المجلة الطبية البيطرية العراقية 36 (1): 15– 24 ، 2012

الفاعلية الحيوية لمادة عسل النحل المحلي في نمو عدد من الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام

علي محمد غازي المحنة
وحدة بحوث الإمراض المشتركة / كلية الطب البيطري/ جامعة /العراق

الخلاصة

استهدفت الدراسة الحالية التحري عن النشاط الحيوي المضاد للجراثيم لتراكيز متدرجة من مادة العسل المحلي هي (125 ، 250 ، 375 ، 500 ملغم / مل) وقد اختبرت خمسة أنواع من الجراثيم اثنتان منها موجبة لصبغة كرام وهي العنقوديات الذهبية والمسبحيات وثلاثة جراثيم سالبة لصبغة كرام وهي الاشريشيا القولونية و السالمونيلا والزائفة الزنجارية باستخدام طريقة الانتشار عبر الاكار وطريقة التخفيف بالأنابيب . بينت نتائج الانتشار عبر الاكار بأن جراثيم العنقوديات الذهبية والمسبحيات هي الأكثر تحسساً لتخافيف العسل في حين أظهرت كل من جرثومتي الاشريشيا القولونية والسالمونيلا حساسية معتدلة فيما لم تظهر الزائفة الزنجارية أي تأثير يذكر كما وكان لدرجات حفظ الأوساط الزرعية (25˚ م ، 37˚ م) تأثيراً واضحاً على النتائج إذ تفوقت أقطار تثبيط النمو في الأطباق التي حضنت بدرجة (25˚ م) في اغلب النتائج المسجلة عن مثيلتها التي حضنت بدرجة حرارة (37˚ م) كما سجلت نتائج التخفيف بالأنابيب إن التركيز المثبط الادنىMIC كان (8، 8، 125، 64 ملغم / مل) لنمو العنقوديات الذهبية ، المسبحيات، الاشريشيا القولونية و السالمونيلا على التوالي في حين كان التركيز القاتل الادنى MBC للجراثيم المذكورة (32، 64 ، 250 ، 250 ملغم / مل) على التوالي للأنابيب التي حفظت بدرجة حرارة (25˚ م) أما الأنابيب التي حفظت بدرجة حرارة (37˚ م) فسجلت MIC (8 ، 16 ، 125 ، 250 ملغم / مل) على التوالي و MBC (32 ، 64 ، 125 و 250 ملغم / مل) على التوالي .

مفاتيح الكلمات: عسل محلي, الجراثيم الموجبة, الجراثيم السالبة, الفعالية الحيوية.

Biological activity of local honey bees in growth of some gram positive and negative bacteria

Al-MohanaA.M.G
Unit of Zoonotic Disease, College of Veterinary Medicine, AL-Qadisiya University, Iraq
Accepted:18/10/2011

Summary

The local study was targeting to investigate the biological antibacterial activity for gradiate concentrations of a local honey bees (125,250, 375 and 500 mg/ml) were tested for five type of bacteria, two of which are gram positive (staphylococcus*aureus* , *streptococcus spp.*) and three of them were negative bacteria (*Esherichia coli* , *salmonella spp.* , *pseudomonas aeruginosa*) by using agar well diffusion method and tube dilution method.

The results of agar well diffusion method showed that the bacteria of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus Spp*. were the most sensitive to honey dilutions, while *E.coli* ,*Salmonella Spp*. showed moderate sensitivity . *Pseudomonas aeruginosa*did not show any sensitivity. The result also showed that the temperature of incubation temperature of culture media (25and 37 C) had a marked effect on the result of local study, outperformed of diameters of growth inhibition in the cultures that were incubated at 25 C in most of the result recorded.The result of the tube dilution method, Minimum Inhibition Concentration (MIC) was (8 , 8 , 125 and 64) mg/ml for the growth of *S.aureus* , Streptococcus , *E.coli* and salmonella respectively , while the Minimum Bactericidal Concentration (MBC) for bacteria mentioned were (32 , 64 , 250 and 250) mg/ml respectively for tubes that incubated at 25 C while tubes which incubated at 37 C MIC recorded (8 , 8 , 125 and 250) mg/ml while MBC were (32 , 64 , 125 and 250) mg/ml respectively.

Keywords: honey bees, biological activity, gram positive, negative bacteria
Email: Vetcol94@yahoo.com

المقدمة

احتلت نواتج النحل في الآونة الأخيرة حيزاً مهماً من اهتمام الأطباء و الباحثين في العالم بصورة عامة والعراق بصورة خاصة لما تتمتع به هذه المنتجات من قيمة غذائية عالية من جهة وفعاليات حيوية وعلاجية منوعة من جهة أخرى وتشمل هذه النواتج الغذاء الملكي (Royal Jelly) وسم النحل (Bee venom) وحبوب الطلع(Pollen) وصمغ النحل (Bee glue) ومادة العسل (Honey bee) ويعد الأخير واحد من النواتج المهمة من الناحية الغذائية والطبية والعلاجية لما يحتويه من مجاميع كيمائية فاعلة .

العسل مادة طبيعية تنتج من قبل عاملات سلالات نحل العسل في معظم دول العالم والعسل الخام عادة ينتج في مزارع صغيرة ويترك على حالته الطبيعية بدون معاملة في الغالب (1) وأدرك المصريون والصينيون واليونانيون والإغريق وأهل اليمن وسكان وادي الرافدين المنافع العظيمة لعسل النحل وجعلوه في مقدمة أدويتهم لعلاج مرضاهم ووضعوه على قمة الأغذية القيمة التي كانوا يتغذون بها ورفعوه إلى مستوى الجواهر النفيسة التي كانوا يحتفظون بها ، إذ تم العثور على جرة من العسل في هرم توت عنخ آمون يقدر عمرها بأربعة الآلف سنة مازالت طيبة وزكية كما حفظت لكون العسل المادة الغذائية التي لا تتعرض للفساد بمرور السنيين (2) ومع شيوع استخدامه في الطب التقليدي عبر العصور وفي كل حضارات العالم القديم إلا إن استخدامه في الطب الحديث ما زال محدوداً لقلة المصادر والبحوث العلمية التي تدعم فوائده العلاجية (3) يستعمل العسل في مجال الطب التقليدي في علاج حالات الضعف العام (General weakness) واضطرابات القناة الهضمية وكمعزز غذائي للأمهات المرضعات وكمصدر للكالسيوم وفي معالجة فقر الدم ، كذلك يستخدم موضعياً في معالجة الماء الأبيض (ساد Cataract) والتهاب ملتحمة العين ، كما ويستخدم أيضاً في معالجة مختلف أمراض القرنية (4) . استهدفت الدراسة الحالية التحري عن الفاعلية المضادة للجراثيم لتخافيف متدرجة من مادة العسل المحلي وذلك من خلال دراسة تأثيرها على عدد من الجراثيم الممرضة الموجبة والسالبة لصبغة كرام والمعزولة من حالات مرضية مختلفة بالأطباق الزرعية وأنابيب الاختبار .

