن را دقیق‌تر بررسی کرد. به‌نظر می‌رسد استفاده از سایر روش‌های عصاره‌گیری و یا استفاده از غلظت‌های دیگری به غیر از غلظت‌های به‌کار برده شده در این بررسی و نیز مطالعه روی حیوانات آزمایشگاهی مناسب، می‌تواند اثرات ضد باکتریائی برەموم را بیشتر از این روشن نماید. همچنین با توجه به ویژگی‌های بسیار مفید ثابت شده در مورد برەموم از یک‌طرف و نتایج ضدباکتریائی نسبتاً مناسب به‌دست آمده در مورد این ترکیب در مطالعه حاضر و اکثر پژوهش‌های مشابه، به‌نظر می‌رسد که این ماده و ترکیبات مختلف آن می‌توانند جایگاه ویژه‌ای را جهت استفاده در علوم پزشکی و دامپزشکی داشته باشند.

سپاسگزاری

بدینوسیله از کلیه همکاران در بخش میکروب‌شناسی گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، مخصوصاً جناب آقای ابراهیم شرقی که در انجام و به نتیجه رسیدن مطالعه حاضر ما را یاری فرمودند کمال تشکر را داریم.

Archive of SID

www.SID.ir

منابع

• طباطبائی، ع.ح. و فیروزی، ر. (۱۳۸۰). بیماری‌های باکتریائی دام. انتشارات دانشگاه تهران، صفحات: ۲٤-۲۰، ٤۳-۳۷ و ۲۲۷-۲۲۳.

• خادم حقیقیان، ح.، علی‌عسگرزاده ، ا. و کوشان، ی. (۱۳۹۰). گزارش یک مورد درمان زخم پای دیابتی با استفاده از بره‌موم حرارت‌دیده در داخل روغن زیتون. فصلنامه دانش و تندرستی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شاهرود، دوره ٦، شماره ٤، صفحات: ۳۸-۳۵.

• رضویان، ح.، خزاعی، ص.، کاظمی، ش. و سیدی، س.م. (۱۳۹۱). بره‌موم زنبورعسل و کاربرد آن برای سلامت دهان و دندان. مجله دانشکده دندان پزشکی اصفهان، دوره ۸، شماره ۵، صفحات: ۱۱-۱.

• سیدی، س.م و فرشینه عدل، م.ب. (۱۳۸۹). بره‌موم: داروئی طبیعی از کندوی زنبورعسل. ترجمه نشر نصوح اصفهان، ایران، چاپ سوم، صفحات: ۱٤۸-۱۰۷.

• مرادی، م. (۱۳۸۸). بررسی اثر ضدباکتریائی بره‌موم زنبورعسل روی باکتری Paenibacillus larvae عامل بیماری لوک آمریکائی زنبورعسل. نشریه دامپزشکی (پژوهش و سازندگی)، شماره ۸۳، صفحات: ٦۲-۵۷.

• هاتفی، م.، محرابیان، ص.، نوحی، ا. و رفیعی طباطبایی، ر. (۱۳۸۷). بررسی خواص ضد جهش‌زایی عصاره الکلی بره‌موم به وسیله سالمونلا تیفی‌موریوم و میکروزوم. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک، سال ۱۱، شماره ۲، صفحات: ۱۱۰-۱۰۲.

• Alippi, A.M., Albo, G.N., Reynaldi, F.J. and De Giusti, M.R. (2005). In vitro and in vivo susceptibility of the honeybee bacterial pathogen Paenibacillus larvae subsp. Larvae to the antibiotic Tylosin. Veterinary Microbiology, 109(12): 47-55.

• Almas, K., Mahmoud, A. and Dahlan, A. (2001). A comparative study of propolis and saline application on human dentin. A SEM study. Indian Journal of Dental Research, 12(1): 21-27.

• Anzabi, Y. and Khaki, A. (2015). Antibacterial Effects of the Essential Oils and Ethanol Extracts of the Native Plants; Ziziphora Clinopodioides on 3 Species of Urinary Tract Isolated Bacteria in Rats' Experimental Model. Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences and Health Services, 37(3): 18-25.

• Babayi, L., Kolo, J.I. and Ijah, U.J. (2004). The antimicrobial activities of methanolic extracts of Eucalyptus camaldulensis and Terminalia catappa against some pathogenic microorganisms. Biochemistry, 16(2): 106-110.

• Banskota, A.H., Tezuka, Y.T. and Kadota, S. (2001) Recent-progress-in pharmacological research of propolis. Phytotherapy Research, 15(7): 561-571.

