

فصلنامه علوم زیستی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان
شماره پیاپی ۶، جلد ۲، شماره ۳، تابستان ۱۳۸۸، صفحه ۳۱ تا صفحه ۳۷

بررسی اثرات ضد میکروبی عسل بر روی آلودگی روده‌ای با باکتری سالمونلاتیفی موریوم (PTCC, ۱۵۴۷) در موش‌های سوری نر

مه‌دی رهنما^۱، رقیه آقاجانلو^۲.

۱- استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه و پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان meh_rahnema@yahoo.com
۲- کارشناس ارشد میکروبیولوژی، آموزش و پرورش استان زنجان.

تاریخ دریافت: ۸۷/۱۱/۲۹ تاریخ پذیرش: ۸۸/۲/۲۹

چکیده

با توجه به اهمیت روزافزون بیماری‌های گوارشی (با منشا سالمونلایی)، روش‌های مختلف پیشگیری و درمان بیماری ضروری به نظر می‌رسد. با عنایت به عوارض عدیده ناشی از مصرف داروها و نیز مقاومت دارویی به خصوص در رابطه با داروهای شیمیایی توجه برخی از پژوهشگران به داروهایی با منشا طبیعی معطوف شده است. عسل به عنوان ماده شفا بخش در انواع عفونت‌های موضعی و عفونت‌های باکتریایی مورد مصرف قرار می‌گیرد. هدف از این پژوهش بررسی اثرات ضد میکروبی عسل و مقایسه زمان‌های مورد استفاده از آن بر روی موش‌های آلوده شده با باکتری سالمونلاتیفی موریوم (PTCC, ۱۵۴۷) است. این مطالعه از انواع بررسی‌های تجربی بوده که در آن ۴ گروه موش کوچک سفید آزمایشگاهی مورد مطالعه قرار گرفته است، این گروه‌ها شامل گروه‌های دریافت کننده عسل هم زمان با تزریق باکتری (گروه اول)، دریافت کننده باکتری و تیمار با عسل پس از آلودگی (گروه دوم)، دریافت کننده باکتری بدون درمان (گروه سوم) و گروه کنترل است. آلوده کردن موش‌ها با تلقیح یک میلی لیتر ($10^8 \times 0.5$ باکتری در میلی لیتر) سالمونلاتیفی موریوم با تزریق زیر جلدی در ناحیه گردن و تیمار با عسل به رقت ۶: ۱ به صورت خوراکی انجام گرفت. مقایسه میانگین‌های شمارش باکتری در نمونه مدفوع در چهار گروه آزمایشی نشان داد که اختلاف معنی‌داری ($p < 0.01$) بین گروه‌های تجربی نسبت به شاهد وجود دارد. میانگین شمارش باکتری گروه تجربی ۱ ($6/12 \pm 3/56$) نسبت به گروه تجربی ۲ ($18/87 \pm 5/57$) و گروه تجربی ۳ ($127/50 \pm 33/75$) کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد. اثرات متقابل تاریخ‌های نمونه‌برداری در گروه‌های تجربی اختلاف معنی‌داری ($p < 0.01$) را بین تأثیر تیمار با عسل در کاهش شدت عفونت‌های روده‌ای با منشاء سالمونلایی نشان می‌دهد. نتایج حاصل از تحقیق فوق نشان داده که استفاده از عسل در رژیم غذایی روزانه احتمالاً موجب کاهش ابتلا به بیماری‌های روده‌ای می‌شود.

کلید واژه: عسل، فعالیت ضد میکروبی، سالمونلاتیفی موریوم.

