



فصلنامه علمی دانشمندی زانکو

سال ۸، شماره ۲ و ۳، پاییز و زمستان ۸۳



انجمن علمی دانشمندی زانکو

معاونت پژوهشی

اثر آنتی بیوتیکی عسل طبیعی در مقایسه با محلول قندی با اسمولاریته مشابه بر روی گونه‌های استافیلوکوک اورئوس جدا شده از بینی کارکنان بیمارستان بعثت سنج

آرزو طاهرپور^۱، دکتر صباح حسینی^۲، امیر مولانایی، فرزاد عابدی، مجید محمدی، آسرین سیدالشهدایی^۳

چکیده

با توجه به این که در برخی پژوهشها خاصیت درمانی عسل صرفاً به اثر اسموتیک آن نسبت داده شده، بر آن شدیم تا در این مطالعه به بررسی اثر آنتی بیوتیکی عسل طبیعی در مقایسه با محلول قندی با اسمولاریته مشابه بپردازیم. استافیلوکوک اورئوس یک پاتوژن عمده است که طیفی از عفونتها را از عفونتهای خفیف پوستی گرفته تا عفونتهای تهدیدکننده حیات ایجاد می کند و تقریباً تمامی افراد در طول عمر خود به نوعی به آن مبتلا می شوند. برای انجام این تحقیق، ۳۵ سویه استافیلوکوک اورئوس مقاوم به متی سیلین نمونه برداری شده از بینی کارکنان بیمارستان بعثت سنج انتخاب گردید. جهت تعیین MIC (حداقل غلظت مهارکننده) عسل و محلول قندی از روش رقت سریال لوله ای استفاده شد؛ به این ترتیب که گونه های استافیلوکوک به محیط کشت لوله ای حاوی عسل یا محلول قندی با غلظتهای ۱/۶، ۱/۳، ۱/۲، ۱/۴، ۱/۸، ۱/۱۶، ۱/۳۲ و ۱/۶۴ درصد اضافه شده و نمونه های رشد کرده در محیطهای لوله ای به محیط کشت Blood Agar جهت تعیین MBC انتقال داده شد. در تمام سویه ها حساسیت باکتریهای استافیلوکوک به عسل طبیعی بدون موم در مقایسه با محلول گلوکز هم غلظت با آن تعیین گردید.

نتایج نشان داد که در تمامی سویه ها بجز دو سویه مقاوم به وانکومایسین، میزان MIC (v/v) ۳/۸ بود. در مقایسه MIC MBC گونه های استافیلوکوک در محیط کشت حاوی عسل و گلوکز اختلاف آماری معنی داری وجود داشت. $(MIC = p < 0/0001; MBC = p < 0/003)$. به این ترتیب که MIC و MBC عسل حداقل یک چهارم گلوکز می باشد. نتایج این تحقیق همچنین نشان داد که عسل طبیعی در غلظتهای مشابه محلول قندی سبب مهار رشد استافیلوکوک می شود. با توجه به این که در غلظت ۳/۸ درصد حجمی از عسل ۹۴/۲ درصد از باکتری ها رشد نکردند اما در مورد گلوکز در این غلظت تمامی باکتری ها رشد کردند، بنا بر این بنظر می رسد اثر ضد میکروبی عسل مربوط به خواصی غیر از اسمولاریته می باشد.

۱) مربی گروه میکروبی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان

۲) پزشک عمومی

۳) دانشجویان سال پنجم پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کردستان