•Borrelli, F., Maffia, P., Pinto, L., Ianaro, A., Russo, A. and Capasso, F. (2002). Phytochemical compounds involved in the anti-inflammatory effect of propolis extract. Fitoterapia, 73(Suppl 1): S53-S63.

• Brumfitt, W., Hamilton Miller, J.M. and Franklin, I. (1990). Antibiotic activity of natural products: propolis. Microbios, 62(250): 19- 22.

• Chena, Ch.R., Shena, C.T., Wu, J.J., Yangb, H.L., Hsu, S.L. and Chang, C.M.J. (2009). Precipitation of sub-micron particles of 3, 5-diprenyl- 4hydroxycinnamic acid in Brazilian propolis from supercritical carbon dioxide anti-solvent solutions. The Journal of Supercritical Fluids, 50(2): 176-182.

• Isla, M.I. (2005). Study on propolis quality from Argentina. Biocell, 29(1): 60.

• Najafi, M.F., Vhedi, F., Seyyedin, M., Jomehzadeh, H.R. and Bozary, K. (2007). Effect of the water extracts of propolis on stimulation and inhibition of different celss. Cytotechnology, 54: 49-56.

Archive of SID
www.SID.ir

•Marcucci, M.C. (1995). Propolis: Chemical composition, biological propertis and therapeutic activity. Apidologie, 26: 83-99.
• Meresta, T. and Meresta, L. (1988). Sensivity of Bacillus larvae to propolis extract in vitro. Medycyna Veterynaryina, 44(3): 169-170.
• Park, Y.K., Koo, M.H., Abreu, J.A., Ikegaki, M., Cury, J.A. and Rosalen, P.L. (1998). Antimicrobal Activity of propolis on oral microorganisms. Current Microbiology, 3(1): 24-28.
• Mohan Nair, M.K., Vasudevan, P. and Venkitanarayanan, K. (2005). Antibacterial effect of black seed oils on Listeria monocytogenes. Journal of Food Control, 16(5): 395-398.
• Kim, K.T., Yeo, E.J., Han, Y.S., Nah, S.Y. and Paik, H.D. (2005). Antimicrobial, anti-inflammatory, and anti-oxidative effect of water and ethanol-extracted Brazilian propolis. Food Science and Biotechnology, 14:474-478.
• Tosi, E.A., Re, E., Ortega, M.E. and Cazzoli, A.F. (2007). Food preservative based on propolis: bacteriostatic activity of propolis polyphenols and flavonoids up on Escherichia coli. Food Chemistry, 104(3): 1025-1029.
• Khalil, M.L. (2006). Biological activity of bee propolis in health and disease. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 7(1): 22-31.
• Velazquez, C., Narvarro, M., Acosta, A., Angulo, A., Dominguez, Z., Robles, R., *et al*. (2007). Antibacterial and free-radical scavenging activities of sonoran propolis. Journal of Applied Microbiology, 103(5): 1747-1756.
• Park, Y.K., Alencar, S.M. and Aguiar, C.L.(2002). Botanical origin and chemical composition of Brazilian propolis. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50(9): 2502-2506.
• Seidel, V., Peyfoon, E., Watson, D.G. and Fearnley, J. (2008). Comparative study of the antibacterial activity of propolis from different geographical and climatic zones. Phytotherapy Research, 22(9): 1256-1263.
• Orsi, R., Sforcin, J., Rall, V., Funari, S., Barbosa, L. and Fernandes, J. (2005). Susceptibility profile of Salmonella against the antibacterial activity of propolis produced in two regions of Brazil. Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases, 11(2): 109.
• Kujumgiev, A., Tsvetkova, I., Serkedjieva, Y., Bankova, V., Christov, R. and Popov, S. (1999). Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. Journal of Ethnopharmacology, 64(3): 235-240.
• Viuda Martos, M., Ruiz Navajas, Y., Fernandez Lopez, J. and Perez Alvarez, J.A. (2008). Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. Journal of Food Science, 73(9): 117-124.
• Sforcin, J.M. and Bankova, V. (2011). Propolis: is there a potential for the development of new drugs? Journal of Ethnopharmacology, 133(2): 253-260.
• Schaechter, M., Medoff, G. and Fchlessinger, D. (1989). Mechanisms of Microbial Disease. International Edition (Williams and Wilkins): 17-50.
• Moreno, S., Scheyer, T., Romano, C.S. and Vojnov, A.A. (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. Free Radical Research, 40(2): 223-231.
• Singh, A., Singh, R.K., Bhunia, A.K. and Singh, N. (2003). Efficacy of plant essential oils as antimicrobial agents against Listeria monocytogenes in hotdogs. Food Science & Technology, 36(8):787-794.

Archive of SID

www.SID.ir