

بررسی اثر سه نوع عسل بر مهار رشد قارچ کاندیدا آلبیکنس در شرایط آزمایشگاهی

دکتر پویا جمال پور^۱، دکتر سیمین لسان^۲، دکتر مهدی غودرزی^۳

۱- دندانپزشک

۲- استادیار گروه بیماریهای دهان، فک و صورت دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی

۳- استادیار گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

وصول مقاله: ۹۹/۱۰/۳۰ اصلاح نهایی: ۱۴۰۰/۱/۱۷ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۲/۱۸

Investigate the Antifungal Effect of Three Type of Honey on Candida Albicans, An In Vitro Study

Pouya Jamalpour¹, Simin Lessan², Mehdi Ghodarzi³

1-Dentist

2-Assistant professor, Oral Medicine Dept, Faculty of Dentistry, Tehran Medical Science, Islamic Azad University, Tehran, Iran

3-Assistant professor Microbiology Dept, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Science, Tehran, Iran

Received: Jan 2021

; Accepted: May 2021

Abstract

Background and aim: Candida albicans is the main fungus in human mucous membranes that causes superficial and life-threatening infections in immunocompromised individuals as an opportunistic pathogen. Honey has been used to treat many systemic diseases such as asthma, gastrointestinal diseases and skin diseases such as wounds, injuries and eczema. The aim of this in vitro study was to investigate the antifungal effect of honey on Candida albicans.

Materials and Methods: In this experimental and in-vitro study, 47 plates containing Candida albicans were examined. Samples of natural honey were prepared from Khoy, Salmanshahr from local beekeepers and commercial samples from Mahram company. Volume percentages of 20,40,60,80,95 were prepared from all honey samples. Cup-plate technique and Agar diffusion method and Sabourad dextrose agar (SDA) culture medium were used to investigate the growth inhibition and diameter of growth inhibition zone. The obtained results (diameter of growth inhibition zone) were analyzed after three cultures by SPSS 24 and one-way ANOVA statistical method. Tukey test was also used for pairwise comparison, P<0/05 was considered significant.

Results: All types of honey in maximum concentrations (95%) inhibited the growth of Candida and only Salmanshahr honey in a concentration of 80% inhibited the growth of Candida albicans. There was a significant difference in inhibited of Candida albicans between groups with P = 0.03. Comparing Salmanshahr honey with Mahram honey with P = 0.022, a significant difference was obtained and Salmanshahr honey significantly inhibited Candida. There was no significant difference between Khoy honey and Mehram honey with P = 0.27.

Conclusion: The findings of this study showed that honey in high concentrations can have an inhibitory effect on the growth of Candida albicans and can be used as a safe antifungal treatment in patients.

Keywords: Honey, Candida albicans, antifungal activity

*Corresponding Author: siminlesan@yahoo.com

J Res Dent Sci. 2021; 18(2):99-108

خلاصه:

سابقه و هدف: کاندیدا آلبیکنس اصلی ترین قارچ در غشاهای مخاطی انسان است که در افراد باضعف ایمنی به عنوان یک پاتوژن فرصت طلب سبب عفونتهای سطحی و تهدید کننده حیات می شود. عسل شهدی است که برای درمان بسیاری از بیماری های سیستمیک مانند آسم، بیماری های گوارشی و بیماری های پوستی مثل زخم ها، جراحات و اگرما مورد استفاده قرار گرفته است. هدف از انجام این تحقیق تعیین اثر ضد قارچی عسل بر قارچ کاندیدا آلبیکنس در محیط آزمایشگاهی بود.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی و آزمایشگاهی ۴۷ پلیت حاوی قارچ کاندیدا آلبیکنس مورد بررسی قرار گرفت. نمونه های عسل طبیعی از شهرهای خوی، سلمانشهر از زنبورداران محلی و نمونه تجاری از شرکت مهram تهیه شد. از تمامی نمونه های عسل درصد های حجمی ۶۰، ۸۰، ۹۵، ۲۰، ۴۰ تهیه شد. برای بررسی مهار رشد و قطر هاله عدم رشد از تکنیک چاهک-پلیت (Cup-Plate)، روش Agar diffusion و محیط کشت سابورود دکستروز آگار (SDA) استفاده شد. یافته های به دست آمده (قطر هاله عدم رشد) پس از سه بار کشت با آزمون SPSS 24 و روش آماری One-way ANOVA مورد بررسی قرار گرفتند. همچنین برای مقایسه دو به دو از تست Tukey استفاده شد و ($P < 0.05$) معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها: تمام انواع عسل در غلظت های حداکثری (۹۵٪) مانع رشد کاندیدا شدند و فقط عسل سلمانشهر در غلظت ۸۰٪ نیز مانع رشد کاندیدا آلبیکنس شد. در مهار کاندیدا آلبیکنس بین گروهها با ($P = 0.03$) اختلاف معناداری وجود داشت. در مقایسه عسل سلمانشهر و عسل مهram با ($P = 0.02$) اختلاف معناداری به دست آمد و عسل سلمانشهر به طور معناداری باعث مهار کاندیدا شد. در مقایسه عسل خوی و عسل مهram با ($P = 0.27$) اختلاف معناداری دیده نشد. **نتیجه گیری:** یافته های این مطالعه نشان داد که عسل در غلظت های بالا می تواند اثر مهار بر رشد قارچ کاندیدا آلبیکنس داشته باشد و می توان از آن جهت درمان ضد قارچ ایمن در بیماران استفاده کرد.

