

## بررسی تأثیر عصاره‌ی الکلی بره موم (پروپولیس) حاصل از کندوهای زنبور عسل ایران بر رشد تریکوفیتون متاگروفایتیس، تریکوفیتون روبروم و تریکوفیتون وروکوزوم

دکتر محمد علی ضیاء\*، دکتر رضا منانی\*\*، محسن محمودی\*\*\*، دکتر منصور بیات\*\*\*\*،  
فرهاد محقق\*\*\*\*\*

\* متخصص قارچ شناسی دامپزشکی، استادیار گروه علوم پایه، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان، اصفهان، ایران.

\*\* فوق متخصص دارو شناسی، استادیار گروه پرستاری و مامایی، دانشکده پرستاری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان، اصفهان، ایران.

\*\*\* کارشناس ارشد انگل شناسی پزشکی، مربی مرکز آموزش و تحقیقات بهداشتی اصفهان، اصفهان، ایران.

\*\*\*\* متخصص قارچ شناسی دامپزشکی، استادیار گروه قارچ شناسی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات، تهران، ایران.

\*\*\*\*\* کارشناس علوم آزمایشگاهی، کارشناس مرکز آموزش و تحقیقات بهداشتی، اصفهان، ایران.

تاریخ دریافت: ۸۷/۲/۴

تاریخ پذیرش: ۸۷/۵/۳۰

### چکیده

پروپولیس ماده‌ای صمغی است که به وسیله‌ی زنبورها، از جوانه‌ها یا سایر قسمت‌های گیاه جمع‌آوری می‌شود. این ماده به خاطر ویژگی‌های بیولوژیک، دارا بودن ویژگی‌های ضد باکتریال، ضدقارچی و شفا دهنده‌ی شناخته شده است. فعالیت ضد قارچی پروپولیس در مطالعات متعدد بررسی شده است.

در این مطالعه، اثر پروپولیس بر روی ۲۱ سوش از سه گونه‌ی درماتوفیتی تریکوفیتون متاگروفایتیس، تریکوفیتون روبروم و تریکوفیتون وروکوزوم در محیط آزمایشگاهی بررسی شد. ابتدا عصاره‌ی الکلی بره موم تهیه و سپس در رقت‌های مختلف به محیط کشت SCC افزوده شد. در مرحله‌ی بعد قارچ در مرکز محیط‌های کشت حاوی عصاره، تلقیح و میزان رشد آن بر اساس قطر کلنی ایجاد شده در ده روز متوالی اندازه‌گیری و یادداشت و حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) عصاره تعیین گردید.

عصاره‌ی الکلی بره موم فعالیت ضدقارچی مناسبی را بر ضد این سه گونه نشان داد. حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) عصاره‌ی الکلی بره موم در هر میلی‌لیتر از محیط کشت برابر با ۰/۰۰۶۲۵، ۰/۰۱۲۵ و ۰/۰۵ به ترتیب برای تریکوفیتون وروکوزوم، تریکوفیتون متاگروفایتیس و تریکوفیتون روبروم تعیین شد.

به نظر می‌رسد که بره موم زنبور عسل ایران دارای ارزش دارویی به عنوان فرآورده‌ای طبیعی می‌باشد و می‌تواند فعالیت ضد قارچی خوبی داشته باشد.

**بره موم، تریکوفیتون متاگروفایتیس، تریکوفیتون روبروم، تریکوفیتون وروکوزوم، درماتوفیتوزیس**

مقدمه:

روش‌ها:

یافته‌ها:

نتیجه‌گیری:

واژگان کلیدی:

تعداد صفحات: ۱۰

تعداد جدول‌ها: ۱

تعداد نمودارها: -

تعداد منابع: ۲۱

محمد علی ضیاء، متخصص قارچ شناسی دامپزشکی، استادیار گروه علوم پایه، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان، اصفهان، ایران.

E-mail: mohammadalizia@yahoo.com

آدرس نویسنده مسئول:

## مقدمه

در سال‌های اخیر گزارش‌های متعددی در مورد ویژگی‌های فرآورده‌های طبیعی ضد میکروبی اختصاصی جهت معالجه‌ی عفونت‌های میکروبی منتشر شده که یکی از موارد قابل ملاحظه، بره موم یا پروپولیس است.

بره موم یا پروپولیس ماده‌ای شبیه موم و از تولیدات زنبور عسل است که ظاهر آن به دلیل دخالت عوامل زیادی، به طور گسترده‌ای ممکن است متفاوت باشد (۶)، اما به طور معمول حالت آن خمیری و رنگ آن از سبز، قرمز تا قهوه‌ای تیره متفاوت است. پروپولیس دارای بوی مطبوع و خاصیت چسبندگی است که به دلیل واکنش قوی آن با چربی‌ها و پروتئین‌های پوست می‌باشد (۲۰).

