اثر آنتی‌باکتریال عسل گون بر گونه‌های پوسیدگی‌زای لاکتوباسیل

فائزه خزیمه[1]، زهرا گلستان نژاد*[،] آزاده اعیان[2]

چکیده

مقدمه: عسل گون دارای اثرات درمانی قابل توجهی می‌باشد؛ اما هنوز خاصیت ضدباکتریایی آن به خوبی مشخص نگردیده است. در مطالعه حاضر فعالیت آنتی‌باکتریال عسل گون بر سه گونه لاکتوباسیل که در روند پوسیدگی دندان نقش دارند، ارزیابی شده است.

مواد و روش‌ها: مطالعه حاضر از نوع تجربی و در محیط آزمایشگاهی بوده و به منظور تعیین تأثیر غلظت‌های مختلف عسل بر ۳ گونه لاکتوباسیل انجام شد؛ غلظت‌های مختلف عسل (۹/۳ppm، ۱۸/۷۵، ۳۷/۵، ۷۵، ۱۵۰، ۳۰۰، ۶۰۰) توسط اضافه کردن آب استریل به عسل خالص (غلظت ppm ۱۲۰۰) تهیه شد. ارزیابی فعالیت آنتی‌باکتریال عسل گون توسط رقیق‌سازی سریالی و روش انتشار دیسک انجام گردید. داده‌ها با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ به روش one way ANOVA مورد آنالیز آماری قرار گرفت و مقایسه میانگین‌ها به روش توکی صورت پذیرفت (α=۰/۰۰۰۱).

یافته‌ها: اگرچه غلظت ppm ۱۲۰۰ عسل به صورت قوی منجر به مهار هر سه گونه باکتری می‌گشت اما غلظت‌های زیر ppm ۷۵ کارآیی بیشتری داشتند. MIC عسل برای *L.Casei* PTCC ۱۶۰۸، *L.Rhamnosus* PTCC ۱۶۳۷ و *L.Plantarum* PTCC ۱۰۵۸ به ترتیب *ppm* ۷۵، ۱۰۰ و۱۰۰ و MBC به ترتیب ppm۱۰۰، ۱۵۰ و ۱۵۰ اندازه‌گیری گردید؛ همچنین ناحیه مهاری غلظت ppm ۱۲۰۰ در مدت زمان ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت به ترتیب برای *L.Casei* ۱۰/۶، ۱۱/۲ و ۱۱/۷۷، *L.Rhamnosus* ۹/۱۴، ۹/۹۰ و۱۰/۲ و *L.Plantarum* ۱۰/۲، ۱۰/۳ و ۱۱/۰۵ مشاهده گردید (p value<۰/۰۰۰۱).

نتیجه‌گیری: بر اساس نتایج به دست آمده عسل گون می‌تواند به عنوان یک ماده آنتی‌باکتریال طبیعی مورد استفاده قرار گیرد؛ اما مطالعات کلینیکی بیشتری جهت بررسی خاصیت آنتی‌باکتریال عسل لازم است.

کلید واژه‌ها: آنتی باکتریال، عسل، لاکتوباسیل.

* استادیار، مرکز تحقیقات پروفسور ترابی نژاد،گروه بیماری های دهان فک و صورت، دانشکده دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
(نویسنده مسؤول)
Email: Dr_zgolestan@yahoo.com

۱: دانشیار، مرکز تحقیقات پروفسور ترابی نژاد،گروه بیماری های دهان، فک و صورت، دانشکده دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
۲: دانشجوی دندانپزشکی، کمیته پژوهش‌های دانشجویی، دانشکده دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

این مقاله در تاریخ ۹۴/۵/۲۰ به دفتر مجله رسیده، در تاریخ ۹۴/۹/۲۰ اصلاح شده و در تاریخ ۹۴/۹/۲۴ تأیید گردیده است.

مجله دانشکده دندان‌پزشکی اصفهان
۱۳۹۴؛ ۱۱(۶): ۴۵۱ تا ۴۶۲

مقدمه

پوسیدگی و بیماری‌های پریودنتال علیرغم شیوع بالایی که در جوامع مختلف، به طور گسترده‌ای قابل پیشگیری هستند [۱]. پوسیدگی دندانی نتیجه اثر متقابل بین باکتری‌های اسیدوریک تولیدکننده اسید و وجود کربوهیدرات‌های قابل تخمیر می‌باشد [۳، ۲]. سوش‌های اصلی دخیل در این فرآیند استرپتوکوک‌ها (*S. mutans* و *S. sobrinus*) و لاکتوباسیل‌ها هستند [۷-۴].

پیشگیری از پوسیدگی از طریق کنترل پلاک دندانی با روش‌های مکانیکال استفاده از مسواک و نخ و همچنین کاربرد مواد شیمیایی مثل دهانشویه‌ها است [۸]. استفاده از مواد شیمیایی با عوارضی همراه بوده یا تعادل بیولوژیک دهان را برهم میزند [۹]. در همین راستا استفاده از مواد طبیعی با خاصیت ضدپوسیدگی مورد مطالعه قرار گرفته است. از جمله این مواد طبیعی می‌توان به زایلیتول [۳]، چای [۱۰]، عسل [۱۱]، اسانس‌های گیاهی [۷] اشاره کرد. عسل به خاطر دارا بودن فاکتورهایی مثل هیدروژن پراکساید، اسمولاریتی بالا، اسیدیتی، آروماتیک اسید و ترکیبات فنولیک یک ماده آنتی‌باکتریال محسوب می‌گردد [۱۲]. پراکسید هیدروژن مهم‌ترین تعیین‌کننده فعالیت آنتی‌باکتریال عسل می‌باشد [۱۳]. با افزایش میزان پراکسید هیدروژن در عسل، بر میزان فعالیت آنتی‌باکتریال آن افزوده می‌گردد [۱۳]؛ اما در مقابل، حساسیت آن به نور و گرما نیز افزایش می‌یابد؛ زیرا آنزیم‌هایی که برای تولید پراکسید هیدروژن مورد نیاز هستند با این فاکتورها غیرفعال می‌گردند. شرایط محیطی مانند نور، دما، شرایط تهیه و نگهداری بر خواص عسل بویژه فعالیت آنتی‌باکتریال آن تأثیر می‌گذارند [۱۴].

حضور باکتری‌های لاکتیک در عسل مانند لاکتوباسیل اسیدوفیلوس می‌تواند خاصیت آنتی‌باکتریال بر روی گونه‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک مانند استافیلوکوک آرئوس و استافیلوکوک اپیدرمیس داشته باشد [۱۶-۱۵].

مطالعات مختلف نشان داده است که عسل خواص ضدالتهابی و آنتی‌باکتریال دارد و تولید آنتی‌بادی در بدن را افزایش می‌دهد [۱۷، ۱۱]، همچنین باعث افزایش حساسیت میکروارگانیسم‌ها به آنتی‌بیوتیک و کاهش مقاومت میکروبی به آنتی‌بیوتیک می‌شود [۱۱].

اخیرا گزارش گردیده است عسل بر حدود ۶۰ گونه باکتری اعم از باکتری‌های گرم مثبت، گرم منفی، هوازی و بیهوازی اثر مهاری دارد [۱۳]. ولی تا به حال مطالعات چندانی در مورد اثر آن بر باکتری‌های دهانی صورت نگرفته است.