کلید واژه ها: عسل، کاندیدا آلبیکنس، فعالیت ضد قارچی**مقدمه:**

ماده از دوران باستان به عنوان ماده غذایی و درمانی برای درمان بسیاری از بیماری های سیستمیک نظیر بیماری های تنفسی مانند آسم، بیماری های گوارشی و بیماری های پوستی مثل زخم ها، جراحات و اگرما مورد استفاده قرار می گرفته است. پراکسید هیدروژن و عوامل فیتوکمیکال، خاصیت اسموتیک عسل، عوامل مهمی هستند که فعالیت آنتی میکروبیال عسل را توجیه می کنند. از آنجایی که این بیماری ها نتیجه تخریب اکسیداتیو می باشند می توان بخشی از خواص درمانی عسل را به دلیل ظرفیت آنتی اکسیدان آن دانست.^(۳-۵) در مطالعات انجام شده بر روی تاثیر عسل بر قارچ کاندیدا آلبیکنس اثرات ضد قارچی عسل نشان داده شده است.^(۴،۶،۷،۸) Anyanwu و همکاران در نیجریه نشان دادند نمونه های عسل در غلظت های مختلف سطوح متفاوتی از اثر

کاندیدا آلبیکنس اصلی ترین قارچ در غشاهای مخاطی انسان است که در بیشتر افراد سالم به صورت همزیست در حفره دهان، لوله گوارش و مجاری ادراری-تناسلی یافت میشود. در افراد با ایمنی تضعیف شده، کاندیدا آلبیکنس به عنوان یک پاتوژن فرصت طلب پدیدار میشود و سبب عفونتهای سطحی و حتی تهدید کننده حیات می شود. کاندیدا آلبیکنس سومین پاتوژن خونی یافت شده در بیماران بستری آمریکا و یکی از علل اصلی مرگ و میر در افراد با ایمنی سرکوب شده در سراسر دنیا است.^(۱)

افزایش مقاومت قارچها به داروهای ضد قارچی و از سویی عوارض جانبی متعدد در پی استفاده از آنها استفاده از ترکیبات طبیعی با منشا بیولوژیک را رونق داده است.^(۲) عسل، شهدی است که توسط زنبور عسل از گیاهان جمع آوری می شود. این

قارچ کاندیدا آلبیکنس در محیط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

این تحقیق به روش تجربی و در شرایط آزمایشگاهی بر روی ۴۷ عدد پلیت حاوی قارچ کاندیدا آلبیکنس انجام شد. نمونه گیری با استفاده از انتخاب تصادفی انجام گرفت.

نمونه قارچی از مجموعه کشت و صنعت ایران با کد ATCC 5027 فراهم شده و کشت داده شد. در این مطالعه از نمونه های عسل طبیعی و تجاری استفاده شد. نمونه های عسل طبیعی از شهرهای خوی و سلمانشهر از زنبورداران محلی و نمونه تجاری از شرکت مهرا م تهیه شد.