از نظر لغوی کلمه‌ی پروپولیس یک کلمه‌ی یونانی است که از دو بخش Pro به معنی جلو و دفاع و Polis به معنی شهر تشکیل شده است و در مجموع معنی دفاع از شهر را می‌دهد و زنبورها از آن برای مقاصدی همچون پر کردن سوراخ‌های کندو، صاف کردن دیواره‌های داخلی کندو، مومیایی کردن اجساد حشراتی که به داخل کندو راه یافته و مرده‌اند و زنبورها قادر به خارج کردن آنها نیستند، استفاده می‌کنند. ضمن این که پروپولیس به واسطه‌ی اثر در ضد عفونی و دارا بودن ویژگی‌های ضد میکروبی، کلنی آنها را از بیماری‌ها محافظت می‌کند (۲۰).

زنبور ابتدا تکه‌های صمغ تراوش شده از جوانه یا شکوفه یا تنه برخی از درختان نظیر اکالیپتوس، صنوبر، شاه بلوط، کاج، نارون، بید و سپیدار را به وسیله‌ی قطعات دهانی و پای خود جمع‌آوری و داخل سبد گرد نموده، به کندو حمل می‌کند (۲). در حین جمع‌آوری، مقداری بزاق و سایر ترشحات زنبور با آن مخلوط می‌شود و زنبور آورنده‌ی بره موم در محلی روی کف

کندو قرار گرفته، برای جدا کردن این ماده از روی پاهای خود مدت‌ها وقت صرف می‌کند و ممکن است زنبورهای دیگر در این کار به وی کمک کنند. تعداد زنبورهایی که در یک کلنی برای جمع‌آوری بره موم فعالیت می‌کنند بسیار محدود است (۱۲، ۹-۸، ۴، ۲).

به طور طبیعی پروپولیس از ۳۰٪ موم، ۵۰٪ صمغ، ۱۰٪ چربی‌های ضروری، آروماتیک و مواد معطر گیاهی و ۵٪ پولن تشکیل شده است (۱۸، ۴، ۲). ترکیب شیمیایی این ماده بسیار پیچیده است و بیش از ۳۰۰ ترکیب در نمونه‌های پروپولیس شناسایی شده‌اند و ترکیب آن به منبع گیاهی و فلور محلی بستگی دارد (۲۰). پروپولیس دارای اسیدهای آلیفاتیک و آروماتیک، استرها، فلاونوئیدها، قندها، گلیسرول، اسید فسفریک، وانیلین، میریستین، ویتامین‌های تیامین، ریبوفلاوین، نیاسین، پانتوتنیک اسید، پیریدوکسین، A، E و C در مقادیر مختلف می‌باشد. همچنین دارای مواد معدنی شامل آهن، منگنز، مس، کلسیم، وانادیوم، آلومینیوم، استرانتیوم، سیلیکون، روی، سدیم، ید و منیزیم می‌باشد و نیز به مقادیر بسیار کم اسید آمینه که بیشتر از نوع آرژنین و پرولین دارد. سوکسینیک دهیدروژناز، گلوکز ۶ فسفاتاز، آدنوزین تری فسفاتاز، اسید فسفاتاز و بتا آمیلاز نیز در محتویات بره موم یافت شده است که بیشتر به خاطر مخلوط شدن آن با بزاق زنبور حین جمع‌آوری می‌باشد (۱۸، ۱۲، ۵).

### بررسی تأثیر عصاره‌ی الکی بره موم رشد

#### تریکووفیتون متاگروفا تیس

فعالیت بیولوژیک پروپولیس به طور عمده به واسطه‌ی چند ماده نظیر فلاونوئیدها، ترین‌ها، اسیدهای کافئیک، فرولیک، کوماریک و استرهاست. بره موم به طور گسترده جهت فعالیت‌های ضد میکروبی علیه طیف وسیعی از

طبق مطالعات، پروپولیس غیر سمی و بدون عوارض جانبی بوده، می‌تواند با غلظت ۱/۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم یا معادل ۷۰ میلی‌گرم در روز مصرف شود و بعد از درمان با غلظت‌های مختلف پروپولیس (۱، ۳ و ۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز) و عصاره‌های مختلف (آب یا اتانول) و زمان تجویز (۳۰، ۹۰ و ۱۵۰ روز) هیچ تغییر مشخصی نه در مجموع غلظت‌های چربی، تری‌گلیسریدها، کلسترول و کلسترول HDL و نه در فعالیت‌های اختصاصی AST و LDH ایجاد نمی‌کند (۶).

در این مطالعه تأثیر عصاره‌ی الکی بره موم را در ممانعت از رشد سه گونه‌ی تریکوفیتون متاگروفایتیس، تریکوفیتون روبروم و تریکوفیتون وروکوزوم جدا شده از بیماران مبتلا به درماتوفیتوز، در محیط کشت SCC (Sabouraud Chloramphenicol Cycloheximide Agar) (سابورو دکستروز آگار + کلرآمفنیکل و سیکلوهمگزمید ساخت شرکت QUELAB انگلستان) مورد بررسی قرار دادیم.