المواد طرائق العمل

تم جمع كمية من مادة العسل المحلي من عدة مناحل في مدينة الديوانية خلال شهر أيلول وتشرين الأول وتم تنظيفه من بقايا الشمع العالق به وذلك باستخدام شاش طبي معقم وبعدها وضع العسل المصفى في حاويات زجاجية نظيفة ومعقمة لحين استخدامه . حضرت أربع تراكيز متدرجة من مادة العسل المحلي وهي 125 ، 250 ، 375 ، 500 ملغم / مل باستخدام الماء المقطر إذ تم إذابة 10غم من مادة العسل في 20مل من الماء المقطر ليتم الحصول على التركيز 500 ملغم / مل ومنه حضرت بقية التراكيز المذكورة في أعلاه.تم استخدام خمسة أنواع من الجراثيم الممرضة لغرض دراسة فاعلية مادة العسل المحلي المنقى في المختبر وتم الحصول على العزلات الجرثومية من عدة مصادر وهي (المستشفى البيطري التعليمي في الديوانية ، مختبر الأحياء المجهرية/ كلية الطب البيطري – جامعة القادسية ، مختبرات وحدة بحوث الأمراض المشتركة / كلية الطب البيطري – جامعة القادسية) والمعزولة من حالات مرضية مختلفة وشخصت العزلات الجرثومية المذكورة أدناه في مختبرات وحدة بحوث الأمراض المشتركة / كلية الطب البيطري -جامعة القادسية (5 , 6) ثم حفظت العزلات المشخصة على أكار مائل من وسط نقيع الدماغ والقلب وهذه الجراثيم هي :

1- جرثومة المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus*
2- جرثومة المسيحيات القيحية *Streptococcus pyogens*
3- جرثومة الاشريشيا القولونية *E. Coli*
4- جرثومة السالمونيلا *Salmonella spp.*
5- جرثومة الزائفة الزنجارية.*Pseudomonas aeruginosa*

حضر العالق الجرثومي بتركيز (1×10^6) وحدة مكونة للمستعمرات / مل باستخدام طريقة أنابيب ماكفرلاند وحسب ما مذكور في (6) إذ تم تحضير أنبوبه ماكفرلاند وذلك بإضافة (0.05) مل من مادة (BaCl2) بتركيز 1% الى 95.5 مل من مادة حامض الكبريتيك (H2SO4) ثم قورنت كثافة العالق الجرثومي المحضر مع أنبوبة ماكفرلاند المذكورة أعلاه .

اجري هذا الاختبار باستخدام أكار فحص الحساسية Muller hinton agar الذي حضر بإذابة 38 غم في 1000 مل من الماء المقطر في وعاء زجاجي سعة 1000 مل بمساعدة اللهب ثم بعد تعقيمه بالمؤصدة Autoclave عند درجة حرارة 121˚ م وتحت ضغط 15 باوند / انج2 مدة 15 دقيقة ، صب الوسط الزرعي في أطباق بتري المعقمة وبواقع 20 مل من المستنبت لكل طبق ثم وضعت في الثلاجة لعدة دقائق للمساعدة على تصلب الوسط الزرعي ، تم نقل 0.1 مل من العالق الجرثومي المحضر في الفقرة السابقة إلى وسط فحص الحساسية ثم نشرت على سطح الطبق باستخدام الناشر الزجاجي (Spreader) وتركت الأطباق الزرعية بوضع مستوي لمدة 30 دقيقة لضمان التشرب الكامل للعالق الجرثومي في الوسط ، ثم عملت 5 حفر في كل طبق أربع منها محيطة أضيف إليها تراكيز مادة العسل المستخدمة قيد الدراسة وبواقع 0.1 مل لكل حفرة وواحدة مركزية وضع فيها المذيب المستخدم في تحضير التراكيز وهو الماء المقطر باستعمال ماصة دقيقة بعدها حضنت جميع الأطباق المحضرة بدرجة حرارة 37˚ م ودرجة حرارة 25˚ م مدة 24 ساعة وقرأت النتائج بعد ذلك بقياس أقطار تثبيط النمو حول الحفر باستخدام المسطرة .

تم تحضير سلسلة من التخافيف المتدرجة من مادة العسل المحلي في أنابيب الاختبار باستخدام المرق المغذي تراوحت قيمتها (2 ، 4 ، 8 ، 16 ، 32 ، 64 ، 125 و 250) ملغم / مل وبعدها لقحت جميع الأنابيب بما مقداره 0.1 مل من العالق الجرثومي الحاوي على (1×10^6) وحدة مكونة للمستعمرات / مل مع تحضير أنبوبه حاوية على المرق المغذي الملقح بالجرثومة قيد التجربة ممثلة سيطرة (1) وأنبوبة اختبار ثانية حاوية على المرق المغذي فقط ممثلاً سيطرة (2) وأجريت عملية إعادة التجربة في حالة عدم ظهور عكورة (Turbidity) في أنبوبة السيطرة (1) أو في حالة ظهورها في انبوبة السيطرة (2) ، بعدها حضنت جميع الأنابيب المذكورة في أعلاه عند درجة حرارة (37˚ م) لمدة 24 ساعة و حددت قيمة التركيز المثبط الأدنى (MIC) بأنها اقل تركيز من مادة العسل التي منعت ظهور عكورة واضحة للعيان في المستنبت الزرعي (المرق المغذي) فيما حددت قيمة التركيز القاتل الأدنى (MBC) بأخذ 0.1 مل من جميع الأنابيب التي لم تظهر عكورة وزراعتها على أطباق بتري الحاوية على الاكار المغذي وتم حضنها عند درجة حرارة 37˚ م مدة 24 ساعة وتم تحديد قيمة (MBC) بأنه اقل تركيز من مادة العسل الذي يقلل عدد المستعمرات الجرثومية بمقدار 99% من المزروع الأصلي .

النتائج و المناقشة

بينت نتائج اختبار حساسية الجراثيم المستخدمة قيد الدراسة وهي مجموعة الجراثيم الموجبة لصبغة كرام (العنقوديات الذهبية ، المسبحيات) ومجموعة الجراثيم السالبة لصبغة كرام وهي (الاشريشيا القولونية ، السالمونيلا ، الزائفة الزنجارية) لتراكيز متدرجة من مادة العسل المحلي في الإطباق الزرعية وهي (125 ، 250 ، 375 ، 500) ملغم / مل بأستخدام طريقة الانتشار عبر الاكار والتي تم بالإضافة الى ذلك اختبار تأثير درجة حرارة حضن الإطباق الزرعية عند درجات حرارة حفظ مختلفة باستخدام الحاضنة وهي (25˚م ،37˚ م) إن للتخافيف المختلفة تأثيرا واضحاً في تثبيط النمو الجرثومي لجميع الجراثيم المذكورة أعلاه عدا بعض الاستثناءات مع تباين هذا التأثير اعتمادا على ثلاث عوامل أساسية وهي عامل تركيز مادة العسل المستخدم ، درجة الحرارة التي استخدمت في حفظ الإطباق الزرعية في الحاضنة وعامل نوع الجرثومة المختبرة .