قپانچی و همکاران [۱۱] اثر باکتریواستاتیک غلظت‌های مختلف عسل (۲۵٪، ۵۰٪، ۷۵٪ و ۱۰۰٪) بر استرپتوکوک موتانس در محیط آزمایشگاهی را با محلول کربوهیدرات شامل شکر مقایسه کردند. در این مطالعه حداقل غلظت مهاری (MIC: minimally inhibitory concentration) عسل نسبت به محلول کربوهیدرات در غلظت های مشابه، تفاوت قابل توجهی داشت.

Badet و همکاران [۹] نشان دادند که عسل مانوکا می‌تواند رشد و چسبندگی باکتری‌های پاتوژن در پلاک دندانی را بر روی سطوح دندانی کاهش دهد.

احمدی و همکاران [۱۸] خاصیت آنتی‌باکتریال عسل همدان در غلظت‌های ۲۰٪ و ۱۰۰٪ را که به ترتیب باعث مهار رشد استرپتوکوک موتانس و لاکتوباسیل اسیدوفیلوس گردید، بررسی نمودند.

لاکتوباسیل‌ها فلور طبیعی معده و روده و باکتری غالب در واژن می‌باشند و فعالیت تخمیری آن‌ها نقش مهمی در تنظیم فیزیولوژیک دستگاه گوارش و جلوگیری از تهاجم میکروارگانیسم‌های نامطلوب دارد [۱۹]. این باکتری که گرم مثبت، میله‌ای، غیرمتحرک، بدون اسپور و کاتالاز منفی است [۲۰] در اکوسیستم‌های با pH پایین از جمله حفره دهان انسان یافت می‌شود [۲۱] و حدود ۱٪ از فلور قابل کشت حفره دهان را تشکیل می‌دهد [۲۲، ۱۹] و در مکان‌هایی که گیر مکانیکی دارند مانند حفرات و شیارهای دندانی و مارژین رستوریشن‌ها کلونیزه می‌شود [۱۹]. لاکتوباسیل با کاهش pH دهان از طریق تخمیر کربوهیدرات ها مثل ساکارز و تولید اسید سبب پوسیدگی دندانی می‌شوند [۲۳].

گونه‌های مختلفی از لاکتوباسیل در حفره دهان وجود دارد [۲۳] اما قوی‌ترین تولیدکننده‌های اسید *L.Salivarius, L.Rhamnosus, L.Plantarum, L.Casei/paracasei* هستند و به نظر می‌رسد که این گونه‌ها نقش مهم‌تری را در پیشرفت پوسیدگی نسبت به سایر گونه‌ها ایفا می‌کنند [۲۰، ۱۹].

مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر آنتی‌باکتریال عسل به عنوان ماده طبیعی و حاوی فاکتورهای آنتی‌باکتریال بر مهم‌ترین سوش‌های پوسیدگی‌زای لاکتوباسیل انجام شد.

فرضیه صفر در این مطالعه این بود که عسل گون بر ۳ گونه لاکتوباسیل *Rhamnosus Casei*, و *plantarum* تأثیر آنتی‌باکتریال ندارد.

مواد و روش‌ها

مطالعه تجربی- آزمایشگاهی حاضر به منظور تعیین ترکیبات، غلظت و تأثیر عسل بر ۳ گونه لاکتوباسیل به روش زیر انجام گردید.

نمونه‌گیری و تهیه غلظت‌های عسل

عسل گون از پرورش‌دهندگان محلی زنبور عسل شهرکرد/ ایران تهیه گردید و نمونه‌ها بصورت آسپتیک تهیه و از نور خورشید محافظت گردیدند.

عسل با غلظت‌های مختلف ۹/۳، ۱۸/۷۵، ۳۷/۵، ۷۵، ۱۵۰، ۳۰۰، ۶۰۰ و ppm ۱۲۰۰ با آب استریل تهیه شده و بلافاصله بعد از رقیق‌سازی مورد آزمایش قرار گرفتند.

اندازه‌گیری میزان رطوبت

میزان رطوبت عسل مورد آزمایش توسط یک رفرکتومتر مجهز به حمام سیرکولاسیون (England Atago'sAbb,) که در ۲۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شده بود؛ اندازه‌گیری گردید [۲۵، ۲۴] و توسط مقایسه با جدول استاندارد تعیین گردید [۲۶].

تعیین رنگ

۵ گرم از عسل مورد آزمایش با ۵۰ میلی‌لیتر آب رقیق شد و برای ۱۵ دقیقه در ۱۵۰۰ بار در دقیقه (RPM: Revolutions PerMinute) سانتریفیوژ گردید؛ سپس شناورهای مایع رویی (Supernatants) جمع‌آوری شدند و جذب آن‌ها با استفاده از اسپکتروفتومتر (Milton Roy Company, Rochester, Milton Roy UV-Vis Spectronic 3000ArrayNY) در ۳۸۰ نانومتر اندازه‌گیری شد [۲۷، ۲۵].

تعیین میزان pH

۱۰ گرم از عسل مورد آزمایش در ۸۰ میلی‌لیتر آب مقطر رقیق و pH آن در ۲۰ درجه سانتی‌گراد توسط دستگاه pHمتر (CG824Model,Japan) اندازه‌گیری گردید. pH عسل با استفاده از محلول NaOH به ۸/۳ رسانده شد. از آب به عنوان کنترل استفاده گردید و pH عسل مورد آزمایش توسط معادله زیر به دست آمد [۲۸]:

۱۰ × (حجم باز استفاده شده برای کنترل – مقدار حجم باز استفاده شده برای محلول) = میزان pH

آزمون خاکستر (Ash test)

۱۰ گرم عسل به دیسک سرامیکی انتقال داده شد و سپس یک قطره کوچک روغن زیتون به آن اضافه گردید. محلول به آرامی به مدت ۲۰ دقیقه در یک تنور تا دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد حرارت دید و وزن خاکستر سفید اندازه‌گیری گردید. برای تخمین درصد مواد معدنی موجود در محلول، تفاوت وزن به دست آمده به وزن نمونه مورد آزمون تقسیم و در ۱۰۰ ضرب گردید [۲۹].

تعیین میزان (HMF: Hydroxy Methyl Furfural)

هیدروکسی متیل فورفورال (HMF) توسط اسپکتروفوتومتر (Milton Roy UV-Vis Spectronic 3000 Array,Milton Roy Company,Rochester,NY) تشخیص داده شد. پس از شفاف کردن نمونه‌ها توسط شناساگر Carrez، سدیم بی سولفات اضافه گردید و جذب نوری نمونه‌ها در طول موج‌های ۲۸۵ و ۳۳۵ نانومتر خوانده شد [۳۰].

میکروارگانیسم و آماده‌سازی آن

سوش‌های *L.Plantarum ,Casei PTCC1608. PTCC 1058,L.Rhamnosus PTCC 1637,* از انستیتو پاستور (Pasteur Ins, Tehran, Iran) تهیه گردید. از محیط بلاد آگار (Merck Co, Germany) برای تعیین منطقه مهاری و از محیط مولر-هینتون (Merck Co, Germany) برای رقیق‌سازی سریالی (Serial dilution) و تعیین MIC/MBC استفاده گردید.