مقدمه

غذاهایی با منشا حیوانی از جمله گوشت، مرغ، تخم مرغ، شیر و سایر مواد از جمله میوه‌ها و سبزیجات ایجاد می‌گردد. در سه دهه اخیر استفاده از فاضلاب‌ها در نواحی خشک کشورهای در حال توسعه جهت آبیاری مزارع، موجب

سالمونلوزیس یکی از شایع‌ترین و معمولی‌ترین بیماری‌های مرتبط با مصرف آب و غذاهای آلوده در کودکان کشورهای در حال توسعه می‌باشد، این بیماری عمدتاً طی مصرف آب و غذاهای آلوده به خصوص

باکتری‌ها و قارچ‌ها شده و رقیق‌سازی عسل با آب موجب کاهش فعالیت ضد میکروبی آن می‌شود (۹،۱۱،۱۷). فعالیت ضد میکروبی عسل که موجب ممانعت از بروز عفونت و بهبودی عفونت می‌شود، اساسی‌ترین دلیل خاصیت التیام بخشی عسل است (۱۶). مشخص شده اثر ضد میکروبی عسل به صورت کمپلکس با شیر یا آنتی بیوتیک، نسبت به مصرف شیر یا عسل و یا آنتی بیوتیک به تنهایی، بیشتر است (۴). عفونت‌های رودهای امروزه از مشکلات مهم در دنیا می‌باشند. درمان این بیماری‌ها با استفاده از رژیم غذایی مناسب هم از نظر کاهش مرگ و میر کودکان و صرف هزینه‌های بالای درمانی و هم از نظر کاهش سویه‌های مقاوم به انواع آنتی بیوتیک‌ها بسیار مهم می‌باشد به همین علت هدف از این پژوهش بررسی تأثیر عسل در کاهش میزان آلودگی عفونت‌های رودهای با منشأ سالمونلاتیفی موریوم در موش‌های سوری آلوده شده با این باکتری می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق از عسل ماهنشان (یکی از مناطق استان زنجان) با پوشش گیاهی: گون، گندم سیاه و اسپرس، جهت بررسی فعالیت ضد میکروبی عسل استفاده (۱) و باکتری مورد آزمایش سالمونلاتیفی موریوم (PTCC، ۱۵۴۷) بود. جهت بررسی تأثیر عسل در کاهش آلودگی‌های رودهای با منشأ سالمونلایی از موش‌های سوری نر ۳۲ تا ۴۷ گرمی استفاده شد. ۱۶ موش سوری نر به صورت تصادفی، به چهار گروه چهارتایی تقسیم شدند: گروه تجربی ۱ (تیمار عسل هم زمان با تزریق باکتری)، گروه تجربی ۲ (آلودگی با باکتری و سپس درمان با عسل)، گروه تجربی ۳ (آلودگی با باکتری بدون درمان) و شاهد (بدون آلودگی و درمان). گروه تجربی ۱ و ۲ و ۳ هر کدام با مقدار ۱ میلی‌لیتر (۷/۵×۱۰^۵) باکتری در میلی‌لیتر) سالمونلاتیفی موریوم با تزریق زیر جلدی در ناحیه گردن آلوده شدند. در گروه تجربی ۱ هم زمان تزریق باکتری، تیمار با عسل به صورت محلول رقیق شده به نسبت ۱:۶ آب و عسل در ظرف آب خوری موش‌ها صورت گرفت. در گروه تجربی ۲ پس