فقد اتضح من نتائج الدراسة والمدونة في الجدول (1) و (2) إن لمادة العسل تأثيرا مرتفعا على مجموعة الجراثيم الموجبة لصبغة كرام إذ ابتدء التأثير فيها من ادنى تركيز وهو 125 ملغم / مل وأعطت نتائج الإطباق الزرعية التي حفظت بدرجة حرارة 25˚ م أقطار من تثبيط النمو مقدارها (0 ± 13 ، 0 ± 8) ملغم / مل ضد نمو العنقوديات الذهبية و المسبحيات على التوالي و (0.33 ± 9.33 ، 0.33 ± 7.33) ملم على التوالي للإطباق الزرعية التي حفظت بدرجة حرارة 37˚ م وازدادت أقطار تثبيط النمو عند التركيز 500 ملغم / مل الى (0.66 ± 30.66 ، 0.33 ± 19.33) ملم ضد نمو العنقوديات الذهبية والمسبحيات على التوالي للإطباق الزرعية التي حفظت بدرجة حرارة 25˚ م و (0.66 ± 26.66 ، 0 ± 19) ملم على التوالي للإطباق الزرعية التي حفظت بدرجة حرارة37˚ م .

إما الجراثيم السالبة لصبغة كرام فقد كانت اقل تأثيرا بصورة عامة اذ لم يسجل التركيز 125 ملغم / مل أي قطر من تثبيط النمو ضد جميع الجراثيم السالبة لصبغة كرام في كل من الإطباق الزرعية التي تم حفظها في درجة حرارة 25˚ م و 37˚م أما التركيز الأعلى (500 ملغم / مل) فقد أعطت أقطارا من تثبيط النمو للجراثيم (الاشريشيا القولونية ، السالمونيلا) مقدارها (0.33 ± 17.33 ، 0.33 ± 14.33) ملم على التوالي للإطباق الزرعية التي حفظت بدرجة حرارة 37˚ م ، في حين لم تظهر جرثومة الزائفة الزنجارية أي حساسية تذكر اتجاهجميع تراكيز مادة العسل ولجميع الإطباق الزرعية والتي تم حفظها بدرجات حرارة (25˚ م ، 37˚ م) ومما تجدر الإشارة إليه الى ان الماء المقطر الذي استخدم كسيطرة سالبة لم يظهر هو الأخر أي تأثير يذكر في نمو جميع الجراثيم المختبرة قيد الدراسة . كما تبين إن هناك علاقة طردية بين تراكيز مادة العسل المستخدمة وقطر تثبيط النمو ضد الجراثيم الممرضة المذكورة (شكل 1, 2 ، 3 ، 4 و 5)

بين التحليل الإحصائي بأستخدام اختبار التباين مع اقل فرق معنوي بان كل من التركيز 375 ملغم / مل والتركيز 500 ملغم / مل قد اظهر تفوقاً معنوياً على جميع المضادات الحيوية المستخدمة كسيطرة موجبة وهي (الامبسلين ، السبروفلوكساسين و الجنتامايسين) في تثبيط نمو جرثومة العنقوديات الذهبية في حين اظهر التركيز 500 ملغم / مل تفوقاً إحصائيا على المضادان الحيويان الامبسلين و السبروفلوكساسين وتقارباً إحصائيا مع المضاد الحيوي الجنتامايسين (جدول 3 و 4) .

أظهرت نتائج حساب التركيز المثبط الأدنى (MIC) والتركيز القاتل الأدنى (MBC) باستخدام أنابيب الاختبار عندما حفظت الأنابيب في درجة حرارة25˚ م إن التركيز 8 ملغم / مل سجل كأقل تركيز مثبط لمادة العسل اتجاه جرثومتي العنقوديات الذهبية و المسبحيات والتركيز 64 ملغم / مل للسالمونيلا و 125 ملغم /مل للاشريشيا القولونية فيما سجل التركيز (32 ، 64 ملغم /مل) كأقل تركيز قاتل لجرثومتي العنقودية الذهبية والمسبحيات على التوالي والتركيز 250 ملغم/مل لكل من جرثومتي الاشريشيا القولونية والسالمونيلا .

اما عند حفظ الأنابيب في درجة حرارة 37˚ م فقد سجل التركيز 8 ملغم / مل كأدنى تركيز مثبط اتجاه العنقوديات الذهبية والتركيز 16 ملغم / مل للمسبحيات ، في حين كان التركيز 32 ملغم / مل كأقل تركيز قاتل اتجاه نمو العنقوديات الذهبية والتركيز 64 ملغم / مل اتجاه نمو المسبحيات في حين كان التركيز 125 ملغم / مل

يمثل التركيز المثبط الأدنى والقاتل الأدنى لنمو السالمونيلا والتركيز 250ملغم / مل للاشريشيا القولونية . (جدول 5، 6) .

جدول (1) تأثير تراكيز مادة العسل المحلي على نمو كل من الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام عند درجة حرارة حضن 25˚ م.

التركيز (ملغم/مل)	نوع الجرثومة ومعدل أقطار تثبيط النمو مقاسا بالملم ±الخطأ القياسي				
	العنقودية الذهبية	المسبحيات	الاشريشيا القولونية	السالمونيلا	الزائفة الزنجارية
125	13±0 Aa	13±0 Ab	0±0 Ac	0±0 Ac	0±0 Ac
250	0.33 19.66±Ba	11 ±0 Bb	10.33±0.33 Bb	10.33±0.33 Bb	0±0 Ac
375	24 ±0.57 Ca	15.33±0.33 Cb	13±0 Cc	13±0 Cc	0±0 Ad
500	30.66±0.66 Da	19.33±0.33 Db	17.33±0.22 Dc	14.33±0.33 Dd	0±0 Ae

- تشير الحروف الصغيرة المختلفة إلى وجود فروق معنوية بين القيم أفقياً وتحت مستوى احتمالية ($p<0.05$)
- تشير الحروف الكبيرة المختلفة إلى وجود فروق معنوية بين القيم عمودياً وتحت مستوى احتمالية($p<0.05$).

جدول (2) تأثير تراكيز مادة العسل المحلي على نمو كل من الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام عند درجة حرارة حضن 37˚ م.