تهیه سوسپانسیون میکروبی ۰/۵ مک فارلند

با کمک لوپ استریل چند کلونی از محیط کشت میکروارگانیسم مورد آزمایش به محیط مولر- هینتون مایع (Mueller-Hinton broth) افزوده شد تا کدورت محیط با لوله استاندارد نیم مک فارلند یکسان شود.

تهیه غلظت مناسب میکروارگانیسم‌ها

۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی نیم مک فارلند به 10^9 سی‌سی محیط کشت مولر- هینتون اضافه شد تا سوسپانسیونی

به غلظت 10^6 حاصل گردید. جهت انجام این آزمایش 10^6 باکتری نیاز بوده است.

اندازه‌گیری قطر ناحیه مهاری

برای بررسی اثر آنتی‌باکتریال نمونه‌های عسل، از روش انتشار دیسک (Disk diffusion) استفاده گردید.

باکتری بعد از ۱۸ ساعت کشت (با استفاده ازمحیط کشت مایع مولر- هینتون) در غلظت استاندارد ($1\times10^6 CFU/ml$) نیم مک فارلند آماده و ۵۰۰ میکرولیتر از آن توسط یک لوپ استریل بر سطح پلیت حاوی محیط بلاد آگار پخش گردید.

از دیسک‌های سفید (با قطر ۶ mm) حاوی ۳۰میکرولیتر عسل با غلظت‌های مختلف ۹/۳ppm، ۱۸/۷۵، ۳۷/۵، ۷۵، ۱۵۰، ۳۰۰، ۶۰۰ و ۱۲۰۰ استفاده گردید. دیسک‌ها بر روی پلیت‌های بلاد آگار قرار داده شدند و در دمای۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت انکوبه گردیدند. قطر هر یک از مناطق مهاری با کولیس اندازه‌گیری شد.

تمام مراحل آزمایش سه بار و در سه زمان ۲۴ ، ۴۸ و۷۲ ساعت تکرار گردید که مجموعا تعداد تکرار آزمایش ۹ بار می‌شود.

تعیین (MBC: Minimally Bactericidal Concentration) و (MIC: Minimally Inhibitory Concentration)

برای تعیین حداقل غلظت مهاری (MIC) عسل بر سه گونه لاکتوباسیل، از محیط کشت مایع برای آماده‌سازی سوسپانسیون باکتری در تیرگی نیم مک‌فارلند استفاده گردید.

از محیط مایع مولر- هینتون برای رقیق‌سازی عسل گون استفاده گردید. تمامی رقت‌ها به نسبت ۱:۱ تهیه شدند و بدین صورت غلظت‌های مختلف عسل (۹/۳ppm، ۱۸/۷۵، ۳۷/۵، ۷۵، ۱۵۰، ۳۰۰، ۶۰۰) با رقیق‌سازی عسل خالص (۱۲۰۰ppm) به روش سریالی (Serial dilution) آماده گردید.

تمامی غلظت‌ها با ۱ میلی‌لیتر از کشت شبانه باکتری تلقیح و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردیدند.

پس از انکوباسیون کمترین غلظت عسل که هیچ رشد باکتری را نشان نداد به عنوان MIC در نظر گرفته شد.

برای تعیین حداقل غلظت کشندگی MBC، ۳۰ میکرولیتر از همه غلظت‌هایی که هیچ رشدی از باکتری را نشان ندادند به پلیت‌های بلاد آگار انتقال داده شده و در دمای۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه گردیدند. کم‌ترین غلظتی از عسل که هیچ رشدی از باکتری در پلیت‌های بلاد آگار نشان نداد؛ به عنوان MBC در نظر گرفته شد.

آنالیز آماری

برای اندازه‌گیری قطر ناحیه مهاری (Zone of inhibition)، داده‌ها با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ به روش one way ANOVA مورد آنالیز آماری قرار گرفت و مقایسه میانگین‌ها به روش توکی (Tukey) صورت پذیرفت (α=۰/۰۰۰۱).

یافته‌ها

آنالیز عسل

میزان رطوبت عسل مورد آزمایش توسط رفرکتومتر و مقایسه با جدول رفرنس، ۱۸/۵٪ اندازه‌گیری گردید (جدول ۱).

رنگ عسل مورد آزمایش که از طریق چگالی نوری اندازه‌گیری شد؛ ۰/۱۸۳ تعیین گردید (جدول ۱).

مقدار pH نمونه‌های عسل مورد نظر ۴/۵ محاسبه گردید (جدول ۱).

میزان مواد معدنی موجود در عسل از طریق آزمون خاکستر اندازه‌گیری شد و ۰/۲۸٪ تعیین گردید (جدول ۱).

هیدروکسی متیل فورفورال HMF نمونه‌های عسل که توسط اسپکتروفوتومتر تشخیص داده شد؛ ۸ mg/kg اندازه‌گیری گردید (جدول ۱).

جدول۱. خصوصیات شیمیایی و بیولوژیکی عسل گون

ردیف	خصوصیات فیزیکی و شیمیایی	مقادیر اندازه‌گیری شده
۱	میزان رطوبت	٪۱۸/۵
۲	رنگ	۰/۱۸۳
۳	pH	۴/۵
۴	مواد معدنی	٪۰/۲۸
۵	هیدروکسی متیل فورفورال	mg/kg۸

اندازه‌گیری ناحیه مهاری

با استفاده از آزمون انتشار دیسک (Disk diffusion) قطر ناحیه مهاری غلظت‌های مختلف عسل مورد آزمایش (در

محدوده ۹/۳ تا ۱۲۰۰ppm) بر *L.Rhamnosus*، *L.Casei* و *L.Plantarum* اندازه‌گیری گردید.

داده‌ها با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ به روش one way ANOVA مورد آنالیز آماری قرار گرفت و مقایسه میانگین‌ها به روش توکی صورت پذیرفت.

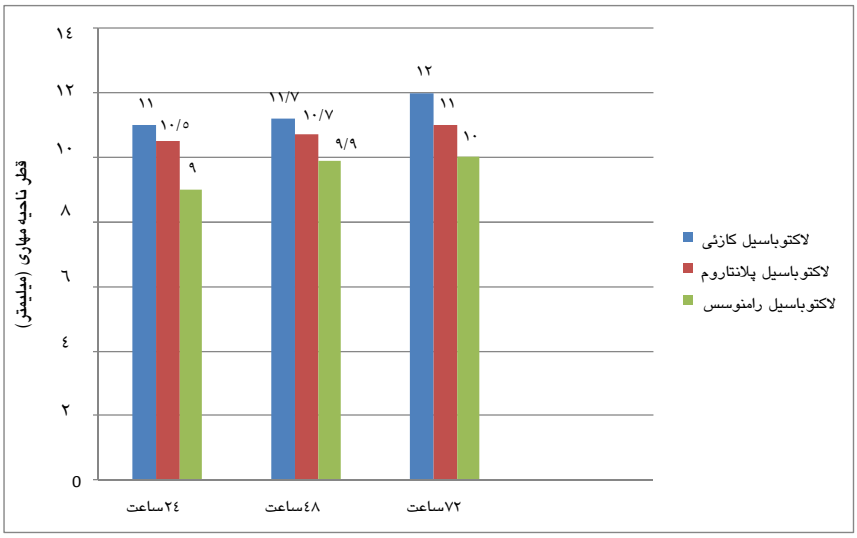
در جدول ۲ اثر غلظت‌های مختلف عسل بر سه گونه لاکتوباسیل پس از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ساعت مورد بررسی آماری قرار گرفت؛ طبق نتایج به دست آمده غلظت ۱۲۰۰ ppm اثر مهاری قابل توجهی بر هر سه گونه داشت (p value<۰/۰۰۰۱).