افزایش چشم‌گیری در این بیماری شده است (۵،۳۴). بررسی‌های متعدد نشان داده‌اند که عسل به میزان زیادی خواص ضد باکتریایی، ضد پروتوزوئری، ضد قارچی و ضد ویروسی دارد. تأثیر بازدارندگی آن حداقل روی ۲۱ گونه باکتریایی، ۹ گونه قارچی از جمله کچلی‌ها، برفک پای ورزشکاران، ۳ گونه پروتوزوئری از جمله ژیا ردیا و طیف وسیعی از ویروس‌ها مثل هرپس و آنفولانزا دیده شده است. در رابطه با بیماری‌های باکتریایی بررسی‌ها نشان می‌دهند که این ماده تأثیر به‌سزایی در مهار رشد باکتری‌های گرم مثبت داشته ولی تأثیر آن بر روی باکتری‌های گرم منفی ناچیز بوده است (۸،۲۷). بررسی‌های انجام شده بر روی قارچ‌های بیماری‌زا نیز موید این نکته است که عسل تأثیر زیادی بر روی بیماری‌های قارچی به خصوص کاندیداها داشته است (۸،۲۴). در ارتباط با بیماری‌های پروتوزوئری، توانسته‌اند به نقش عسل علیه بیماری‌هایی مثل تریکومونیا، توکسوپلاسموز، آمیبیازیس، ژیا ردیوز، لیشمانیوز و چند بیماری پروتوزوئری دیگری پی برند (۱۰،۱۳،۱۸،۲۲،۲۵،۲۸،۲۹). این تأثیر احتمالاً به واسطه تحریک فعالیت سیتوتوکسیکی سلول‌های قاتل طبیعی می‌باشد (۱۲،۲۳). عسل دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، تقویب بافت پیوندی نرم، ممانعت از فعالیت برخی از هیدرولازها، اکسیدردوکتازها، کینازها و هم چنین محرک سیستم ایمنی هومورال و سلولی می‌باشد ضمناً برای نگهداری مواد غذایی به عنوان آنتی‌اکسیدان به کار می‌رود (۳،۷،۱۵). بسیاری از پژوهشگران، اثر ضد میکروبی عسل را به منبع گیاهی مورد استفاده زنبور عسل و خصوصیات شیمیایی آن از جمله اسمولاریته، اسیدیته، pH و پر اکسید هیدروژن و ترکیبات آنزیمی مانند کاتالاز و ترکیبات غیر آنزیمی مانند فنل‌ها، فلاونوئیدها، اسید آسکوربیک و غیره نسبت داده‌اند (۴،۶،۱۷). عسل یک محلول فوق اشباع شکر با فعالیت آبی پایین است. بسیاری از گونه‌های باکتری‌های بیماری‌زا در محیطی با رطوبت ۹۹-۹۴ درصد رشد می‌کنند در حالی که رطوبت ۶۲-۵۶ درصد عسل مانع رشد بیشتر