مقدمه

عسل یک شیرینی مقبول در سراسر دنیا می باشد. بر اساس مطالعاتی که توسط بورد تحقیقات ملی عسل آمریکا انجام شد، تقریباً ۷۷٪ خانه دارهای آمریکایی، عسل را در کنار دیگر شیرین کننده های معمولی و شربت های در دسترس مصرف می کنند، ۴۵٪ از آنها با این استدلال که عسل محصولی طبیعی و بهتر از شکر است، جایگاه خاصی برای آن در نظر دارند. به طور کلی، نزد ۶۲٪ از استفاده کننده ها، به دلیل مزه اش محصول مثبتی می باشد. ۲۴٪ به دلیل طبیعی بودن و ۱۶٪ به این دلیل که برایشان خوب است عسل را مصرف می کردند (۱). تاریخچه استفاده از عسل با توجه به سنگ نوشته ها به ۶۰۰۰ سال قبل و حتی زمان های پیش از آن بر می گردد. آنچه آشکار است استفاده از این عطیه منحصر به فرد در پزشکی جایگاه ویژه ای دارد. عسل برای مصارف متنوعی از قبیل درمان کچلی، پیشگیری و درمان انواع زخم ها تجویز می شده است. غالباً بر حسب مناطق مختلف جغرافیایی، عسل با گیاهان دارویی مخلوط و جهت درمان بیماری های مختلفی استفاده می شد. عواملی که ممکن است با خصوصیات ضدباکتریایی عسل در ارتباط باشند از قرار زیر می باشد:

- ۱) فشار اسموتیک بالا، فعالیت آبی پائین (AW)
- ۲) PH پائین (محیط اسیدی)
- ۳) سیستم اکسیداز گلوکز که هیدروژن تولید می کند.
- ۴) نسبت بالای کربن به نیتروژن
- ۵) پتانسیل احیا کنندگی پائین به دلیل محتوی بالای قندهای احیاء کننده
- ۶) لیزوزیم

۷) اسیدها (فنولیک)

۸) هیدورکربن ترپن

۹) بنزیل الکل

۱۰) ترکیبات فرار (احتمالاً ترکیبات شیمیایی

گیاهی تحت تأثیر آنزیم زنبور)

۱۱) آنتی اکسیدان (Pinocembrin)

عموماً عسل های تیره تر و آنهایی که محتوی آبی بیشتری دارند، پتانسیل اکسیدانی قوی تری دارند. آنتی اکسیدان های شناخته شده در عسل شامل: پینوسمبرین، پینوبانکوزین، کریزین و گالاجین هستند. پینوسمبرین مختص به عسل است و نسبت به ترکیبات دیگر با بالاترین میزان ممکن در عسل یافت می شود. اسیداسکوربیک (ویتامین C)، کاتالاز و سلنیوم نیز در عسل یافت می شوند.

استافیلوکوک ها باکتری های کروی شکل گرم مثبتی هستند که معمولاً به صورت اجتماعات نامنظم و به شکل خوشه کنار هم قرار دارند. این باکتری ها از نظر متابولیکی فعال می باشند و قابلیت رشد بر روی محیط های کشت مختلفی را دارند. سه گونه اصلی این باکتری که اهمیت بالینی دارند عبارتند از استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپی درمیدیس و استافیلوکوکوس ساپروفتیکوس. استافیلوکوکوس اورئوس، کوآگولاز مثبت می باشد که آن را از سایر گونه ها متمایز می سازد. استافیلوکوکوس اورئوس یک پاتوژن عمده انسان است. تقریباً تمامی افراد در طول عمر خود به نوعی به عفونت ناشی از آن مبتلا می شوند که از مسمومیت غذایی یا عفونت های خفیف پوستی تا عفونت های تهدید کننده حیات فرق می کنند. استافیلوکوک های کوآگولاز منفی فلور طبیعی انسان بوده، گاهی عفونت هایی ایجاد می کنند که اغلب با وسایل و دستگاه هایی کار

گذاشته شده، به خصوص در بیماران بسیار جوان، پیر و دچار ضعف ایمنی ارتباط دارد. حدود ۷۵ درصد از این عفونتهای استافیلوکوکوس کوآگولاز منفی ناشی از استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس می باشد. عفونت های ناشی از استافیلوکوکوس وارنری، استافیلوکوکوس هوموینس و سایر گونه ها شیوع کمتری دارند. استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس علت نسبتاً شایع عفونت های مجاری ادراری در زنان جوان هستند. سایر گونه ها در دامپزشکی حائز اهمیت هستند. (۳)