بعد از تعیین غلظت ۱۲۰۰ ppm به عنوان مؤثرترین غلظت مهاری، تأثیر آن بر سه گونه با یکدیگر مقایسه شد (شکل ۱).

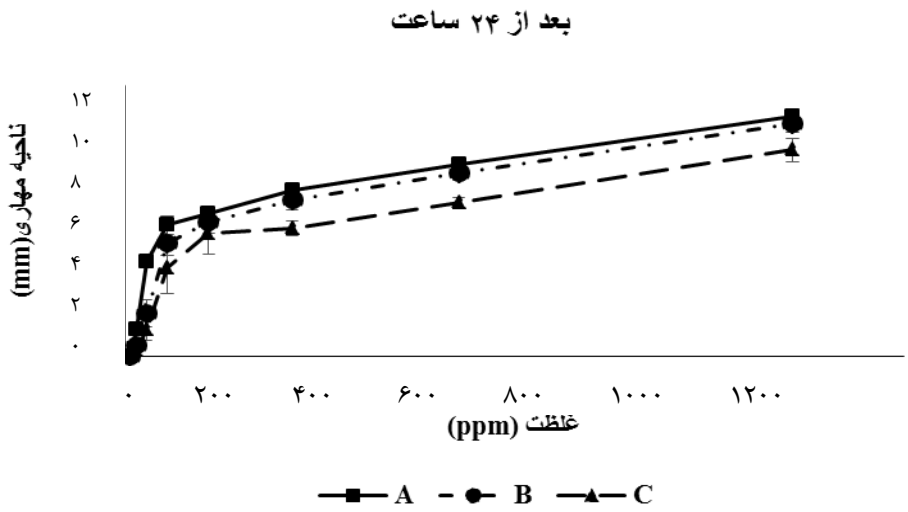
طبق شکل (۱) قطر ناحیه مهاری L.Casei در ۲۴ ساعت اول حدود ۱۱ mm بود و بعد از ۷۲ ساعت به ۱۲ mm افزایش یافت پس از آن *L.Plantarum* و *L.Rhamnosus* به ترتیب دارای ناحیه مهاری ۱۰/۵ mm و ۹ در ۲۴ ساعت اول بودند که این میزان پس از گذشت ۷۲ ساعت به ترتیب به ۱۱ mm و ۱۰ افزایش یافت.

جدول۲. تأثیر غلظت‌های مختلف عسل بر سه گونه لاکتوباسیل (p value<۰/۰۰۰۱)

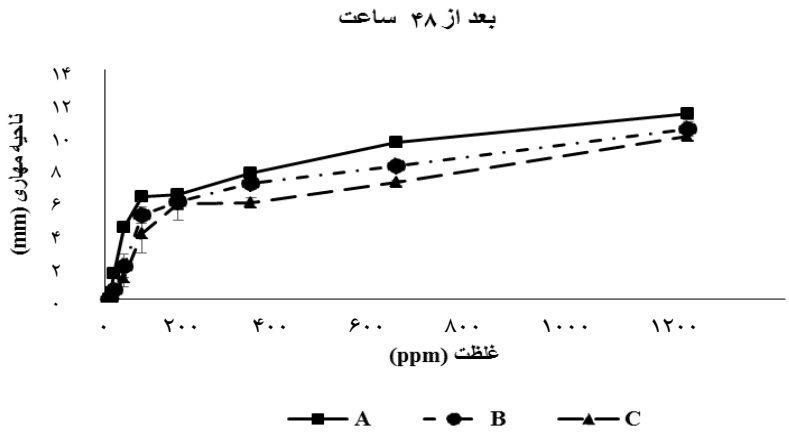
	لاکتوباسیل کازئی			لاکتوباسیل پلانتاروم			لاکتوباسیل رامنوسس		
	میانگین (میلی‌متر) ± انحراف معیار			میانگین (میلی‌متر) ± انحراف معیار			میانگین (میلی‌متر) ± انحراف معیار		
زمان / عسل (ppm)	۲۴	۴۸	۷۲	۲۴	۴۸	۷۲	۲۴	۴۸	۷۲
۹/۳	۰/۰۰ ± ۰/۰۰ ^{a}	۰/۰۰ ± ۰/۰۰ ^{a}	۰/۰۰ ± ۰/۰۰ ^{a}	۰/۰۰ ± ۰/۰۰ ^{a}	۰/۰۰ ± ۰/۰۰ ^{a}	۰/۰۰ ± ۰/۰۰ ^{a}	۰/۰۰ ± ۰/۰۰ ^{a}	۰/۰۰ ± ۰/۰۰ ^{a}	۰/۰۰ ± ۰/۰۰ ^{a}
۱۸/۷۵	۱/۱۷ ± ۰/۰۹ ^{b}	۱/۵۷ ± ۰/۲۰ ^{b}	۱/۵۷ ± ۰/۲۰ ^{b}	۰/۴۷ ± ۰/۲۶ ^{a}	۰/۵۷ ± ۰/۳۵ ^{a}	۰/۵۷ ± ۰/۳۵ ^{a}	۰/۲۷ ± ۰/۲۷ ^{a}	۰/۳۳ ± ۰/۳۳ ^{a}	۰/۳۳ ± ۰/۳۳ ^{a}
۳۷/۵	۴/۲۲ ± ۰/۳۱ ^{c}	۴/۴۰ ± ۰/۲۳ ^{c}	۴/۵۷ ± ۰/۲۸ ^{c}	۱/۹۰ ± ۰/۵۸ ^{a}	۲/۰۳ ± ۰/۷۱ ^{a}	۲/۰۳ ± ۰/۷۱ ^{a}	۱/۲۰ ± ۰/۴۹ ^{ab}	۱/۳۳ ± ۰/۵۶ ^{ab}	۱/۴۰ ± ۰/۶۲ ^{ab}
۷۵	۵/۸۰ ± ۰/۴۲ ^{d}	۶/۲۷ ± ۰/۳۰ ^{d}	۶/۳۷ ± ۰/۲۰ ^{d}	۵/۰۰ ± ۰/۵۳ ^{b}	۵/۱۳ ± ۰/۵۲ ^{b}	۵/۲۷ ± ۰/۴۰ ^{b}	۳/۹۳ ± ۱/۱۷ ^{bc}	۴/۰۳ ± ۱/۲۲ ^{bc}	۴/۰۳ ± ۱/۲۲ ^{bc}
۱۵۰	۶/۳۰ ± ۰/۱۵ ^{e}	۶/۳۷ ± ۰/۰۹ ^{d}	۶/۵۳ ± ۰/۰۷ ^{d}	۵/۹۲ ± ۰/۴۶ ^{b}	۵/۹۲ ± ۰/۴۶ ^{b}	۶/۲۲ ± ۰/۶۱ ^{b}	۵/۴۳ ± ۰/۹۲ ^{c}	۵/۸۰ ± ۰/۹۵ ^{cd}	۵/۹۰ ± ۱/۰۰ ^{cd}
۳۰۰	۷/۳۶ ± ۰/۱۳ ^{e}	۷/۷۱ ± ۰/۱۷ ^{e}	۸/۱۷ ± ۰/۴۰ ^{e}	۶/۹۱ ± ۰/۴۰ ^{bc}	۷/۰۴ ± ۰/۳۸ ^{bc}	۷/۲۶ ± ۰/۳۸ ^{bc}	۵/۶۷ ± ۰/۳۳ ^{c}	۵/۸۸ ± ۰/۲۹ ^{cd}	۶/۲۸ ± ۰/۵۰ ^{cd}
۶۰۰	۸/۵۲ ± ۰/۱۷ ^{f}	۹/۵۷ ± ۰/۱۴ ^{f}	۱۰/۲۰ ± ۰/۱۵ ^{f}	۸/۱۰ ± ۰/۲۹ ^{c}	۸/۱۰ ± ۰/۲۹ ^{c}	۸/۴۰ ± ۰/۲۶ ^{c}	۶/۸۰ ± ۰/۲۰ ^{cd}	۷/۱۰ ± ۰/۱۵ ^{de}	۷/۴۳ ± ۰/۲۳ ^{de}
۱۲۰۰	۱۰/۶ ± ۰/۳۲ ^{g}	۱۱/۲ ± ۰/۳۲ ^{g}	۱۱/۷۷ ± ۰/۱۹ ^{g}	۱۰/۲ ± ۰/۳۹ ^{d}	۱۰/۳ ± ۰/۴۳ ^{d}	۱۱/۵ ± ۰/۳۳ ^{d}	۹/۱۴ ± ۰/۵۲ ^{d}	۹/۹۰ ± ۰/۲۱ ^{e}	۱۰/۲ ± ۰/۳۶ ^{e}