التركيز (ملغم/مل)	نوع الجرثومة ومعدل أقطار تثبيط النمو مقاسا بالملم ±الخطأ القياسي				
	العنقودية الذهبية	المسبحيات	الاشريشيا القولونية	السالمونيلا	الزائفة الزنجارية
125	9.33±0.33 Aa	7.33±0.33 Ab	0±0 Ac	0±0 Ac	0±0 Ac
250	17.33±0.66 Ba	9.66±0.33 Bb	0±0 Ac	11.33±0.33 Bd	0±0 Ac
375	19.33±0.33 Ca	13.33±0.66 Cb	11.33±0.66 Bc	12.33±0.33 Bc	0±0 Ad
500	26.66±0.66 Da	19±0 Db	13.66±0.33 Cc	13±0 Bc	0±0 Ad

- تشير الحروف الصغيرة المختلفة إلى وجود فروق معنوية بين القيم أفقياً وتحت مستوى احتمالية ($p<0.05$)
- تشير الحروف الكبيرة المختلفة إلى وجود فروق معنوية بين القيم عمودياً وتحت مستوى احتمالية($p<0.05$)

جدول (3) تأثير عدد من المضادات الحيوية على نمو كل من الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام عند درجة حرارة 25˚ م

نوع المضاد الحيوي وتركيزه	نوع الجرثومة معدل أقطار تثبيط النمو مقاسا بالملم ±الخطأ القياسي				
	العنقودية الذهبية	المسبحيات	الاشريشيا القولونية	السالمونيلا	الزائفة الزنجارية
الامبسلين (10 مايكروغرام/مل)	مقاومة	مقاومة	15±0	مقاومة	مقاومة
السبروفلوكساسين (5 مايكروغرام/مل)	18.33±0.33	16±0	19±0	مقاومة	19.66±0
الجنتامايسين (10 مايكروغرام/مل)	15±1	مقاومة	18.33±0.33	14.66±1	مقاومة

جدول (4) تاثير عدد من المضادات الحيوية على نمو كل من الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام عند درجة حرارة 37ْم

نوع المضاد الحيوي وتركيزه	نوع الجرثومة معدل أقطار تثبيط النمو مقاسا بالملم ±الخطأ القياسي				
	العنقودية الذهبية	المسبحيات	الاشريشيا القولونية	السالمونيلا	الزائفة الزنجارية
الامبسلين (10 مايكروغرام/مل)	مقاومة	مقاومة	15.33±0.33	مقاومة	مقاومة
السبروفلوكساسين (5 مايكروغرام/مل)	18±1	14.66±0.33	20.33±0.33	مقاومة	19.66±0.33
الجنتامايسين (10 مايكروغرام/مل)	15±1	مقاومة	17.66±0.33	14.66±1	مقاومة

جدول (5) تأثير تراكيز مادة العسل المحلي على نمو كل من الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام في الأنابيب عند درجة حرارة 25ْ م

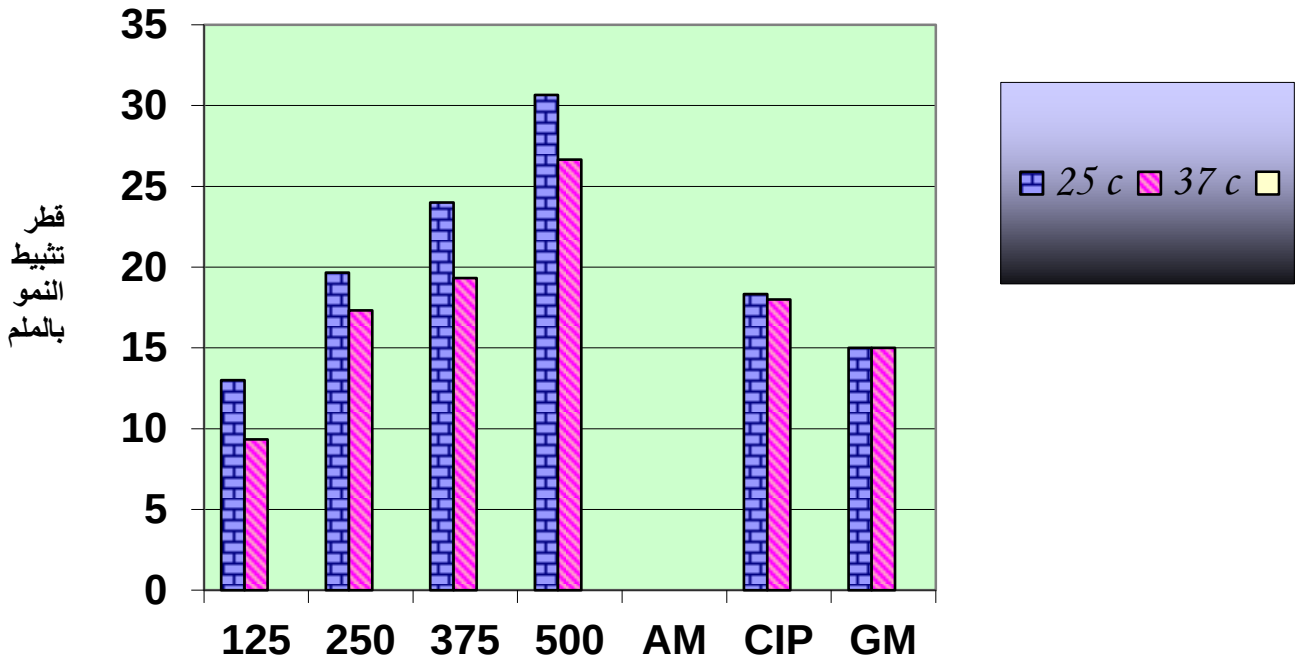
التركيز (ملغم/مل)	نوع الجرثومة ومعدل أقطار تثبيط النمو مقاسا بالملم ±الخطأ القياسي			
	العنقودية الذهبية	المسبحيات	الاشريشيا القولونية	السالمونيلا
2	-	-	-	-
4	-	-	-	-
8	+	+	-	-
16	+	+	-	-
32	++	+	-	-
64	++	++	-	+
125	++	++	+	+
250	++	++	++	++

(-) فعل غير مؤثر (+) فعل مثبط للجرثومة (++) فعل قاتل للجرثومة

جدول (6) تأثير تراكيز مادة العسل المحلي على نمو كل من الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام في الأنابيب عند درجة حرارة 37ْ م