اغلب این باکتری ها به پنی سیلین های مقاوم به بتالاکتاماز، سفالوسپورین ها یا وانکومايسين حساس می باشند. مقاومت به نفسیلین مستقل از تولید بتالاکتاماز می باشد و بروز این نوع مقاومت از نظر بالینی در کشورهای مختلف و در زمان های مختلف به مقدار زیادی متغیر می باشد. پیدایش باکتری های مقاوم به داروهای ضد میکروبی با مکانیسم تولید بتالاکتاماز تنها عامل ایجاد مقاومت به این داروها پس از مصرف درمانی آنها نمی باشد. برای مثال در دانمارک، استافیلوکوک طلایی مقاوم به نفسیلین ۴۰ درصد از تمام ایزوله ها را در سال ۱۹۷۰ تشکیل می داد این آمار بدون در نظر گرفتن تغییرات قابل توجه در مصرف نفسیلین یا داروهای مشابه می باشد. در آمریکا استافیلوکوک طلایی مقاوم به نفسیلین فقط حدود ۰/۱ درصد از ایزوله ها را در سال ۱۹۷۰ تشکیل می داد ولی در اواسط دهه ۱۹۸۰ این آمار به ۳۰-۱۰ درصد از ایزوله هایی که از عفونت های اکتسابی بیمارستانی در بعضی از بیمارستان ها تهیه شده را شامل می شود.

با در نظر گرفتن بروز سریع مقاومت دارویی در بین استافیلوکوک ها است که گاهی از اوقات در بعضی از بیمارستان ها کاربرد یک داروی ضد استافیلوکوکی ویژه فقط محدود به درمان بیمارانی می شود که بیماری شدید و جدی دارند. اعمال محدودیت در کاربرد داروهای باعث می شود تا طول دوره ای که یک داروی جدید بتواند مؤثر باشد طولانی تر شود. وانکومايسين هنوز مؤثرترین دارو بر ضد استافیلوکوک ها باقی مانده است (۳). هدف از این مطالعه این نیست که استفاده از عسل را بعنوان روش قطعی درمان معرفی کنیم بلکه می خواهیم توجه جراحان و پزشکان را بعنوان یک عامل درمانی جلب نماییم که به عنوان یک و در این زمینه مطالعات بیشتر انجام شود.

مواد و روش کار:

نوع مطالعه: مطالعه از نوع شاهددار آزمایشگاهی است.

جامعه مورد مطالعه جامعه مورد مطالعه شامل ۳۵ نوع استافیلوکوکوس اورئوس با خصوصیات آنتی بیوگرام متفاوت جمع آوری شده طی تحقیقی با عنوان «بررسی شیوع حامل های استافیلوکوکوس اورئوس در محیط بیمارستان» که از نمونه سواب بینی کارکنان بیمارستان می باشد.

حجم نمونه: ۳۳ گونه از باکتری های مذکور به متی سیلین مقاوم بودند و ۲ نمونه باکتریایی به وانکومايسين مقاوم بودند. جزئیات حساسیت سوبه های مقاوم به وانکومايسين از قرار زیر می باشد:

جدول ۱۳-۴ بررسی میزان حساسیت سوبه های مقاوم به وانکومايسين در آنتی بیوگرام و تعیین MIC و MBC آنها.

دقت نمونه	۷۵-۹۰	۷۳-۸۰	۶۱-۷۰	۵۱-۶۰	۴۱-۵۰	۳۱-۴۰	۲۱-۳۰	۱۱-۲۰	۱-۱۰	۰
۶	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
۳۹	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

روش نمونه گیری: به صورت سرشماری است.