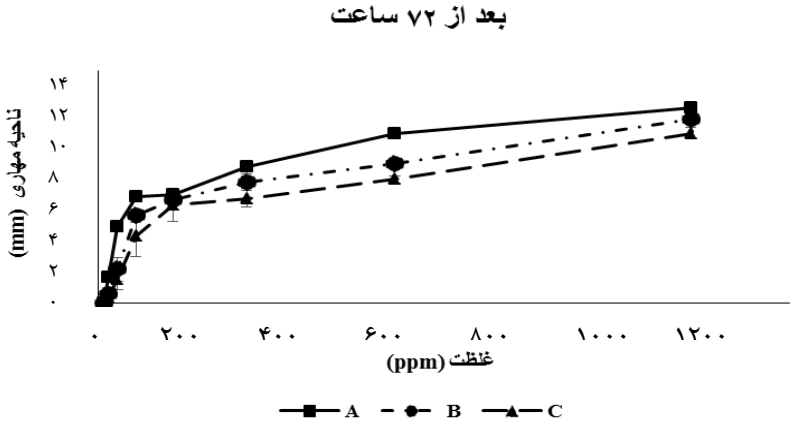
نمودار۱. مقایسه ناحیه مهاری (mm) غلظت 1200 ppm عسل بر سه گونه لاکتوباسیل



نمودار ۲. تأثیر افزایش غلظت بر تمایل آنتی‌باکتریال عسل بر سه گونه بعد از ۲۴ ساعت
(A:*L.Casei* ,B:*L.Plantarum* ,C:*L.Rhamnosus*)



نمودار ۳. تأثیر افزایش غلظت بر تمایل آنتی‌باکتریال عسل بر سه گونه بعد از ۴۸ ساعت
(A:L.Casei ,B:L.Plantarum ,C:L.Rhamnosus)



نمودار ۴. تأثیر افزایش غلظت بر تمایل آنتی‌باکتریال عسل گون بر سه گونه بعد از ۷۲ ساعت
(A:L.Casei ,B:L.Plantarum ,C:L.Rhamnosus)

جدول ۳. به طور خلاصه MIC و MBC عسل در مقابل سه گونه لاکتوباسیل مورد مطالعه را نشان می‌دهد.

جدول ۳. میزان MIC و MBC عسل گون بر سه گونه لاکتوباسیل

باکتری	MIC (ppm= µg/ml)	MBC (ppm= µg/ml)
L.Casei	۷۵	۱۰۰
L.Plantarum	۱۰۰	۱۵۰
L.Rhamnosus	۱۰۰	۱۵۰

MIC: Minimally Inhibitory Concentration
MBC: Minimally Bactericidal Concentration

بحث

فرضیه صفر که عبارت بود از: عسل گون بر سه سوش لاکتوباسیل *Plantarum* ,*Rhamnosus* ,*Casei* اثر آنتی‌باکتریال ندارد در این مطالعه رد شد و نتایج نشان داد عسل گون بر هر سه سوش مورد مطالعه اثر آنتی‌باکتریال دارد به طوری که تأثیر آن بر L.Casei بیشتر از دو سوش دیگر بود.

با افزایش روزافزون مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها تمایل برای استفاده از مواد طبیعی با خاصیت آنتی‌باکتریال مانند عسل رو به افزایش است [۱۳].

از گذشته تاکنون عسل به عنوان دارویی برای درمان عفونت‌های تنفسی، بیماری‌های ادراری، بیماری‌های گوارشی، زخم‌های پوستی، اگزما، پسوریازیس، درماتیت و سوختگی استفاده می‌شده است [۱۱].

مطالعات متعددی در مورد تأثیر عسل در درمان برخی از وضعیت‌های پاتولوژیک دهان مانند موکوزیت پس از رادیوتراپی [۳۱]، بیماری پریودنتال [۳۲] و برخی ضایعات دهانی مانند کاندیدا در بیماران دارای دنچر [۳۳] صورت گرفته است که نشان‌دهنده خواص درمانی و فعالیت بالای آنتی‌باکتریال عسل می‌باشد [۳۴].

Ghashm و همکاران [۳۵] تأثیر عسل بر سلول‌های سرطانی کارسینوم سلول سنگفرشی و استئوسارکوم را بررسی کردند و نشان دادند که عسل با القای مرگ زودرس سلول‌های سرطانی (early apoptosis) از تکثیر آن‌ها جلوگیری می‌کند.

در مطالعه حاضر به بررسی ویژگی‌های فیزیکی- شیمیایی و فعالیت آنتی‌باکتریال عسل گون علیه سه گونه لاکتوباسیل مؤثر در روند پوسیدگی پرداخته شد.

میزان رطوبت عسل مورد آزمایش ۱۸/۵٪ اندازه‌گیری گردید. طبق مطالعات انجام شده، به طور معمول میزان رطوبت موجود در عسل در حدود ۲۱ ـ ۱۵ ٪ اندازه‌گیری می‌شود [۳۶، ۳۵، ۱۶] . میزان رطوبت موجود در عسل بر خواص فیزیکی آن از جمله اسمولاریته و ویسکوزیته اثر می‌گذارد بدین صورت که عسل با غلظت بالا و رطوبت کم می‌تواند از رشد باکتری‌ها جلوگیری کند [۱۳].