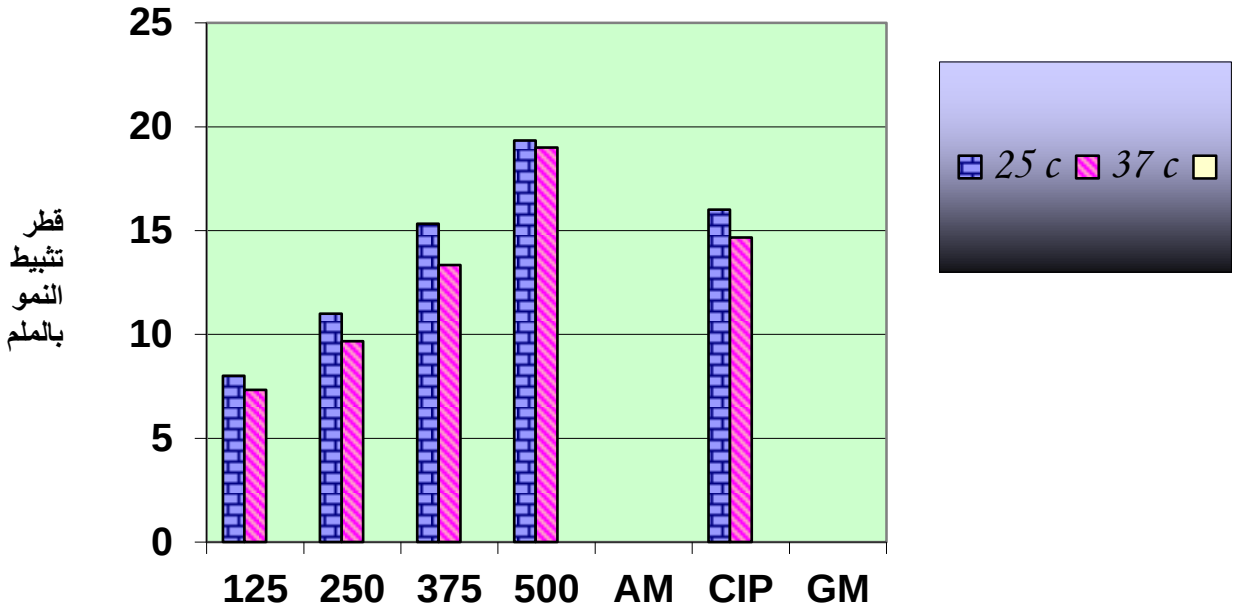
التركيز (ملغم/مل)	نوع الجرثومة ومعدل أقطار تثبيط النمو مقاسا بالملم ±الخطأ القياسي			
	العنقودية الذهبية	المسبحيات	الاشريشيا القولونية	السالمونيلا
2	-	-	-	-
4	-	-	-	-
8	+	-	-	-
16	+	+	-	-
32	++	+	-	-
64	++	++	-	-
125	++	++	-	+(++)
250	++	++	+(++)	+(++)

(-) تعني فعل غير مؤثر (+) تعني فعل مثبط (++) تعني فعل قاتل + (++) تعني إن التركيز مثبط وقاتل في الوقت نفسه



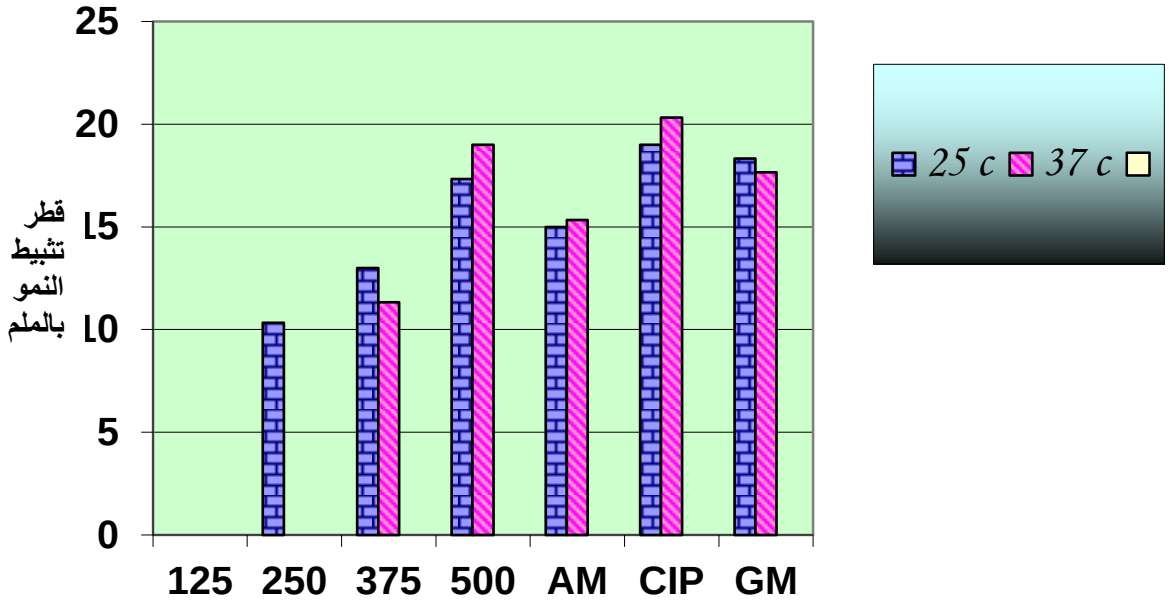
تركيز مادة العسل والمضادات الحيوية

شكل (1) العلاقة بين التراكيز المختلفة لمادة العسل المحلي والمضادات الحيوية ومعدل أقطار تثبيط النمو لجرثومة العنقوديات الذهبية .