تا زمان انجام آزمایش در دمای اتاق نگهداری شدند. ابتدا به منظور تعیین میزان خلوص هر کدام از نمونه ها به روش Brix درصد ساکاروز و نسبت فروکتوز به گلوکز در آزمایشگاه مواد غذایی سنجیده شد. سپس برای تهیه غلظت های مختلف از هر نمونه از محیط RPMI 1640 (Sigma, Germany) استفاده شد. از تمامی نمونه ها درصد های حجمی ۰.۸، ۲.۰، ۴.۰، ۶.۰، ۸.۰، ۱۰.۰، ۱۵.۰، ۲۰.۰، ۴۰.۰، ۶۰.۰، ۸۰.۰، ۹۵.۰ با کمک آب مقطر تهیه شد. ۱ میلی لیتر از هر محلول و ۱ میلی لیتر از عسل رقیق نشده به لوله ها افزوده شد^(۱۰)

کشت قارچ کاندیدا آلبیکنس

برای کشت قارچ کاندیدا آلبیکنس از محیط کشت سابورود دکستروز آگار (SDA) استفاده شد. محیط کشت مورد استفاده در این مطالعه پودر SDA 64271 (Merck, Germany) (بود. برای تهیه ۱ میلی لیتر از این محیط کشت ۶۵ گرم از این محیط کشت در ۱ لیتر آب مقطر حل شد و با استفاده از هیتر دارای سیستم مگنت (Heldolph, MR, 3001 k, Germany) حرارت داده شد تا به جوش کامل رسیده و زلال گردید. سپس با استفاده از اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد و فشار ۱۵ پوند بر اینچ مربع به مدت ۱۵ ثانیه استریل شد. سپس از اتوکلاو خارج شد و زیر دستگاه لامینار ایرفلو (LAF) هود چادری (Luminar Air Flow) در پلیت های شیشه ای صاف استریل و در حجم های مساوی تقسیم گشت ۲۵ میلی لیتر پلیت های حاوی محیط کشت مدتی به صورت در باز زیر دستگاه LAF باقی ماند تا کاملاً خشک

مانعت کنندگی علیه قارچها را نشان می دهند و با افزایش غلظت عسل قطر هاله عدم رشد افزایش می یابد در این تحقیق *C. albicans* کمترین حساسیت را در بین انواع قارچها نسبت به عسل دارا بود.^(۹) Banaeian-Borujeni و همکاران در مقایسه اثر عسل و میکونازول بر روی *Candida albicans* در محیط آزمایشگاهی با غلظت های مختلف، عسل استان چهارمحال و بختیاری بررسی کردند و نتایج نشان داد میکونازول به طور کامل مانع رشد کاندیدا آلبیکنس شد. در حالی که بیشترین اثر بازدارندگی عسل در غلظت ۸۰٪ بود و در غلظت های کمتر باعث تسریع رشد، این گونه شد.^(۱۰) در مطالعه ای فعالیت ضد قارچی عسل محلی ترکیه برای سنجش قدرت بازدارندگی در مقابل رشد ۴۰ گونه قارچ شامل *Candida albicans*, *C. krusei*, *C. glabrata* و ترکیوسپورون ارزیابی شد و نتایج نشان داد که رشد تمام رده های قارچی متوقف شد. و بازدارندگی از رشد همانطور که به نوع پاتوژن بستگی دارد، با نوع و غلظت عسل نیز در ارتباط است. در غلظت کمتر از ۲ درصد تقریباً هیچ گونه بازدارندگی مشاهده نشد. در این مطالعه قارچهای مقاوم به فلوکونازول نیز برای ارزیابی حساسیت آنها نسبت به عسل بررسی شدند و مشاهده شد که در شرایط آزمایشگاهی این نمونه های عسل در غلظت های بالا (۸۰٪) دارای فعالیت ضد قارچی می باشند.^(۳) Estevinho و همکاران اثر ضد قارچی عسل لاوند پرغال روی *Candida albicans*, *Candida krusei* و *Cryptococcus neoformans* در محیط آزمایشگاهی را بررسی کردند و نتایج نشان داد که رشد تمامی قارچها در حضور عسل کاهش یافته است.^(۱۱) Suganthi و همکاران در مطالعه بر روی دو نوع عسل طبیعی و دو نوع عسل تجاری هیچگونه اثر مہاری بر علیه کاندیدا آلبیکنس در هیچ یک از انواع عسل مورد آزمایش پیدا نکردند.^(۱۲) همچنین در برخی مطالعات دیگر نیز اثر ضد قارچی عسل تایید نشده است.^(۹،۱۱،۱۳) علی رغم مطالعات آزمایشگاهی متعدد که فعالیت آنتی باکتریال عسل را بررسی کرده اند مطالعات اندک و متناقضی جهت بررسی فعالیت عسل بر قارچ کاندیدا آلبیکنس انجام گرفته است. لذا در این تحقیق اثر ضد قارچی عسل را بر

serial dilution (رقیق سازی یک دوم) تهیه شد و درون هر چاهک مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از هر غلظت ریخته شد. سپس پلیت ها به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شد. روش چاهک-پلیت ۳ بار جهت تعیین و میانگین قطر هاله عدم رشد در غلظت های مختلف تکرار شد^(۱۶)