## روش‌ها

الف- نمونه‌گیری از بیماران ابتدا از بیماران مبتلا به درماتوفیتوز نمونه‌برداری گردید و نمونه‌ها در محیط کشت SCC تلقیح شدند. پس از رشد کلنی با استفاده از خصوصیات ماکروسکوپی، میکروسکوپی و در صورت لزوم ویژگی‌های فیزیولوژیک، جنس و گونه‌ی آنها تعیین و سه گونه‌ی تریکوفیتون متاگروفایتیس، تریکوفیتون روبروم و تریکوفیتون وروکوزوم جدا سازی شدند.

ب- تهیه‌ی عصاره مشخص شده است که فعالیت‌های بیولوژیک یک نمونه، به متدولوژی به کار رفته برای تهیه‌ی عصاره بستگی دارد. معمول‌ترین مواد به کار رفته برای تهیه‌ی

میکروارگانسیم‌ها (شامل باکتری‌ها، قارچ‌ها و ویروس‌ها) و نیز به‌خاطر فعالیت‌های ضد التهابی، بی‌حسی، شفا دهنده‌گی، آنتی‌اکسیدان، ضد تومور، ضد زخم و محافظت‌کننده‌ی کبد به کار رفته است (۵).

مطالعات متعدد نشان داده‌اند که پروپولیس دارای تأثیر بازدارندگی حداقل روی ۲۱ گونه‌ی باکتریایی، ۹ گونه‌ی قارچی، ۳ گونه‌ی تک یاخته‌ای و طیف وسیعی از ویروس‌هاست (۱۹). مطالعات صورت گرفته تأثیر آن را بر قارچ‌های بیماری‌زا از جمله گونه‌های مختلف کاندیدا و درماتوفیت‌ها مشخص کرده‌اند (۱۷، ۱۴، ۱۱).

مطالعات انجام گرفته در ایران بسیار محدود می‌باشد، اما در مطالعه‌ی آویژگان و همکاران اثر ضد قارچی عصاره‌ی گیاه خوشاریزه بر تعدادی از درماتوفیت‌ها بررسی شد که اثر آن بر تریکوفیتون شوئن لاینی و وروکوزوم مطلوب بود (۱).

درماتوفیت‌ها از جمله قارچ‌های رشته‌ای ایجادکننده‌ی بیماری درماتوفیتوز یا کچلی می‌باشند که بر اساس خصوصیات میکروسکوپی به سه جنس تریکوفیتون، میکروسپوروم و اپیدرموفیتون تقسیم می‌شوند. این قارچ‌ها کراتین دوست بوده، با کلونیزاسیون در بافت‌های کراتینی نظیر ناخن، پوست و مو باعث بروز بیماری می‌شوند. این بیماری در تمام دنیا انتشار داشته، حداقل ۱۰٪ از مردم دنیا به این بیماری مبتلا هستند. بر طبق گزارش‌های موجود، در ایالات متحده به تنهایی سالانه بالغ بر ۱۰۰ میلیون دلار هزینه‌ی درمان دارویی با گریزئوفولوین است و در کشورهای در حال توسعه نیز هزینه‌های زیادی صرف درمان بیماران می‌گردد؛ لذا انجام تحقیقات برای دستیابی به داروهای غیر سنتتیک و طبیعی، می‌تواند علاوه بر پیشگیری از عوارض زیاد داروهای شیمیایی، باعث صرفه‌جویی اقتصادی نیز گردد.

کشت به دست آمد. به ارلن هشتم عصاره‌ی الکی بره موم اضافه نشد و از آن به عنوان شاهد استفاده گردید. تمام ارلن‌ها در اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد، فشار ۱۵ پوند بر اینچ مربع و به مدت ۱۵ دقیقه استریل شدند. سپس محتویات هر ارلن در ۱۰ پتری دیش به طور مساوی تقسیم شد. به این ترتیب در هر بار آزمایش مقدار ۸۰ پتری دیش حاوی محیط کشت SCC حاوی رقت‌های مختلف عصاره‌ی بره موم به دست آمد.

د- کشت کلنی‌های قارچی موجود در پتری دیش‌های محتوی رقت‌های مختلف عصاره‌ی بره موم از استرین‌های تریکوفیتون متاکروفایتیس تریکوفیتون روبروم و تریکوفیتون وروکوزوم موجود در محیط کشت SCC که از نمونه‌های بالینی بیماران حاصل شده بود، به مقدار مساوی توسط آنس استریل و در کنار شعله برداشته و در مرکز پتری دیش محتوی رقت‌های مختلف عصاره‌ی الکی بره موم تلقیح شد، به این ترتیب هر کدام از این گونه‌ها، در هر ۷ رقت عصاره‌ی موجود در محیط‌های کشت تلقیح و در انکوباتور و در دمای ۲۵ درجه‌ی سانتیگراد نگهداری شدند.