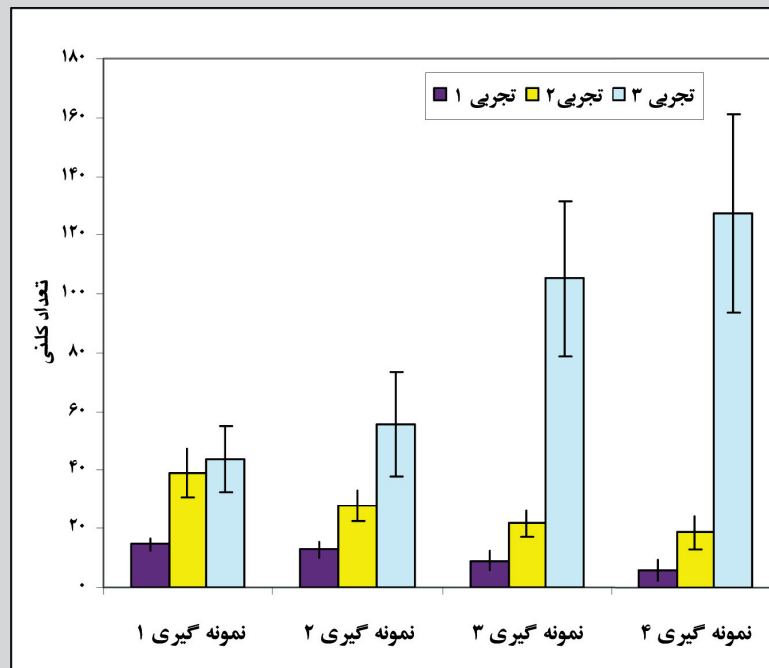
نتایج

در این بررسی گروه تجربی ۱ (تیمار عسل هم زمان با تزریق باکتری) در مقایسه با گروه تجربی ۲ (درمان با عسل پس از آلوده شدن به باکتری) و گروه تجربی ۳ (فقط آلودگی با باکتری) در اولین تاریخ نمونه برداری آلودگی کمتری نشان دادند، که این مسئله به دلیل تیمار با عسل و تاثیر عسل در کاهش شدت عفونت‌های روده‌ای با منشاء سالمونلا بوده است. با ادامه روند تیمار با عسل در تاریخ‌های بعدی نمونه برداری نسبت به اولین نمونه برداری نیز میزان آلودگی کاهش نشان داد. به طوری که بیشترین تعداد باکتری شمارش شده در این گروه در اولین نمونه برداری با میانگین $2/13 \pm 14/62$ و کمترین تعداد باکتری در آخرین تاریخ نمونه برداری با میانگین $3/56 \pm 6/12$ بوده است. در گروه تجربی ۲ در اولین تاریخ نمونه برداری میزان آلودگی نسبت به گروه تجربی ۱ بیشتر بوده زیرا این گروه با عسل تیمار نشده بودند ولی به دلیل

از مشاهده آلودگی، درمان با عسل با همین روش انجام شد. نمونه برداری از مدفوع در همه گروه‌های آزمایش با چهار تکرار به مدت ۲۰ روز انجام شد. نمونه‌ها در محیط کشت سالمونلا- شینگلا آگار کشت و پس از قرار دادن در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت از کلنی‌های بی‌رنگ با مرکز سیاه مشکوک به سالمونلاتیفی موریوم، تست‌های افتراقی نظیر TSI, IMVIC و اوره انجام و سپس با شمارش کلنی‌های سالمونلاتیفی موریوم، میزان آلودگی به این باکتری در هر گروه آزمایشی مورد بررسی قرار گرفت.

تحلیل آماری

تجزیه داده‌های حاصل از آزمایش در قالب آزمایش‌های فاکتوریل چند مشاهده‌ای با طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام گرفت. محاسبات آماری توسط نرم‌افزار SPSS و رسم جداول با نرم‌افزار Excell انجام شد.



نمودار ۱- مقایسه میانگین آلودگی گروه‌های تجربی در تاریخ‌های نمونه‌گیری

گروه تجربی ۱ کمترین میزان آلودگی، گروه تجربی ۲ با آلودگی متوسط، گروه تجربی ۳ بیشترین میزان آلودگی. در گروه تجربی ۱ و ۲ از اولین تاریخ نمونه‌گیری تا آخرین تاریخ به تدریج میزان آلودگی کاهش و در گروه تجربی ۳، افزایش یافته است.

تاریخ‌های نمونه‌برداری اختلاف معنی‌داری ($P < 0/01$) مشاهده شد.

بحث و نتیجه‌گیری

عسل می‌تواند در کنار سایر داروهای شیمیایی به دلیل داشتن فعالیت‌های ضد باکتریایی و به علت داشتن مواد قندی با اثرات اسموتیکی بالا که مانع رشد باکتری‌ها می‌گردد و هم چنین وجود مهارکننده‌هایی مانند پراکسید هیدروژن، فلاونوئیدها و اسیدهای فنولیک که توسط زنبور عسل از گیاهان مختلف وارد عسل می‌گردد، در درمان بیماری‌های گوارشی مورد استفاده قرار گیرد (۱۴، ۱۹، ۲۱، ۲۶، ۳۱، ۳۳). ناتاراجان و همکاران اثر ضد عفونی‌کنندگی عسل مانوکا از نیوزلند را همانند محلول‌های ضد عفونی‌کننده استاندارد مانند فنل گزارش داده‌اند (۲۰). در تحقیق دیگری استفاده از عسل در نه کودک با زخم‌های جراحی آلوده شده به باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک که تزریق سیاهرگی آنتی‌بیوتیکی و شستشوی زخم با محلول ۰/۰۵ کلروهگزیدین و استعمال پماد فوزیدیک اسید ناموفق بود، در تمام موارد استفاده از عسل به صورت پوششی روی زخم سبب بروز علائم بهبودی پس از ۵ روز و بهبودی کامل پس از ۲۱ روز شده است (۳۲). گاستروآنتریت باکتریایی و اسهال قابل درمان با محلول گلوکز و الکترولیت سدیم می‌باشد. در تحقیقی جایگزین نمودن عسل به جای گلوکز موجب افزایش جذب الکترولیت‌ها و آب شده است. فروکتوز