جهت ایجاد چاهک در محیط کشت سیلندره‌های استریل توسط پنس استریل مخصوص گرفته شد و در جاهای تعبیه شده بر سطح محیط کشت با دقت و به صورت کاملاً عمودی در آگار فرو برده شد و سپس با کمک یک لوپ استریل یا کاردک مخصوص باقی مانده آگار از چاهک ها کاملاً خالی شد. غسل های تهیه شده در غلظت های مختلف توسط سمپلر حجم ۱۰۰ میکرولیتر به چاهک مربوط به خود اضافه شدند. بعد از مدت زمان لازم برای دیفوزیون عصاره در آگار و تبخیر حلال، سطح پلیت ها توسط کاغذ صافی پوشانده شد (برای جلوگیری از چکه کردن و خراب شدن هاله ها در حین گرمخانه گذاری)^(۱۴)

نمونه های آماده شده برای گرمخانه گذاری با دقت در سینی های مخصوص حمل شد و به گرمخانه منتقل شد قارچ مورد آزمایش در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد (Fan Azma) (Gostar, Iran) در مدت زمان مناسب که برای قارچ کاندیدا آلبیکنس ۴۸ ساعت می باشد، قرار گرفت. پلیت ها از گرمخانه خارج و قطر هاله های عدم رشد با خط کش میلی متری دقیقاً اندازه گیری و نتایج اندازه گیری در جدول های مخصوص یادداشت شد.^(۱۷)

یافته های به دست آمده (قطر هاله عدم رشد) پس از سه بار کشت با استفاده از نرم افزار SPSS 24 و روش آماری One-way ANOVA مورد بررسی قرار گرفتند. همچنین برای مقایسه دو به دو از تست Tukey استفاده شد. ($P < 0/05$) معنی دار در نظر گرفته شد.

گردید. پلیت ها در یک سطح کاملاً صاف قرار داده شدند به گونه ای که پس از ریختن آگار مایع داخل پلیت، عمق یکنواخت برای پلیت ها حاصل شد^(۱۴).

برای تهیه سوسپانسیون میکروبی از کشت های ۴۸ ساعته کاندیدا آلبیکنس استفاده شد.

پس از رشد ۴۸ ساعته این میکروارگانیسم، از محیط کشت جامد به کمک سوآپ نمونه برداشته و در یک لوله آزمایش استریل حاوی نرمال سالین استریل کاملاً مخلوط گشت. کدورت این سوسپانسیون میکروبی با کمک اسپکتروفوتومتر با طول موج ۶۲۵ نانومتر به گونه ای تنظیم شد تا برابر با ۰/۵ مک فارلند باشد تا شمارش کاندیدا به حد استاندارد برسد (مک فارلند یک سوسپانسیون شیمیایی است که میزان کدورت حاصل از آن قابل مقایسه با سوسپانسیون میکروبی است)^(۱۵)

دستگاه مورد استفاده برای اندازه گیری نور عبور کرده (Transmittance)، دستگاه اسپکتروفوتومتر UV (Milton Roy company, USA, LR 45227) بود، به منظور تعیین غلظت سوسپانسیون قارچی ابتدا دستگاه با سرم فیزیولوژی استریل برای کاندیدا آلبیکنس در ترانس میتنس ۱۰۰ تنظیم و سپس ترانس میتنس سوسپانسیون خوانده شد.

در صورتی که میزان "T" سوسپانسیون اولیه کمتر یا بیشتر از ۹۰ درصد بود، به ترتیب مقداری کلونی و یا سرم فیزیولوژی به سوسپانسیون اولیه اضافه و میزان ترانس میتنس مجدداً خوانده میشد و این مراحل تا دست یافتن به غلظت مورد نظر ادامه یافت.^(۱۶)

به عنوان کنترل مثبت از سوسپانسیون نیستاتین محصول شرکت داروسازی عماد درمان پارس استفاده شد .