ه- بازدید و بررسی روزانه‌ی میزان رشد کلنی‌های قارچی در محیط‌های کشت محتوی رقت‌های مختلف عصاره‌ی بره موم

کلیه‌ی پتری دیش‌های تلقیح شده به صورت روزانه مورد بازدید قرار گرفته، پس از مشاهده‌ی اولین شواهد رشد، قطر کلنی قارچی به طور جداگانه برای هر استرین قارچی و هر رقت، توسط کولیس دیجیتال (Mitutoyo ساخت کشور ژاپن) اندازه‌گیری و یادداشت گردید.

#### یافته‌ها

کلیه پتری دیش‌های حاوی رقت‌های مختلف عصاره‌ی الکی بره موم که با قارچ تلقیح شدند به مدت یک هفته

عصاره در روش‌های بیولوژیک، اتانول، متانول و آب هستند (۵). در این مطالعه نمونه‌های پروپولیس خرد و برای تهیه‌ی عصاره، مقدار ۱۰ گرم از آن را به دقت توزین شده، در یک بالن ۲۵۰ میلی‌لیتری ریخته شد و سپس حجم نمونه به وسیله‌ی اتانول ۹۶٪ به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده و مخلوط به خوبی به هم زده شد. این عمل روزی یک یا دو بار به مدت ۳ روز تکرار گردید، سپس این مخلوط در مکانی گرم و تاریک به مدت یک تا دو هفته نگهداری و پس از این مدت مخلوط صاف گردید و ماده‌ی صاف شده به مدت یک روز در دمای (۴-۱) درجه‌ی سانتیگراد (در یخچال) قرار گرفت و سپس محلول دوباره فیلتر شد و عصاره‌ی به دست آمده در شیشه‌ای غیرقابل نفوذ و تیره نگهداری گردید. سپس الکل باقی‌مانده در سوسپانسیون به دست آمده به وسیله دستگاه سوکسله به طور کامل جدا شد و عصاره‌ی الکی خالص به دست آمد. روش کار بدین صورت بود که محلول الکی در یک محفظه‌ی استوانه‌ای شکل قرار داده شد که در قسمت زیر محفظه‌ی فیلتر قرار دارد. دستگاه شامل دو لوله‌ی خروجی است که یکی از آنها به شیر آب متصل و دیگری به پمپ خلاء اتصال می‌یافت. با توجه به این که حلال الکل در دمای پایین‌تر از آب تبخیر می‌گردد، در مدت چند ساعت به طور کامل از محلول جدا و عصاره‌ی الکی بره موم در محفظه جمع‌آوری شد.

ج- تهیه رقت‌های سریال از عصاره‌ی خام الکی برای انجام این کار، ابتدا مقدار ۸۰۰ میلی‌لیتر از محیط کشت SCC تهیه و سپس به میزان ۱۰۰ میلی‌لیتر در ۸ ارلن جداگانه تقسیم شد. در مرحله‌ی بعدی به ارلن‌های اول تا هفتم به ترتیب مقادیر ۲۰، ۱۰، ۵، ۲/۵، ۱/۲۵، ۰/۶۲۵ و ۰/۳۱۲ میلی‌لیتر از عصاره‌ی الکی بره موم اضافه گردید. لذا رقت‌های ۰/۲، ۰/۱، ۰/۰۵، ۰/۰۲۵، ۰/۰۱۲۵، ۰/۰۰۶۲۵ و ۰/۰۰۳۱۲ در هر میلی‌لیتر از محیط

در انکوباتور در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد نگهداری و پس از یک هفته میزان رشد کلنی بررسی و قطر کلنی‌های ایجاد شده در آن‌ها اندازه‌گیری گردید و سپس

جدول ۱. میزان رشد کلنی تریکوفیتون متناگروفایتیس، تریکوفیتون روبروم و تریکوفیتون وروکوزوم در محیط‌های کشت حاوی رقت‌های مختلف

