



ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ

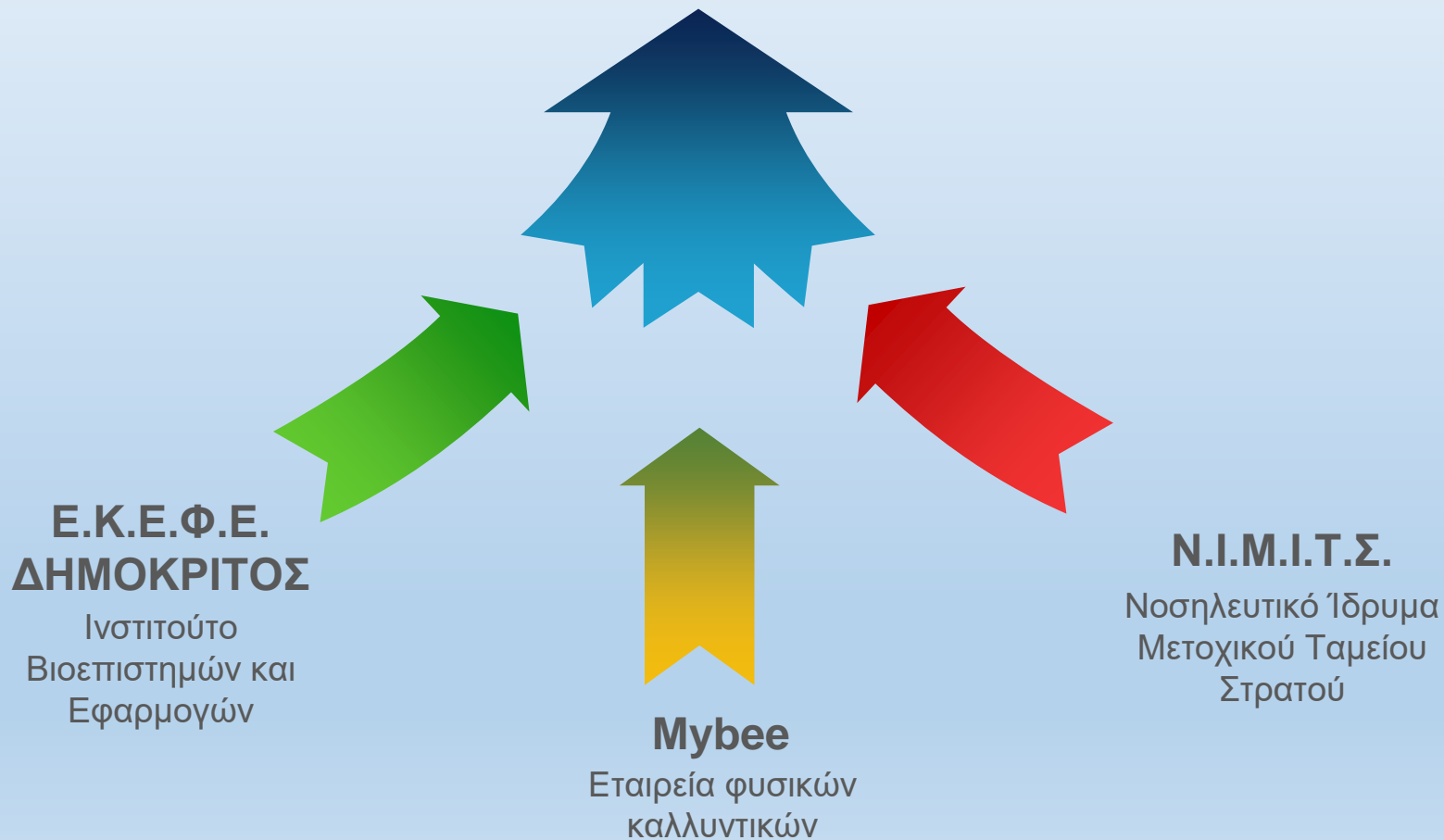
ΕΘΝΙΚΟ ΚΕΝΤΡΟ ΕΡΕΥΝΑΣ ΦΥΣΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