روش جمع آوری اطلاعات:

اطلاعات بوسیله محیط کشت لوله ای و اضافه کردن عسل و محلول قندی به لوله ها با غلظت های مختلف و ارزیابی رشد باکتری های حاصل می شود. برای هر نمونه سه سری محیط لوله ای و در هر سری حدود ۱۰ لوله گذاشته می شود در هر غلظتی که کدورت ایجاد شد تا دو لوله قبل از آن، از لحاظ رشد باکتری، کشت تهیه می شود. و به این وسیله حداقل غلظت مهارکننده رشد باکتری برای آن روش در حضور عسل و محلول قندی بدست می آید. این روش Test tube serial dilution method نام دارد که جزییات آن از قرار زیر می باشد:

روشی بسیار دقیق و حساسی است ولی بطور معمول نمی توان از آن در آزمایشگاه های تشخیص طبی استفاده کرد. این روش به دو صورت میکرو و لوله ای انجام می پذیرد که در هر دو مورد می توان MIC (حداقل غلظت بازدارنده) یک آنتی بیوتیک را برای باکتری مشخصی محاسبه نمود. سپس MBC (حداقل غلظت کشنده باکتری) را در ارتباط با MIC بدست می آورند. معمولاً MBC ۲ تا ۴ برابر MIC است.

در این روش ۱۰ لوله استریل (به ابعاد ۱۳×۱۰۰mm) را شماره گذاری نموده و یک لوله نیز بعنوان شاهد در نظر گرفته میشود. در لوله ۲ تا

۱۰ و لوله شاهد ۱CC از محیط کشت استریل مولر هیتون براث ریخته و سپس محلول استریل تهیه شده از عسل (۱ گرم در ۱ میلی لیتر) (استریلیزاسیون توسط فیلتر یکبار مصرف با قطر منافذ ۰/۴۵ میکرومتر سارتریوس انجام شد) را به لوله ها اضافه می کنیم. در لوله شماره ۱ به میزان ۲CC محیط کشت ریخته و از لوله شماره ۱، ۱CC برداشته به لوله ۲ اضافه میکنیم تا رقت ۰/۵ تهیه گردد به همین ترتیب رقت های سریال ایجاد میگردد. (هر لوله رقتی ۲ برابر کمتر از لوله قبل خواهد داشت). از لوله آخر نیز ۱CC محلول برداشته و دور می ریزیم. لوله شاهد نیز فاقد محلول عسل می باشد. سپس به تمامی لوله ها و همچنین لوله شاهد ۱CC از سوسپانسیون تهیه شده از باکتری (استافیلوکوکوس اورئوس) اضافه می شود. این مجموعه را بمدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه می نمائیم. پس از ۲۴ ساعت لوله ها را مورد بررسی قرار می دهیم آخرین لوله ای که باکتری در آن رشد نکرده یا بعبارتی شفاف است را بعنوان MIC در نظر می گیریم. سپس از لوله نشان دهنده MIC و سه لوله ماقبل آن توسط نمونه استاندارد (با حجم ۰/۰۰۱ میلی لیتر) برداشته و روی محیط کشت جامد (مانند نوترین آگار یا بلاد آگار) کشت می دهیم و پلیت ها را بمدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد قرار می دهیم. پس از دوره انکوباسیون با بررسی پلیت ها MBC را تعیین

آماري معنی داری وجود دارد MIC و MBC عمل حداقل یک چهارم گلوکز می باشد.

جدول ۱) توزیع فراوانی آنتی بیوگرام استافیلوکوک طلایی های جدا شده از قسمت قدامی بینی کارکنان بیمارستان بعثت و توحید سنج

نتایج	حساس		نیمه حساس		مقاوم		کل	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
آنتی بیوتیک								
کلوگزاسیلین	۱	۱/۵	۱	۱/۵	۶۵	۹۷	۶۷	۱۰۰
وانکومايسين	۶۵	۹۷	۰	۰	۲	۳	۶۷	۱۰۰
ريفامپين	۶۴	۹۵/۵	۰	۰	۳	۴/۵	۶۷	۱۰۰
اریترومایسین	۵۸	۸۶/۵	۶	۹	۳	۴/۵	۶۷	۱۰۰
جنتامایسین	۶۳	۹۴	۰	۰	۴	۶	۶۷	۱۰۰
پنی سیلین	۰	۰	۰	۰	۶۷	۱۰۰	۶۷	۱۰۰
سیپروفلوکساسین	۶۶	۹۸/۵	۰	۰	۱	۱/۵	۶۷	۱۰۰
سفالکسین	۶۳	۹۴	۳	۴/۵	۱	۱/۵	۶۷	۱۰۰