عصاره‌ی الکی بره موم در ده روز متوالی بر حسب سانتی‌متر

	۰/۳۱۲	۰/۶۲۵	۱/۲۵	۲/۵	۵	۱۰	۲۰	رقت	
								روز	قطر قارچ
<i>T. mentagrophytis</i>	۳/۷	۱/۱۵	-	-	-	-	-	۱	
	۳/۹	۱/۳۵	-	-	-	-	-	۲	
	۴/۴	۱/۵۵	-	-	-	-	-	۳	
	۵/۰۵	۲/۳۸	-	-	-	-	-	۴	
	۵/۵	۳/۰۸	-	-	-	-	-	۵	
	۵/۷	۳/۳۵	-	-	-	-	-	۶	
	۵/۷۵	۳/۵۱	-	-	-	-	-	۷	
	۵/۸۱	۳/۸۲	-	-	-	-	-	۸	
	۵/۸۴	۳/۹	-	-	-	-	-	۹	
	۵/۹۵	۳/۹۷	-	-	-	-	-	۱۰	
<i>T. rubrum</i>	۷/۸۵	۷/۲۶	۶/۰۴	۳/۶۱	-	-	-	۱	
	۸/۴۵	۷/۸۳	۶/۶۵	۳/۹	-	-	-	۲	
	۸/۹۵	۸/۲	۷/۰۵	۴/۲	-	-	-	۳	
	۹/۸	۸/۴۵	۷/۹۵	۵/۳	-	-	-	۴	
	۱۰/۶	۸/۸	۸/۵	۶/۳۵	-	-	-	۵	
	۱۱/۱	۹/۳۵	۸/۷	۶/۵	-	-	-	۶	
	۱۲/۱۸	۹/۷۶	۸/۸۶	۷/۳۶	-	-	-	۷	
	۱۳/۱۵	۱۰/۱	۹/۱	۸/۴	-	-	-	۸	
	۱۳/۲۰	۱۰/۱۸	۹/۱۵	۸/۴۷	-	-	-	۹	
	۱۳/۲۵	۱۰/۲۴	۹/۲۶	۸/۵۶	-	-	-	۱۰	
<i>T. verrucosum</i>	۱/۱۵	-	-	-	-	-	-	۱	
	۱/۴	-	-	-	-	-	-	۲	
	۱/۹	-	-	-	-	-	-	۳	
	۲/۴	-	-	-	-	-	-	۴	
	۳/۱	-	-	-	-	-	-	۵	
	۳/۲	-	-	-	-	-	-	۶	
	۳/۲۵	-	-	-	-	-	-	۷	
	۳/۳	-	-	-	-	-	-	۸	
	۳/۳۲	-	-	-	-	-	-	۹	
	۳/۳۳	-	-	-	-	-	-	۱۰	

ترکیبات متنوعی نظیر الکل‌ها، آلدئیدها، فلاونوئیدها، اسیدهای آمینه، کالکون‌ها، استرها، استون‌ها، اسیدهای چرب و ... تشکیل شده است که هر یک از این ترکیبات در صنایع دارویی ارزش بالایی دارد.

پروپولیس به‌خاطر ویژگی‌های بیولوژیک و فارماکولوژیک نظیر فعالیت‌های ضدالتهابی، ضد توموری، ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدان، محرک سیستم ایمنی و ... توجه محققین را جلب کرده است. علاوه بر این محصولات محتوی پروپولیس با وسعت زیاد در صنایع داروسازی، بهداشتی و غذایی وارد شده است. طبق مطالعات پروپولیس غیرسمی بوده و دامنه‌های DL50 آن ۷۰۲-۲ گرم بر کیلوگرم در موش است و غلظت‌های ایمن برای انسان می‌تواند ۱/۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم یا ۷۰ میلی‌گرم در روز باشد.

اگر چه در برخی از موارد با مصرف پروپولیس، آلرژی و درماتیت تماسی گزارش گردیده است ولی عصاره‌ی اتانول و آب پروپولیس دارای عمل ضد آلرژیک، ممانعت‌کنندگی از آزادسازی هیستامین در ماست‌سل‌های صفاقی رات بوده است. اما در هر صورت غلظت‌های بالاتر از ۳۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر پروپولیس به‌طور غیرمستقیم ماست‌سل را فعال نموده، آزادسازی مدیاتورهای التهابی را افزایش می‌دهد که می‌تواند منجر به بروز آلرژی در اشخاص حساس به پروپولیس شود (۲۰).

به‌طور معمول زنبورها، پروپولیس را فقط از اواخر بهار تا اوایل پاییز تولید می‌کنند و اطلاعات نشان می‌دهد که تغییرات فصلی در ترکیب پروپولیس، معنی‌دار نبوده، اغلب به‌صورت کمی هستند (۱). پروپولیس مورد نیاز ما در این پژوهش نیز در فصل تابستان و از منطقه‌ی زیاران واقع در استان قزوین تهیه شد.

در مورد تریکوفیتون روبروم، در رقت‌های ۲۰، ۱۰ و ۵ میلی‌لیتر از عصاره‌ی الکی بره موم در ۱۰۰ میلی‌لیتر از محیط کشت SCC، هیچ‌گونه رشدی مشاهده نشد ولی در رقت‌های ۲/۵، ۱/۲۵، ۰/۶۲۵ و ۰/۳۱۲ بعد از یک هفته انکوباسیون در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد، کلنی‌هایی با قطر به‌ترتیب برابر با ۳/۶۱، ۶/۰۴، ۷/۲۶ و ۷/۸۵ سانتی‌متر تشکیل شد، یعنی با کاهش غلظت عصاره‌ی الکی در محیط کشت، بر میزان قطر کلنی افزوده شد. به این ترتیب حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) رشد برای تریکوفیتون روبروم ۰/۰۵ میلی‌لیتر در هر میلی‌لیتر از محیط کشت تعیین شد.

در مورد تریکوفیتون وروکوزوم، در رقت‌های ۲۰، ۱۰، ۵، ۲/۵، ۱/۲۵ و ۰/۶۲۵ در تمامی روزهای بررسی رشد کلنی مشاهده نشد، اما در رقت ۰/۳۱۲ بعد از یک هفته انکوباسیون، کلنی با قطر ۱/۱۵ سانتی‌متر تشکیل و پس از ده روز قطر آن به ۳/۳۳ سانتی‌متر رسید. حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) رشد برای تریکوفیتون وروکوزوم، ۰/۰۰۶۲۵ تعیین گردید.