Έλεγχος αντιμικροβιακής δράσης εκχυλισμάτων πρόπολης και επιλεγμένων αρωματικών, φαρμακευτικών φυτικών οργανισμών

Μαμούχα Σ. (1), Λιάπης Β. (2), Προμπονά Α. (1)

Συνεργαζόμενοι φορείς

Έλεγχος αντιμικροβιακής δράσης πρόπολης & αιθερίων ελαίων



Πρόπολη

- Ετυμολογία της λέξης: «προ της πόλεως»
- Μειώνει το μέγεθος της εισόδου της κυψέλης => περιορίζεται η πρόσβαση κρύου αέρα
- Μέσο επικάλυψης, εμποδίζει τη διάβρωση του ξύλου (*Bacillus larvae*). Ως μέσο αποστείρωσης για την επόμενη ωτοκία
- Περιορίζει την μετάδοση ασθενειών
- Αντιμετώπιση σήψης πτώματος ενός εισβολέα=>ταρίχευση των μικρών εισβολέων
- Η συνολική ποσότητα πρόπολης στην κυψέλη κυμαίνεται μεταξύ 150 και 300 γραμμαρίων ανά μελισσοκομική περίοδο



Θεωρίες για την προέλευση της πρόπολης



1^η θεωρία:

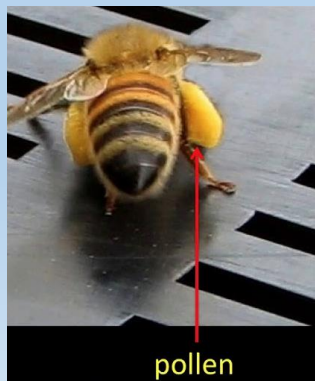
υπόλοιπο γύρης εμπλουτισμένο
με διάφορα ένζυμα & προϊόντα
του στομάχου

Kuestenmacher (1912)

2^η θεωρία:

Συλλογή υλικού από
οφθαλμούς, εξωκάρπιο,
βλαστό

(Januzzi, 1990)



Σύγχρονη άποψη

Συλλογή ρητίνης (με τις σιαγόνες τους) και τις
τοποθετούν σε υποδοχές των πίσω ποδιών τους.
Κατά τη διαδικασία αυτή αναμιγνύονται με
σίελο και γύρη