به طور کلی مقادیر بالای رطوبت در عسل موجب تخمیر، فساد، از دست دادن طعم و کاهش کیفیت عسل می‌گردد [۲۵] ؛ بنابراین میزان رطوبت اندازه‌گیری شده در عسل مورد آزمایش دلالت بر کیفیت مناسب آن دارد.

رنگ عسل با میزان دانسیته نوری سنجیده می‌شود که در عسل مورد آزمایش ۰/۱۸۳ اندازه‌گیری شد؛ دانسیته نوری ۰/۲ یا کمتر نشانگر عسل تازه می‌باشد [۳۷].

میزان pH عسل مورد آزمایش ۴/۵ بود. طبق مطالعات انجام گرفته میزان pH عسل از۳/۲ تا ۴/۵ متغیر می‌باشد [۳۶، ۳۵] بنابراین میزان pH عسل موردنظر در محدوده عسل تازه قرار می‌گیرد.

آزمون خاکستر بر طبق متد بیان شده توسط مؤسسه استانداردسازی و صنعتی ایران انجام گردید. مواد معدنی موجود در نمونه عسل ۰/۲۸٪ اندازه‌گیری شد؛ حداکثر میزان استاندارد مواد معدنی موجود در عسل ۰/۶٪ می‌باشد [۲۵]. میزان مواد معدنی موجود در عسل بستگی به موادی دارد که زنبور عسل در طی گردش بر روی گل‌ها جمع‌آوری می‌کند [۳۸].

هنگامی که بعضی قندهای موجود در عسل (مثل گلوکز) به علت قرارگیری در زیر شرایط اطمینان مثل دمای بالا تجزیه می‌شوند؛ هیدروکسی متیل فورفورال HMF تولید می‌شود بنابراین هیدروکسی متیل فورفورال HMF یک نشانگر مفید برای بررسی شرایط نگهداری و تازگی عسل می‌باشد.

کدکس و اتحادیه اروپا حداکثر دوز مجاز HMF را به ترتیب۸۰ mg/kg و ۴۰ اعلام کرده‌اند [۳۹، ۳۰].

HMF عسل موردنظر ما mg/kg ۸ بود که نشانگر قند تجزیه شده کمتری است که این نیز بر تازگی عسل دلالت می‌کند (جدول ۱).

MIC و MBC عسل بر *L.Casei* به ترتیب ۷۵ppm و ۱۰۰، *L.Plantarum* به ترتیب ۱۰۰ppm و ۱۵۰ و *L.Rhamnosus* به ترتیب ppm ۱۰۰ و ۱۵۰ تعیین گردید.

قطر ناحیه مهاری در محدوده غلظت‌های ppm ۷۵-۰ به صورت تصاعدی افزایش می‌یابد اما بعد از آن یک روند خطی را در پیش می‌گیرد که مؤید این نکته است که اگر چه با افزایش غلظت تا ppm ۱۲۰۰ میزان قطر ناحیه مهاری افزایش می‌یابد اما در غلظت‌های پایین (۷۵ و پایین‌تر) اثر آنتی‌باکتریالی عسل نسبت به میزان مصرف آن، بالاتر است؛ به این مفهوم که عسل در غلظت‌های پایین، کارایی آنتی‌باکتریال بیشتری دارد.

نتایج این بررسی نشان می‌دهد که غلظت‌های زیر ۳۷/۵ppm مطلوب‌ترین غلظت‌ها برای مهار لاکتوباسیل می‌باشند.

نتایج مطالعات نشان می‌دهد که میزان هیدروژن پراکساید در عسل خالص در حداقل مقدار خود می‌باشد اما با رقیق‌سازی عسل آنزیم گلوکز اکسیداز فعال می‌شود و گلوکز را به هیدروژن پراکساید و گلوکونیک اسید تبدیل می‌کند به همین علت فعالیت آنتی‌باکتریال عسل در غلظت‌های پایین مشهودتر است؛ اما در غلظت‌های بالا فعالیت آنتی‌باکتریال عسل بیشتر به علت مقادیر بالای قند موجود در آن است نه فعالیت هیدروژن پراکساید [۳۶، ۱۳].

ترکیبات شیمیایی عسل به فاکتورهای مختلفی مانند نوع گل و وضعیت آب و هوایی منطقه بستگی دارد [۱۱] ؛گزارش شده است که گونه‌های مختلف عسل قدرت ضدباکتریایی متفاوتی با هم دارند که این پتانسیل باکتری‌کشی آن‌ها گاهی بیشتر از صد برابر متفاوت است [۴۰].

یک گونه عسلی که به صورت گسترده مورد آزمایش قرار گرفته و خواص آنتی‌باکتریال قوی آن ثابت شده است عسل مانوکا می‌باشد [۴۱] .

Badet و همکاران [۹] بیان کردند که عسل مانوکا با مقادیر MIC و MBC ، ۱۰۰µg/ml و ۲۰۰ بر استرپتوکوک موتانس و *L.Rhamnosus* خاصیت آنتی‌باکتریال داشته است؛ در صورتی که در این مطالعه MIC و MBC عسل گون بر این گونه لاکتوباسیل ۱۰۰µg/mlو ۱۵۰ اندازه‌گیری گردید که نشان می‌دهد عسل گون خاصیت کشندگی MBC بیشتری دارد؛ بنابراین قدرت آنتی‌باکتریال عسل گون را می‌توان برابر یا حتی بیشتر از سایر گونه‌های عسل از جمله عسل مانوکا دانست.

Atwa و همکاران [۴۲] خاصیت آنتی‌باکتریال عسل بر استرپتوکوک موتانس و لاکتوباسیل اسیدوفیلوس (که از بزاق افرادی که تحت درمان ارتودنسی بودند کشت داده شده بود) در مقایسه با ۳ آنتی‌بیوتیک به روش انتشار دیسک (Disk diffusion) مورد بررسی قرار دادند و میزان ناحیه مهاری mm ۳۰ برای لاکتوباسیل و mm ۲۸ برای استرپتوکوک موتانس اندازه‌گیری شد که بسیار بیشتر از ناحیه مهاری آنتی‌بیوتیک‌های مقایسه‌ای بود؛ همچنین تعداد باکتری‌های موجود در پلاک (استرپتوکوک موتانس و لاکتو باسیل) پس از ۲ دقیقه جویدن عسل به میزان قابل توجهی کاهش یافت؛ لیکن در این بررسی حداکثر ناحیه مهاری به دست آمده به میزان ۱۱/۷۷mm برای *L.Casei* ثبت گردید که این اختلاف می‌تواند به علت متفاوت بودن نوع عسل و نوع گونه لاکتوباسیل مورد آزمایش باشد.