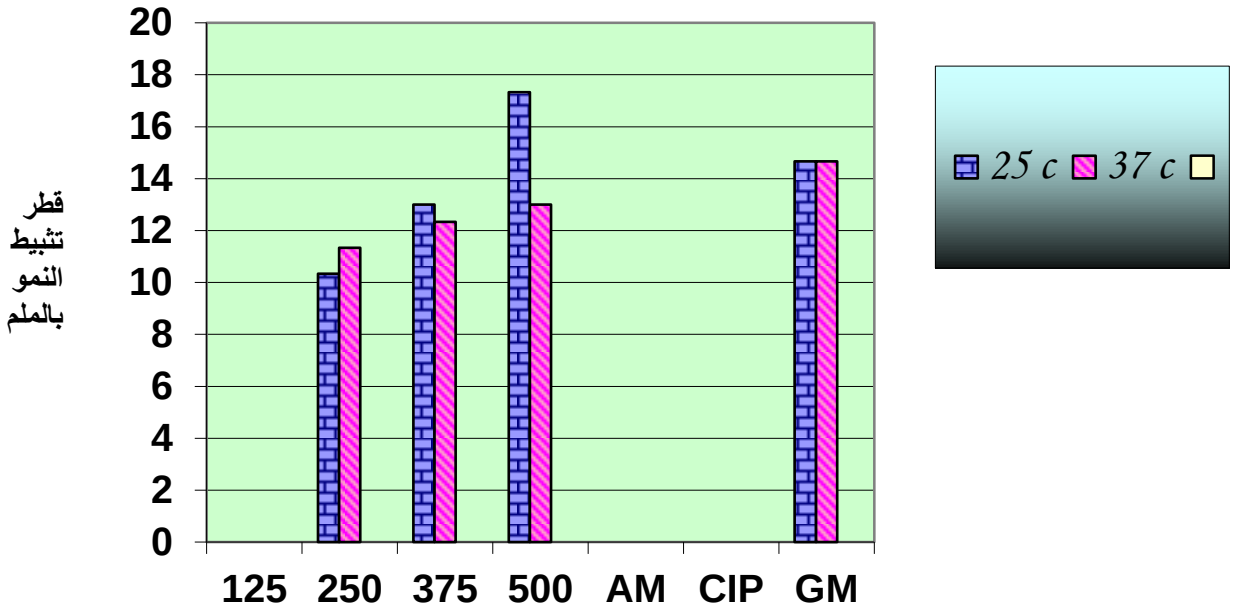
تركيز مادة العسل والمضادات الحيوية

شكل (2) العلاقة بين التراكيز المختلفة لمادة العسل المحلي والمضادات الحيوية ومعدل أقطار تثبيط النمو لجرثومة المسبحيات .



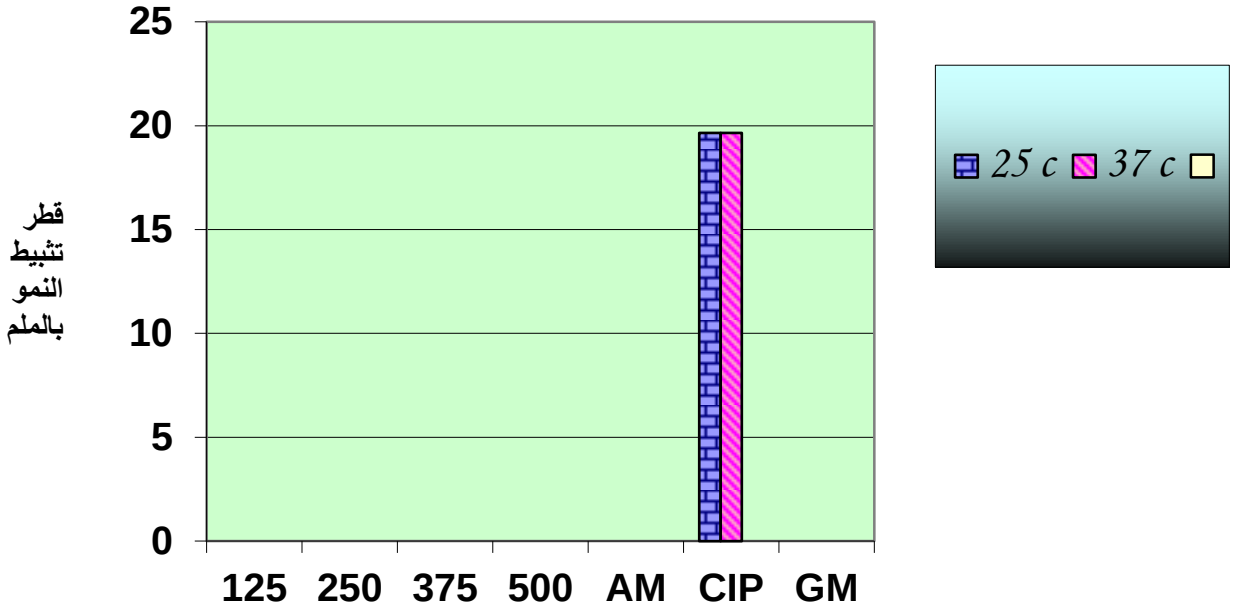
تركيز مادة العسل والمضادات الحيوية

شكل (3) العلاقة بين التراكيز المختلفة لمادة العسل المحلي والمضادات الحيوية ومعدل أقطار تثبيط النمو لجرثومة الاشريشيا القولونية .



تركيز مادة العسل والمضادات الحيوية

شكل (4) العلاقة بين التراكيز المختلفة لمادة العسل المحلي والمضادات الحيوية ومعدل اقطار تثبيط النمو لجرثومة السالمونيلا .



شكل (5) العلاقة بين التراكيز المختلفة لمادة العسل المحلي والمضادات الحيوية ومعدل اقطار تثبيط النمو لجرثومة الزائفة الزنجارية .

في هذه الدراسة اختبرت الفعالية الحيوية المضادة للجراثيم لمادة العسل المحلي الذي تم تحضيره بعدة تراكيز متدرجة وهي 125 ، 250 ، 375 ، 500 ملغم / مل ضد نمو وتكاثر خمسة أنواع من الجراثيم الممرضة والمعزولة من حالات مرضية مختلفة اذ كان نوعين منها موجبة لصبغة كرام وهي العنقوديات الذهبية *Staphylococcusaureus* والمسبحيات *Streptococcus spp.* وثلاثة أنواع سالبة لصبغة كرام وهي الاشريشيا القولونية *E . coli* السالمونيلا *Salmonella spp.* والزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa*

استخدم لهذا الغرض طريقة الانتشار عبر الاكار (Agar well diffusion method) والذي تم من خلاله التعرف على أقطار تثبيط النمو الذي تحدثها تراكيز العسل المضاف إلى الحفر المعمولة في الوسط الزراعي وطريقة التخفيف بالأنابيب Tube dilution method والذي تم من خلالها حساب وتحديد قيمة التركيز المثبط الأدنى (MIC) والتركيز القاتل الأدنى (MBC) لمادة العسل اتجاه الجراثيم التي تبدي فعالية واضحة في الإطباق الزراعية ، كما تم بالإضافة الى ذلك معرفة تأثير درجة الحرارة حفظ الإطباق الزراعية على النتائج من خلال حفظ الإطباق الزراعية بدرجتين حراريتين مختلفتين وهي (25مْ و37مْ) .