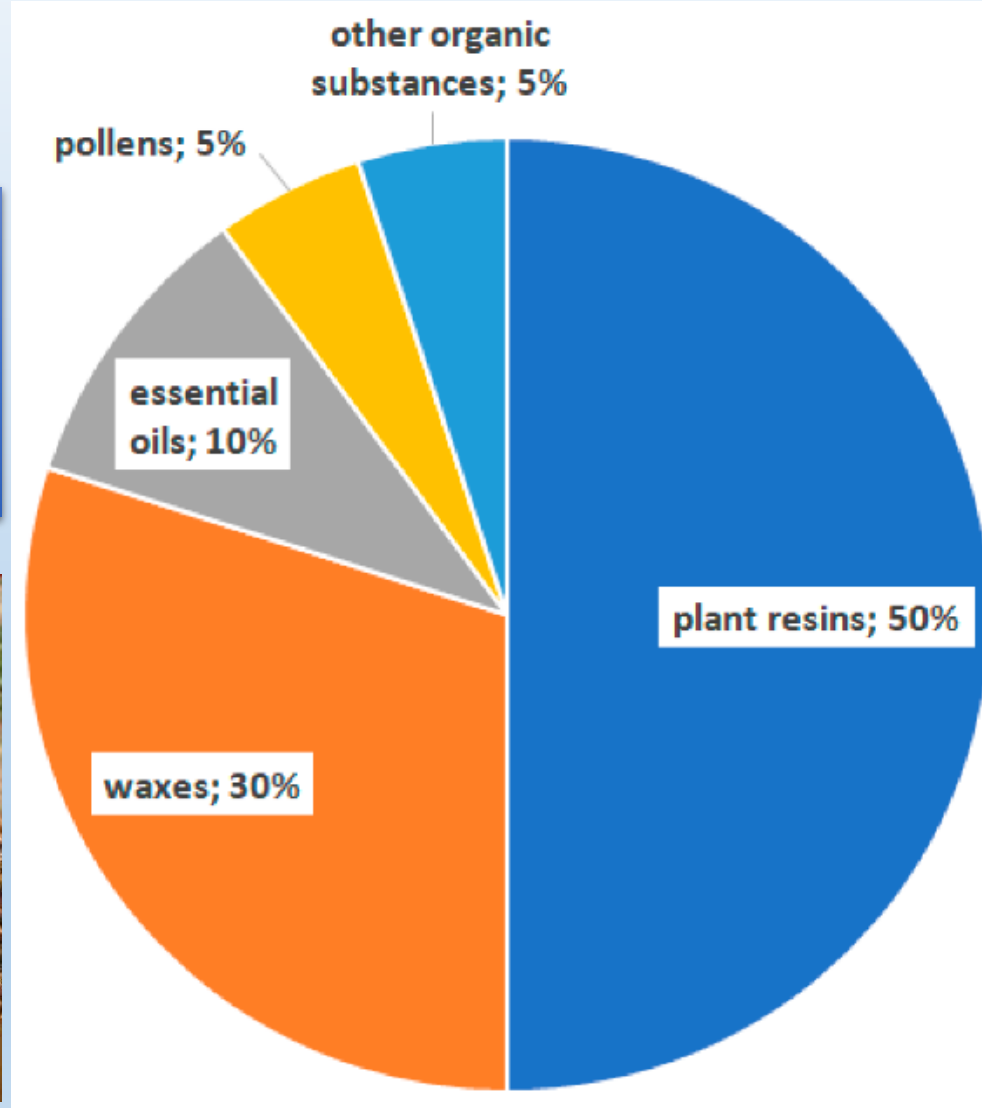
Γνωστές Θεραπευτικές δράσεις

- Ο Ιπποκράτης συνιστούσε την επάλειψη για την επούλωση των πληγών
- Ο Διοσκουρίδης και ο Γαληνός, τη συνιστούσαν για τη θεραπεία των πολεμιστών που είχαν τραυματιστεί από τα εχθρικά βέλη



Χημική σύσταση πρόπολης

Περιέχει 55% ρητίνες, 30% κερι, 10% αιθέρια έλαια και 5% γύρη, ένζυμα, οργανικά οξέα, πρωτεΐνες







Κοινή ονομασία	Σπαθόχορτο, βαλσαμόχορτο, υπερίκο
Οικογένεια	Hypericaceae
Γένος	<i>Hypericum</i>
Είδος	<i>perforatum</i>
Κύριοι βασικοί Δ.Μ.	α- , β-pinene, limonene



Κοινή ονομασία	Γαριφαλόδενδρο
Οικογένεια	Myrtaceae
Γένος	<i>Syzygium</i>
Είδος	<i>aromaticum</i>
Κύριοι βασικοί Δ.Μ.	eugenol, phenolic acids, gallic acid, β-cariofilen



Κοινή ονομασία	Καστανιά
Οικογένεια	Fagaceae
Γένος	<i>Castanea</i>
Είδος	<i>sativa</i>
Κύριοι βασικοί Δ.Μ.	γ-terpinene, benzyl alcohol, α-methyl benzyl alcohol

Πειραματική πορεία

- Παραλαβή πρόπολης. Η παγίδα αυτή γεμίζει σε χρονικό διάστημα δύο εβδομάδων περίπου και η απόδοσή της είναι από 15-20 gr
- Απομάκρυνση ξένων σωματιδίων, κηρών, συσκευασία και φύλαξη
- 2 g πρόπολη
- 10 ml αιθέριο έλαιο *Dianthus caryophyllus*, *Laurus nobilis*, *Salvia officinalis* & *Citrus* sp.
- Εκχύλιση – δύο μέθοδοι
- Διαλύτες – EtOH 80° , 95°
- Απομάκρυνση του διαλύτη
- Παρασκευή δείγματος **20 mg/ml** EtOH 50%
- Έλεγχος παρουσίας βιοενεργών μορίων με αντιβακτηριακή δράση