بررسی اثرات ضدقارچی:

بررسی اولیه اثر ضدقارچی غسل، با استفاده از تکنیک چاهک-پلیت (Cup-Plate) انجام شد. به این ترتیب که بر روی محیط SDA سوسپانسیون میکروبی میکروارگانیسم مورد بررسی با کدورت معادل نیم مک فارلند کشت داده شده و سپس بر روی سطح آگار چاهک هایی به قطر ۸ میلیمتر ایجاد شد. از غسل های تهیه شده با کمک حلال آب غلظت های مختلف به روش

سپس با تست TUKEY گروه ها دو به دو مقایسه شدند در مقایسه عسل سلمان شهر (گروه اول) با عسل خوی (گروه دوم) $P=0/19$ که به دست آمد این اختلاف از لحاظ آماری معنادار نبود، در مقایسه عسل سلمان شهر (گروه اول) و عسل مهram (گروه سوم) با $P=0/02$ اختلاف معناداری به دست آمد و عسل سلمان شهر به طور معناداری باعث مهار کاندیدا شد. در مقایسه عسل خوی (گروه دوم) و عسل مهram (گروه سوم) با $P=0/27$ اختلاف معناداری دیده نشد. (جدول ۲).

یافته ها: درصد ساکاروز برای عسل های خوی، سلمان شهر و شرکت مهram به ترتیب عبارتند از ۱/۹۴، ۲/۱۷ و ۴/۷۹ که همگی در بازه استاندارد قرار داشتند. همچنین نسبت فروکتوز به گلوکز هر نمونه به ترتیب فوق ۰/۶۷، ۰/۷۲، ۰/۹۷۹ بود. بر اساس نتایج آزمون ANOVA در مهار کاندیدا آلیکانس بین گروهها با $(P=0/03)$ اختلاف معناداری وجود داشت.

جدول ۱- میزان قطر هاله عدم رشد کاندیدا آلیکانس به تفکیک غلظت های مختلف عسل بر حسب میلی متر

نوع عسل	طبیعی		درصد حجمی	
	تجاری	طبیعی		
	شرکت مهram	خوی	سلمان شهر	
	۰	۰	۰	۲۰
	۰	۰	۰	۴۰
	۰	۰	۰	۶۰
	۰	۰	۹	۸۰
	۸/۳±۱/۱۵	۱۰/۳±۰/۵۷	۱۲/۷±۲/۰۸	۹۵

جدول ۲- نتایج مقایسه دو به دو گروه ها با آزمون TUKEY

نوع عسل (I)	میانگین اختلاف (I-J)	میزان انحراف/ خطای معیار	فاصله با اطمینان ۹۵٪	
			معنادار بودن	نوار پایین / نوار بالا
عسل سلمان شهر	۲	۱/۱۵۴۷۰	۰/۱۸۸	-۱/۲۰۹۶
	۳	۱/۱۵۴۷۰	۰/۰۲۲	۰/۷۹۰۴
عسل خوی	۱	۱/۱۵۴۷۰	۰/۱۸۸	-۵/۸۷۶۳
	۳	۱/۱۵۴۷۰	۰/۲۶۹	-۱/۵۴۲۹
عسل مهram	۱	۱/۱۵۴۷۰	۰/۰۲۲	-۷/۸۷۶۳
	۲	۱/۱۵۴۷۰	۰/۲۶۹	-۵/۵۴۲۹

بحث:

AN(3) نیز فعالیت ضد قارچی را در نمونه های مقاوم به

فلوکونازول در غلظت بالای ۸۰٪ گزارش کرد. در مطالعه Lusby PE(21) اثر مهار رشد بر روی کاندیدا در غلظت های بالاتر دیده شده است. در مطالعه حاضر عسل سلمانشهر در غلظت ۸۰ درصد باعث مهار رشد کاندیدا شد.

بر خلاف مطالعه انجام شده، در تحقیقاتی که بر اساس غلظت های مختلف عسل توسط Lusby PE و همکاران^(۲۱) و

Omafuvbe BO(28) انجام شد رشد کاندیدا آلبیکنس توسط عسل مهار نشده است. هم چنین در مطالعه Suganthi و همکاران^(۲۲) بر روی دو نوع عسل طبیعی و دو نوع عسل تجاری هیچ یک اثر مهاری بر قارچ کاندیدا آلبیکنس نشان ندادند.