احمدی و همکاران [۱۸] اثر آنتی‌باکتریال عسل همدان بر استرپتوکوک موتانس و لاکتوباسیل اسیدوفیلوس به روش انتشار دیسک را بررسی کردند که در این مطالعه غلظت ۲۵٪ و ۱۰۰٪ این نوع عسل به ترتیب باعث مهار رشد استرپتوکوک موتانس و لاکتوباسیل در محیط کشت گردید اما در مطالعه حاضر غلظت‌های کمتر از ppm ۳۷/۵ عسل گون خاصیت آنتی‌باکتریال بیشتری را نسبت به میزان مصرف آن نشان داد که این تفاوت می‌تواند به علت نوع عسل مورد استفاده و نوع لاکتوباسیل مورد بررسی باشد.

قپانچی و همکاران [۱۱] خاصیت آنتی‌باکتریال عسل خمین بر استرپتوکوک موتانس مورد بررسی قرار دادند و دریافتند که MIC و ناحیه مهاری عسل بر استرپتوکوک موتانس به ترتیب ۷۵٪ و mm ۱۳ است. علت این تفاوت با نتایج مطالعه فعلی می‌تواند نوع عسل مصرفی و حساسیت بیشتر استرپتوکوک موتانس به عسل باشد.

از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به ویسکوزیتی بالای عسل اشاره کرد که برداشت و رقیق‌سازی آن را با مشکل روبرو می‌کرد. همچنین سوش‌های لاکتوباسیل مورد بررسی در محیط کشت به خوبی رشد نمی‌کردند و گاهی نیاز به چندین نوبت کشت برای به دست آوردن نتیجه مطلوب بود.

به هر حال آزمایشات بیشتری برای شناسایی ترکیبات آنتی‌باکتریال موجود در عسل مورد نیاز است. همچنین لازم است تا مطالعات بیشتری در مورد فعالیت آنتی‌باکتریال عسل در محیط کلینیکی صورت پذیرد تا فعالیت پیشگیری‌کنندگی عسل از پوسیدگی‌های دندانی بررسی گردد.

پیشنهاد می‌گردد برای مشخص شدن قطعی اثر آنتی‌باکتریال عسل گون، منحنی رشد گونه‌های لاکتوباسیل در حضور غلظت‌های مختلف عسل گون در محیط آزمایشگاهی، حداقل دوز عسل که منجر به مهار چسبندگی گونه‌های لاکتوباسیل به دیسک‌های هیدروکسی آپاتیت می‌گردد، دوز سایتوتوکسیک عسل بر سلول‌های اپی‌تلیال در محیط آزمایشگاهی، اثر ضدپوسیدگی غلظت‌های مختلف عسل در قالب یک مطالعه کلینیکی مورد بررسی قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

در این مطالعه ویژگی‌های آنتی‌باکتریال عسل گون بر سه گونه لاکتوباسیل مؤثر در روند پوسیدگی بررسی شد و نشان داده شد که این گونه عسل در دو جهت مختلف اثر مهاری دارد.

طبق نتایج مطالعه حاضر به نظر می‌رسد که علت فعالیت آنتی‌باکتریال عسل به دلیل غلظت بالای قند موجود در آن است در حالی که فعالیت مهاری در غلظت‌های پایین‌تر به دلیل اجزای تشکیل‌دهنده خاص آن مانند هیدروژن پراکساید می‌باشد.

سپاسگزاری

این پروژه در مرکز تحقیقات ترابی‌نژاد، گروه بیماری‌های دهان، دانشکده دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان و با حمایت‌های مالی این دانشگاه انجام گردید.

References

1. Watt RG. Strategies and approaches in oral disease prevention and health promotion. Bull World Health Organ 2005; 83(9): 711-8.
2. Twetman S. The role of xylitol in patient caries management. Oralprophylaxe Kinderzahnheilkunde 2009; 31(3): 122-7.
3. Caglar E, Kavaloglu SC, Kuscu OO, Sandalli N, Holgerson PL, Twetman S. Effect of chewing gums containing xylitol or probiotic bacteria on salivary mutans streptococci and lactobacilli. Clin Oral Investig 2007; 11(4): 425-9.
4. Aas JA, Griffen AL, Dardis SR, Lee AM, Olsen I, Dewhirst FE, et al. Bacteria of dental caries in primary and permanent teeth in children and young adults. J Clin Microbiol 2008; 46(4): 1407-17.
5. Munson M, Banerjee A, Watson TF, Wade WG. Molecular analysis of the microflora associated with dental caries. J Clin Microbiol 2004; 42(7): 3023-9.
6. .Akhlaghi N,Mortazavi Sh,Akhlaghi N.Relationship between salivary Streptococcus mutans and Lactobacillus counts and caries in adults with a high level of dental care. J Isfahan Dent Sch 2011; 6(6): 750-759. [In Persian]
7. Ishnava KB, Chauhan JB, Barad MB. Anticariogenic and phytochemical evaluation of Eucalyptus globules Labill. Saudi J Biol Sci 2013; 20(1): 69-74.
8. Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries. Lancet 2007; 369(9555): 51-9.
9. Badet C, Quero F. Thein vitro effect of manuka honeys on growth and adherence of oral bacteria. Anaerobe 2011; 17(1): 19-22.
10. Smullen J, Finney M, Storey DM, Foster HA. Prevention of artificial dental plaque formation in vitro by plant extracts. J Appl Microbiol 2012;113(4):964-73.
11. Ghabanchi J, Bazargani A, Afkar MD, Foroshan SB, Ayeen SD. In vitro assessment of anti-Streptococcus mutans potential of honey. Iran Red Crescent Med J 2010; 12(1): 58-61.
12. Lee H, Churey JJ, Worobo RW. Antimicrobial activity of bacterial isolates from different floral sources of honey. Int J Food Microbiol 2008; 126(1-2): 240-4.
13. Olaitan PB, Adeleke OE, Ola IO. Honey: a reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes. Afr Health Sci 2007; 7(3): 159-65.