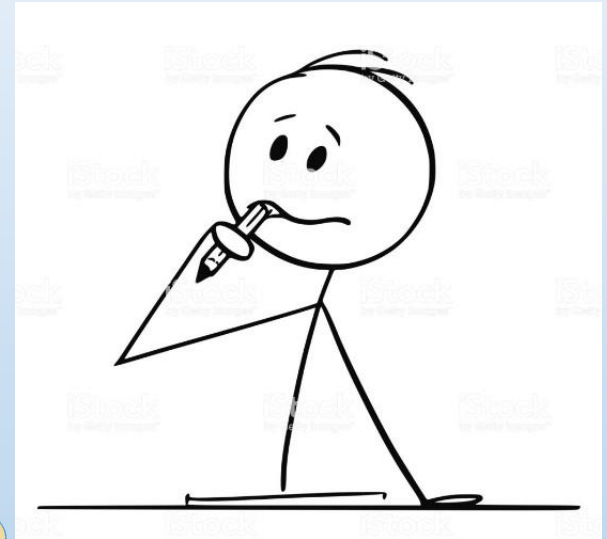
Χειρισμός πρόπολης.....δυσκολίες....

Κονιοποίηση

Εκχύλιση-επιλογή δ/τη

Εκχύλιση-επιλογή
μεθόδου

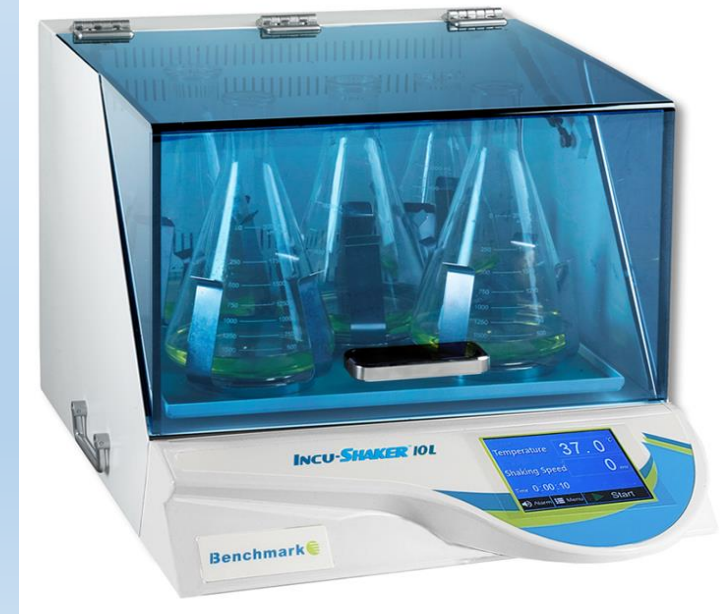
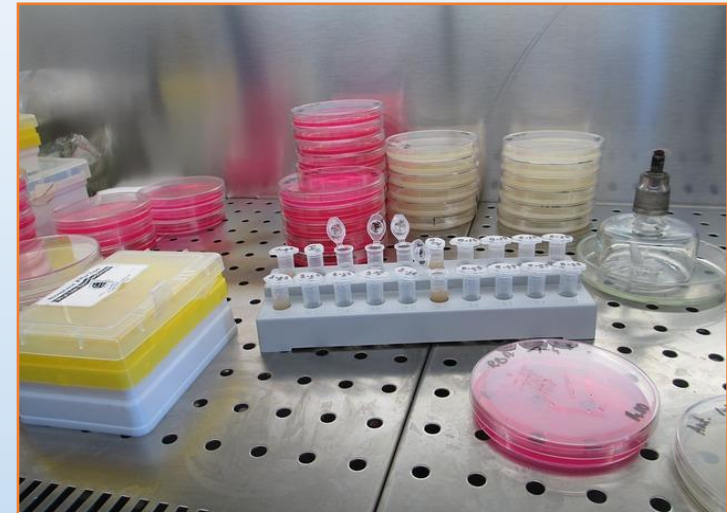
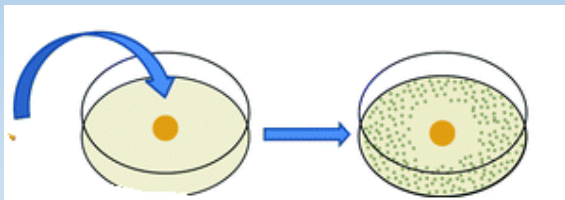
Παρασκευή δείγματος