أوضحت نتائج اختبار الانتشار عبر الاكار أن التراكيز المختلفة لمادة العسل كان لها تأثيراً واضحاً وملموساً اتجاه مجموعة الجراثيم الموجبة لصبغة كرام وتأثيراً محدوداً اتجاه مجموعة الجراثيم السالبة لصبغة كرام (جدول 1 و 2) وهذا متفقمع ما توصلت اليه تقارير ودراسات أخرى أجريت في هذا الاتجاه على أنواع مختلفة من مادة العسل والذي تم جمعه من مناطق مختلفة من العالم اذ وجد الباحث Tajik (7) من خلال أختبار الفاعلية المضادة للجراثيم لمادة العسل الذي تم جمعه من مناحل مدينة Unmia في إيران على عدد من الجراثيم الممرضة الموجبة والسالبة لصبغة كرام ، بأن جرثومة العنقوديات الذهبية الموجبة لصبغة كرام كانت الأكثر تحسساً في حين كانت الاشريشيا القولونية السالبة لصبغة كرام الأقل تحسساً وهذه النتيجة أتفقت أيضا معتقارير ودراسات أخرى في هذا المجال والتي أختبرت فيها حساسية جرثومة العنقوديات الذهبية من قبل دراسات بكتريولوجية على مادة العسل ويرجع سبب ذلك إلى حساسية هذه الجرثومة المرتفعة اتجاه العسل (8 و 9) وعلى الرغم من إن سبب هذا التحسس المرتفع لهذه الجرثومة غير معروف على وجه الدقه ولكن يعتقد إن له علاقة مع البيئة الحامضية التي توفرها مادة العسل الطبيعي (9). كما درس الباحثانYagoubو El-Toum (10)فعالية ثلاثة أنواع من العسل وهي (Sidir , Sunflower , Sunut) ضد نمو عدد من الجراثيم وهي (*P. aeruginosa* , *S.aureus* , *E.coli* , *Klebsiellaaerugenes*)إضافة إلى خميرة المبيضة البيضاء ، كانت جرثومة العنقوديات الذهبية *S.aureus* الأكثر تحسساً اتجاه الأنواع الثلاثة في حين كانت الجراثيم *P.aeruginosa* , *K.aerugenes* , *E.coli* قليلة التأثر .العسل الأردني كان له تأثير تثبيطي واضح على نمو جراثيم *Shigelladysentery* , *Salmonella dublin* , *Bacillus subtlus*,*S.aureus* وقد بينت الدراسة إن الجراثيم موجبة كرام كانت الأكثر حساسية للتأثير التثبيطي لمادة العسل بالمقارنة مع الجراثيم سلبية كرام وقد يكون

لطبيعة التركيب الكيميائي للجدار الخلوي دورا في حساسية الجرثومة لتأثير العسل التثبيطي (2) . في نيجيريا أجريت دراسة من قبل الباحث Mogessie(11) اذ سجلت فيها فعالية العسل النيجري ضد نمو عدد من الممرضات المعزولة من الغذاء مثل*E.coli* , *S.enteritidis* , *S.typhimurium*وقد تم تثبيط نموها عند التركيز 15-20% في حين كان التركيز 10 % كافيا لتثبيط نمو جرثومة *S.aureus* ومما تجدر الإشارة اليه إلى إن جرثومة الزائفة الزنجارية قد أظهرت مقاومة مرتفعة اتجاه تراكيز العسل المحلي كافة وهذه النتيجة عززت النتائج التي تم التوصل إليها من قبل Efem (12) والذي سجل مقاومة جرثومة الزائفة الزنجارية للعسل كما وجد الباحثانYagoubو-El Toum(10) عدم تحسس جرثومة الزائفة الزنجارية اتجاه نوعين من العسل هي Sun honey و Sunflower honey بينما اظهر حساسية معتدلة اتجاه النوع Sidir honey وأعزا الباحث ذلك إلى إن الخضاب الخارجي exopigmentation المنتج من قبل هذه الجرثومة كان له دوراً معنوياً في بقاء ومقاومة جرثومة الزائفة إلى أجواء بيئية معينة . كما وتعزز نتائج دراستنا الحالية وبصورة عامة ما توصلت الية الدراسات العلمية العالمية التي أجريت على أنواع مختلفة من العسل والذي تم جمعه من دول مختلفة (13 , 14 و 15) أظهرت نتائج الدراسة تباين واضح لعامل التركيز المستخدم لمادة العسل المحلي في التأثير على جميع جراثيم الاختبار إذ أظهرت النتائج تبايناً واضحاً وملموساً بين التراكيز المستعمله في تأثيرها في نمو الجراثيم إذ في الوقت الذي لم تعطي معاملة السيطرة (الماء المقطر) أي تأثير يذكر في تثبيط النمو نجد أن زيادة تراكيز مادة العسل رافقه زيادة معنوية إحصائية وعند مستوى احتمالية ($P < 0.05$) في أقطار تثبيط النمو الجرثومي حتى بلغ أقصى تأثير له عند التركيز 500 ملغم / مل وقد يعود السبب في ذلك إلى إن زيادة التركيز المستخدم قد رافقه زيادة في المادة او المواد الفعالة ضد الجراثيم الموجودة في مادة العسل والذي ينعكس ايجابياً على النتائج في الأطباق الزراعية .

كما كان لعامل حفظ الأطباق الزراعية عند درجتين حراريتين هما 25مْ و37مْ تأثير واضحا على النتائج اذ أظهرت القراءة الإحصائية الى ان أقطار تثبيط النمو في الإطباق الزراعية التي حفظت بدرجة حرارة 25مْ مدة 24 ساعة قد أظهرت تفوقاً معنوياً احصائي على نتائج الإطباق الزراعية التي حفظت بدرجة حرارة 37مْ وللمدة الزمنية نفسها لمعظم التراكيز وعند معظم الجراثيم المختبرة عدا بعض النتائج التي لم تتأثر بدرجة حرارة الحضن ، ان تأثير هذا العامل قد يعود إلى ان حفظ الإطباق في درجة حرارة 25مْ قد يسهل من عملية انتشار تراكيز العسل في الطبق الزراعي مما أعطى فرصه اكبر للمادة الفعالة في الوصول إلى نقطة ابعد وبالنتيجة أعطت نتيجة ايجابية في هذا الاتجاه .

تعزى قدرة مادة العسل على تثبيط او قتل الجراثيم الى عوامل فيزيائية وكيميائية متنوعة فقد ذكر الباحث Molan(16) الى ان محتوى العسل من الكاربوهيدرات يعد احد العوامل التي تكسب مادة العسل فعالية مضادة للجراثيم والميكروبات بصورة عامة ، كما يحتوي العسل على lysozyme المعروف كعامل مضاد لنمو وتكاثر الجراثيم (17) والفلافونويدات الموجودة في العسل هي الأخرى تساهم وبالتآزر مع المركبات الأخرى في الفعل المضاد للجراثيم ولكن دورها في هذا الاتجاه محدودا نسبياً كما أشار الى ذلك الباحث (18) . كما عزلت عدة احماض اروماتية من أعسال نيوزلندية ووجد ان لها فعل مؤثر على نمو وتكاثر الجراثيم (16 و 19) .ذكرتتحقيقات أخرى في هذا الاتجاه الى ان الحامضية المنخفضة التي تتراوح بين 3.2-4.5 بجانب التناضحية العالية التي يتمتع بها العسل نتيجة محتواه السكري المرتفع له مسؤولية وبشكل معنوي على التأثيرات المضادة للجراثيم (20) كما عزلت عدد من المركبات الطيارة من نماذج عسل مختلفة اثبت فعاليتها ضد الجراثيم (21 و 22) ولكن مساهمتها الكمية في الفعل المضاد للجراثيم لمادة العسل لم يتم فحصها .