## بحث

بره موم زنبور عسل یا Propolis ماده‌ای مرکب از صمغ انواع درختان و گیاهان مختلف است که کارگران زنبور عسل آن را در سبد گرده‌های خود جمع‌آوری کرده، با ایجاد تغییراتی در آن، از آن به عنوان ماده‌ای درزگیر، صیقل‌دهنده، ضد عفونی‌کننده‌ی داخل کندوها و مومیایی کردن لاشه‌ی حشرات تلف شده در داخل کندو استفاده می‌کنند.

بره موم از ترکیباتی شامل صمغ، موم، روغن‌های فرار و گرده‌ی گل و با استفاده از آنالیز بیوشیمیایی از

کوکنی و آرترودرما کاجتانی) بررسی نموده و تمام آنها را مؤثر دانسته‌اند (۲۱).

ما در تحقیق خود از عصاره‌ی متانولی بره موم استفاده و اثرات بسیار خوب آن را در ممانعت از رشد تریکوفیتون و روکوزوم، تریکوفیتون روبروم و تریکوفیتون متاگروفایتیس مشاهده نمودیم.

در مطالعه‌ی دیگری نیز فعالیت ضد قارچی پروپولیس بر گونه‌های مختلف کاندیدا بررسی گردید و حساسیت کاندیدا آلیکنس نسبت به سایر کاندیداها از جمله تروپیکالیس، کروزه‌ای و گیلرموندی بیشتر گزارش شد (۱۷).

Koc در تحقیق خود به اثر ضد قارچی بره موم اشاره و اثر ضد قارچی عصاره‌ی اتانولی این ماده را برای تریکوفیتون روبروم و تریکوفیتون متاگروفایتیس در مقایسه با سایر داروهای ضد قارچی بررسی و پروپولیس را به‌عنوان یک ماده‌ی دارای فعالیت ضدقارچی مؤثر معرفی نموده‌اند (۱۰).

در مطالعه‌ی ما نیز سه گونه‌ی تریکوفیتون متاگروفایتیس، تریکوفیتون روبروم و تریکوفیتون و روکوزوم مورد مطالعه قرار گرفت و نتایج نشان داد که بره موم زنبور عسل ایران از خاصیت ضد قارچی بسیار عالی برای تریکوفیتون و روکوزوم و به نسبت بالا برای تریکوفیتون متاگروفایتیس برخوردار است. ضمن این که در مورد تریکوفیتون روبروم نیز خواص ضد قارچی عصاره‌ی بره موم در پیشگیری از رشد کلنی قارچی مشاهده شد ولی این خاصیت کمتر بود و برای ممانعت از رشد کلنی به مقادیر حدود سه برابر نسبت به دو گونه‌ی قبلی نیاز است.

به نظر می‌رسد که عصاره‌ی الکی پروپولیس علیه طیف وسیعی از درماتوفیت‌ها در غلظت‌های ۰/۲۵ تا

معمول‌ترین عصاره‌های مورد استفاده در روش‌های بیولوژیک، عصاره‌های اتانول، متانول و آب با غلظت‌های مختلف هستند (۲۰). ما در این مطالعه از عصاره‌ی اتانولی پروپولیس با غلظت ۱۰٪ استفاده کردیم.

مطالعات نشان داده‌اند که بره موم به میزان زیادی خواص ضد باکتریایی، ضد تک یاخته‌ای، ضد ویروسی و ضد قارچی دارد (۱۹، ۱۳، ۶) و در رابطه با بیماری‌های باکتریایی مشخص شده است که این ماده با وجود داشتن تأثیر به‌سزایی در مهار رشد باکتری‌های گرم مثبت، تأثیر ناچیزی بر باکتری‌های گرم منفی دارد (۱۳). بررسی‌های انجام شده بر روی قارچ‌های بیماری‌زا نیز نشان می‌دهد که بره موم تأثیر زیادی بر روی بیماری‌های قارچی به خصوص کاندیدیازیس داشته است (۱۴، ۱۱).

فعالیت ضد میکروبی پروپولیس ممکن است به واسطه‌ی عمل مستقیم روی میکروارگانیسم و یا غیر مستقیم از طریق تحریک سیستم ایمنی و کشتار بیشتر میکروارگانیسم باشد. همچنین پروپولیس ممکن است اثرات سینرژتیک با داروهای ضد میکروبی داشته باشد. روش‌های *in vitro* و *in vivo* اثبات کرده‌اند که پروپولیس ممکن است ماکروفازها را فعال کرده، فعالیت میکروب‌کشی آنها را افزایش دهد و نیز تولیدآنتی‌بادی‌ها را تحریک کند (۵).