درمان با عسل به تدریج شدت آلودگی در آن‌ها کاهش می‌یافت به طوری که بیشترین تعداد باکتری شمارش شده در این گروه در اولین نمونه برداری با میانگین $39 \pm 8/21$ و کمترین تعداد باکتری در آخرین نمونه برداری با میانگین $18/87 \pm 5/57$ بوده است. در گروه تجربی ۳ که فقط به باکتری آلوده شده بودند و تیمار یا درمان عسل نشده بودند به مرور تعداد باکتری‌ها و شدت آلودگی افزایش یافته به طوری که در اولین تاریخ نمونه برداری کمترین تعداد باکتری با میانگین $44 \pm 11/19$ و بیشترین تعداد باکتری در آخرین تاریخ نمونه‌برداری با میانگین $127/5 \pm 33/75$ مشاهده شد. در گروه شاهد آلودگی یا درمان انجام نگرفت. نتیجه کلی این پژوهش نشان داد که بین تیمار عسل با تزریق هم‌زمان و درمان با عسل پس از آلودگی اختلاف معنی‌داری ($p < 0/01$) وجود دارد و میزان آلودگی در تیمار با عسل در مقایسه با درمان پس از آلودگی کمتر است ولی با مرور زمان به دلیل درمان با عسل و تاثیر ضد میکروبی آن میزان آلودگی در هر دو حالت کاهش یافته است ولی در صورت عدم درمان توسط عسل (گروه تجربی ۳) شدت آلودگی به مرور زمان افزایش یافته است و بین درمان با عسل و عدم درمان اختلاف معنی‌داری ($p < 0/01$) وجود دارد (نمودار ۱ و جدول ۱).

بین تیمار عسل هم‌زمان با تزریق باکتری و درمان با عسل پس از آلودگی و آلودگی بدون درمان در تمام

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر درمانی عسل در گروه‌های تجربی در تاریخ‌های نمونه‌گیری

| منابع تغییرات | درجه آزادی | مجموع مربعات | میانگین مربعات | آزمون F |
|-----------------|------------|--------------|----------------|----------|
| تکرار | ۳ | ۵۰۸۱/۵۸ | ۱۶۹۳/۸۶ | ۶/۸۶** |
| تاریخ | ۳ | ۴۷۰۹/۲۱ | ۱۵۶۹/۷۳ | ۶/۳۶** |
| تیمار | ۳ | ۱۳۱۷۳۳/۳۹ | ۴۳۹۱۱/۱۳ | ۱۷۷/۷۹** |
| تیمار×تاریخ | ۹ | ۳۵۱۲۵/۵۷ | ۳۹۰۲/۸۴ | ۱۵/۸۰** |
| خطای آزمایش | ۴۵ | ۱۱۱۴/۲۸ | ۲۴۶/۹۸ | ۱۴/۸۶** |
| خطای نمونه‌گیری | ۶۴ | ۱۰۳۶/۵ | ۶۱/۶۱ | |
| کل | ۱۲۷ | ۱۸۸۸۲۷/۲۵ | | |

شده است (۳۰). در پژوهش حاضر عسل ماهنشان به دلیل تازگی عسل و کوهستانی بودن منطقه پرورش زنبور عسل و تنوع گیاهان مورد استفاده زنبور در کاهش عفونت‌های روده‌ای با منشاء سالمونلایی موثر بود و نتیجه پژوهش حاضر با گزارش حاصل از تحقیق فوق همسویی دارد. نتیجه حاصل از این بررسی و پژوهش‌های دیگر نشان داد که استفاده از عسل به عنوان جزیی از برنامه غذایی در کاهش شدت آلودگی عفونت‌های روده‌ای با منشاء سالمونلایی موثر می‌باشد. با وجود نتیجه این تحقیق و سایر مدارکی که از فعالیت ضد میکروبی عسل و کاربرد آن در درمان عفونت‌های مختلف وجود دارد، بررسی‌های بیشتری جهت استفاده بهینه از این محصول در از بین بردن عفونت‌های کلینیکی و سیستمیک باید انجام گیرد.