فعالیت ضد قارچی انواع عسل به علت تنوع در گیاهان مناطق مختلف متفاوت است. اغلب گیاهان شامل پلی فنول ها و فلاوونوئیدها هستند^(۲۰)، تفاوت در انواع گیاهان و عسل های مناطق مختلف باعث تفاوت در مقادیر فنولیک اسید، فلاوونوئیدها و سایر بیومولکول ها در انواع عسل می شود^(۹). این شرایط میتواند قدرت مهاری متفاوت عسل های مورد استفاده در این مطالعه شامل عسل سلمانشهر، خوی و مهرازم را توضیح دهد.

فنولیک اسید موجود در عسل بر روی نفوذپذیری غشای سیتوپلاسمیک سلول ها اثر گذاشته و سبب اختلال در اجزای سلولی مانند اسید نوکلئیک، پروتئین ها و یون ها مانند فسفات و پتاسیم می شود و مرگ کامل سلولی را در پی دارد^(۸،۲۵). عسل مربوط به گیاهان در نواحی جغرافیایی متفاوت، توانایی متفاوتی در مهار رشد قارچ ها دارند^(۲) و این موارد می تواند توجیه کننده تفاوت در غلظت انواع عسل در مهار رشد قارچ کاندیدا آلبیکنس در تحقیق حاضر با سایر مطالعات باشد.

Ahmad Kafeel^(۲۶) فعالیت ضد قارچی قابل توجه عسل را در برابر تعدادی قارچ که کاندیدا آلبیکنس را شامل نمی شوند نشان داد. هم چنین در مطالعه Anyanwu و همکاران^(۹) کاندیدا آلبیکنس نسبت به سایر قارچ ها حساسیت کمتری را نسبت به اثر مهارکنندگی عسل نشان داد. در تحقیق انجام شده

در مطالعه حاضر تأثیر سه نوع عسل بر قارچ کاندیدا آلبیکنس در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. تمام انواع عسل در غلظت های حداکثری (۹۵٪) مانع رشد کاندیدا شدند و فقط عسل شهر سلمانشهر در غلظت ۸۰٪ نیز مانع رشد کاندیدا آلبیکنس شد. همچنین عسل طبیعی سلمانشهر نسبت به عسل تجاری مهرازم در مهارکنندگی کاندیدا موثرتر بود.

عسل دارای فعالیت آنتی باکتریال در برابر باکتریهای پوسیدگی زا در مطالعات انسانی و آزمایشگاهی است و فعالیت آنتی باکتریال عسل بر روی استرپتوکوک موتانس در غلظت بالای ۲۰ درصد و بر روی لاکتوباسیل در غلظت ۱۰۰ درصد مشاهده شده است.^(۱۸)

در مطالعات مختلف اثرات ضد باکتری عسل به علل زیر بیان شده است:

۱- اثر اسموتیک: ۸۲ درصد عسل شامل غلظت بالای

کربوهیدرات است ولی حجم آب کمی در آن وجود دارد. این حالت به وسیله دهیدراتاسیون سلولی رشد باکتری را مهار می کند. قارچ ها در برابر فشار اسموتیک بالا از باکتری ها مقاوم ترند.^(۱۹)

۲- اسیدیته: pH عسل به علت اسیدهای ارگانیک به خصوص گلوتامیک اسید، اسید پیروویک، اسید مالیک و اسید سیتریک، ۳/۲-۴/۵ است. در حالیکه حداقل pH برای رشد باکتری ها ۷/۴-۷/۲ می باشد.

۳- پراکسید هیدروژن (H₂O₂) که در عسل رقیق شده در نتیجه اکسیداسیون گلوکز ایجاد می شود.^(۲۲-۷،۲۰)

۴- تحریک سیستم ایمنی (cytogenesis) که به وسیله تولید سلول های T, B و فعالیت نوتروفیل ها ایجاد می شود.