Tosi و همکاران اثر عصاره‌های اتانول، گلیسرین، پروپیلن گلیکول و روغن (عصاره‌گیری شده از حبوبات خوراکی) را بر روی باکتری‌های گرم مثبت، گرم منفی و قارچ‌ها (کاندیدا آلیکنس، رودتورولا گلوتینیس، ساکارومیسس سرویسیه و شیزو ساکارومیسس پومبه) و درماتوفیت‌ها (میکروسپوروم

پروپولیس علیه ۶۷ مخمر جدا شده از اونیکومایکوزیس را بررسی و اثر آن را در درمان این بیماری عالی توصیف کردند، از نظر آنها پروپولیس یک ماده‌ی طبیعی ارزان، غیر سمی و با فعالیت اثبات شده‌ی ضد قارچی است که می‌تواند در درمان عفونت‌های قارچی مورد استفاده باشد (۱۶).

به نظر می‌رسد بره موم زنبور عسل ایران از خاصیت ضدقارچی بسیار خوبی برخوردار بوده، در صورت استفاده‌ی صحیح می‌تواند در درمان عفونت‌های قارچی جلدی ناشی از درماتوفیت‌ها به کار رود. با توجه به تنوع پوشش گیاهی در ایران بهتر است بره موم زنبور عسل در مناطق مختلف ایران جمع‌آوری گردد و تحقیقات لازم در مورد اثر آن‌ها بر انواع میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا صورت گیرد.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات مدیریت و کارکنان محترم مرکز آموزش و تحقیقات بهداشتی اصفهان وابسته به دانشگاه علوم پزشکی تهران کمال تشکر و قدردانی را دارد.

### References

1. Avijgan M, Saadat M, Nilforoushzadeh MA, Hafizi M. The effect of the extract of Khosharizeh plant on some of dermatophytes. *Journal of herbal drugs* 2006; 5(18): 10-6.
2. Ebadi R, Ahmadi AA. Bee breeding. Isfahan: Rah-e-Nejat-e-Isfahan Publications; 1990.
3. Bosio K, Avanzini C, D'Avolio A, Ozino O, Savoia D. In vitro activity of propolis against *Streptococcus pyogenes*. *Lett Appl Microbiol* 2000; 31(2): 174-7.
4. Burdock GA. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food Chem Toxicol* 1998; 36(4): 347-63.
5. De Vecchi E, Drago L. Propolis' antimicrobial activity: what's new? *Infez Med* 2007; 15(1): 7-15.
6. Fernandes FF, Dias AL, Ramos CL, Ikegaki M, de Siqueira AM, Franco MC. The "in vitro"

۲ درصد میلی‌لیتر فعال هستند (۷). در مطالعه‌ی ما نیز حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) برای سه‌گونه‌ی *تریکوفیتون وروکوزوم*، *متاگروفایتیس* و *روبروم* به ترتیب برابر با ۰/۰۰۶۲۵، ۰/۰۱۲۵ و ۰/۰۵ میلی‌لیتر از عصاره‌های الکی بره موم در هر میلی‌لیتر از محیط کشت تعیین شد.

با توجه به نتایج به دست آمده مشخص می‌شود که *تریکوفیتون وروکوزوم* بیشترین حساسیت را نسبت به عصاره‌ی الکی بره موم دارد، شاید به این علت که این قارچ در شرایط عادی نیز دارای رشد کند در محیط‌های کشت می‌باشد و برای تقویت رشد نیاز به افزودن مکمل به محیط کشت وجود دارد.

همچنین با توجه به تفاوت در MIC به دست آمده برای هر قارچ بهتر است این مقدار برای کلیه‌ی درماتوفیت‌ها تعیین و تجویز عصاره‌ی الکی بره موم با توجه به حساسیت هر گونه صورت گیرد. در هر صورت لازم است مطالعات لازم بر روی موجودات آزمایشگاهی و در شرایط *in vivo* صورت گرفته، محاسن و عوارض دارویی این ماده به دقت بررسی شود. Oliveira و همکاران اثر فعالیت عصاره‌ی

- antifungal activity evaluation of propolis G12 ethanol extract on *Cryptococcus neoformans*. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2007; 49(2): 93-5.
7. Grange JM, Davey RW. Antibacterial properties of propolis (bee glue). *J R Soc Med* 1990; 83(3): 159-60.
8. Greenaway W, Scaysbrook T, Whatley F. The composition and plant origins of propolis: a report of work at Oxford. *Bee World* 1990; 71(3): 107-18.
9. Ghisalberty EL. Propolis: A review. *Bee World* 1979; 60: 59-84.
10. Koc AN, Silici S, Ayangil D, Ferahbas A, Cankaya S. Comparison of in vitro activities of antifungal drugs and ethanolic extract of propolis against *Trichophyton rubrum* and *T.*