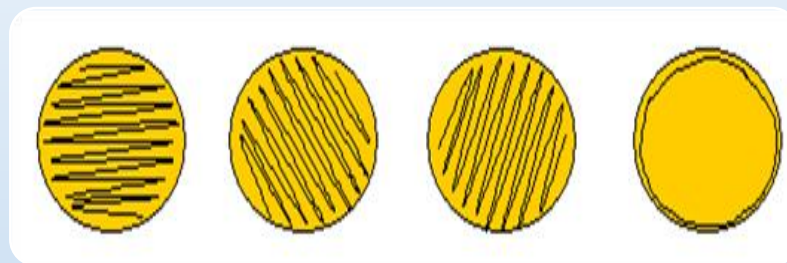
Μέθοδοι ελέγχου αντιμικροβιακής δράσης

Έλεγχος παρουσίας βιοενεργών μορίων

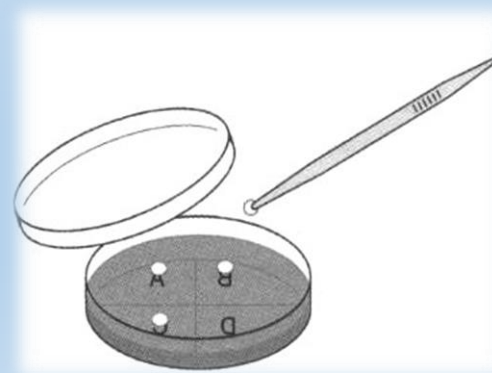
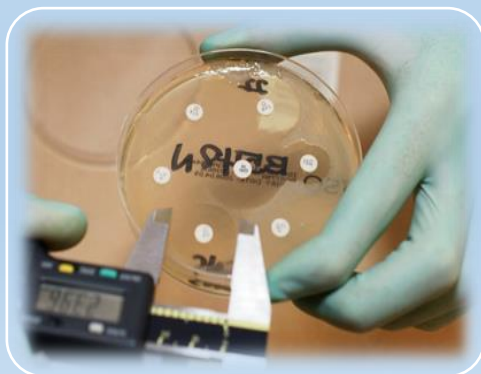
- Διάχυση Αντιμικροβιακής Ουσίας σε Στερεό Θρεπτικό Υπόστρωμα (Disc Diffusion Method)
- Διάχυση Αντιμικροβιακής Ουσίας από Πηγαδάκια (Agar Well Diffusion Method)
- MIC
- Πρότυπα στελέχη:
 - Escherichia coli* ATCC25922
 - Staphylococcus aureus* ATCC29213
 - Bacillus subtilis* ATCC9372
 - Micrococcus luteus* ATCC9341