مطالعه حاضر با مطالعات زیادی همسو بوده و در همه مطالعات فوق عسل باعث مهار رشد کاندیدا آلبیکنس شده بود.^(۱۱-۲۷،۹-۲۳) ولی در اکثر مقالات فوق رشد کاندیدا در غلظت ۵۰-۳۰ درصد مهار شده است. در مطالعه بنائیان بروجنی-^(۱۰) مهار رشد کاندیدا در غلظت ۸۰٪ عسل دیده شده است و همچنین Koc

References:

1. Ansari MJ, Al-Ghamdi A, Usmani S, Al-waili NS, Sharma D, Nuru A, et al. Effect of Jujube Honey on *Candida albicans* growth and biofilm formation. *Arch Med Res* 2013 July;44(5):352-60.
2. Majidi Poya M, Khodavandi A. Comparison of the Antifungal Activity of Honey and Fluconazole against *Candida albicans* in vitro and in an Enteric candidiasis mouse model. *J Fasa Univ Med Sci* 2018; 8(3): 967-978
3. Koc AN, Silici S, Ercal BD, Kasap F, Hormet-Oz HT, Mavus-Buldu H. Antifungal activity of Turkish Honey against *Candida* spp. and *Trichosporon* spp: an in vitro evaluation. *Med Mycol* 2009 Nov;47(7):707-12.
4. El-Haddad SA, Al-Shawaf MD. Effect of honey for treatment of some common oral lesions: Follow up of 50 cases. *JDOH* 2013 June;5(6):55-61.
5. Hegazi AG, Al Guthami FM, Al Gethami AFM, Abd Allah FM, Ashraf A. Saleh AA, Fouad EA. Potential antibacterial activity of some Saudi Arabia honey. *Vet World*. 2017; 10(2): 233-237
6. Gomes RT, Teixeira KIR, Cortes ME, Santos VR. Antimicrobial activity of propolis adhesive formation on different oral pathogens. *Braz J Oral Sci*. 2007;6(22):1387-91.
7. Boukraa L, Bouchehrane S. Additive action of honey and starch against *Candida albicans* and *Aspergillus niger*. *Rev Iberoam Micol* 2007 Dec;24(4):309-11.
8. Phuna ZX, Yu JKE, Tee JY, Chuah SQ, Tan NWH, Vijayabalan S, et al. In vitro evaluation of Nanoemulsions of Curcumin, Piperine and Tulang honey as antifungal agent for *Candida* species. *J Appl Biotechnol Rep* 2020;7(3):190-198
9. Anyanwu Ch. Investigation of in vitro antifungal activity of honey. *JMPR* 2012 May;6(18):3512-16.
10. Banaeian-Borujeni S, Mobini GR, Pourgheysari B, Validi M. Comparison of the effect of honey and miconazole against *Candida albicans* in vitro. *Adv Biomed Res*. 2013 Jul; 2 (1): 57
11. Estevinho ML, Afonso SE, Feas X. Antifungal effect of lavender honey against *Candida albicans*, *Candida Krusei* and *Cryptococcus neoformans*. *J Food Sci Technol* 2011 Oct; 48(5): 640-3.
12. Suganthi K, Saranraj P. Antibacterial and Anticandidal Activity of Natural and Commercial Honey - A Comparative Study. *Asian J Appl Res* 2018;4(3):37-41
13. Al-Waili N, Al-Ghamdi A, Ansari MJ, Al-Attal Y, Salom K. Synergistic Effects of Honey and Propolis toward Drug Multi-Resistant *Staphylococcus Aureus*, *Escherichia Coli* and *Candida Albicans* Isolates in Single and Polymicrobial Cultures. *Int J Med Sci* 2012 Oct; 9(9): 793-800.

بر روی لارو زنبور عسل فعالیت مهاری کمی در برابر کاندیدا مشاهده شده است. (۲۹)

عسل یک ماده استریل و آنتی میکروبیال طبیعی است که اختصاصاً برای درمان عفونت های مقاوم به داروهای روتین توصیه می شود و هیچ گونه اثر سوء در رابطه با کاربرد موضعی عسل تا کنون در مقالات ذکر نشده است. (۴)

پیشنهادات: فعالیت مهاری رشد توسط عسل بر روی سایر قارچ ها مورد بررسی قرار گیرد و از انواع دیگر عسل بومی مناطق ایران جهت بررسی اثرات آنتی ویرال، آنتی باکتریال و آنتی فونگال استفاده شود.

همچنین مطالعات جهت بررسی ترکیب عسل با سایر مواد مانند ماست و نشاسته برای به دست آوردن نتایج مهار رشد میکروارگانیسم های بیماری زا در غلظت های پایین تر انجام شود.

پیشنهادات:

فعالیت مهاری رشد توسط عسل بر روی سایر قارچ ها مورد بررسی قرار گیرد و از انواع دیگر عسل بومی مناطق ایران جهت بررسی اثرات آنتی ویرال، آنتی باکتریال و آنتی فونگال استفاده شود.