14. Kwakman PH, Zaat SA. Antibacterial components of honey. IUBMB life 2012; 64(1): 48-55.
15. Aween MM, Hassan Z, Muhialdin BJ, Eljamel YA, Al-Mabrok AS, Lani MN. Antibacterial Activity of Lactobacillus acidophilus Strains Isolated from Honey Marketed in Malaysiaagainst Selected Multiple Antibiotic Resistant(MAR) Gram-Positive Bacteria. J Food Sci 2012; 77(7); M364-71.
16. Bahiru B, Mehari T, Ashenafi M. Yeast and lactic acid flora oftej, an indigenous Ethiopian honey wine: Variations within and between production units. Food Microbiol 2006; 23(3): 277-82.
17. Yaghoobi N, Al-Waili N, Ghayour-Mobarhan M, Parizadeh SM, Abasalti Z, Yaghoobi Z, et al. Natural honey and cardiovascular risk factors; effects on blood glucose, cholesterol, triacylglycerole, CRP, and body weight compared with sucrose. ScientificWorldJournal 2008; 8: 463-9.
18. Ahmadi-Motamayel F, Hendi SS, Alikhani MY, Khamverdi Z. Antibacterial activity of honey on cariogenic bacteria. J Dent (Tehran) 2013; 10(1): 10-15.
19. Svec P, Sedlácek I, Zácková L, Nováková D, Kukletová M. Lactobacillus spp. associated with early childhood caries. Folia Microbiol(Praha) 2009; 54(1): 53-8.
20. Román-Méndez C, Badet C, Yáñez A, Dominguez ML, Giono S, Richard B, et al. Identification of oral strains of Lactobacillus species isolated from Mexican and French children. J Dent Oral Hyg 2009; 1(1): 9-16.
21. Piwat S, Teanpaisan R, Dahlén G, Thitasomakul S, Douglas CW. Acid production and growth by oral Lactobacillus species in vitro. J Investig Clin Dent 2012; 3(1): 56-61.
22. Kõll-Klais P, Mändar R, Leibur E, Marcotte H, Hammarström L, Mikelsaar M. Oral lactobacilli in chronic periodontitis and periodontal health: species composition and antimicrobial activity. Oral MicrobiolImmunol 2005; 20(6): 354-61.
23. Yang R, Argimon S, Li Y, Zhou X, Caufield PW. Determining the genetic diversity of lactobacilli from the oral cavity. J Microbiol Methods 2010; 82(2): 163-9.
24. Badawy O, Shafii S, Tharwat EE, Kamal A. Antibacterial activity of bee honey and its therapeutic usefulness against Escherichia coli O157: H7 and Salmonella typhimurium infection. Rev Sci Tech 2004; 23(3): 1011-22.
25. Gheisari HR,Hamidian Shirazi AR.Comparison and evaluation of physicochemical properties and adulterations in produced honeys of Shiraz province in different seasons.Iran Food Sci Technol Res J 2008; 4(2): 57-69. [In Persian]
26. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Standard for Honey (CODEX STAN 12-1981). Rome, FAO. 2001. [Cited 2016 Feb 2]. Availabe from: http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/standards/list-standards/en/?no_cache=1
27. White JW Jr. Honey. Adv Food Res 1978; 24: 287-374.
28. Acquarone C, Buera P, Elizalde B. Pattern of pH and electrical conductivity upon honey dilution as a complementary tool for discriminating geographical origin of honeys. Food Chem 2007; 101(2): 695-703.
29. Bogdanov S, Martin P, Lullmann C. Harmonised methods of the international honey commission. Bern, Switzerland: Swiss Bee Res Centre; 2002. [Cited 2016 Feb 2]. Availabe from: http://www.ihc-platform.net/ihcmethods2009.pdf
30. Zappala M, Fallico B, Arena E, Verzera A. Methods for the determination of HMF in honey: a comparison. Food control 2005; 16(3): 273-7.
31. Motallebnejad M, Akram S, Moghadamnia A, Moulana Z, Omidi S. The effect of topical application of pure honey on radiation-induced mucositis: a randomized clinical trial. J Contemp Dent Pract 2008; 9(3): 40-7.
32. English HK, Pack AR, Molan PC. The effects of manuka honey on plaque and gingivitis: a pilot study. J Int Acad Periodontol 2004; 6(2): 63-7.
33. Santos VR, Pimenta FJ, Aguiar MC, do Carmo MA, Naves MD, Mesquita RA. Oral candidiasis treatment with Brazilian ethanol propolis extract. Phytother Res 2005; 19(7): 652-4.
34. Nassar HM, Li M, Gregory RL. Effect of honey on Streptococcus mutans growth and biofilm formation. Appl Environ Microbiol 2012; 78(2): 536-40.
35. Ghashm AA, Othman NH,Khattak MN,Ismail NM,Saini R. Antiproliferative effect of Tualang honey on oral squamous cell carcinoma and osteosarcoma cell lines. BMC Complement Altern Med 2010; 10: 49.
36. Ajibola A, Chamunorwa JP, Erlwanger KH. Nutraceutical values of natural honey and its contribution to human health and wealth. Nutr Metab (Lond) 2012; 9: 61.
37. Molan PC. The antibacterial activity of honey: 1. The nature of the antibacterial activity.Bee World 1992; 73(1): 5-28.
38. Gonzales AP, Burin L, Buera MP. Color changes during storage of honeys in relation to their composition and initial color. Food Res Int 1999; 32(3): 185-91.
39. Abu-Tarboush HM, Al-Kahtani HA, El-Sarrage M. Floral-type identification and quality evaluation of some honey types. Food Chem 1993; 46(1): 13-7.

40. Khalil I, Moniruzzaman M, Boukraâ L, Benhanifia M, Islam A, Islam N, et al. Physicochemical and antioxidant properties of Algerian honey. Molecules 2012; 17(9): 11199-215.
41. Cooper RA, Halas E, Molan PC. The efficacy of honey in inhibiting strains of Pseudomonas aeruginosa from infected burns. J Burn Care Rehabil 2002; 23(6): 366-70.
42. Atwa AD, AbuShahba RY, Mostafa M, Hashem MI. Effect of honey in preventing gingivitis and dental caries in patients undergoing orthodontic treatment. Saudi Dent J 2014; 26(3): 108-14.

Antibacterial effect of astragalus honey on cariogenic *Lactobacillus* strains

Faezeh Khozeymeh, Zahra Golestannejad*, Azadeh Aayan

Abstract

Introduction: *Astragalus honey has valuable therapeutic effects; however, its antibacterial effect is not well understood. In this study the antimicrobial activity of astragalus honey on three species of Lactobacillus strains involved in the process of tooth decay was evaluated.*
Materials and methods: *The present in vitro study was carried out to determine the effect of different concentrations of astragalus honey on three Lactobacillus species. Different concentrations of honey (9.3, 18.75, 37.5, 75, 150, 300 and 600 ppm) were prepared by adding sterile water to pure honey (1200 ppm). Antibacterial activity of honey was determined by serial dilutions and the disk diffusion method. Data analysis was performed with SPSS 20, using one-way ANOVA and comparison of means with Tukey test (α=0.0001).*
Results: *Although a honey concentration of 1200 ppm strongly inhibited the growth of all the three Lactobacillus strains, concentrations below 75 ppm were more effective. The minimum inhibitory concentrations (MIC) of honey against L. casei (PTCC 1608), L. rhamnosus (PTCC 1637) and L. plantarum (PTCC 1058) were 75, 100 and 100 ppm, respectively and the minimum bactericidal concentrations (MBC) were 100, 150 and 150 ppm, respectively. Zones of inhibition for 1200 ppm concentration at 24, 48 and 72 hours for L. casei were 10.6, 11.2 and 11.77 mm, respectively, with 10.2, 10.3 and 11.05 mm for L. plantarum and 9.14, 9.90 and 10.2 mm for L. rhamnosus, respectively (p value < 0.0001).*
Conclusion: *Based on the results, astragalus honey can be used as a natural antibiotic; however, further studies are necessary to evaluate the antibacterial activity of honey.*

Key words: *Antibacterial, Honey, Lactobacillus strains.*

Received: 11.8.2015 **Accepted:** 15.12.2015

Address: Assistant Professor, Torabinejad Dental Research Center, Department of Oral and Maxillofacial Medicine, School of Dentistry, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
Email: Dr_zgolestan@yahoo.com

Citation: Khozeymeh F, Golestannejad Z, Aayan A. **Antibacterial effect of astragalus honey on cariogenic *Lactobacillus* strains**. J Isfahan Dent Sch 2016; 11(6): 451-462.