جدول ۲) بررسی میزان حساسیت سویه های مقاوم به وانکومايسين در آنتی بیوگرام و تعیین MIC و MBC آنها.

دقت نمونه	۷۵/۳	۷۶/۱	۸۰/۱	۸۱/۵	۸۵/۱	۸۶/۱	۸۸/۱	۹۰/۱	۹۲/۱	۹۴/۱	۹۶/۱	۹۸/۱	۱۰۰
۶	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
۳۹	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

جدول ۳) میزان رشد ۳۵ گونه استافیلوکوکوس اورنوس در غلظتهای مختلف عمل طبیعی در محیط کشت لوله ای

نتیجه		رشد		عدم رشد	
غلظت (V/V %)		درصد	تعداد	درصد	تعداد
۶۶/۷		۵/۷	۲	۹۴/۳	۳۳
۳۳/۳		۱۱/۵	۴	۸۸/۵	۳۱
۱۶/۷		۱۴/۳	۵	۸۵/۷	۳۰
۸/۳		۳۴/۳	۱۲	۶۵/۷	۲۳
۴/۲		۱۰۰	۳۵	۰	۰
۲/۰۸		۱۰۰	۳۵	۰	۰
۱/۰۴		۱۰۰	۳۵	۰	۰
۰/۵۲		۱۰۰	۳۵	۰	۰
۰/۲۶		۱۰۰	۳۵	۰	۰

جدول ۴) فراوانی میزان MIC ۳۵ گونه استافیلوکوکوس اورئوس مورد مطالعه.

غلظت (V/V)	درصد	تعداد
۶۶/۷	۶	۲
۳۳/۳	۳/۱	۱
۱۶/۷	۲۱/۲	۷
۸/۳	۶۹/۷	۲۳
۴/۲	۹	۰
	۱۰۰	۳۵

جدول ۵) فراوانی میزان MBC ۳۳ گونه استافیلوکوکوس اورئوس که به عسل طبیعی حساس بودند.

غلظت (V/V)	درصد	تعداد
۶۶/۷	۹	۳
۳۳/۳	۱۲	۴
۱۶/۷	۲۷/۲	۹
۸/۳	۵۱/۸	۱۷
۴/۲	۹	۰
	۱۰۰	۳۳

بحث:

بر اساس این مطالعه حداقل غلظت بازدارنده عسل به عنوان محلول ضد باکتریال (V/V%) ۸/۳ است که در مقایسه با گلوکز (V/V%) ۳۳/۳، یک چهارم آن می باشد. با توجه به اینکه در غلظت ۸/۳ درصد حجمی، از عسل ۹۴/۲٪ از باکتری ها رشد نکرده است اما در مورد گلوکز در این غلظت همه باکتری ها رشد کرده اند و حتی در غلظت ۴ برابر این غلظت نیز رشد باکتری در گلوکز اتفاق افتاد، نشان دهنده این است که عدم رشد باکتری در غلظت (V/V%) ۸/۳ عسل مربوط به تاثیر غلظت و خاصیت اسمزی عسل نمی باشد چرا که در غلظت مشابه آن از گلوکز علی