- mentagrophytes by using a microdilution assay. *Mycoses* 2005; 48(3): 205-10.
11. De Azevedo IB, Sampaio RF, Montes JC, Contreras RL. [Treatment of decubitus ulcers with propolis]. *Rev Bras Enferm* 1986; 39(2-3): 33-7.
  12. Krell R. Value-added products from beekeeping (Fao agricultural services Bulletin). Rome: Food & Agriculture Organization of the UN; 1996. Kujungiev A, Tsvetkova I, Serkedjieva Y, Bankova V, Christov R, Popov S. Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. *J Ethnopharmacol* 1999; 64(3): 235-40.
  13. Liu CF, Lin CC, Lin MH, Lin YS, Lin SC. Cytoprotection by propolis ethanol extract of acute absolute ethanol-induced gastric mucosal lesions. *Am J Chin Med* 2002; 30(2-3): 245-54.
  14. Murad JM, Calvi SA, Soares AM, Bankova V, Sforcin JM. Effects of propolis from Brazil and Bulgaria on fungicidal activity of macrophages against *Paracoccidioides brasiliensis*. *J Ethnopharmacol* 2002; 79(3): 331-4.
  15. Oliveira AC, Shinobu CS, Longhini R, Franco SL, Svidzinski TI. Antifungal activity of propolis extract against yeasts isolated from onychomycosis lesions. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2006; 101(5): 493-7.
  16. Ota C, Unterkircher C, Fantinato V, Shimizu MT. Antifungal activity of propolis on different species of *Candida*. *Mycoses* 2001; 44(9-10): 375-8.
  17. Salatino A, Teixeira EW, Negri G, Message D. Origin and Chemical Variation of Brazilian Propolis. *Evid Based Complement Alternat Med* 2005; 2(1): 33-8.
  18. Scifo C, Cardile V, Russo A, Consoli R, Vancheri C, Capasso F, et al. Resveratrol and propolis as necrosis or apoptosis inducers in human prostate carcinoma cells. *Oncol Res* 2004; 14(9): 415-26.
  19. Sforcin JM. Propolis and the immune system: a review. *J Ethnopharmacol* 2007; 113(1): 1-14.
  20. Tosi B, Donini A, Romagnoli C, Bruni A. Antimicrobial activity of some commercial extracts of propolis prepared with different solvents. *Phytother Res* 1996; 10(4): 335-6.

Received: 23.4.2008

Accepted: 20.8.2008

## The Effects of Alcoholic Extract of Propolis Obtained from Iran Bee Hives on the Growth of *Trichophyton Mentagrophytis*, *Trichophyton Rubrum* and *Trichophyton Verrucosum*

Mohammadali Zia Ph.D<sup>\*</sup>, Reza Mannani Ph.D<sup>\*\*</sup>, Mohsen Mahmoodi<sup>\*\*\*</sup>, Mansour Bayat Ph.D<sup>\*\*\*\*</sup>, Farhad Mohaghegh<sup>\*\*\*\*\*</sup>

<sup>\*</sup> Assistant Professor, Department of Basic Sciences, Islamic Azad University- Khorasgan Branch, Isfahan, Iran.

<sup>\*\*</sup> Assistant Professor, Department of Nursing and Midwifery, Islamic Azad University- Khorasgan Branch, Isfahan, Iran.

<sup>\*\*\*</sup> Faculty Member of Isfahan Health Education and Researches Center, Isfahan, Iran.

<sup>\*\*\*\*</sup> Assistant Professor, Department of Veterinary, Islamic Azad University - Sciences & researches Branch, Tehran, Iran.

<sup>\*\*\*\*\*</sup> Member of Isfahan Health Education and Researches Center, Isfahan, Iran.

<b>Background:</b>	<b>Abstract</b> Propolis is a resinous material collected by bees from the buds or other parts of plants. It is known for its biological, antibacterial, antifungal and healing properties. Antifungal activity of propolis was studied in several studies. In this study, the effects of propolis on the 21 strains of 3 species of dermatophytes, including <i>Trichophyton mentagrophytis</i> , <i>T. rubrum</i> and <i>T. verrucosum</i> was studied.
<b>Methods:</b>	First the alcoholic extract of propolis was provided and then this extract was added to SCC medium in different dilutions. Then the fungus was inoculated in the center of medium containing of propolis and the growth rate of fungus was measured based on the colony diameter at ten days and Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of the extract was determined.
<b>Findings:</b>	Alcoholic extract of propolis showed antifungal activity against of these three species. MIC of Alcoholic extract of the propolis in each milliliter of medium was 0.00625 for <i>T. verrucosum</i> , 0.0125 for <i>T. mentagrophytis</i> and 0.05 for <i>T. rubrum</i> .
<b>Conclusion:</b>	It seems that propolis of Iranian bees as a natural product has a good antifungal activity.
<b>Key words:</b>	<b>Propolis, <i>Trichophyton mentagrophytis</i>, <i>Trichophyton rubrum</i>, <i>Trichophyton verucosum</i>, Dermatophytosis.</b>

Page count: 10

Tables: 1

Figures: -

References: 21

**Address of Correspondence:** Mohammadali Zia, Assistant Professor, Department of Basic Sciences, Islamic Azad University- Khorasgan Branch, Isfahan, Iran.  
E-mail: mohammadalizia@yahoo.com.