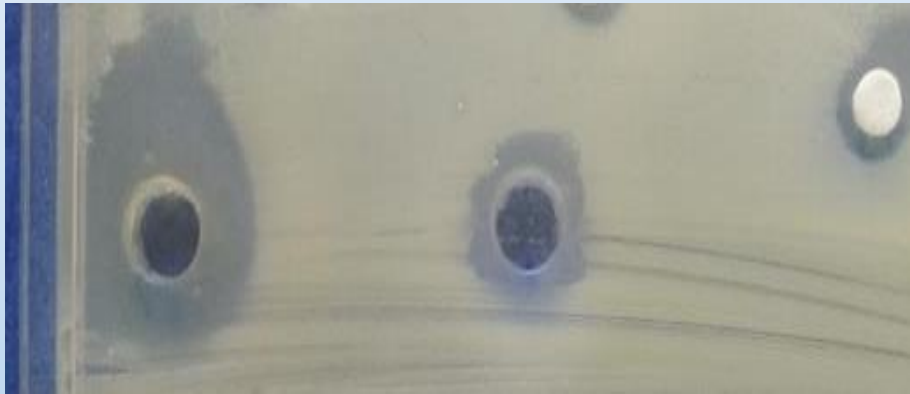
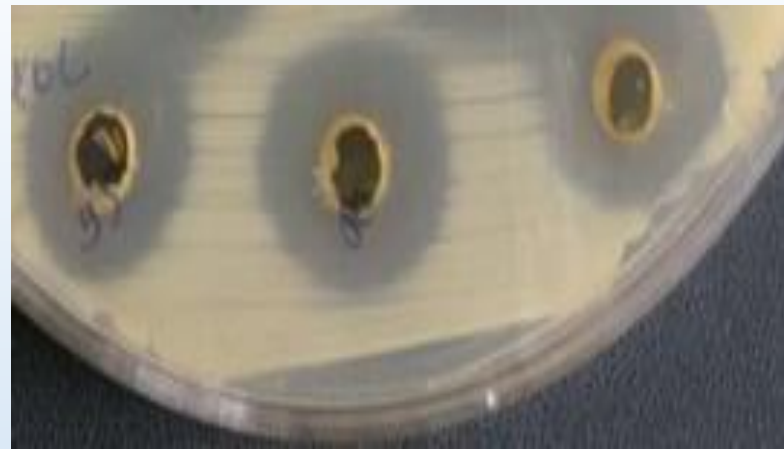
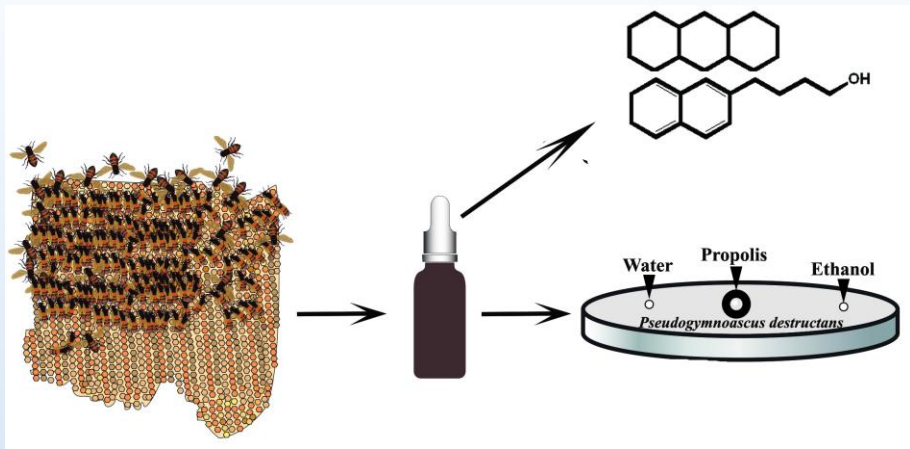


Μέθοδος Διάχυσης αντιβιοτικής ουσίας σε στερεό θρεπτικό υπόστρωμα



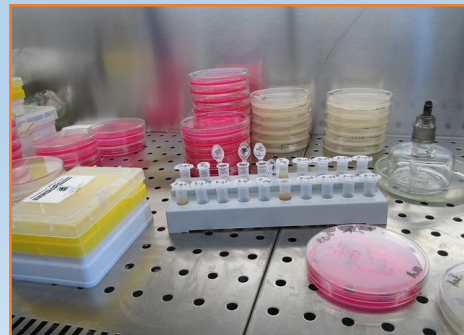
- Παρασκευή θρεπτικού υποστρώματος Mueller Hinton
- Εναιώρημα στελέχους (0,5 Mc Farland)