موجود در عسل موجب تحریک جذب پتاسیم و آب بدون افزایش جذب سدیم و تحریک ترمیم آسیب مخاط روده شده است (۶). در تحقیقی روی موش‌های سفید آلوده شده با استرپتوکوک همولیتیک اثر باکتری کشی عسل ثابت شده است. در تجربه دیگری مشخص شده، خو کچه‌های هندی پس از تلقیح میکروب‌ها، در گروهی که عسل استفاده نموده‌اند، بیش از سایر خو کچه‌های آلوده زنده مانده‌اند (۲). طی تحقیقی که در آن تاثیر درمانی انواعی از عسل‌های نگه داری شده در دوره‌های متفاوت در موش‌هایی تلقیح شده با سالمونلاتیفی موریوم مورد بررسی قرار گرفته بودند، عسل تازه (با مدت زمان نگه داری کوتاه‌تر) نسبت به عسل‌های کهنه (با مدت زمان نگه داری طولانی‌تر) در کنترل عفونت‌های روده‌ای و کاهش مرگ و میر موش‌های آلوده موثرتر گزارش

منابع

tibacterial activity of honey. The University Of Waikato Te Whare Wananga O Waikato. Department Of Biological Sciences.

7. Bratter, C. (1999). Prophylactic effectiveness of propolis for immunostimulation: a clinical pilotstudy. *Forsch komplementarmed*, 6(5), 256-260.

8. Fernandes, Jr. A. (1995). Invitro activity of propolis against bacterial and yeast pathogens isolated from human infections. *J. Venom. Anim. Toxins*, 1(2), Botucatu.

9. French, V.M., Cooper, R.A., Molan, P.C. (2005). The antibacterial activity of honey against coagulase-negative *Staphylococci*. *J Antimicrobial Chemotherapy*, 56, 228-231.

10. Grange, J.M., Davey, R.W. (1990). Antibacterial properties of propolis (bee glue). *Journal of the Royal Society of Medicine*, 83, 85-89.

11. Hensley, K., Floyd, R.A. (2002). Reactive oxygen species and protein oxidation in aging: a look back, a look ahead. *Biochem Biophys*,

۱- آفاجانلو، رقیه، مهرابیان، صدیقه. ۱۳۸۶. مقایسه آثار ضد میکروبی عسل با آنتی بیوتیک‌های رایج در درمان بیماری‌های عفونتی سالمونلاتیفی موریوم. فصل نامه علوم زیستی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان. ۱(۲): ۶۷-۷۴.

۲- مهرابیان، صدیقه، باوندی، ربابه، محمدیان، زهره. ۱۳۸۳. بررسی مقایسه‌ای ساختار شیمیایی و خواص ضد میکروبی عسل‌های مناطقی از ایران، مجله عمومی پژوهشی علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی. ۵۱: ۴۲۴۰-۴۲۳۵.

3. Ahn, M.R. (2004). Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of Korea. *J Agric Food Chem*, 52(24), 7286-7292.

4. Ali, A., Al-Jabri. (2005). Honey, milk and antibiotics. *J Biotechnology*, 4(13), 1580-1584.

5. Altuglu, I., Zeytinoglu, A., Biligic, A. (2002). Evaluation of *Brucella dipstick* assay for the diagnosis of acute Brucellosis. *Diagn microbiol infect dis*, 44, 241-243.

6. Brady, N. F., Molan, P.C. (2006). The sensitivity of Enteropathogenic bacteria to the an-

397(2), 377-383.

12. Hunter, C.A. (1995). Transforming growth factor- β inhibits interleukin -12-induced production of interferon -gamma by natural killer cells: a role for transforming growth factor- β in the regulation of T cell-independent resistance to *Toxoplasma gondii*. Eur. J. Immunol, 25, 994-1000.