رغم وجود خاصیت اسمزی رشد باکتری ها اتفاق افتاد که این دال بر خاصیت آنتی باکتریال عسل می باشد. نتیجه این مطالعه با مطالعه مولان و همکارانش (۶) تحت عنوان حساسیت کوکسی های گرم مثبت جدا شده از زخم، همخوانی دارد که در آن مطالعه ۱۸ گونه مقاوم به متی سیلین استافیلوکوکوس اورئوس و ۷ سویه اتروکوکوس حساس به وانکومایسین از زخم های عفونی جدا شده اند و حساسیت این باکتری ها نسبت به عسل طبیعی و محلول ساختگی قندی مقایسه گردید و مشخص شد MIC در حضور عسل مزرعه زیر ۱۰٪ (V/V%) است اما در حضور عسل مصنوعی تهیه شده ۳ برابر غلظت عسل طبیعی است و در مطالعه

مذکور سویه‌های حساس به آنتی بیوتیک با سویه‌های مقاوم به آنتی بیوتیک اختلاف واضحی را در حضور عسل نشان ندادند. که در مطالعه ما دو سویه از استاف که به وانکومایسین مقاومت کامل داشتند، نیز مقاومت کامل به عسل طبیعی داشتند که با مطالعه مذکور همخوانی ندارد.

مطالعه ما نشان می‌دهد که عسل اثر ضد باکتریایی مشابه وانکومایسین دارد و ۳۳ گونه استاف اورئوس از میان ۳۵ گونه که به وانکومایسین حساس هستند به عسل نیز حساس می‌باشند اما دو گونه که به وانکومایسین مقاوم می‌باشند به عسل نیز مقاوم می‌باشد که می‌تواند به عنوان جایگزین وانکومایسین در عفونت استافی مطرح گردد و در دست مطالعه قرار گیرد در مطالعه دیگری که توسط مولان و برت (۸) در رابطه بررسی عسل به عنوان پانسمان زخم عفونی انجام شد. در دومین

کنفرانس مجمع درمان زخم در بریسان استرالیا ارائه گردید، MIC استاف در عسل مانوکا ۰.۴٪ (V/V) و در عسل مزرعه ۰.۴ تا ۳٪ (V/V) اعلام گردید. در مطالعاتی که تحت عنوان فعالیت ضد باکتریال عسل بر روی باکتری‌های جدا شده از زخم‌ها انجام شد. میزان غلظت حداقل بازدارنده عسل در مورد استافیلوکوکوس کواگولاز مثبت (V/V) ۰.۲۵٪ اعلام گردیده است. که با مطالعه ما همخوانی ندارد. که این تفاوت می‌تواند به اثر موثره عسل باشد که این مواد بر اساس شهد و نوع گیاه متفاوت است.

در آخر مطالعه ما نشان داد که عسل طبیعی در غلظت‌های مشابه محلول قندی سبب مهارشد استافیلوکوکوس می‌شود که روشن است این اثر بدلانی غیر از اثر اسمزی آن می‌باشد.

REFERENCES :

- 1) Health fact sheet/national honey board SITE.
- 2) 2-MOLAN,PC ,THE ANTIBACTERIAL ACTION OF HONEY,BEE WORLD, 1992,739,5-28.
- 3) Honey and antimicrobial fact sheet, national honey board SITE.
- 4) R.A. Cooper, P.C. Molan and K.G. Harding .sensitivity of honey on the garm positive cocci isolated from wounds, j appl Microbial. 2002; 93(5), 857-63.
- 5) Namias N ,honey in the management of infections .surg infect (larchmt), 2003summer; 4(2):219-26.
- 6) Al-waili Ns, effects of topical honey on postoperative ..., Eur j MED res.1999 mars 26i 4(3):126-30.
- 7) Molan A;Brett M(1998),honey has potential as deressing for wound infected with MRSA, the second Austraialian management assosiation confrance ,Brisban Australia.

۸- میکروبیولوژی جاوتزو، ترجمه دکتر مسعود دارا، انتشارات شهر آب، ۲۳۷، ۱۹۹۵-۲۴۵

۹- آقایی مرتضی علی، ضیابری میرنظامی، عسل درمانی، انتشارات نورپردازان، ۴، ۱۳۸۱-۲۴