كما اثبتت دراسات أخرى الفعالية غير البيروكسيدية للعسل والمستخلصة بالمذيبات العضوية الا انها فشلت في معرفة طبيعتها الكيميائية (23 و 24). ذكرت مصادر عدة الى ان الفعل المضاد للجراثيم لمادة العسل يتمثل بالفعل التازري لعوامل عدة أهمها حامضية العسل ،الازموزية ، ووجود بيروكسيد الهايدروجين H2O2 والمواد الطيارة إضافة الى متبقيات شمع النحل ومادة البروبولس والرحيق وحبوب الطلع التي من الممكن ان تتواجد في العسل على هيئة متبقيات(25 ، 26 و 27) ومن العوامل الكيميائية المهمة في هذا الاتجاه والتي ثبت تواجدها في العسل هي مركبات Hydrogen peroxide(19) ومركب Cecropin-A و مركب Mellitin و مركب Methyl-3-4-5-Trimethoxybenzoate ،Methyl 3-5-Dimethoxy-4-hydroxybenzoate ومركب

3-5-Dimethoxy-4-hydroxybenzoic acid ، 3-4-5-methoxybenzoic acid ، nector (27 ، 28) .كما تحتوي بعض أنواع العسل على مشتقات التتراسايكلين derivativesTetracycline ، بيرو كسيدات Peroxides ، انزيم الاميليز Amylase ، الستربتومايسين Streptomycin ، السلفاثيازول Sulfathiazole ، تربينات Trepens ،alcohol Benzyl ، Benzoic acid(29 ، 30).

المصادر

1- Blasa, M., Candracci,M., Accorsi, A., Piacentini, M., Albertini, M. and Piatti , E.(2006) . Raw millefiori honey is packed full of antioxidants. Food Chem. 97:217-222.

2-إبراهيم,موسى (2006). العلاج بالعسل . الطبعة الأولى . دار الوضاح للنشر والتوزيع .عمان .الأردن .

3-Ali, AT.,Chowdhury, MN. and Al-Humayyd, MS.(1991). Inhibitory effect of natural honey on Helicobacter Pylori .Trop. Gastroenterol .12:139-143.

4- Krell, R. (1996). Value- added products from bee keeping. FAO agricultural.
5- Baron,E.;Peterson,L. and Finegold,S.(1994).Baily and Scott diagnostic Microbiology.19th ed. MosbyUSA.
6- Colle,J.,Fraser,A.,Marmion,B.andImmons,A.(1996).Markin and McCarteny "PracticalMedical Microbiology.14th Ed.Churchil.Livin- Gstone.NewYork.
8-Cooper, RA. (1998) .The inhibition of bacteria isolated from chronic Venous leg Ulcers by honey .J Med Microb. 47: 1140-1146.
7-Tajik, H., Jalali,F. and Javadi,S.(2008).Comparison of antibacterial activities of natural Urmiahoney and pencillinderivatives: An *in vitro* study. J Ani Vet Adv. 7:1097-1100.
9-Molan, PC. (1999) .Why honey is effective as a medicine. It use in modern medicine .Bee world .80.80-92.
10)-El-Toum , S. and Yagoub, S.(2007). Compression study of anti-microbial activity of honey –bees .J. Microb. 2:776-781.
11-Mulu,A., Tessema, B. and Derbie, F.(2004). *In vitro* assessment of the antimicrobial potential of honey on common human pathogens. Ethiop .J Health Dev. 18: 107-112.
12-Efem , SE., Udoh , ET. and Lwara, CL . (1992). The antibacterial spectrum of honey and its clinical significance . Infect. 20 :227 -229 .
13-Ceyhan, N. and Alqur, A. (2001). Investigation of *in vitro* antimicrobial activity of honey. Riv. Biol.,94:363-371.
14-Miorin, P.,Junior, N., Custodio, A.,Bretz,W.and Marcucci,M.(2003). Antibacterial activity of honey and propolis from *Apismellifera*&*tetragoniscaangustula* against *S.aureus*. J Applied Microb., 95:913-920.
15- Postoienko, V., Senchuhova, N., Postoienko, O. and Patyka, V. (2004). Antimicrobial properties of bee preparations in ointment form. Microbial. Z. 66:53-57.
16- Molan, BC. (1992). The antibacterial activity ofhoney. Bee world.,73 : 59-76.
17- Mohring,W. and Messner,R. (1998). lysozymalsantibacteriellesAgensim honing und Bienengift . Actabiol Med Germanica., 21 : 85-95.
18-Bogdanov, SA.(1984).Characterization of antibacterial substances in honey. lebensmittelwissenschaft and Technologie.17:74-76.
19-Russel, KM.; Molan, AL.; Wilkin,AK. and Holland,P.(1988).Identification of some antibacterial constituents of Newzealandmanuka honey .J Agric Food chemis. 38:10-13.
20-Yatsunami, K.andEchigo,T. (1984).Antibacterial activity of honey and royal jelly. Honey Bee Sci., 5:125-130.
21-Obaseiki-Ebor, E.; Afonya,T. and Onyekkweli, A.(1983). Preliminary report on antimicrobial activity of honey distillate .J Pharm Pharmacol. 35:748-749.
22-Toth, G., Lemberkovics, E.and Szabo,K.(1987). The volatile components of some hunarian honeys and their antimicrobial effects .Am Bee J. 127:496-497.
23- Radwan, S.; El-Essawy, A. and Sarhan, M.(1984) . Experimental evidence for the occurence in honey of specific substances active against microorganisms. ZentralMikrobiol. 139: 249-255.
24-Lavie,P.(1986).Propertes Antibacterial action of honey. Masson and Cie., 112_115
25-Gil,M.;Ferreres,A., Otiz,E.;Subra,E. and Tomas – Barberan,F. (1995). Plant phenolic metabolites and floral origin of nosemary honey . J Agric food chem. 43: 2833 - 2838 .
26-Mato,I.;Huidobro,J., Sanchez,M.;Simal – Lozano,J. and Sancho,M. (2000). Calculation of different citric acid forms in honey and their relationships with honey ph . Deutsche . Lebensmittel – Rundschau. 96 : 177 – 180 .
27- Weston, RJ., Mitchell,K. and Allen,K. (2000) . The contribution of catalase and other natural products to the antibacterial activity of honey:review. Food Chem. 71: 235-239.
28- Willix,D.,Molan,P. and Harfoot,C. (1992). A comparison of the activity of Manuka honey and other honey. J Appl Bacterio. 73: 388 – 394.
29-Heering,W. (1998). Immunochemical Screening for antimicrobial drug residue in Commercial honey. 123: 2759 – 2763.
30-Molan, P.(2000).Why honey and sugars as dressing for wound and ulcer. Trop. Doct., 4:249-258.