13. Klinghardt, K. (2005). Lyme Disease :A look beyond antibiotics. Explor. infection diseases, 14(2).

14. Leung, A. Y., Foster, S. (1996). Encyclopedia of common natural ingredients used in food, drugs and cosmetic New york: John Wiley and sons, 299-300.

15. Marquele, F.D. (2005). Assessment of the antioxidant activities of Brazilian extracts of propolis alone and in topical pharmaceutical formulations. Pharm Biomed Anal May 19.

16. Molan, P. C. (2002). Re-introducing honey in the management of wounds and ulcers- theory and practice. Ostomy Wound Management, 48 (11), 28-40.

17. Molan, P.C., Betts, J.A. (2004). Clinical usage of honey as a wound dressing. J Wound Care, 13, 353-356.

18. Mustonen, A.M. (2001). Killing of amastigotes of *leishmania donovani* and release of nitric oxide and tumor necrosis factor α in macrophages in-vitro. Zeitschrift für naturforschung, 56, 437.

19. Nagai, T., Sakai, M., Inou. R., Inoue, H., Suzuki, N. (2001). Antioxidative activities of some commercially honeys royal jelly and propolis. Food Chemistry, 75, 237-240.

20. Natarajan, S., Williamson, D., Grey, J.A., Harding, K.G., Cooper, R.A. (2001). Healing of an MRAS – colonised, hydroxyurea – induced leg ulcer with honey. J Dermat Treat, 12, 33-36.

21. Peter, J., Tarmini, B. A., Niemira, I.R.,

(2001). Beuchat inhibitory activity of honey against foodborn pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power. International journal of good microbiology, 64, 217-225.

22. Savoia, D. (1998). In-vitro activity of different substances on the growth of *Leishmania major*. The Journal of Eukaryotic Microbiology . Italian Section Society Of Protozoologist. 19th Annual. Meeting, 27-28.

23. Scifo, C. (2004). Resveratrol and Propolis as necrosis or apoptosis inducers in human prostate carcinoma cells. Oncol Res, 14(9), 415-426.

24. Sforcin, J.M., Fernandes, A. Jr., Lopes, C.A., Bankova, V., Funari, S.R. (2000). Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity. J Ethnopharmacol, 73(1-2), 243-249.

25. Sforcin, J.M. (2002). Absence of seasonal effect on the immunomodulatory action of Brazilian propolis on natural killer activity. J. Venom. Anim. Toxins, 8 Botucatu.

26. Shaahsn, M. (1993). Peroxidase and non-peroxidase antibacterial activity in some honey in Iran. J. A. Bi, 7(3), 193-197.

27. Silici, S., Kutluca, S. (2005). Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. J Ethnopharmacol, 13, 99(1), 69-73.

28. Starzyk, J. (1977). Biological properties and clinical application of propolis . II. Studies on the antiprotozoan activity of ethanol extract of propolis. Arzneimittelforschung, 27(6), 1198-1199.

29. Suchy, H. (1978). Efficiency of propolis in the treatment of *trichomonas vaginalis* in vitro and in vivo. The third international symposium on apitherapy porotoroz, Yugoslavia, 160-161. French, pp. 161-162, German, pp. 16.

30. Tonks, A., Cooper, R.A., Price, A.J., Molan, P.C., Jones, K.P. (2001). Stimulation of tnf-alpha release in monocytes by honey. *Cytokine*, 14(4), 240-242.

31. Tyler, V. E., Brady, L. R., Robbers, J.E. (1988). *Pharmacognosy*, 9 th ed. Philadelphia: Lea and Febiger. 477.

32. Vardi. A., Barzilay, Z., Linder, N., Cohen, H.A., Paret, G., Barzilay A. (1998). Local application of honey for treatment of neonatal post-operative wound infection. *Acta Paediatr*, 87

(4),429-432.

33. Wahdan, Ha. (1988). Causes of the antimicrobial activity of honey. *Infection*, 26(1),26-31.

34. White, R., Molan, P. (2005). A summary of published clinical research on honey in wound management, In: white, R. , Cooper, R. , Molan P, Eds, *Honey: A modern wound management product*. Wounds UK Publishing. Aberdeen, 130 – 142.