Αντιμικροβιακή δράση (διάμετρος ζώνης αναστολής cm)

Κοινή ονομασία	Λατινικό όνομα	Οικογένεια	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Escherichia coli</i>
Πρόπολη			0,80	2,00	2,00	0,00
Γαρύφαλλο	<i>Dianthus caryophyllus</i>	Caryophyllaceae	1,80	1,10	1,40	1,00
Δάφνη	<i>Laurus nobilis</i>	Lamiaceae	0,75	0,00	1,58	1,00
Φασκόμηλο	<i>Salvia officinalis</i>		1,25	1,20	1,62	0,00
Νεράντζι	<i>Citrus aurantium</i>	Rutaceae	1,40	1,50	1,60	1,15
Περγαμόντο	<i>Citrus aurantium ssp bergamia</i>		1,30	1,30	1,20	1,15



Αποτελέσματα χρωματογραφικής ανάλυσης

Benzyl alcohol (CAS No. 100-51-6)	GC-MS	468	mg/Kg
Benzyl Benzoate (CAS No. 120-51-4)	GC-MS	<1	mg/Kg
Benzyl Cinnamate (CAS No. 103-41-3)	GC-MS	<1	mg/Kg
Benzyl salicylate (CAS No. 118-58-1)	GC-MS	137	mg/Kg
Cinnamal (CAS No. 104-55-2)	GC-MS	<1	mg/Kg
Cinnamyl alcohol (CAS No. 104-54-1)	GC-MS	4428	mg/Kg
Citral (CAS No. 5392-40-5)	GC-MS	<1	mg/Kg
Citronellol (CAS No. 106-22-9)	GC-MS	<1	mg/Kg
Coumarin (CAS No. 91-64-5)	GC-MS	<1	mg/Kg
Eugenol (CAS No. 97-53-0)	GC-MS	1228	mg/Kg



Challenge test

Σύμφωνα με την δοκιμασία αυτή, ελέγχεται η αναστολή ανάπτυξης βακτηρίων και μυκήτων, σε προϊόντα που περιέχουν νερό

Ευρωπαϊκή Φαρμακοποιία => οι μικροοργανισμοί που χρησιμοποιούνται: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Escherichia coli*

SAMPLE (1611-1228.21)

Days	Concentration per ml			
	2	7	14	28
<i>Escherichia coli</i> ($7,4 \cdot 10^6$)	<10	<10	-	<10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ($7,2 \cdot 10^6$)	<10	<10	-	<10
<i>Staphylococcus aureus</i> ($7,9 \cdot 10^6$)	$2,6 \times 10^3$	<10	-	<10
<i>Candida albicans</i> ($2,2 \cdot 10^4$)	-	-	<10	<10
<i>Aspergillus niger</i> ($1,4 \cdot 10^5$)	-	-	<10	<10

Συμπεράσματα

Αναστολή ανάπτυξης κυρίως των θετικών
κατά Gram βακτηρίων

Παρουσία βιοενεργών μορίων με αντιμικροβιακή δράση
σε όλα σχεδόν τα εκχυλίσματα

? Συνέργεια? =>Ενίσχυση δραστικότητας



Πειράματα σε εξέλιξη & μελλοντικοί στόχοι.....

Προσδιορισμός αντιοξειδωτικής δράσης

Προσδιορισμός περισσότερων συστατικών

Περισσότερα πρότυπα στελέχη μικροοργανισμών

? Νέα σειρά προϊόντων

Έλεγχος
συνέργειας με
Α.Ε. ή
αντιβιοτικά
εμπορίου

Μύκητες

Υγρές
καλλιέργειες
με πρόπολη

Ακμή





“Feel the power of Propolis”



Ευχαριστώ