همچنین مطالعات جهت بررسی ترکیب عسل با سایر مواد مانند ماست و نشاسته برای به دست آوردن نتایج مهار رشد میکروارگانیسم های بیماری زا در غلظت های پایین تر انجام شود.

نتیجه گیری:

بر اساس یافته های این مطالعه به نظر می رسد که عسل در غلظت های بالا می تواند اثر مهاری بر رشد قارچ کاندیدا آلبیکنس داشته باشد و می توان از آن جهت درمان ضد قارچ ایمن در بیماران استفاده کرد.

14. BBL™ Sabouraud Dextrose Agar. BBL™ Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol. Becton, Dickinson and Company. Rev. 08. 2007 Mar.
15. Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) of antibacterial agents by agar dilution. European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID). June 2000.
16. Gonzalez GM, Tijerina R, Najvar LK, Boccanegra R, Rinaldi MG, Loebenberg D, Graybill JR. Activity of Posaconazole against *Pseudallescheria boydii*: In Vitro and In Vivo Assays. *Antimicrob Agents Chemother* 2003 Apr; 47(4): 1436-8.
17. Agarry O.O, Olaley M.T, Bello M. Comparative antimicrobial activities of aloe vera gel and leaf. *AJB* 2005 Dec; 4(12): 1413-14.
18. Ahmadi - Motamayel F, Hendi SS, Alikhani MY, Khamverdi Z. Antibacterial Activity of Honey on cariogenic bacteria. *J Dent (Tehran)* 2013 Jan; 10(1): 10-5
19. Ahmed M, Amirat M, Aissat S, Amine M Aissa, Khiati B. FTIR characterization of Sahara honey and propolis and evaluation of its anticandidal potentials. *Acta Scientifica Naturalis* 2020; 7(3) Pages: 46-57
20. Kucuk M, Kolayli S, Karaoglu S, Ulusoy E, Baltac C, Candan F. Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chem.* 2007; 100(2): 526-34.
21. Lusby PE, Coombes AL, Wilkinson JM. Bactericidal activity of different honeys against pathogenic bacteria. *Arch Med Res.* 2005 Sep; 36(5): 464-7.
22. Ozlugedik S, Genc S, Unal A, Elhan AH, Tezer M, Titiz A. Can postoperative pains following tonsillectomy be relieved by honey?: A prospective, randomized, placebo controlled preliminary study. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2006 Nov; 70(11): 1929-34.
23. Al-Waili NS. Mixture of honey, beeswax and olive oil inhibits growth of *Staphylococcus aureus* and *C. albicans*. *Arch Med Res.* 2005 Jan; 36(1): 10-13.
24. Al-Waili N. Therapeutic and prophylactic effects of crude honey on chronic seborrheic dermatitis and dandruff. *Eur J Med Res.* 2001 Jul; 6(7): 306-308.
25. Aminu S, Salwani I, Mohd Adzim Khalili R, Azain H, Aniza AA, Mainul H. Antifungal Properties of Malaysian Tualang Honey and Stingless Bee Propolis against *Candida albicans* and *Cryptococcus neoformans*. *JAPS.* 2016 Feb; 6(2): 44-50.
26. Ahmad K, Talha Khalil A, Somayya R, Nouroz Khan F, Raza Shah A, Ovais M, Khan Shinwari Z. Potential antifungal activity of different honey brands from Pakistan: a quest for natural remedy. *Afr J Tradit Complement Altern Med.* 2017; 14(5): 18-23.
27. Shokri H, Sharifzadeh A. Fungicidal efficacy of various honeys against fluconazole-resistant *Candida* species isolated from HIV⁺ patients with candidiasis. *J Mycol Med* 2017 Jun; 27(2): 159-165.
28. Omafuvbe BO, Akanbi, OO. Microbiological and physio-chemical properties of some commercial Nigeria honey. *Afr J Microbiol Res.* 2009 Dec; 3(12): 891-6.
29. Abd-ElAzim F, N. Thoufeek A, Othman A, Akram A, AbdulAziz B. Inducible antimicrobial compounds (Halal) production in Honey Bee Larvae (*Apis mellifera*) from Rumaida, Taif by injecting of various dead Microorganisms extracts. *JABB* 2017; 5(2): 23-9.